

**Mémoire, y compris stage professionnalisant[BR]- Séminaires méthodologiques intégratifs[BR]- Mémoire : "Impact des infections à virus d'Epstein-Barr et cytomégalovirus humain sur la réponse immunitaire antiSARS-COV-2 et les symptômes post-infectieux associés"**

**Auteur :** Darimont, Maureen

**Promoteur(s) :** Gillet, Laurent; Hologne, Marie

**Faculté :** Faculté de Médecine

**Diplôme :** Master en sciences de la santé publique, à finalité spécialisée en praticien spécialisé de santé publique

**Année académique :** 2024-2025

**URI/URL :** <http://hdl.handle.net/2268.2/22590>

---

*Avertissement à l'attention des usagers :*

*Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.*

*Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.*

---

**IMPACT DES INFECTIONS À VIRUS D'EPSTEIN-BARR ET  
CYTOMÉGALOVIRUS HUMAIN SUR LA RÉPONSE IMMUNITAIRE ANTI-  
SARS-CoV-2 ET LES SYMPTÔMES POST-INFECTIEUX ASSOCIÉS**

Mémoire présenté par **Maureen Darimont**  
en vue de l'obtention du grade de  
Master en Sciences de la Santé publique  
Finalité spécialisée en praticien spécialisé de santé publique  
Année académique 2024 - 2025

**IMPACT DES INFECTIONS À VIRUS D'EPSTEIN-BARR ET  
CYTOMÉGALOVIRUS HUMAIN SUR LA RÉPONSE IMMUNITAIRE ANTI-  
SARS-CoV-2 ET LES SYMPTÔMES POST-INFECTIEUX ASSOCIÉS**

Mémoire présenté par **Maureen Darimont**  
en vue de l'obtention du grade de  
Master en Sciences de la Santé publique  
Finalité spécialisée en praticien spécialisé de santé publique

Promoteurs : Pr Gillet Laurent, Mme Hologne Marie

Année académique 2024 - 2025

## **REMERCIEMENTS**

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance au Professeur Laurent Gillet, mon promoteur, et à Madame Marie Hologne, ma co-promotrice, pour leur accompagnement tout au long de ce travail. Leur disponibilité, leurs conseils éclairés et leurs remarques constructives ont été déterminants dans la réalisation de ce mémoire.

Merci également à Justine, pour sa patience lors de ma formation aux tests ELISA et son aide précieuse durant les analyses, ainsi qu'à Iraklis pour son soutien dans l'élaboration des analyses statistiques.

Je remercie les lecteurs pour le temps consacré à la lecture de ce mémoire et l'attention portée à mon travail.

Ma gratitude va aussi à Madame Angela Amico, ma responsable, pour sa compréhension et sa patience face à la complexité de mes horaires, ainsi qu'à mes collègues de la Salle 43, dont le soutien a été précieux, surtout dans les périodes les plus exigeantes.

À Pierre, mon compagnon : merci pour ton soutien indéfectible depuis le premier jour. À Célia, ma sœur : merci pour ton écoute, tes conseils et ta bienveillance. Vous avez été les véritables piliers de cette aventure.

Je remercie également mes camarades de promotion pour leur solidarité, ainsi que ma famille et mes amis de longue date, qui m'ont soutenue malgré mon manque de disponibilité. Votre présence fidèle a compté plus que vous ne l'imaginez.

Enfin, à toutes celles et ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à cette aventure : merci du fond du cœur.

## TABLE DES MATIERES

<b>PRÉAMBULE .....</b>	<b>1</b>
<b>1. INTRODUCTION .....</b>	<b>2</b>
1.1. VARIATION INTER INDIVIDUELLE DES RÉPONSES IMMUNES.....	2
1.1.1 Causes intrinsèques .....	2
1.1.2 Causes extrinsèques .....	3
1.2. LA RÉPONSE IMMUNE À L'ENCONTRE DE L'INFECTION OU LA VACCINATION CONTRE LE SARS-CoV-2.....	9
1.2.1. Les vaccins .....	9
1.2.2. Le virus .....	12
1.3. JUSTIFICATION DE L'ÉTUDE ET QUESTION DE RECHERCHE.....	16
1.4. OBJECTIFS ET HYPOTHÈSE.....	17
<b>2. MATÉRIEL ET MÉTHODES .....</b>	<b>18</b>
2.1. TYPE D'ÉTUDE ET DÉMARCHE DE RECHERCHE .....	18
2.2. POPULATION ÉTUDIÉE, MÉTHODE D'ÉCHANTILLONNAGE.....	18
2.3. PARAMÈTRES ÉTUDIÉS ET Outils DE COLLECTE DES DONNÉES .....	19
2.4. PLANIFICATION DE L'ÉTUDE .....	20
2.4.1. Traitement des données.....	21
2.5. MÉTHODE D'ANALYSE STATISTIQUE .....	22
2.5.1. Normalité des données.....	22
2.5.2. Comparaisons des sous-groupes et des interactions.....	23
2.5.3. Corrélations entre les variables .....	23
2.5.4. Modèles linéaires à effets mixtes.....	24
<b>3. RÉSULTATS .....</b>	<b>25</b>
3.1. ANALYSE DESCRIPTIVE.....	25
3.1.1. Statuts sérologiques .....	25
3.2. ANALYSES ENTRE SOUS-GROUPES ET INTERACTIONS .....	26
3.2.1. Comparaisons des paramètres recueillis à l'entrée en phase 2 selon le statut sérologique pour EBV.....	26
3.2.2. Comparaisons des paramètres recueillis à l'entrée en phase 2 selon le statut sérologique pour CMV.....	27
3.2.3. Comparaison des symptômes cliniques observés durant les trois semaines suivant l'infection par le SARS-CoV-2 selon le statut sérologique pour EBV.....	27
3.2.4. Comparaison des symptômes cliniques observés durant les trois semaines suivant l'infection par le SARS-CoV-2 selon le statut sérologique pour CMV .....	28
3.3. CORRÉLATIONS .....	29

3.3.1.	<i>Corrélations entre réponses immunitaires cellulaires et humorales .....</i>	29
3.3.2.	<i>Corrélations selon les statuts EBV/CMV.....</i>	29
3.4.	MODÈLES LINÉAIRES À EFFETS MIXTES .....	30
3.4.1.	<i>Facteurs influençant la réponse T cellulaire (Ag1) après exposition au SARS-CoV-2.....</i>	31
3.4.2.	<i>Facteurs influençant la réponse T cellulaire (Ag2) après exposition au SARS-CoV-2.....</i>	32
3.4.3.	<i>Facteurs influençant le taux des anticorps neutralisants après exposition au SARS-CoV-2.....</i>	32
3.4.4.	<i>Facteurs influençant le taux d'IgG anti-Spike après exposition au SARS-CoV-2 .....</i>	33
<b>4.</b>	<b>DISCUSSION .....</b>	<b>35</b>
4.1.	RÉSUMÉ DES RÉSULTATS PRINCIPAUX .....	35
4.2.	ASSOCIATION ENTRE LA SÉROPOSITIVITÉ EBV/CMV ET LA RÉPONSE IMMUNITAIRE AU SARS-CoV-2 .....	35
4.2.1.	<i>Réponse humorale (anticorps neutralisants et IgG anti-Spike).....</i>	35
4.2.2.	<i>Réponse cellulaire (LTAg1 et LTAg2) .....</i>	36
4.3.	ÉVOLUTION DES MARQUEURS IMMUNITAIRES EN FONCTION DU NOMBRE D'EXPOSITIONS .....	37
4.4.	SYMPTÔMES POST-INFECTIEUX ET STATUT EBV/CMV .....	38
4.5.	SYMPTÔMES POST-VACCINAUX ET STATUT EBV/CMV .....	39
4.6.	LIMITES DE L'ÉTUDE.....	40
4.7.	CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	41
<b>5.</b>	<b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>43</b>
<b>6.</b>	<b>ANNEXES .....</b>	<b>54</b>

## TABLE DES FIGURES

Figure 1. Arbre phylogénétique schématique des Herpesviridae (selon Pasquier et al., 2013)	5
Figure 2. Physiopathologie de l'infection à EBV (selon Pasquier et al., 2013).....	6
Figure 3. Physiopathologie des infections à cytomégalovirus humain (selon Pasquier et al., 2013).....	8
Figure 4. Réponse immunitaire induite par la vaccination contre le SARS-CoV-2 (Selon Bettini et Michela, 2021)(63).....	11
Figure 5. Structure du SARS-CoV-2 (selon Sher et al., 2023)(71). .....	12
Figure 6. Procédure du test ELISA (Virion / Serion ) (Créé dans Biorender.com) .....	20
Figure 7. Répartition des individus entre les différents sous-groupes. ....	25
Figure 8. Corrélation entre les réponses humorales (IgG, Nab) et cellulaires (Ag1, Ag2) .....	29
Figure 9. Corrélations entre les mesures d'anticorps selon les statuts sérologiques EBV et CMV .....	30

## TABLE DES TABLEAUX

Tableau I. Différents types de vaccins disponibles en Belgique (62). .....	10
Tableau II. Descriptives of the population, overall and by EBV status. .....	56
Tableau III. Descriptives of the population, overall and by CMV status. ....	60
Tableau IV. Symptoms Prevalence at the first day of infection, overall and by CMV status....	64
Tableau V.Symptoms Prevalence at the first day of infection, overall and by EBV status .....	66

## **ABRÉVIATIONS :**

Anti-N = anticorps anti-nucléocapside

APC = cellules présentatrices d'antigènes

BD = base de données

BHUL = Biothèque Hospitalo-Universitaire de Liège

CMH = complexe majeur d'histocompatibilité

CRP = protéine C-réactive

EA-D = antigène précoce diffus

EBNA = antigène nucléaire d'Epstein-Barr virus

ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

EMA = agence Européenne des médicaments

IgG = immunoglobulines G

IMC = indice de masse corporelle

LME = modèles linéaires à effets mixtes

Itag1 = réponse des lymphocytes T à l'encontre d'Ag1

Itag2 = réponse des lymphocytes T à l'encontre d'Ag2

Nab = anticorps neutralisants

PRR = récepteurs de reconnaissance de motifs

SNPs = polymorphisme de nucléotide unique

Tfh = cellules T folliculaires

TLR = toll-like receptors

ULiège = Université de Liège

USI = unité de soins intensifs

USSI = unité de soins subintensifs

## RÉSUMÉ

**Introduction :** La réponse immunitaire au SARS-CoV-2 varie considérablement d'un individu à l'autre. Parmi les facteurs susceptibles d'influencer cette hétérogénéité figurent les infections virales latentes telles que celles à Epstein-Barr virus (EBV) et cytomégalovirus (CMV), connues pour leur capacité à moduler durablement l'immunité adaptative. Ce travail vise à évaluer l'impact de la séropositivité à ces herpèsvirus sur la qualité de la réponse immunitaire anti-SARS-CoV-2, ainsi que sur la survenue de symptômes post-infectieux.

**Méthodes :** Une analyse rétrospective a été menée à partir de la cohorte SARSSURV-ULiège, comprenant 1 099 participants. Les statuts sérologiques EBV et CMV ont été déterminés par tests ELISA. Les réponses humorales (anticorps neutralisants, IgG anti-Spike) et cellulaires (réponse T Ag1 et Ag2) déjà collectées ont été évaluées à différents moments après exposition (infection ou vaccination). Les analyses statistiques incluent des comparaisons de sous-groupes et des modèles linéaires à effets mixtes.

**Résultats :** La séropositivité à l'EBV est associée à une diminution significative des réponses humorales et cellulaires, en particulier après les premières expositions. Ces participants présentent également une fréquence accrue de certains symptômes dans les trois semaines suivant l'infection (fatigue persistante, myalgies, toux sèche). Le CMV exerce un effet plus modéré, avec des associations ponctuelles mais non systématiques. Aucun lien significatif n'a été observé entre les statuts EBV/CMV et les effets secondaires post-vaccinaux.

**Discussion :** Ces résultats suggèrent que l'EBV pourrait perturber la réponse immunitaire spécifique au SARS-CoV-2, tant sur le plan cellulaire qu'humoral, et contribuer à la persistance de certains symptômes post-infectieux. La prise en compte du statut virologique latent dans les modèles de prédiction immunitaire pourrait permettre d'identifier plus précisément les personnes à risque de réponse altérée ou de COVID long. Ces observations renforcent la nécessité d'intégrer les cofacteurs virologiques dans les stratégies de santé publique.

**Mots-clés :** *Epstein-Barr virus, Cytomégalovirus, SARS-CoV-2, Réponse immunitaire, COVID long.*

## **ABSTRACT**

**Introduction:** The immune response to SARS-CoV-2 varies significantly between individuals. Among the factors that may influence this heterogeneity are latent viral infections such as Epstein-Barr virus (EBV) and cytomegalovirus (CMV), known for their capacity to durably modulate adaptive immunity. This study aims to assess the impact of EBV and CMV seropositivity on the quality of the immune response to SARS-CoV-2 and on the occurrence of post-infectious symptoms.

**Methods:** A retrospective analysis was conducted using data from the SARSSURV-ULiège cohort, which included 1,099 participants. EBV and CMV serostatuses were determined by ELISA testing. Pre-collected humoral (neutralizing antibodies, anti-Spike IgG) and cellular (T cell response to Ag1 and Ag2) markers were evaluated at various time points following exposure (infection or vaccination). Statistical analyses included subgroup comparisons and mixed-effects linear models.

**Results:** EBV seropositivity was associated with a significant reduction in both humoral and cellular immune responses, particularly after early exposures. These individuals also exhibited a higher frequency of certain symptoms within three weeks post-infection (persistent fatigue, myalgia, dry cough). CMV had a more moderate impact, with sporadic but non-systematic associations. No significant relationship was observed between EBV/CMV serostatus and post-vaccination side effects.

**Discussion:** These findings suggest that EBV may impair the SARS-CoV-2-specific immune response, both cellular and humoral, and contribute to the persistence of certain post-infectious symptoms. Considering latent viral status in immune prediction models could help better identify individuals at risk for impaired response or long COVID. These results highlight the importance of integrating viral cofactors into public health strategies.

**Keywords:** *Epstein-Barr virus, Cytomegalovirus, SARS-CoV-2, Immune response, Long COVID.*

## PRÉAMBULE

Les réponses immunitaires face au SARS-CoV-2 varient fortement d'un individu à l'autre, tant en termes d'intensité que de durée. Cette hétérogénéité résulte de nombreux facteurs, parmi lesquels les infections virales chroniques occupent une place croissante dans les recherches récentes. En particulier, les herpèsvirus humains tels que l'Epstein-Barr virus et le cytomégalovirus, en raison de leur capacité à persister à l'état latent et à se réactiver dans certaines conditions.

Ce mémoire s'inscrit dans cette perspective en explorant l'impact de la séropositivité à l'Epstein-Barr virus et au cytomégalovirus sur les réponses humorales et cellulaires dirigées contre le SARS-CoV-2, à partir de données issues d'une cohorte universitaire. En analysant plusieurs marqueurs immunitaires à différents moments après exposition (vaccination ou infection), ce travail vise à mieux comprendre dans quelle mesure ces infections virales persistantes peuvent moduler les mécanismes de l'immunité adaptative.

Travaillant en milieu hospitalier en parallèle de mon master, j'ai été confrontée à de nombreux patients exprimant leur incompréhension face à la variabilité des réponses post-vaccinales ou post-infectieuses. Cette proximité avec le terrain a nourri mon intérêt pour les déterminants moins visibles de l'immunité individuelle, et m'a donné l'envie d'explorer plus concrètement le rôle de ces cofacteurs viraux dans la modulation des réponses immunes. La possibilité de combiner des analyses sérologiques en laboratoire à une réflexion en santé publique a renforcé la motivation qui m'a guidée tout au long de ce projet.

## 1. INTRODUCTION

### 1.1. VARIATION INTER INDIVIDUELLE DES RÉPONSES IMMUNES

Depuis l'apparition en 2019 du virus SARS-CoV-2, également connu sous le nom de «CoronaVirus Disease 2019 » (*COVID-19*), plus de 777 millions de personnes ont été enregistrées comme ayant été infectées à travers le monde (1).

La capacité de réponse immunitaire varie d'un individu à l'autre, c'est ce qu'on appelle la variation interindividuelle. Cette variation peut s'expliquer par la contribution de facteurs intrinsèques (âge, sexe, génétique, etc.) mais également extrinsèques (environnement, infections antérieures, etc.). Ces variations influencent fortement la susceptibilité d'un individu à différentes infections et la gravité des symptômes associés, ainsi que l'efficacité et la sensibilité de sa réponse vaccinale (2).

Que l'exposition au SARS-CoV-2 résulte d'une infection naturelle ou d'une vaccination, la réponse immunitaire qui en découle peut, de ce fait, être modulée par différents facteurs. Ces facteurs peuvent influencer l'intensité, la qualité et la durabilité de la réponse immunitaire. Identifier et comprendre les éléments qui modulent cette réponse est essentiel pour affiner les stratégies de prévention, anticiper les profils à risque de réponse immunitaire insuffisante, et optimiser la couverture vaccinale tant au niveau individuel que populationnel.

#### 1.1.1 Causes intrinsèques

Parmi les causes intrinsèques pouvant expliquer la variabilité interindividuelle des réponses immunitaires, l'âge, le sexe et la génétique occupent une place centrale. Le système immunitaire évolue au cours de la vie, en commençant par une relative immaturité à la naissance. Le nouveau-né, encore peu exposé aux antigènes environnementaux, présente un système immunitaire orienté vers la tolérance, avec une prédominance de cellules naïves. En revanche, chez les personnes âgées, on observe une diminution progressive de la diversité du répertoire lymphocytaire, un appauvrissement en cellules T et B naïves, ainsi qu'un état inflammatoire chronique de bas grade. Ces modifications liées à l'âge sont associées à une réduction de l'efficacité des réponses immunitaires, notamment en ce qui concerne la réponse à la vaccination (3–5).

Le sexe est également un facteur intrinsèque déterminant. De nombreuses pathologies auto-immunes présentent une prévalence nettement plus élevée chez les femmes que chez les hommes. Cette différence s'explique en partie par l'influence des hormones sexuelles : les œstrogènes tendent à renforcer les réponses humorales et l'activation des lymphocytes, tandis que la testostérone exerce des effets plutôt immunosuppresseurs. Des différences d'expression génique entre les sexes, incluant des gènes portés par les chromosomes sexuels, participent aussi à cette divergence des réponses immunitaires (3,6,7).

Enfin, les facteurs génétiques peuvent être responsables d'une part importante de variabilité interindividuelle des réponses immunitaires. En effet, la variation génétique d'un individu peut influencer à la fois son immunité innée et adaptative. La variabilité génétique du système immunitaire provient du polymorphisme de gènes clés impliqués dans sa régulation (8). Les polymorphismes de nucléotide unique (SNPs), principaux types de polymorphismes, sont des variations fréquentes dans les régions codantes ou régulatrices des gènes (9,10). A titre d'exemple, les polymorphismes HLA et non-HLA expliquent jusqu'à 30 % de la variabilité des réponses en anticorps après vaccination contre la rougeole (11).

L'épigénétique joue, finalement, également un rôle essentiel dans ces variations interindividuelles, en modulant l'état fonctionnel des leucocytes, principaux médiateurs cellulaires du système immunitaire. Ces changements épigénétiques résultent de multiples interactions avec des facteurs externes, tels que les infections antérieures, l'environnement ou encore les interactions cellulaires (12–14).

### **1.1.2 Causes extrinsèques**

L'identification des facteurs environnementaux susceptibles d'influencer la réponse immunitaire s'avère complexe. Leur nombre potentiellement élevé rend difficile une évaluation précise de leur impact individuel, d'autant plus que la durée de leur action demeure souvent mal définie. Néanmoins, plusieurs travaux ont permis de mieux cerner la nature et les effets potentiels de certains de ces facteurs sur la variabilité des réponses immunitaires (14).

Parmi les éléments extrinsèques les plus étudiés figurent les infections virales chroniques, qui représentent une source majeure de modulation à long terme du système immunitaire. Il est estimé qu'un individu peut héberger simultanément entre 8 et 12 virus persistants,

comprenant à la fois des virus à ADN et à ARN. Ces agents pathogènes interagissent en permanence avec l'hôte, maintenant un état d'activation immunitaire prolongée susceptible d'altérer les réponses immunitaires futures, notamment vis-à-vis de nouveaux antigènes ou de la vaccination (15,16).

D'autres facteurs environnementaux ont également été identifiés comme influençant le statut immunitaire. Parmi eux, nous retrouvons entre autres le tabagisme (17), l'alimentation (18), le bien-être (19), l'obésité (20), l'activité physique (21), ou encore les infections parasitaires (22). Ces éléments peuvent eux aussi moduler la réponse immunitaire, parfois en altérant la composition du microbiote, en particulier intestinal. Ce dernier joue un rôle de plus en plus reconnu dans la régulation immunitaire (23,24). Une étude menée au Ghana en 2017 a notamment révélé une différence significative du profil microbien intestinal entre les enfants répondeurs et non-répondeurs à la vaccination contre le rotavirus, illustrant l'impact indirect mais déterminant de l'environnement sur l'immunocompétence (25).

a) Cas particulier des Herpèsvirus

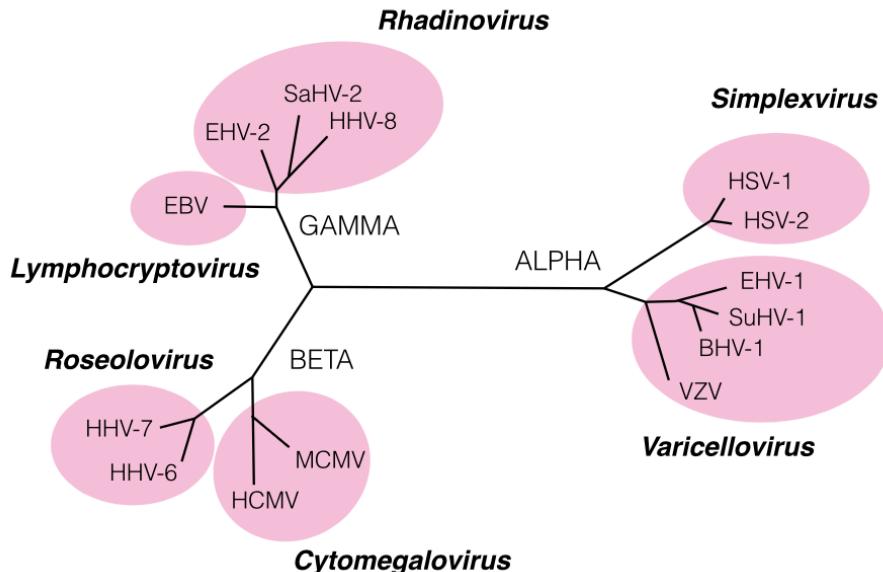
Parmi les familles virales responsables d'infections persistantes, les herpèsvirus se distinguent particulièrement par leur capacité à établir une infection latente après la primo-infection, avec la possibilité de réactivation périodique tout au long de la vie de l'hôte (26–28).

En conséquence, l'organisme entre dans un état d'activation immunitaire persistante, caractérisé par une inflammation chronique et une mobilisation continue des cellules immunitaires, notamment des lymphocytes T spécifiques. Cette sollicitation permanente du système immunitaire adaptatif peut, à long terme, altérer la capacité de l'organisme à répondre efficacement à de nouveaux pathogènes ou vaccins (15).

Il est important de noter que la latence virale n'est pas irréversible. Sous l'effet de divers stimuli, tels que le stress cellulaire, l'immunosuppression ou certaines co-infections, une réactivation peut survenir. C'est notamment le cas dans les formes sévères de COVID-19. Les virus latents entrent alors dans une phase lytique, caractérisée par une réPLICATION active du génome viral et la production de nouvelles particules infectieuses (29).

Les *Herpesviridae*, appartenant à l'ordre des *Herpesvirales*, partagent une morphologie identique mais se distinguent par la structure de leur génome, leur spectre d'hôtes, leur

tropisme cellulaire et les pathologies qu'ils induisent. Ils sont classés en trois sous-familles :  $\alpha$ -,  $\beta$ - et  $\gamma$ -herpèsvirinae, selon leurs caractéristiques biologiques et leur cinétique de réPLICATION (**Figure 1**). La taille du génome varie également, dans l'ordre croissant :  $\alpha$ ,  $\gamma$ , puis  $\beta$  (30).



**Figure 1. Arbre phylogénétique schématique des Herpesviridae (selon Pasquier et al., 2013)**

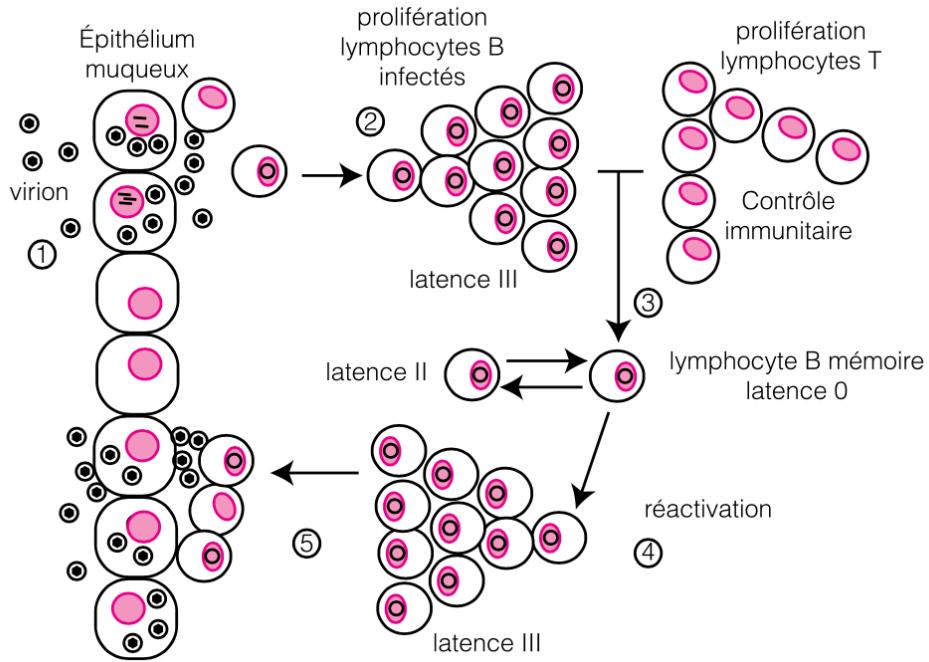
Les trois sous-familles sont représentées (Alpha, Beta et Gammaherpesvirinae), ainsi que les principaux genres et espèces virales infectant l'homme. Quelques herpèsvirus animaux sont également signalés : Equid herpesvirus (EHV-1 et EHV-2), le Murid cytomegalovirus (MCMV), le Suid herpesvirus 1 (SuHV-1 ou PRV), le Bovine herpesvirus 1 (BHV-1) et le Saimiriine herpesvirus 2 (SaHV-2 ou HVS) (31).

#### b) Description des herpèsvirus infectant l'homme

Parmi les huit herpèsvirus infectant l'homme, le cytomégavirus (CMV) et l'Epstein-Barr virus (EBV), deux agents pathogènes particulièrement prévalents dans la population humaine, font l'objet d'une attention particulière en raison de leur capacité à moduler profondément la réponse immunitaire de leur hôte (32).

#### **Epstein-Barr virus**

La prévalence de l'infection par EBV est extrêmement importante et peut atteindre 90 % (33). Également appelé *Human herpesvirus 4*, l'EBV est un herpèsvirus ubiquitaire, appartenant à la sous-famille des *Gammaherpesvirinae* et dont le seul hôte est l'humain (30). Son cycle biologique fait intervenir de nombreux types cellulaires différents et sa cible principale est le lymphocyte B (**Figure 2**) (34).



**Figure 2. Physiopathologie de l'infection à EBV (selon Pasquier et al., 2013)**

Après contamination (1), les lymphocytes B infectés (infection latente III) prolifèrent (2). Cette prolifération est contrôlée par le système immunitaire, notamment via une activation des lymphocytes T (syndrome mononucléosique) (3). Certains lymphocytes B infectés deviennent des lymphocytes mémoire (latence 0), avec possibilité de passages en latence II ou en latence III en cas de diminution du contrôle immunitaire (4). Dans ce dernier cas, une réactivation peut survenir, entraînant une infection des cellules épithéliales (5).

L'implication des herpèsvirus, en particulier de l'EBV, dans le développement de diverses pathologies est de mieux en mieux compris. Des liens significatifs ont été établis entre l'EBV et plusieurs maladies, y compris des pathologies auto-immunes comme la sclérose en plaques. Bien que les mécanismes moléculaires précis ne soient pas encore entièrement élucidés, il est suggéré que l'EBV pourrait jouer un rôle clé en reprogrammant certaines cellules immunes (infectées ou pas), et favoriserait le système immunitaire à cibler les tissus de l'hôte dont ceux du système nerveux central (35–37).

De surcroît, l'EBV, premier virus impliqué dans le développement de cancers chez l'homme, est un virus oncogène associé à plusieurs types de cancers, principalement ceux affectant les cellules lymphoïdes B et T ainsi que les cellules épithéliales, représentant 1,8 % des décès liés au cancer dans le monde. Les gènes viraux de l'EBV, en favorisant la persistance et la réplication du virus, peuvent provoquer une prolifération cellulaire anormale, une résistance à l'apoptose, une immunomodulation, et une instabilité génétique, conduisant à la transformation maligne

des cellules déjà infectées par l'EBV. Bien que ces processus soient généralement contrôlés par le système immunitaire, des facteurs comme l'immunodépression, une stimulation antigénique prolongée, ou une susceptibilité génétique peuvent affaiblir cette surveillance et favoriser le développement de cancers associés à l'EBV (33,38,39).

La capacité de l'EBV à influencer le développement de diverses maladies souligne son rôle crucial dans la recherche sur les interactions entre infections virales et pathologies chroniques.

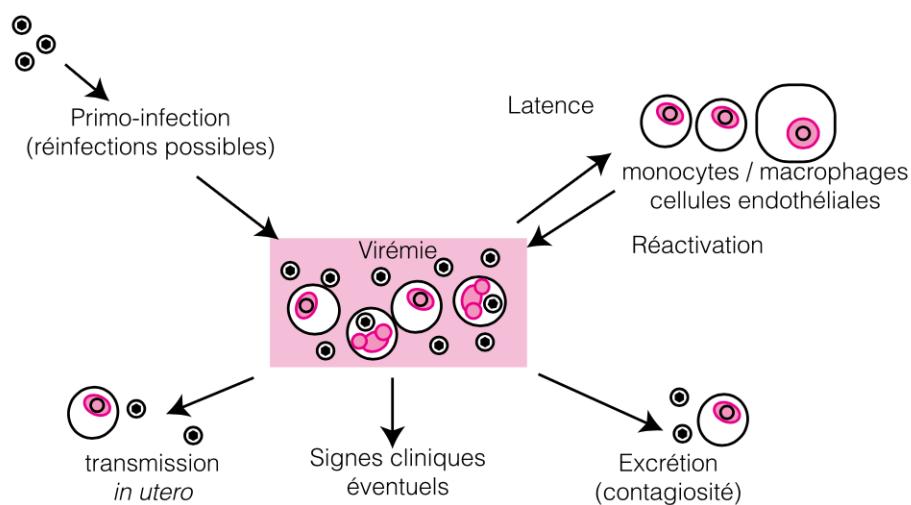
Par ailleurs, une infection persistante par un gammaherpèsvirus peut, dans certains cas, exercer un effet protecteur contre le développement de certaines pathologies. En effet, le Murid Herpèsvirus 4 (MuHV-4), un gammaherpèsvirus étudié chez la souris, est utilisé pour approfondir la compréhension de la biologie des gammaherpèsvirus humains. Des chercheurs ont constaté que l'infection par MuHV-4 confère une protection contre l'asthme allergique en provoquant le remplacement des macrophages alvéolaires résidents par des monocytes régulateurs recrutés depuis la moelle osseuse. Ces macrophages alvéolaires nouvellement dérivés des monocytes réduisent la réponse immunitaire de type TH2, associée aux réactions allergiques (40).

### Cytomégalovirus

Le cytomégalovirus, ou *human herpesvirus 5*, est un virus ubiquitaire appartenant à la sous-famille des *Betaherpesvirinae* (30,41). Sa séroprévalence varie considérablement selon les régions du monde, allant de 50 % en Europe centrale à près de 100 % dans les pays en développement (42–44). Le CMV présente un tropisme cellulaire étendu, capable d'infecter divers types cellulaires tels que les cellules endothéliales, épithéliales (rétine, intestins), fibroblastiques, dendritiques, nerveuses, musculaires lisses, trophoblastiques, les macrophages et les hépatocytes (45,46).

Chez les individus immunodéprimés, tels que les personnes atteintes du VIH, les receveurs de greffes d'organes ou ceux sous traitements immunsupresseurs, le CMV peut entraîner des complications graves, notamment des atteintes du système nerveux central, de la rétine, du système gastro-intestinal et des poumons (47). En l'absence d'inflammation, le CMV exerce un effet immunsupresseur en diminuant la présentation des antigènes, la prolifération des

lymphocytes T et en augmentant l'inhibition du complément, facilitant ainsi son évasion immunitaire. En revanche, en présence d'une inflammation, le CMV se réplique activement et amplifie les voies inflammatoires existantes, augmentant la production de TNF- $\alpha$ , d'IL-8 et de chimiokines. Il peut également perturber la structure des macrophages et accroître la production du facteur d'inhibition de la migration des macrophages, affaiblissant ainsi la réponse immunitaire innée. Ces mécanismes augmentent le risque de transmission du virus à d'autres individus (48). Une infection au CMV mobilise à vie environ 10 % des lymphocytes T (CD4 et CD8) de la personne infectée (49,50). Les réservoirs latents du virus incluent les cellules endothéliales, les monocytes, les macrophages et les cellules souches hématopoïétiques CD34+ de la moelle osseuse (47,51). Le virus peut sortir de sa latence de manière périodique lors d'une immunodépression spontanée ou transitoire, produisant alors des virions infectieux (**Figure 3**) (31,48).



**Figure 3. Physiopathologie des infections à cytomégalovirus humain (selon Pasquier et al., 2013).**

La virémie est composée de virions libres, de monocytes infectés et de polynucléaires contenant des virions capturés ou phagocytés (31).

Au-delà de ses effets aigus, le CMV est associé à plusieurs pathologies chroniques. Il est impliqué dans les maladies cardiovasculaires, telles que l'athérosclérose, en induisant une inflammation chronique de bas grade et en altérant les cellules endothéliales (52–54). Le CMV contribue également à l'immunosénescence en mobilisant à long terme une proportion importante des lymphocytes T CD8+ spécifiques, réduisant ainsi la diversité du répertoire immunitaire (55,56). Des études ont également suggéré un lien entre le CMV et certaines

pathologies neurodégénératives, bien que les données restent exploratoires. Enfin, dans des contextes d'immunodépression persistante ou sévère, le CMV peut favoriser la réactivation d'autres virus latents, tels que l'EBV, aggravant la dysrégulation immunitaire de l'hôte (57,58).

Toutefois, la présence du CMV ne se traduit pas exclusivement par des effets délétères. Chez les jeunes adultes, certaines études ont mis en évidence une association entre la séropositivité au CMV et une réponse immunitaire plus marquée à la vaccination contre la grippe. Effectivement, cela se traduisait par une production accrue d'anticorps et une activation renforcée des lymphocytes T CD8+. Ces données suggèrent qu'en fonction du contexte, l'infection latente par le CMV pourrait exercer une modulation bénéfique de la réponse immunitaire adaptative (59,60).

## **1.2. LA RÉPONSE IMMUNE À L'ENCONTRE DE L'INFECTION OU LA VACCINATION CONTRE LE SARS-CoV-2**

### **1.2.1. Les vaccins**

#### *a) Types de vaccins*

Afin de lutter rapidement contre la pandémie de COVID-19, plusieurs vaccins ont été développés et autorisés. Cinq vaccins ont reçu l'approbation de l'Agence Européenne des médicaments (EMA) et sont actuellement accessibles en Belgique (**Tableau 1**) (61):

- Le vaccin de Pfizer/BioNTech (Comirnaty) ;
- Le vaccin de Moderna (Spikevax) ;
- Le vaccin d'AstraZeneca et de l'Université d'Oxford (Vaxzevria) ;
- Le vaccin de Janssen (COVID-19 vaccine Janssen);
- Le vaccin de Novavax (Nuvaxovid).

Ces vaccins se distinguent par leur technologie de fabrication et leur composition, ce qui influence leur mode d'action et leur réponse immunitaire.

Vaccin	Type de vaccin	Composition principale
Pfizer/BioNTech	Vaccin à ARN messager	ARNm synthétique codant pour la protéine spike du SARS-CoV-2

<b>Moderna</b>	Vaccin à ARN messager	ARNm synthétique codant pour la protéine spike du SARS-CoV-2
<b>AstraZeneca</b>	Vaccin à vecteur viral non réplicatif	Adénovirus de chimpanzé codant pour la glycoprotéine spike du SARS-CoV-2
<b>Janssen (Johnson &amp; Johnson)</b>	Vaccin à vecteur viral non réplicatif	Adénovirus de type 26, non réplicatif, exprimant la protéine spike du SARS-CoV-2
<b>Novavax</b>	Vaccin à base de protéines	Protéine recombinante de la spike

Tableau I. Différents types de vaccins disponibles en Belgique (62).

b) Réponse immunitaire à l'encontre du vaccin

La vaccination permet d'introduire un antigène viral spécifique du SARS-CoV-2, le plus souvent la protéine spike, bien que la nature de cet antigène varie selon le type de vaccin.

Pour les vaccins à ARNm, après l'injection, l'ARNm pénètre dans les cellules de l'hôte, où il est traduit en protéine spike dans le cytoplasme. Le système immunitaire inné est activé par la présence de molécules étrangères, ce qui déclenche l'action des cellules présentatrices d'antigènes (APC), notamment les cellules dendritiques, qui capturent l'antigène et migrent vers les ganglions lymphatiques. Là, elles présentent l'antigène (la protéine spike) aux lymphocytes T. Les lymphocytes T CD8 peuvent se différencier en lymphocytes T cytotoxiques, capables de détruire directement les cellules infectées, tandis que les lymphocytes T CD4 se différencient en cellules Th1 ou en cellules T folliculaires auxiliaires (Tfh).

Les cellules Tfh jouent un rôle essentiel dans l'initiation de la réaction du centre germinatif, où les lymphocytes B subissent une maturation. Cette réponse conduit à la formation de cellules B mémoire, capables de réagir rapidement lors d'une future exposition, ainsi qu'à la formation de plasmocytes à longue durée de vie, qui assurent une production prolongée d'anticorps neutralisants (**Figure 4**) (63).

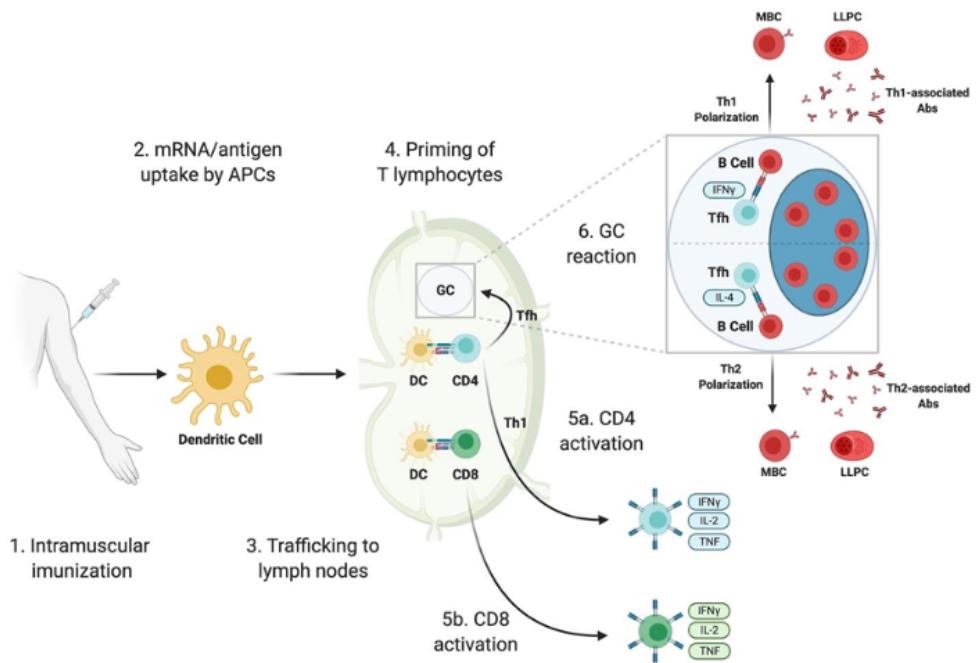


Figure 4. Réponse immunitaire induite par la vaccination contre le SARS-CoV-2 (Selon Bettini et Michela, 2021)(63).

Les vaccins à vecteur adénoviral non réplicatif utilisent un virus modifié pour délivrer le gène codant pour la protéine spike du SARS-CoV-2. L'ADN viral est transcrit en ARNm dans le noyau des cellules hôtes, puis traduit en protéine spike dans le cytoplasme. Cette protéine est ensuite présentée à la surface cellulaire via les molécules CMH de classe I et II, ce qui induit une réponse immunitaire à la fois humorale par la production d'anticorps neutralisants et cellulaires par l'activation des lymphocytes T CD8 et T CD4 (64,65).

Les vaccins à base de protéines virales reposent sur l'administration d'un antigène viral purifié, la protéine spike recombinante du SARS-CoV-2, associée à un adjuvant pour renforcer la réponse immunitaire. Contrairement aux vaccins à ARNm ou à vecteur adénoviral, la protéine n'est pas produite par les cellules hôtes, mais est directement captée par les cellules présentatrices d'antigènes, puis présentées aux lymphocytes T CD4 via les molécules du CMH de classe II. Cette présentation induit la différenciation des lymphocytes T CD4 en Th1 et Tfh, essentielles à la formation des centres germinatifs, où les lymphocytes B poursuivent leur maturation. Une réponse cellulaire CD8 peut également être observée, notamment grâce à l'effet immunostimulant de l'adjuvant, bien qu'elle reste plus limitée que celle induite par les vaccins à ARNm ou à vecteur adénoviral, en raison de l'absence de présentation via le CMH de classe I (66,67).

## 1.2.2. Le virus

### a) Description

Le SARS-CoV-2 est un bêta-coronavirus appartenant à l'ordre des *Nidovirales*, à la famille des *Coronaviridae* et à la sous-famille des *Coronavirinae* (68). Selon la classification de Baltimore, il est classé dans le groupe IV, correspondant aux virus à ARN simple brin à polarité positive (+ssRNA) (69). Le SARS-CoV-2 est un virus enveloppé à ARN monocaténaire positif, non segmenté dont le génome mesure entre 26 et 32 kb. Il possède quatre protéines structurales majeures impliquées dans l'infectivité, la réPLICATION et l'assemblage viral : la protéine spike (S), la protéine d'enveloppe (E), la protéine de membrane (M) et la protéine de nucléocapside (N) (**Figure 5**) (70).

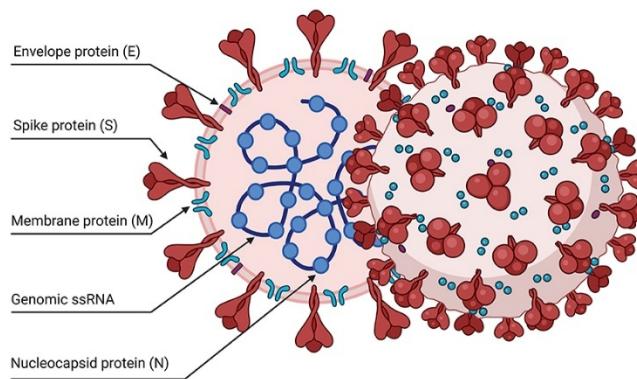


Figure 5. Structure du SARS-CoV-2 (selon Sher et al., 2023)(71).

Le SARS-CoV-2 est un virus soumis à un processus évolutif, accumulant des mutations au fil du temps (72). Cette variabilité génétique a conduit à l'émergence de plusieurs variants (Alpha, Delta, Omicron, etc.). Certaines de ces mutations peuvent modifier les caractéristiques du virus, en influençant sa transmissibilité, la sévérité de la maladie associée, ou encore l'efficacité des mesures thérapeutiques, notamment les vaccins et les médicaments (73).

Le SARS-CoV-2 est le virus responsable de la COVID-19, une maladie infectieuse à l'origine d'une pandémie dévastatrice. Il a été détecté pour la première fois en décembre 2019 à Wuhan, en Chine, avant de se propager rapidement à l'échelle mondiale, touchant des millions de personnes (74). Le SARS-CoV-2 cible principalement le tractus respiratoire, avec une sévérité clinique variable, allant d'infections asymptomatiques à des formes graves, voire

létales (75). Il se transmet par les gouttelettes respiratoires et les aérosols, infectant en premier lieu les cellules ciliées des voies respiratoires supérieures (76,77). Les manifestations cliniques les plus fréquentes incluent des symptômes respiratoires telles que toux, maux de gorge, rhinorrhée, dyspnée, et pneumonie, ainsi que des symptômes généraux comme fièvre, céphalée, fatigue ou diarrhée (75). Des formes plus sévères peuvent se manifester par des complications thromboemboliques, des dysfonctionnements myocardiques, des arythmies, des syndromes coronariens aigus, des atteintes rénales aiguës, des troubles gastro-intestinaux, des lésions hépatiques ou encore des atteintes neurologiques (78). Le risque de développer une forme sévère dépend à la fois du variant du SARS-CoV-2 en cause et de facteurs de risque individuels tels que l'obésité, le diabète de type 2, l'hypertension, les immunodéficiences ou le tabagisme (79). Il existe une corrélation nette entre l'âge avancé et la gravité de la maladie : les personnes âgées présentent une morbidité plus élevée (80). D'autres facteurs de variabilité sont également explorés, notamment la présence de co-infections ou l'historique infectieux du patient.

b) La réponse immunitaire antivirale

Lors d'une infection par le SARS-CoV-2, la réponse immunitaire innée constitue la première ligne de défense. Dès l'entrée du virus dans les voies respiratoires, il est détecté par les récepteurs de reconnaissance de motifs (PRRs), tels que les Toll-like receptors (TLR) qui reconnaissent les ARN viraux (81,82). Cette reconnaissance déclenche la production rapide d'interférons de type I et III ainsi que de cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ ). Parallèlement, des chimiokines sont libérées et attirent sur le site d'infection des cellules effectrices comme les macrophages, les neutrophiles, et les cellules NK qui participent à la destruction des cellules infectées (81). La réponse innée permet de préparer l'activation de l'immunité adaptative. Les cellules dendritiques, en capturant les antigènes viraux, les présentent aux lymphocytes T dans les ganglions lymphatiques. Les lymphocytes T CD4, activés via le CMH de classe II, se différencient en Th1 ou en Tfh. Simultanément, les lymphocytes T CD8, activés via le CMH de classe I, deviennent cytotoxiques et éliminent les cellules infectées. Les lymphocytes B, stimulés par les Tfh, produisent des anticorps neutralisants capables de bloquer le virus et d'empêcher sa propagation (83). Cette réponse adaptative permet de contrôler efficacement le virus tout en générant une mémoire immunitaire protectrice contre de futures expositions.

Lorsque la réponse immunitaire précoce échoue à contenir le SARS-CoV-2 au niveau des voies respiratoires supérieures, le virus peut progresser vers les alvéoles pulmonaires où il cible principalement les pneumocytes de type 2 (84). Cette infection profonde déclenche une activation excessive des macrophages alvéolaires qui adoptent un phénotype pro-inflammatoire et peuvent subir une pyroptose, une forme de mort cellulaire induisant une forte inflammation (83). Ce processus s'accompagne d'une production importante de cytokines pro-inflammatoires, qui attire massivement des monocytes et des neutrophiles sur le site de l'infection qui peuvent exacerber la réaction inflammatoire, notamment par la libération de NETs (structures de chromatine expulsée par les neutrophiles) (85). Par ailleurs, une infiltration de lymphocytes est souvent constatée au sein de l'interstitium pulmonaire (86). Ces altérations structurelles et inflammatoires compromettent les échanges gazeux, conduisant à une hypoxémie, souvent aggravée par une désorganisation de l'homéostasie hémostatique, marquée par une hypercoagulabilité et une inhibition de la fibrinolyse (87).

Dans les cas les plus graves, cette réponse immunitaire dérégulée s'étend au niveau systémique, provoquant une tempête cytokinique. Ce phénomène se manifeste par une augmentation excessive de cytokines pro-inflammatoires et de marqueurs inflammatoires comme la ferritine ou la protéine C-réactive (88). Cette hyperinflammation est une caractéristique majeure des formes sévères de la COVID-19 et se distingue d'autres inflammations respiratoires virales par la production massive d'IL-1 $\beta$  par les monocytes et macrophages (81,89).

c) SARS-CoV-2 et herpèsvirus

Lors d'une infection par SARS-CoV-2, il y a donc entre autres une libération de médiateurs inflammatoires (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ) et une diminution du nombre de cellules NK et cellules T CD8+. Cette immunodépression peut permettre une réactivation de certains virus latents (2,90–93).

D'après une étude menée par Chen et al., 55,5% des patients de leur cohorte hospitalisés pour COVID-19 présentaient une réactivation de l'EBV dans les deux semaines suivant un test positif au SARS-CoV-2 (92). De plus, Paolucci et al. ont observé une réactivation de l'EBV chez 95,2 % des patients en unité de soins intensifs (USI) et 83,6 % en unité de soins subintensifs (USSI) en Italie (93).

Une étude en France a montré une réactivation de l'EBV chez 82 % des patients souffrant de COVID-19 et étant hospitalisés en USI, associée à des séjours significativement prolongés en USI (15 jours contre 8 jours) (94). Par ailleurs, pour les patients hospitalisés en soins intensifs et souffrant d'une co-infection à l'EBV, le taux de mortalité est significativement plus élevé (95).

d) Le COVID long

Parmi les personnes infectées par le SARS-CoV-2, 10 à 20 % développent des séquelles post-aiguës de l'infection, il s'agit du « COVID long » (96).

L'Organisation Mondiale de la Santé (*OMS*) définit, grâce à la méthode Delphi, le COVID long comme tel : « *L'affection post-COVID-19 survient chez des personnes présentant des antécédents d'infection probable ou confirmée par le SARS-CoV-2, généralement 3 mois après l'apparition de la COVID-19 avec des symptômes qui persistent au moins 2 mois et qui ne peuvent être expliqués par un autre diagnostic. [...]* » (97). Ces symptômes peuvent inclure des troubles respiratoires, cardiovasculaires, neurologiques, musculo-squelettiques, gastro-intestinaux ou endocriniens, et peuvent durer plusieurs mois voire plusieurs années (98–100).

En ce qui concerne la Belgique, l'étude « COVIMPACT » réalisée par Sciensano en 2022, permet de mettre en lumière l'impact du COVID long sur la santé physique, mentale et sociale. La fatigue est le symptôme le plus fréquent, touchant environ 50% des patients avec un COVID long à 3 et 6 mois post-infection aigüe. D'autres symptômes persistants incluent les maux de tête, les troubles cognitifs, les douleurs musculaires, les difficultés respiratoires et les troubles du sommeil, souvent plus fréquents à 6 mois qu'à 3 mois post-infection. Les patients atteints de COVID long rapportent une qualité de vie diminuée, davantage d'anxiété et de dépression, ainsi que des limitations fonctionnelles d'activité. Ces symptômes ont également un impact négatif sur la situation professionnelle et économique des individus, avec un taux élevé d'absentéisme et de perte de productivité augmentant les arrêts maladie et les pertes financières (97).

Le développement du COVID long apparaît comme un phénomène multifactoriel, résultant de l'interaction complexe entre divers déterminants sociaux, immunologiques et virologiques.

D'une part, il a été mis en évidence que les déterminants sociaux de la santé tels que : l'âge, le sexe, les disparités raciales et ethniques, ainsi que l'accès aux soins, influencent significativement la prévalence et la sévérité des symptômes persistants liés à l'infection au SARS-CoV-2 (98,99,101).

D'autre part, plusieurs mécanismes biologiques sont également impliqués, notamment la persistance virale du SARS-CoV-2, une dysrégulation du système immunitaire, une altération du microbiome intestinal, ainsi que la réactivation de virus latents, à l'instar des herpèsvirus tels que l'EBV ou le CMV (102).

### **1.3. JUSTIFICATION DE L'ÉTUDE ET QUESTION DE RECHERCHE**

---

La pandémie de COVID-19 a révélé la complexité et l'hétérogénéité des réponses immunitaires face au SARS-CoV-2 (103). Parmi les hypothèses avancées pour expliquer cette variation dans la réponse immunitaire interindividuelle, notre attention se porte sur le rôle des infections virales latentes, en particulier celles liées à l'EBV et au CMV. Ces deux herpèsvirus, ont la particularité de persister à l'état latent et de se réactiver dans certaines conditions, avec un impact potentiel sur les mécanismes de l'immunité adaptative.

Dans ce contexte, la présente étude vise à explorer l'association entre la séropositivité au CMV et à l'EBV, évaluée par des tests *Enzyme-Linked Immunoassay* (ELISA), et la qualité de la réponse immunitaire humorale et cellulaire dirigée contre le SARS-CoV-2. L'analyse repose sur les échantillons sériques et les données immunologiques collectées auprès de 1099 participants issus de la cohorte SARSSURV-ULiège, une étude de cohorte prospective menée auprès de la communauté universitaire de l'Université de Liège. Cette cohorte, constituée en 2021, combine des données biologiques, des données cliniques et comportementales face au SARS-CoV-2 (104). Cette étude permet de facto d'évaluer si la présence d'infections virales latentes pourrait être associée à une modulation de la réponse immunitaire post-infectieuse ou post-vaccinale.

Ce travail s'inscrit dans une approche de santé publique en contribuant à la compréhension des facteurs virologiques pouvant moduler la qualité de la réponse immunitaire au SARS-CoV-2. Une réponse altérée pourrait non seulement réduire l'efficacité de la protection contre l'infection, mais également accroître le risque de développer des séquelles post-infection ou une forme chronique de la maladie. L'analyse des interactions entre les infections virales

latentes et l'immunité spécifique pourrait ainsi orienter de manière plus précise les stratégies de prévention, de suivi et de prise en charge, en particulier chez les personnes les plus à risque.

C'est dans cette perspective que s'inscrit cette étude, qui vise à répondre à la question suivante :

**Au sein de la cohorte SARSSURV-ULiège, la séropositivité à EBV et/ou au CMV est-elle associée à une modulation de la réponse immunitaire humorale et/ou cellulaire dirigée contre le SARS-CoV-2, après infection ou vaccination ?**

#### **1.4. OBJECTIFS ET HYPOTHÈSE**

Ce travail a pour objectif d'étudier l'influence d'infections virales latentes, EBV et CMV, sur la réponse immunitaire dirigée contre le SARS-CoV-2. Il vise également à déterminer si ces infections ont un impact sur l'apparition de symptômes persistants après une infection aiguë ou après la vaccination. De manière plus ciblée, les objectifs poursuivis sont les suivants :

- **Analyser l'association entre le statut sérologique EBV/CMV et les paramètres immunitaires spécifiques au SARS-CoV-2**, qu'il s'agisse de la réponse humorale (anticorps neutralisants et IgG anti-Spike) ou de la réponse cellulaire (Ag1 et Ag2).
- **Observer l'évolution de ces marqueurs immunitaires dans le temps**, en tenant compte du nombre d'expositions au virus, qu'elles résultent d'une infection ou d'une vaccination, et évaluer les facteurs associés à une baisse ou à un maintien de la réponse immunitaire.
- **Examiner la fréquence de certains symptômes dans les semaines suivant l'infection** et évaluer s'ils sont plus fréquents chez les personnes séropositives pour l'EBV ou le CMV.
- **Étudier l'éventuelle influence du statut EBV ou CMV sur les symptômes déclarés après la vaccination**, afin de déterminer si ces infections latentes jouent un rôle dans la variabilité des effets secondaires post-vaccinaux.

L'ensemble de ces objectifs a pour finalité de mieux comprendre l'interaction entre infections à herpès-virus et la réponse immunitaire au SARS-CoV-2, dans une perspective de santé publique et de prévention ciblée.

L'hypothèse de ce mémoire est que la séropositivité au virus EBV et/ou au CMV, reflétant une infection latente, est associée à une altération de la réponse immunitaire humorale et/ou cellulaire dirigée contre le SARS-CoV-2, que cette réponse soit induite par une infection aiguë ou par la vaccination.

## 2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 2.1. TYPE D'ÉTUDE ET DÉMARCHE DE RECHERCHE

Cette étude adopte une approche observationnelle et analytique, basée sur une analyse rétrospective de données et d'échantillons sériques issus de la cohorte prospective longitudinale SARSSURV-ULiège. Cette étude, menée entre avril 2021 et juin 2022, incluait initialement 1396 étudiants et 1143 membres du personnel de l'Université de Liège.

Durant la **phase 1** de SARSSURV-ULiège, les participants étaient soumis à un dépistage hebdomadaire du SARS-CoV-2 par test salivaire (RT-qPCR) et à un test sérologique mensuel (IgG et IgM), permettant d'identifier une réponse immunitaire consécutive à une infection ou à une vaccination. Parallèlement à ces tests biologiques, les participants complétaient régulièrement un questionnaire détaillé recueillant notamment leurs antécédents médicaux, les symptômes éventuellement ressentis, ainsi que leurs attitudes et comportements envers la vaccination contre le COVID-19.

Les participants dont un test salivaire ou sérologique était positif, ainsi que ceux vaccinés durant l'étude, étaient inclus dans une **phase 2** de suivi renforcé. Cette seconde phase consistait en un prélèvement sanguin réalisé dès l'entrée en phase 2, puis répété trois mois après, afin d'évaluer l'évolution des anticorps neutralisants et l'intensité de la réponse immunitaire. Le dépistage hebdomadaire par test salivaire était poursuivi, avec, en cas de positivité, la réalisation complémentaire de prélèvements par gargarisme pour l'isolement viral. Un suivi clinique détaillé des symptômes associés au COVID-19 ou aux éventuels effets secondaires vaccinaux était également effectué durant cette période (104).

### 2.2. POPULATION ÉTUDIÉE, MÉTHODE D'ÉCHANTILLONNAGE

Les échantillons sériques utilisés dans cette étude proviennent du prélèvement sanguin de l'entrée en phase 2 de la cohorte SARSSURV-ULiège. Parmi les 1706 participants concernés à ce stade, 1 099 ont donné leur consentement éclairé pour l'utilisation secondaire de leurs échantillons biologiques et des données associées.

L'échantillon étudié a été constitué selon une méthode non probabiliste, fondée sur la disponibilité effective des échantillons et des données immunologiques nécessaires à

l'analyse. Les données utilisées dans ce travail, extraites de la base de données principale de l'étude SARSSURV-ULiège, étaient déjà anonymisées avant leur mise à disposition.

Aucune nouvelle procédure de recrutement n'a été nécessaire, l'étude s'appuyant exclusivement sur les données cliniques et biologiques issues de la cohorte existante. Toutefois, de nouvelles données ont été générées à partir des échantillons de sérum disponibles, analysés spécifiquement dans le cadre de ce travail.

Les sérums étaient conservés à la Biothèque Hospitalo-Universitaire de Liège (BHUL).

### **2.3. PARAMÈTRES ÉTUĐÉS ET OUTILS DE COLLECTE DES DONNÉES**

---

Les 1099 sérums ont été analysés par tests ELISA au sein du laboratoire d'Immunologie et Vaccinologie de la Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Liège (ULiège). Les analyses sérologiques visant à déterminer la présence d'anticorps IgG dirigés contre l'EBV (antigène VCA) et le CMV ont été réalisées dans cette étude à partir des sérums disponibles.

Les kits d'analyse de la gamme SERION ELISA classic ont été utilisés. Le test repose sur le principe d'une interaction spécifique entre des anticorps présents dans le sérum et des antigènes viraux fixés au fond des puits d'une microplaqué. Cette liaison est ensuite détectée par un anticorps secondaire conjugué à une enzyme, dont la réaction avec un substrat chromogène permet une lecture photométrique proportionnelle à la concentration d'anticorps.

Comme décrit ci-dessous (**Figure 6**), les échantillons ont été dilués à 1:100 à l'aide du tampon fourni dans le kit, et les mesures de l'absorbance ont été réalisées à 405 nm après une série d'incubations, lavages, et l'ajout successif du conjugué enzymatique, du substrat, puis d'une solution d'arrêt. Chaque série de tests incluait des contrôles positifs et négatifs, ainsi qu'un blanc de substrat, afin de garantir la validité des résultats.

Les résultats ont été exprimés en unités standardisées (U/mL) et interprétés sur base des seuils fournis dans les certificats de contrôle qualité des trousseaux utilisés. Ces données ont ensuite été intégrées à l'analyse statistique, en vue d'explorer l'association entre la séropositivité à ces herpès-virus et la réponse immunitaire dirigée contre le SARS-CoV-2. Le protocole détaillé et disponible en annexe (**Annexe 1**).

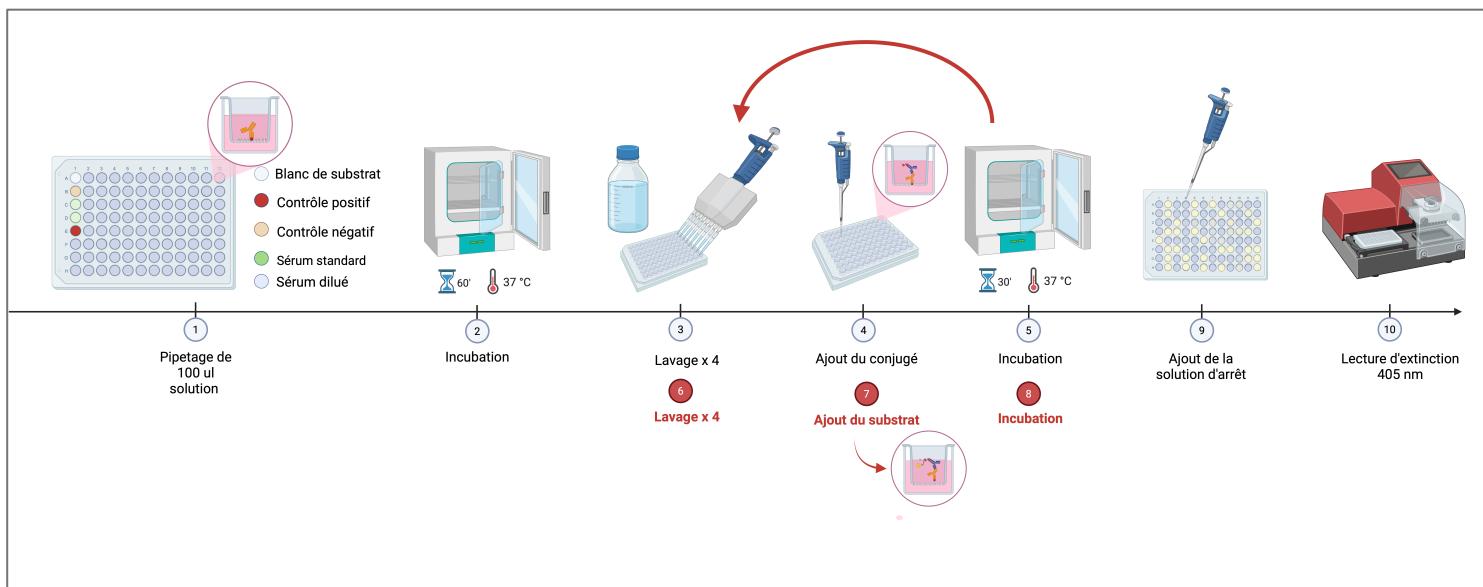


Figure 6. Procédure du test ELISA (Virion / Serion ) (Créé dans Biorender.com)

## 2.4. PLANIFICATION DE L’ÉTUDE

La rédaction de la partie théorique de ce travail, accompagnée d'une revue approfondie de la littérature scientifique, a été entamée en parallèle des démarches administratives nécessaires à la mise en œuvre de l'étude. Ces démarches comprenaient la soumission d'une demande d'avis au Comité d'Éthique Hospitalo-Facultaire Universitaire de Liège, ainsi que l'introduction d'un amendement au protocole de l'étude SARSSURV. Un certificat de Good Clinical Practice a été obtenu au préalable, conformément aux exigences réglementaires en matière de recherche impliquant des données humaines. Le Comité d'Éthique a rendu un avis favorable en date du 28 février 2025 (*référence 2025/185*) (**Annexe 7**).

La BHUL a ensuite été sollicitée pour organiser la récupération et la mise à disposition des échantillons sériques nécessaires aux analyses. Dès la réception des kits de dosage et des échantillons, l'ensemble des analyses ELISA a été réalisé au sein du laboratoire d'Immunologie et Vaccinologie de la Faculté de médecine vétérinaire, durant la semaine du 7 avril 2025.

Les analyses statistiques ont débuté dès la semaine suivante, à partir du 14 avril 2025, sur la base des données générées en laboratoire, croisées avec les données immunologiques et sérologiques issues de la base de données initiale SARSSURV-ULiège. La rédaction des résultats et de la discussion a pu être entamée immédiatement après l'obtention des premiers tableaux d'analyse.

#### 2.4.1. Traitement des données

Avant la réalisation des analyses ELISA, chaque tube de prélèvement a été scanné à l'aide d'un lecteur de code-barres, permettant d'identifier automatiquement le numéro d'échantillon et d'attribuer à l'avance sa position dans la plaque ELISA. Cette étape a permis de générer un fichier de traçabilité, dans lequel chaque puits était associé à un identifiant unique.

Les tests ELISA ont ensuite été effectués afin de détecter les anticorps IgG dirigés contre les antigènes du virus Epstein-Barr (EBV - VCA IgG) et du cytomégavirus (CMV - IgG). Les lectures photométriques ont été réalisées à 405 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques ELx800 (Biotek®) du laboratoire du département des Sciences des denrées alimentaires - Faculté de médecine vétérinaire.

À l'issue de chaque analyse, un fichier Excel distinct a été généré automatiquement pour chaque plaque. Ce fichier contenait les densités optiques (DO) mesurées pour chaque puits, les résultats des contrôles (positif, négatif, standard, blanc de substrat) et la disposition des échantillons.

Les résultats ont ensuite été associés au fichier de traçabilité initial. Cette étape a permis d'associer les valeurs de DO aux identifiants des échantillons correspondants. L'ensemble des données a donc été regroupé dans un fichier Excel unique pour les 1099 échantillons, comportant les résultats des dosages IgG anti-CMV et anti-EBV (VCA), les numéros de plaques, les identifiants des échantillons, les valeurs de DO brutes, les seuils spécifiques par plaque et l'interprétation qualitative.

La détermination du statut sérologique (positif, douteux ou négatif) a été réalisée conformément aux recommandations du fabricant (SERION ELISA classic). L'interprétation repose sur une méthode quantitative fondée sur les densités optiques et les seuils calculés à partir du certificat de contrôle qualité de chaque lot de réactifs.

Pour chaque série d'analyse, la valeur moyenne du standard ( $PM(STD)$ ), calculée à partir des puits standards de la plaque, a servi de référence pour déterminer les seuils de positivité. Ces seuils ont été établis en multipliant la  $PM(STD)$  par des coefficients spécifiques fournis dans le certificat de contrôle qualité du fabricant, lesquels peuvent varier selon le lot de réactifs utilisé.

Ainsi :

La limite inférieure du seuil de positivité était calculée selon la formule :

$$\text{limite inférieure} = X_1 \times PM(STD)$$

La limite supérieure était déterminée par :

$$\text{limite supérieure} = X_2 \times PM(STD)$$

Les valeurs de  $X_1$  et  $X_2$  étant propres à chaque kit, ces calculs ont été répétés individuellement pour chaque plaque afin de prendre en compte la variabilité inter-lots. Cette méthode a permis de garantir la fiabilité, la comparabilité et la standardisation des interprétations sérologiques entre les différentes séries d'analyse.

Les résultats ainsi interprétés ont été intégrés à la base de données (BD) principale de l'étude SARSSURV-ULiège, permettant une correspondance précise entre les identifiants des échantillons, les données initiales de la BD et les résultats sérologiques obtenus. Cette BD a ensuite été utilisée pour les analyses statistiques visant à explorer les éventuelles associations entre la séropositivité aux virus latents et la réponse immunitaire dirigée contre le SARS-CoV-2.

## 2.5. MÉTHODE D'ANALYSE STATISTIQUE

L'analyse statistique repose sur un ensemble de 1078 participants issus de la cohorte SARSSURV, pour lesquels des données immunologiques et cliniques étaient disponibles lors du premier prélèvement sanguin. Les données sociodémographiques, cliniques et immunologiques (âge, sexe, indice de masse corporelle, comorbidités, statut tabagique, type de vaccin reçu, nombre d'expositions au SARS-CoV-2, sérostatuts EBV et CMV) ont été synthétisées pour l'ensemble de la cohorte.

Le seuil de signification statistique a été fixé à  $p < 0,05$ . Les résultats sont exprimés en estimations d'effet avec leurs intervalles de confiance à 95 %. L'ensemble des analyses a été réalisé à l'aide du logiciel R (version 4.4.2).

L'ensemble des variables explorées sont décrites en annexe (**Annexe 2**).

### 2.5.1. Normalité des données

La normalité des données a été vérifiée à l'aide du test de Shapiro-Wilk. Une p-valeur supérieure à 0,05 a été considérée comme indicative d'une distribution normale. Ce test a été

appliqué à l'ensemble des variables concernées afin de déterminer l'adéquation des données avec les conditions requises pour les analyses statistiques paramétriques.

### 2.5.2. Comparaisons des sous-groupes et des interactions

L'objectif principal des analyses était d'identifier des différences dans la réponse immunitaire au SARS-CoV-2 selon les statuts sérologiques EBV et CMV. L'attention s'est portée sur plusieurs marqueurs : les titres d'anticorps neutralisants (Nab), les concentrations d'IgG anti-Spike, les réponses T cellulaires (Ag1 et Ag2) et les anticorps anti-nucléocapsides (anti-N) .

Des comparaisons ont été réalisées entre les groupes de participants selon leur statut EBV et CMV.

Pour les variables quantitatives normalement distribuées, des tests t de Student ont été appliqués. En cas de distribution non normale, le test de Wilcoxon a été privilégié. Les variables qualitatives ont été analysées à l'aide de tests du  $\chi^2$  ou du test exact de Fisher, selon les effectifs.

Les variables continues ont été présentées sous forme de moyennes et d'écart-types lorsqu'elles étaient normalement distribuées, ou sous forme de médianes et d'intervalles interquartiles [Q1–Q3] dans le cas contraire. Les variables qualitatives ont été exprimées en effectifs absolus et en pourcentages.

Enfin, les symptômes cliniques observés durant les trois semaines suivant l'infection ont été comparés selon les statuts EBV et CMV. Des tableaux croisés hebdomadiers ont permis de suivre l'évolution de la prévalence des symptômes, et les tests du  $\chi^2$  ou de Fisher ont été utilisés pour identifier les associations significatives. Les symptômes post-vaccinaux ont été analysés séparément, selon la même approche descriptive.

### 2.5.3. Corrélations entre les variables

Des analyses de corrélation de Pearson ont été conduites pour étudier les relations entre les principaux paramètres immunitaires : Ag1, Ag2, IgG anti-Spike, IgG anti-nucléocapside et Nab. Ces corrélations ont été calculées pour l'ensemble de la cohorte, mais aussi pour les sous-groupes définis par les différentes combinaisons de statuts EBV et CMV (CMV-/EBV-, CMV-/EBV+, CMV+/EBV-, CMV+/EBV+).

#### 2.5.4. Modèles linéaires à effets mixtes

L'évolution des réponses immunitaires dans le temps, en fonction du nombre d'expositions au SARS-CoV-2 (infection et/ou vaccination), a été analysée à l'aide de modèles linéaires à effets mixtes (LME). Ces modèles permettent de tenir compte des mesures répétées intra-individuelles à travers l'inclusion d'un intercept aléatoire propre à chaque participant. Le temps écoulé (en jours) a été considéré comme une covariable continue, afin de modéliser l'évolution des réponses immunitaires, qu'il s'agisse d'une progression ou d'un déclin.

Les analyses ont été menées séparément pour chaque exposition (de la première à la quatrième), afin de distinguer l'impact de la primo-exposition de celui des expositions ultérieures. Les covariables intégrées incluaient l'âge, le sexe, l'IMC, la présence de comorbidités (diabète, hypertension, asthme), les statuts EBV et CMV, le type d'exposition (infection ou vaccination), le statut Rhésus et le tabagisme. La sélection des variables dans les modèles multivariés a été guidée par leur pertinence clinique et/ou leur significativité en analyse univariée.

## 3. RÉSULTATS

### 3.1. ANALYSE DESCRIPTIVE

#### 3.1.1. Statuts sérologiques

Des données immunologiques complètes étaient disponibles pour 1 078 des 1 099 échantillons de serum analysés. Les participants présentant des résultats douteux aux tests ELISA ont été exclus de la cohorte après confirmation de cette ambiguïté lors d'un second test, ce qui a conduit à un effectif final de 1 069 participants disposant de résultats sérologiques exploitables pour les deux marqueurs virologiques.

Chez ces participants, 956 (89 %) étaient séropositifs pour l'EBV, et 482 (45 %) présentaient une séropositivité pour le CMV. La **figure 7** présente la distribution des statuts sérologiques EBV et CMV. L'analyse par test du  $\chi^2$  de Pearson a mis en exergue une association statistiquement significative entre les statuts sérologiques EBV et CMV ( $p = 0,017$ ).

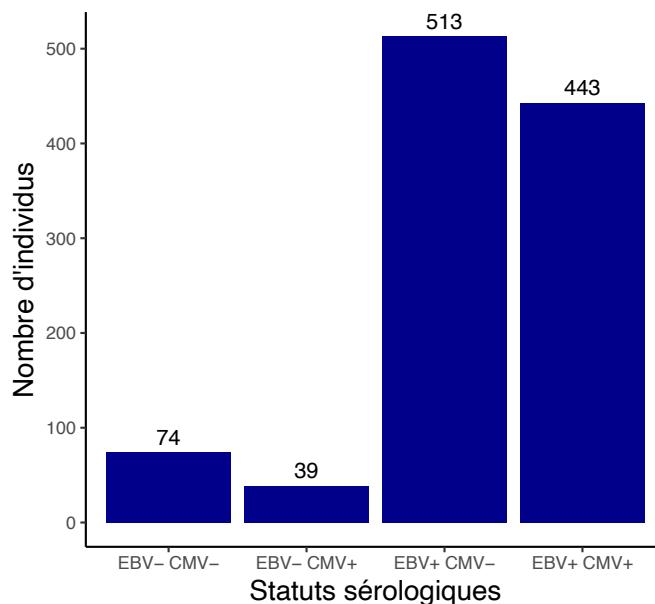


Figure 7. Répartition des individus entre les différents sous-groupes.

Parmi eux, 531 individus ont présenté une infection confirmée au SARS-CoV-2 durant le suivi. Pour ces personnes, les profils symptomatiques le jour de l'infection ont été spécifiquement analysés.

### **3.2. ANALYSES ENTRE SOUS-GROUPES ET INTERACTIONS**

---

#### **3.2.1. Comparaisons des paramètres recueillis à l'entrée en phase 2 selon le statut sérologique pour EBV**

Dans la comparaison selon le statut EBV (**Annexe 3**), plusieurs variables ont montré des différences statistiquement significatives. Les participants EBV-positifs étaient significativement plus susceptibles d'être membres du personnel que des étudiants ( $p < 0,001$ ), et plus susceptibles d'être des femmes ( $p = 0,036$ ). Ils étaient également en moyenne plus âgés que les participants EBV-négatifs (âge moyen de 43,3 ans contre 31,4 ans,  $p = 0,003$ ), et avaient un indice de masse corporelle (IMC) légèrement plus élevé ( $p = 0,035$ ). La distribution du type de vaccination primaire différait significativement selon le statut EBV, les individus EBV-positifs étant plus souvent vaccinés avec des vaccins à ADN ( $p = 0,0037$ ). De même, la distribution des marques de vaccins ( $p = 0,010$ ) et le nombre d'expositions au SARS-CoV-2 ( $p = 0,037$ ) différaient également de manière significative entre les groupes EBV-positifs et EBV-négatifs.

En revanche, aucune association statistiquement significative n'a été observée entre le statut sérologique EBV et d'autres paramètres cliniques ou démographiques à l'entrée en phase 2, tels que le statut tabagique, le groupe sanguin, le facteur Rhésus ou la présence de comorbidités (diabète, hypertension, maladies auto-immunes, immunodéficience). De même, à ce stade descriptif, les niveaux d'anticorps neutralisants, d'IgG anti-Spike et les réponses T (Ag1, Ag2) ne différaient pas significativement selon le statut EBV.

Nonobstant, des analyses plus poussées (cf. sections 3.4 et 4.2) ont mis en évidence une influence défavorable de la séropositivité EBV sur la réponse immunitaire humorale et cellulaire au SARS-CoV-2.

Concernant l'analyse des symptômes le jour de l'infection (**Annexe 6**), un seul symptôme, la myalgie, a été rapporté significativement plus fréquemment chez les participants EBV-positifs par rapport aux EBV-négatifs ( $p = 0,033$ ). Tous les autres symptômes (y compris l'anosmie, la fatigue, la fièvre, la toux, les symptômes gastro-intestinaux ou neurologiques) ne différaient pas significativement selon le statut EBV.

Concernant l'analyse des symptômes le jour de la vaccination, aucun symptôme n'est associé de manière significative au statut sérologique. La fatigue, signalée par 57 % des participants, est également répartie entre les groupes EBV-négatifs et EBV-positifs ( $p = 0,8$ ). Le mal de tête, très fréquent (84 %), ne montre pas non plus de différence notable ( $p = 0,12$ ). Les autres symptômes (perte d'appétit, myalgies, confusions, nausées, vomissements, fièvre, arthralgies, douleur ou rougeur au point d'injection, adénopathies axillaires) ne sont pas associés significativement au statut sérologique bien que certains soient légèrement plus fréquents chez les participants EBV-positifs.

### 3.2.2. Comparaisons des paramètres recueillis à l'entrée en phase 2 selon le statut sérologique pour CMV

Pour les comparaisons selon le statut CMV (**Annexe 4**), une différence significative d'âge a été observée, les individus CMV-positifs étant plus âgés que les CMV-négatifs ( $p = 0,002$ ). La distribution des groupes sanguins différait significativement selon le statut CMV ( $p = 0,027$ ), avec une proportion près de trois fois plus élevée du groupe AB chez les CMV positifs (5.4 % vs 1.9 %). Les autres groupes (O, A, B) ne présentaient pas de différences notables, hormis une légère baisse du groupe B. Toutefois, aucune autre variable, qu'elle soit démographique, clinique ou immunologique, ne présentait de différence significative entre les participants CMV-positifs et CMV-négatifs.

Concernant l'analyse des symptômes le jour de l'infection (**Annexe 5**), aucune association significative n'a été trouvée entre le statut CMV et l'un des symptômes rapportés.

Concernant l'analyse des symptômes le jour de la vaccination, aucun lien significatif n'est observé. La fatigue reste le symptôme le plus courant (57 %), avec des fréquences proches entre les CMV-négatifs (32 %) et les CMV-positifs (25 %) ( $p = 0,3$ ). Les autres symptômes présentent des répartitions quasi identiques entre les groupes.

### 3.2.3. Comparaison des symptômes cliniques observés durant les trois semaines suivant l'infection par le SARS-CoV-2 selon le statut sérologique pour EBV

À la suite d'une infection par le SARS-CoV-2, l'évolution des symptômes sur trois semaines révèle une influence notable du statut sérologique vis-à-vis de l'EBV. Les individus EBV-positifs ont rapporté plus de symptômes, bien que la majorité des différences ne soient pas

statistiquement significatives. Globalement, la fréquence des symptômes diminue avec le temps, mais certains persistent.

Semaine 1 : les symptômes étaient plus fréquents durant la première semaine. La fatigue (75 %), les maux de tête (60 %), les myalgies (46 %) et la toux sèche (56 %) prédominaient, en particulier chez les sujets EBV-positifs. Deux symptômes étaient significativement plus fréquents dans ce groupe : les myalgies ( $p = 0,009$ ) et la toux sèche ( $p = 0,025$ ). La fatigue montrait une forte tendance sans que cette association ne soit significative ( $p = 0,5$ ). D'autres symptômes (anosmie, nausées, douleurs pharyngées) étaient également plus présents mais sans atteindre la significativité. Les symptômes plus rares (confusions, douleurs thoraciques, troubles mnésiques) ne variaient pas selon le statut EBV.

Semaine 2 : la fatigue diminue à 49 % et les céphalées à 25 %, mais la toux sèche reste fréquente et significativement associée à l'EBV ( $p = 0,011$ ). La majorité des autres symptômes sont présents chez moins de 15 % des participants, sans différence entre les groupes. Néanmoins, les individus EBV-positifs continuent de montrer une tendance plus importante à la fatigue.

Semaine 3 : la fatigue persiste chez 31 % des participants et devient significativement associée au statut EBV ( $p = 0,012$ ). La toux sèche est encore présente (18 %,  $p = 0,074$ ). Les autres symptômes (fièvre, myalgies, troubles digestifs) deviennent rares (<10 %) et sans lien significatif avec le statut sérologique à l'encontre de l'EBV.

### 3.2.4. Comparaison des symptômes cliniques observés durant les trois semaines suivant l'infection par le SARS-CoV-2 selon le statut sérologique pour CMV

En comparaison, la sérologie à l'encontre du CMV semble affecter de manière mineure les symptômes post-infection. La fréquence des symptômes diminue de manière similaire dans les groupes CMV-positifs et négatifs, sans schéma clair d'association.

Semaine 1 : les symptômes dominants (fatigue, céphalées, toux, myalgies, rhinorrhée) ne présentent aucune association significative avec le statut CMV.

Semaine 2 : la fatigue et la toux continuent à diminuer. Deux symptômes, douleurs thoraciques ( $p = 0,034$ ) et nausées ( $p = 0,039$ ), sont plus fréquents chez les individus CMV-positifs. D'autres, comme les paresthésies, montrent des tendances non significatives.

Semaine 3 : les symptômes deviennent rares. La fatigue (31 %) reste la plus fréquente, sans différence entre groupes. En revanche, les myalgies sont significativement plus fréquentes chez les CMV-positifs ( $p = 0,002$ ).

### 3.3. CORRÉLATIONS

#### 3.3.1. Corrélations entre réponses immunitaires cellulaires et humorales

Dans l'ensemble de la cohorte, une forte corrélation a été observée entre les réponses T cellulaires à l'encontre des Ag1 et Ag2 ( $r = 0,84$ ), témoignant d'une excellente cohérence entre ces deux tests (**Figure 8**). Cette stabilité s'est maintenue dans tous les sous-groupes ( $r \geq 0,83$ ), confirmant la robustesse de ces marqueurs.

Une corrélation modérée a également été relevée entre les niveaux d'anticorps IgG anti-Spike et les anticorps neutralisants ( $r = 0,73$ ). Par contre, les corrélations entre réponses cellulaires (Ag1/Ag2) et humorales (IgG/NAb) étaient faibles ( $r \approx 0,08–0,12$ ), indiquant une relative indépendance fonctionnelle entre les deux volets de l'immunité.

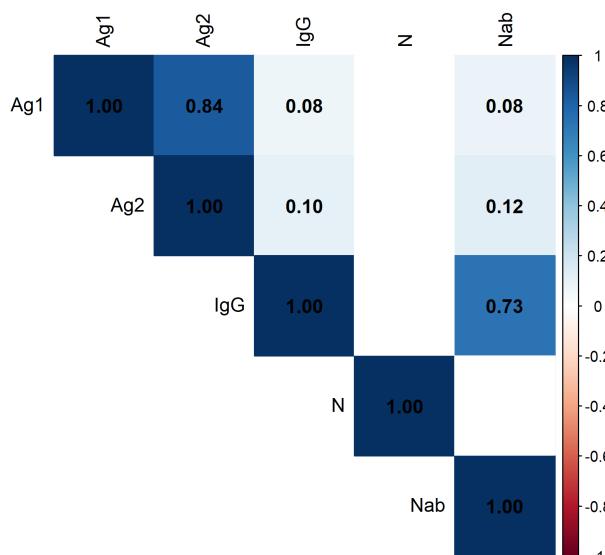


Figure 8. Corrélation entre les réponses humorales (IgG, Nab) et cellulaires (Ag1, Ag2)

#### 3.3.2. Corrélations selon les statuts EBV/CMV

L'analyse stratifiée a révélé des différences intéressantes (**Figure 9**). La corrélation la plus forte entre IgG anti-Spike et anticorps neutralisants a été observée chez les CMV+ / EBV- ( $r = 0,82$ ). À l'inverse, la corrélation était plus faible chez les CMV- / EBV+ ( $r = 0,70$ ) et les CMV- / EBV- ( $r$

= 0,62). Les CMV+ / EBV+ présentaient une corrélation également élevée ( $r = 0,79$ ), proche de celle observée chez les CMV+ / EBV-.

Enfin, les anticorps IgG dirigés contre la nucléocapside (N) ont montré des corrélations faibles et constantes avec les autres variables et dans tous les groupes, suggérant que la réponse anti-N est indépendante de celle dirigée contre la protéine Spike, et peu influencée par les statuts sérologiques EBV ou CMV.

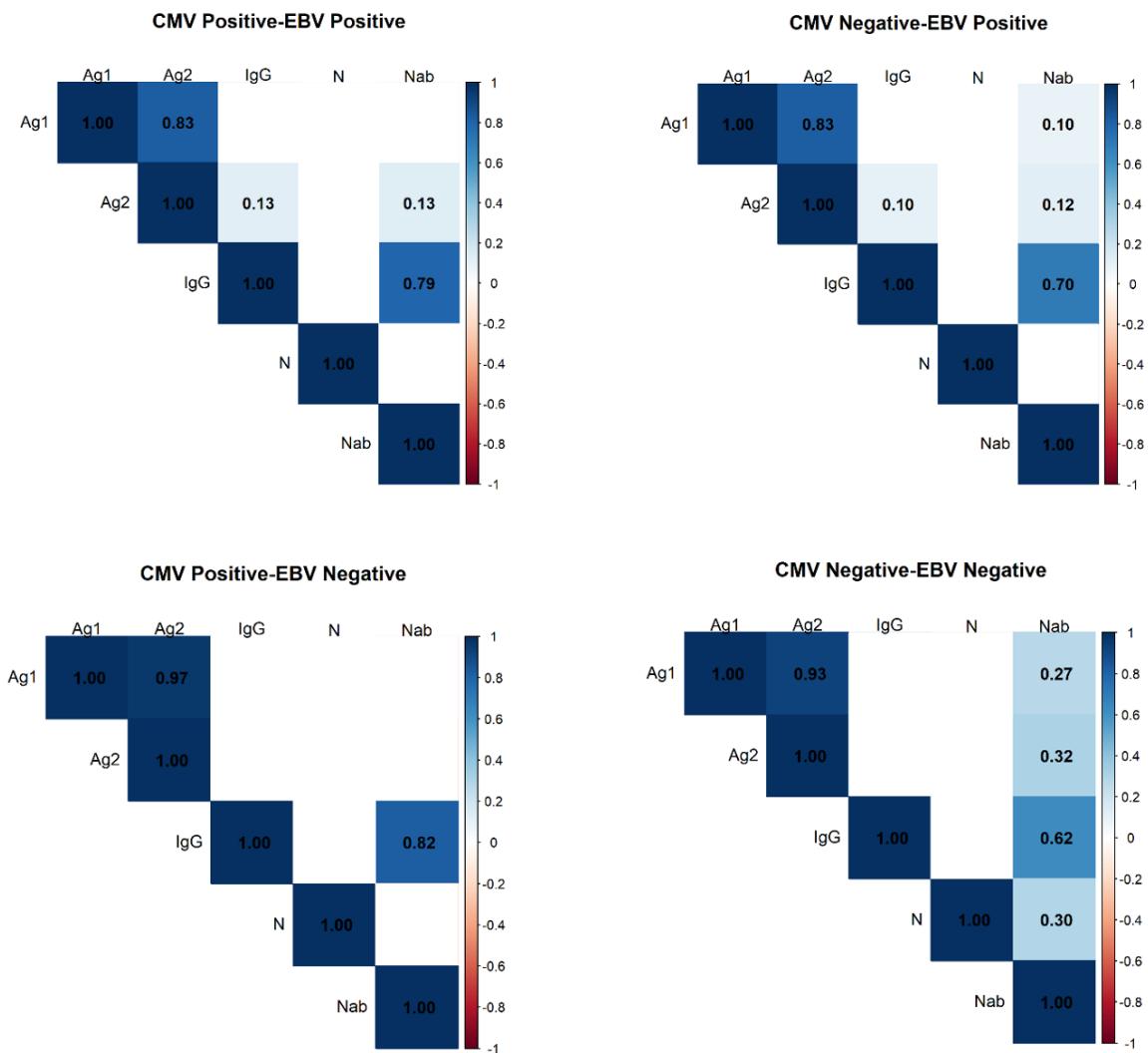


Figure 9. Corrélations entre les mesures d'anticorps selon les statuts sérologiques EBV et CMV

### 3.4. MODÈLES LINÉAIRES À EFFETS MIXTES

Un modèle linéaire à effets mixtes a été utilisé afin de tenir compte des mesures répétées par individu et de modéliser l'évolution des réponses immunitaires au fil du temps, tout en considérant l'effet aléatoire lié à l'hétérogénéité interindividuelle. Dans ce cadre, une

exposition est définie comme tout événement susceptible de stimuler la réponse immunitaire, incluant une primo-vaccination (P), une infection naturelle (I), un premier rappel vaccinal (B) ou un second rappel (X). Il est important de noter que les analyses présentées ici n'ont pas été stratifiées selon le type d'exposition (infection versus vaccination). Cette absence de distinction pourrait masquer des différences de réponses immunitaires liées à la nature de l'exposition et sera discutée comme une limite méthodologique.

Pour l'ensemble des marqueurs immunitaires analysés (LTAg1, LTAg2, IgG anti-Spike, anticorps neutralisants), les modèles ont mis en évidence deux dynamiques complémentaires : une augmentation des niveaux mesurés après chaque nouvelle exposition, et une diminution progressive en fonction du temps écoulé depuis l'exposition. Cette tendance a été observée de manière systématique à travers les différentes phases d'exposition, de la première à la quatrième. La décroissance liée au temps était statistiquement significative dans la quasi-totalité des analyses, à l'exception de LTAg1 après la première exposition et des anticorps neutralisants après la quatrième<sup>1</sup>, où la diminution restait présente mais non significative.

### 3.4.1. Facteurs influençant la réponse T cellulaire (Ag1) après exposition au SARS-CoV-2

Lors de la **première exposition**, deux facteurs cliniques se démarquent. Premièrement, les fumeurs ont présenté des niveaux de lymphocytes T à l'encontre d'Ag1 (LTAg1) significativement plus élevés (+1,86 unités ; IC 95 % : 1,07–2,65 ; p = 0,0001). Deuxièmement, on observe chez les participants ayant des antécédents d'hypertension une réponse LTAg1 plus importante ( $\beta = 0,97$  ; IC 95 % : 0,35–1,60 ; p = 0,0071). Bien que le diabète ait été associé à une hausse de la réponse LTAg1 en analyse univariée, cette association disparaît après ajustement. En revanche, la séropositivité EBV a montré une association fortement négative avec ce taux ( $\beta = -0,63$  ; IC 95 % : -0,91 à -0,36 ; p = 0,0002), suggérant un effet délétère de l'EBV sur la réponse cellulaire au SARS-CoV-2.

Après la **deuxième exposition**, le tabagisme reste un facteur associé à une réponse plus élevée ( $\beta = 0,62$  ; IC 95 % : 0,25–0,98 ; p = 0,0011).

---

<sup>1</sup> LTAg1 après la première exposition :  $\beta = -0,001$ ,  $p = 0,304$  ; anticorps neutralisants après la quatrième exposition :  $\beta = -0,0003$ ,  $p = 0,311$

Aucune autre variable ne montre d'effet significatif à la **troisième exposition**, bien qu'une tendance négative pour l'EBV persiste ( $p = 0,103$ ). Enfin, aucune variable n'est associée de manière significative à la réponse LTAg1 à la **quatrième exposition**.

### 3.4.2. Facteurs influençant la réponse T cellulaire (Ag2) après exposition au SARS-CoV-2

Lors de la **première exposition**, le tabagisme est associé à des niveaux significativement plus élevés de lymphocytes T dirigés contre Ag2 ( $\beta = 1,51$  ; IC 95 % : 0,46–2,56 ;  $p = 0,010$ ). La séropositivité EBV est, quant à elle, associée négativement à cette réponse ( $\beta = -0,525$  ; IC 95 % : -0,971 à -0,080 ;  $p = 0,031$ ), suggérant un impact défavorable dès les premières stimulations.

À la **deuxième exposition**, le tabagisme reste un facteur prédictif d'une réponse accrue ( $\beta = 1,13$  ; IC 95 % : 0,60–1,65 ;  $p < 0,001$ ), tandis qu'aucune autre variable, y compris l'EBV, le CMV ou les comorbidités, n'est associée aux niveaux de LTAg2.

À la **troisième exposition**, le sexe masculin apparaît comme un facteur significativement associé à une réponse plus élevée ( $\beta = 0,38$  ; IC 95 % : 0,11–0,65 ;  $p = 0,0068$ ).

Enfin, à la **quatrième exposition**, aucune variable n'est significativement liée à la réponse LTAg2, bien qu'une tendance non significative soit observée pour le groupe d'exposition PIBI ( $\beta = -0,798$  ;  $p = 0,090$ ).

### 3.4.3. Facteurs influençant le taux des anticorps neutralisants après exposition au SARS-CoV-2

Après la **première exposition**, trois facteurs sont associés à une réponse humorale réduite : l'âge ( $\beta = -0,026$  ;  $p < 0,001$ ), le tabagisme ( $\beta = -0,315$  ;  $p = 0,027$ ) et la séropositivité EBV ( $\beta = -0,299$  ;  $p = 0,032$ ). De plus, les individus vaccinés présentent des taux de Nab plus faibles que ceux ayant été infectés naturellement ( $\beta = -0,448$  ;  $p = 0,008$ ).

À la **deuxième exposition**, les effets négatifs de l'EBV ( $\beta = -0,162$  ;  $p = 0,037$ ) et du CMV ( $\beta = -0,249$  ;  $p = 0,025$ ) persistent, bien que l'augmentation du nombre d'expositions tende à atténuer ces différences. Les vaccins à ARNm, en particulier Moderna (mRNA-1273) et Pfizer (BNT162b2), sont associés à des titres plus élevés que les vaccins à ADN ( $p < 0,001$ ). Les rappels de type PI entraînent également une élévation marquée des Nab ( $\beta = 1,373$  ;  $p < 0,001$ ).

Lors de la **troisième exposition**, seuls les vaccins à ARNm conservent un effet significatif (Moderna :  $\beta = 0,532$  ; Pfizer :  $\beta = 0,518$ ), tandis que les autres facteurs, dont l'âge, le statut viral et le tabagisme, ne sont plus associés aux taux de Nab.

Enfin, à la **quatrième exposition**, plusieurs profils d'exposition hétérologues (IPBX, PBII, PBIX, PBXI, PIBX) restent associés à des niveaux de Nab significativement plus élevés ( $\beta$  de 1,136 à 1,875 ;  $p < 0,05$ ), confirmant l'impact des schémas vaccinaux mixtes sur l'amplification humorale. Une primo-vaccination avec Moderna continue de produire des titres plus élevés que Janssen ( $\beta = 0,763$  ;  $p = 0,012$ ), bien que l'effet global de la plateforme ARNm s'atténue ( $p = 0,510$ ).

#### 3.4.4. Facteurs influençant le taux d'IgG anti-Spike après exposition au SARS-CoV-2

Après la **première exposition**, plusieurs facteurs cliniques sont associés à des niveaux plus faibles d'IgG anti-Spike : l'âge ( $\beta = -0,036$  ;  $p < 0,001$ ), l'hypertension ( $\beta = -0,611$  ;  $p = 0,006$ ) et le diabète ( $\beta = -1,117$  ;  $p = 0,034$ ). La séropositivité EBV et CMV présente un effet négatif en analyse univariée, mais ces associations ne restent pas significatives après ajustement ( $p = 0,122$  et  $p = 0,284$ ). Aucune différence n'est observée entre les participants infectés et ceux ayant reçu une vaccination primaire ( $p = 0,75$ ).

Lors de la **deuxième exposition**, l'hypertension devient positivement associée aux taux d'IgG ( $\beta = 0,298$  ;  $p = 0,047$ ). Les primo-vaccinations avec les vaccins ARNm induisent des réponses nettement supérieures à celles des vaccins à ADN, avec un effet plus marqué pour Moderna ( $\beta = 1,230$  ;  $p < 0,001$ ), suivi de Pfizer ( $\beta = 0,800$  ;  $p < 0,001$ ). Globalement, les vaccins ARNm augmentent significativement les taux d'IgG ( $\beta = 0,652$  ;  $p < 0,001$ ). Les rappels (PB) ont un effet amplificateur marqué, avec des hausses d'IgG  $\beta = 1,332$  ( $p < 0,001$ ).

À la **troisième exposition**, le sexe masculin est significativement associé à des niveaux plus élevés ( $\beta = 0,193$  ;  $p = 0,020$ ), tandis que le tabagisme présente une tendance inverse non significative ( $p = 0,067$ ). Les primo-vaccinations avec les vaccins à ARNm continuent de se distinguer, avec une augmentation moyenne de  $\beta = 0,614$  ( $p < 0,001$ ). Les vaccins Moderna et Pfizer conservent un effet positif, contrairement à ChAdOx1 (AstraZeneca). Aucune différence n'est observée entre les profils d'exposition à ce stade.

Enfin, à la **quatrième exposition**, l'hypertension reste un facteur favorable ( $\beta = 0,712$  ;  $p = 0,016$ ) et l'âge est cette fois associé à des niveaux légèrement plus élevés ( $\beta = 0,021$  ;  $p = 0,002$ ). La primo-vaccination avec Moderna continue de générer des titres plus élevés que Janssen ( $\beta = 1,422$  ;  $p = 0,016$ ), tandis que Pfizer et AstraZeneca montrent des tendances positives sans franchir le seuil de significativité. Enfin, certains profils d'exposition, notamment PBIX ( $\beta = 2,194$  ;  $p = 0,009$ ) et PIBX ( $\beta = 1,865$  ;  $p = 0,032$ ), sont associés aux titres IgG les plus élevés, confirmant l'effet immunogène des schémas vaccinaux hétérologues.

## **4. DISCUSSION**

### **4.1. RÉSUMÉ DES RÉSULTATS PRINCIPAUX**

Cette étude visait à explorer l'impact des infections latentes à l'EBV et au CMV sur la réponse immunitaire dirigée contre le SARS-CoV-2, ainsi que leur association avec l'apparition de symptômes post-infectieux ou post-vaccinaux. Les résultats confirment que les réponses humorales et cellulaires (anticorps neutralisants, IgG anti-Spike, réponses T Ag1/Ag2) sont amplifiées après chaque nouvelle exposition, qu'il s'agisse d'une infection ou d'une vaccination. Toutefois, ces réponses diminuent progressivement avec le temps écoulé depuis la dernière stimulation. La séropositivité à l'EBV est associée à une réponse immunitaire significativement altérée, avec une réduction marquée des réponses T et humorales, en particulier après la première exposition. En revanche, le CMV présente un effet plus limité, avec seulement quelques associations négatives ponctuelles. Sur le plan clinique, les participants séropositifs pour l'EBV présentent une fréquence accrue de certains symptômes dans les trois semaines suivant l'infection, notamment des myalgies, une toux sèche persistante et une fatigue prolongée. Ces tendances appuient l'hypothèse d'une implication des herpèsvirus dans la modulation de la réponse post-infectieuse. Aucun lien significatif n'a été observé entre le statut CMV et les symptômes post-infectieux ou post-vaccinaux.

### **4.2. ASSOCIATION ENTRE LA SÉROPOSITIVITÉ EBV/CMV ET LA RÉPONSE IMMUNITAIRE AU SARS-CoV-2**

#### **4.2.1. Réponse humorale (anticorps neutralisants et IgG anti-Spike)**

Les résultats de cette étude mettent en évidence une association significative entre la séropositivité à l'EBV et une diminution de la réponse humorale spécifique au SARS-CoV-2, particulièrement marquée après la première et la deuxième exposition aux antigènes viraux (qu'il s'agisse d'une infection ou d'une vaccination). Les taux d'anticorps neutralisants (Nab) apparaissent significativement plus faibles chez les individus EBV. Cette tendance s'observe également, quoique de manière plus modeste, pour les concentrations d'IgG anti-Spike, suggérant un effet défavorable global de l'infection latente à l'EBV sur le niveau de la réponse humorale.

À l'inverse, la séropositivité au CMV est associée à des effets plus discrets et ponctuels. Une diminution significative des anticorps neutralisants est observée uniquement lors de la deuxième exposition, mais cette association ne persiste pas au-delà. Les IgG anti-Spike ne semblent pas significativement influencées par le statut CMV, et aucun effet cumulatif n'est observé après les expositions successives. Ces résultats suggèrent que, contrairement à l'EBV, le CMV n'exerce qu'un effet transitoire sur la réponse humorale.

Ces observations s'inscrivent dans la continuité de plusieurs travaux ayant documenté l'impact potentiel de l'EBV sur l'immunité adaptative. Certaines études ont montré que l'EBV établit sa latence dans les lymphocytes B mémoire et peut altérer leur fonction, notamment en perturbant leur capacité à générer des anticorps de haute affinité (26,35,36,105). Par ailleurs, la réactivation de l'EBV a été fréquemment observée dans les suites d'une infection par le SARS-CoV-2, notamment chez des patients hospitalisés pour des formes modérées à sévères de COVID-19 (92,95,106,107). Cette réactivation virale pourrait contribuer à une réponse inflammatoire exacerbée ou dérégulée, nuisant à la qualité de la réponse humorale spécifique.

Enfin, des travaux récents suggèrent que des taux plus élevés d'anticorps dirigés contre les antigènes précoces de l'EBV (notamment EA-D) sont associés à la persistance de symptômes post-infectieux, appuyant l'hypothèse d'un rôle immunomodulateur de l'EBV dans les suites de l'infection à SARS-CoV-2 (108,109). Ces hypothèses physiopathologiques sont compatibles avec les résultats observés dans notre cohorte, et soulignent l'intérêt de mieux comprendre le rôle des infections virales latentes dans la modulation de la mémoire immunitaire humorale.

Il convient également de noter qu'à la quatrième exposition au SARS-CoV-2, une inversion de l'association entre l'âge et les taux d'IgG anti-Spike a été observée, avec des niveaux légèrement plus élevés chez les participants plus âgés. Ce résultat, bien que modeste, suggère qu'un schéma vaccinal complet ou des rappels récents pourraient compenser l'effet habituel de l'immunosénescence sur la réponse humorale.

#### 4.2.2. Réponse cellulaire (LTAg1 et LTAg2)

L'analyse des réponses cellulaires spécifiques au SARS-CoV-2, évaluées par les réponses des lymphocytes T à l'encontre des mixes de peptides Ag1 et Ag2, révèle une association négative significative avec le statut sérologique EBV dès la première exposition. Cette diminution est

observable de manière constante pour les deux mesures, suggérant un affaiblissement précoce de la réponse T chez les individus séropositifs pour l'EBV. Cette tendance persiste, bien que de façon atténuée, lors des expositions ultérieures, ce qui pourrait traduire une influence prolongée de l'infection latente sur la dynamique de la réponse immunitaire cellulaire.

En revanche, aucun lien significatif n'a été observé entre le statut CMV et les réponses LTAg1/Ag2, ce qui laisse supposer que l'effet du CMV sur l'immunité T spécifique est, dans cette cohorte, moins marqué que celui observé pour l'EBV.

Plusieurs mécanismes physiopathologiques pourraient expliquer cette association défavorable. L'EBV est connu pour sa capacité à perturber l'homéostasie des lymphocytes T CD8+ et à favoriser un état d'activation chronique, pouvant mener à un phénomène d'épuisement fonctionnel des cellules T (35,36). De surcroît, une réactivation virale au moment de l'exposition au SARS-CoV-2 pourrait détourner une partie des ressources immunitaires vers une réponse dirigée contre l'EBV, au détriment de la réponse spécifique au nouveau pathogène.

Des études antérieures ont mis en évidence l'impact des infections virales latentes sur la plasticité du compartiment T cellulaire, en particulier dans le contexte du CMV et de l'EBV. Ces virus peuvent induire une expansion clonale prolongée de certaines sous-populations de lymphocytes T mémoire, altérant ainsi la diversité du répertoire et la capacité de réponse à de nouveaux antigènes (47,49,56). Dans ce contexte, nos résultats soutiennent l'idée que la latence de l'EBV, bien que cliniquement silencieuse, pourrait entraîner des conséquences immunologiques mesurables et durables, en particulier en période de stress immunitaire tel qu'une infection ou une vaccination.

#### **4.3. ÉVOLUTION DES MARQUEURS IMMUNITAIRES EN FONCTION DU NOMBRE D'EXPOSITIONS**

L'évolution des marqueurs immunitaires spécifiques au SARS-CoV-2 a été évaluée en fonction du nombre d'expositions, qu'il s'agisse d'une infection, d'une vaccination ou d'un booster. Les résultats montrent que les réponses humorales (anticorps neutralisants et IgG anti-Spike) et cellulaires (LTAg1, LTAg2) augmentent après chaque exposition, puis diminuent progressivement avec le temps, dès la première stimulation. Ce déclin est particulièrement marqué après la première et la deuxième exposition, avant de s'atténuer légèrement à partir de la troisième. Après la quatrième exposition, l'effet du temps n'est plus significatif pour

certains marqueurs, ce qui pourrait refléter une stabilisation de la réponse immunitaire ou un effet plafond des stimulations antigéniques successives.

Ces données corroborent les observations issues d'autres cohortes longitudinales montrant une décroissance rapide des anticorps après l'infection ou la vaccination, notamment en l'absence de rappel vaccinal (110,111). Le maintien d'une réponse immunitaire efficace dans le temps semble donc dépendre fortement de la répétition des expositions antigéniques, ce qui justifie les recommandations en faveur des rappels vaccinaux, en particulier chez les populations à risque.

Parmi les variables influençant cette évolution, l'âge avancé et la séropositivité EBV se révèlent systématiquement associés à des niveaux plus faibles d'anticorps neutralisants et à une diminution des réponses T. Cette observation suggère que certains facteurs virologiques ou démographiques pourraient compromettre la durabilité de la réponse immunitaire, même en présence d'un schéma vaccinal complet. Le statut CMV, quant à lui, n'apparaît significativement associé à une diminution des anticorps qu'après la deuxième exposition, sans effet persistant par la suite.

Un résultat notable concerne le tabagisme, qui est associé de manière inattendue à des réponses T (LTAg1 et LTAg2) plus élevées dans les modèles multivariés. Ce résultat, déjà rapporté dans quelques études récentes, pourrait refléter un biais lié à une activation chronique du système immunitaire chez les fumeurs, bien que l'interprétation de cet effet reste délicate sur le plan physiopathologique (112,113).

Enfin, les différences observées selon le type de primovaccination confirment l'efficacité supérieure des vaccins à ARNm (Pfizer-BioNTech et Moderna) par rapport aux vaccins à vecteur adénoviral (Janssen) et ce, en particulier en terme d'induction d'anticorps neutralisants. Cette observation renforce les données issues des essais cliniques initiaux, ainsi que les recommandations des agences sanitaires en faveur de rappels à base d'ARNm.

#### **4.4. SYMPTÔMES POST-INFECTIEUX ET STATUT EBV/CMV**

L'analyse des symptômes cliniques recueillis au cours des trois semaines suivant l'infection par le SARS-CoV-2 met en évidence une tendance à une fréquence accrue de certains symptômes chez les individus séropositifs pour l'EBV. Ces participants rapportent notamment plus de

myalgies dès la première semaine, ainsi qu'une toux sèche et une fatigue persistante jusqu'à la troisième semaine. Bien que toutes les associations n'atteignent pas le seuil de significativité statistique, la répétition de ces tendances à différents points de mesure suggère une possible influence du statut EBV sur l'intensité ou la durée de certains symptômes aigus.

Ces résultats rejoignent ceux d'études récentes ayant mis en évidence une réactivation fréquente de l'EBV après une infection par le SARS-CoV-2, en particulier chez les patients hospitalisés ou présentant un COVID long (92–95). La présence d'anticorps dirigés contre l'antigène précoce de l'EBV (EA-D), marqueur indirect d'une réactivation virale, a été associée à des symptômes persistants, tels que la fatigue, les douleurs musculaires ou les troubles cognitifs (108,109). Ces données renforcent l'idée selon laquelle l'EBV pourrait contribuer à un état d'inflammation chronique ou de dérégulation immunitaire prolongée, favorisant ainsi la persistance symptomatique chez certains individus.

En revanche, le statut sérologique vis-à-vis du CMV ne semble pas influencer significativement la survenue ou la persistance des symptômes post-infectieux dans cette cohorte. Quelques associations ponctuelles ont été observées (notamment une fréquence plus élevée de myalgies à la troisième semaine), mais elles restent isolées et ne montrent pas de tendance cohérente dans le temps. Cela suggère que, contrairement à l'EBV, le CMV joue un rôle plus marginal, voire inexistant, dans la symptomatologie post-infectieuse liée au SARS-CoV-2 dans cette population.

Ces observations plaident en faveur d'une exploration plus approfondie du rôle des infections virales persistantes dans la physiopathologie de l'infection à SARS-CoV-2.

#### **4.5. SYMPTÔMES POST-VACCINAUX ET STATUT EBV/CMV**

Contrairement à ce qui est observé dans le contexte post-infectieux, aucune association significative n'a été mise en avant entre le statut sérologique vis-à-vis de l'EBV ou du CMV et la survenue de symptômes dans les jours suivant la vaccination contre le SARS-CoV-2. Les effets secondaires les plus fréquemment rapportés, notamment la fatigue, les céphalées et les douleurs musculaires, apparaissent répartis de manière relativement homogène entre les sous-groupes, quelle que soit la séropositivité pour l'un ou l'autre de ces herpès-virus.

Ces résultats suggèrent que, dans cette cohorte, les infections virales latentes n'exercent pas d'influence notable sur les effets indésirables post-vaccinaux à court terme. Cela pourrait s'expliquer par des mécanismes immunologiques distincts entre la réponse vaccinale, plus ciblée et contrôlée, et la réponse à une infection virale active, plus systémique et prolongée.

#### 4.6. LIMITES DE L'ÉTUDE

Plusieurs limites doivent être prises en compte dans l'interprétation des résultats de cette étude. Tout d'abord, la nature rétrospective et observationnelle de l'analyse ne permet pas d'établir de relation causale entre le statut sérologique vis-à-vis de l'EBV ou du CMV et les paramètres immunitaires ou cliniques observés. Les associations mises en évidence reflètent des corrélations statistiques, mais ne peuvent exclure l'intervention de facteurs confondants non mesurés.

Par ailleurs, le statut infectieux EBV/CMV a été évalué uniquement sur base sérologique, sans données virologiques directes (comme la détection d'ADN viral par PCR) permettant de confirmer une éventuelle réactivation au moment de l'infection ou de la vaccination. Cette limite restreint l'interprétation dynamique de leur rôle, bien qu'il soit reconnu que ces virus, même à l'état latent, peuvent moduler les réponses immunitaires.

Ensuite, l'évaluation des symptômes post-infectieux et post-vaccinaux repose sur des données auto-déclarées, ce qui peut introduire un biais de mémorisation ou de subjectivité dans la perception et la déclaration des signes cliniques. L'absence de recueil de symptômes au-delà de trois semaines post-infection ne permet pas d'évaluer de manière formelle l'émergence de syndromes prolongés ou persistants.

En outre, les modèles n'ont pas été stratifiés selon le type d'exposition (infection naturelle vs vaccination), ce qui pourrait masquer des différences de cinétique ou d'intensité dans la réponse immunitaire selon la nature du stimulus. Bien que cette approche ait permis de maximiser la puissance statistique, elle constitue une limite méthodologique, en particulier si l'on considère que certaines études ont montré des profils de réponses distincts entre immunité post-infectieuse et post-vaccinale.

Enfin, la taille de certains sous-groupes, notamment les individus EBV-négatifs ou CMV-négatifs, est relativement limitée. Cela peut restreindre la puissance statistique des

comparaisons effectuées et limiter la généralisation des résultats, en particulier pour les analyses stratifiées.

Malgré ces limites, cette étude présente l'intérêt d'explorer, au sein d'une cohorte bien caractérisée, des interactions peu documentées entre des infections virales latentes fréquentes et la réponse immunitaire vis-à-vis du SARS-CoV-2.

#### **4.7. CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

---

Cette étude met en lumière l'existence de liens entre certaines infections virales latentes, en particulier l'EBV, et la modulation de la réponse immunitaire spécifique au SARS-CoV-2. L'association entre la séropositivité EBV et une diminution des réponses humorales et cellulaires, notamment après les premières expositions, suggère un impact défavorable de ce virus sur la qualité et la persistance de l'immunité adaptative. En parallèle, une fréquence accrue de certains symptômes post-infectieux a été observée chez les individus EBV-positifs dans les semaines suivant l'infection, renforçant l'hypothèse d'une interaction entre virus latent et réponse inflammatoire aiguë.

Ces résultats soulignent l'importance de tenir compte des infections virales latentes dans l'étude des réponses immunitaires au SARS-CoV-2 et invitent à explorer leur rôle potentiel dans la persistance des symptômes. Il serait particulièrement pertinent de prolonger le recueil des données cliniques au-delà des premières semaines post-infection, afin d'évaluer la contribution éventuelle de l'EBV ou du CMV à l'installation d'un syndrome post-COVID, notamment dans le cadre du COVID long. Une telle approche permettrait d'étudier plus finement l'évolution des symptômes et d'identifier les profils à risque de séquelles prolongées.

À ce titre, des études prospectives intégrant des marqueurs virologiques dynamiques, une caractérisation immunologique approfondie, ainsi qu'un suivi clinique à long terme apparaissent nécessaires pour élucider les mécanismes impliqués. Il pourrait également être envisagé d'intégrer le statut vis-à-vis des herpèsvirus dans des modèles prédictifs de réponse vaccinale ou de complications post-infectieuses.

En conclusion, cette étude renforce l'idée que le terrain immunologique préexistant, façonné notamment par les infections virales persistantes, constitue un élément déterminant de la réponse à de nouveaux agents pathogènes. Sa prise en compte pourrait contribuer, à terme,

à une meilleure personnalisation des stratégies de prévention, de vaccination et de suivi post-infectieux, et s'inscrit dans une logique de renforcement des outils de santé publique face aux défis posés par les pathogènes émergents et les syndromes post-viraux complexes.

## 5. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. WHO Data [Internet]. [cited 2025 May 25]. WHO COVID-19 dashboard. Available from: <https://data.who.int/dashboards/covid19/cases>
2. Chen B, Julg B, Mohandas S, Bradfute SB, RECOVER Mechanistic Pathways Task Force. Viral persistence, reactivation, and mechanisms of long COVID. *eLife*. 2023 May 4;12:e86015.
3. Brodin P, Davis MM. Human immune system variation. *Nat Rev Immunol*. 2017 Jan;17(1):21–9.
4. Simon AK, Hollander GA, McMichael A. Evolution of the immune system in humans from infancy to old age. *Proc R Soc B*. 2015 Dec 22;282(1821):20143085.
5. Dowling DJ, Levy O. Ontogeny of early life immunity. *Trends in Immunology*. 2014 Jul;35(7):299–310.
6. Furman D, Hejblum BP, Simon N, Jovic V, Dekker CL, Thiébaut R, et al. Systems analysis of sex differences reveals an immunosuppressive role for testosterone in the response to influenza vaccination. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2014 Jan 14;111(2):869–74.
7. Cutolo M, Sulli A, Capellino S, Villaggio B, Montagna P, Seriolo B, et al. Sex hormones influence on the immune system: basic and clinical aspects in autoimmunity. *Lupus*. 2004 Sep;13(9):635–8.
8. Kimman TG, Vandebriel RJ, Hoebee B. Genetic Variation in the Response to Vaccination. *Public Health Genomics*. 2007;10(4):201–17.
9. Schork NJ, Fallin D, Lanchbury JS. Single nucleotide polymorphisms and the future of genetic epidemiology. *Clinical Genetics*. 2000 Oct;58(4):250–64.
10. Vignal A, Milan D, SanCristobal M, Eggen A. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genet Sel Evol*. 2002 Jun;34(3):275.
11. Haralambieva IH, Salk HM, Lambert ND, Ovsyannikova IG, Kennedy RB, Warner ND, et al. Associations between race, sex and immune response variations to rubella vaccination in two independent cohorts. *Vaccine*. 2014 Apr;32(17):1946–53.

12. Junkin M, Kaestli AJ, Cheng Z, Jordi C, Albayrak C, Hoffmann A, et al. High-Content Quantification of Single-Cell Immune Dynamics. *Cell Reports*. 2016 Apr;15(2):411–22.
13. Avraham R, Haseley N, Brown D, Penaranda C, Jijon HB, Trombetta JJ, et al. Pathogen Cell-to-Cell Variability Drives Heterogeneity in Host Immune Responses. *Cell*. 2015 Sep;162(6):1309–21.
14. Liston A, Carr EJ, Linterman MA. Shaping Variation in the Human Immune System. *Trends in Immunology*. 2016 Oct;37(10):637–46.
15. Virgin HW, Wherry EJ, Ahmed R. Redefining Chronic Viral Infection. *Cell*. 2009 Jul;138(1):30–50.
16. Brodin P, Jovic V, Gao T, Bhattacharya S, Angel CJL, Furman D, et al. Variation in the Human Immune System Is Largely Driven by Non-Heritable Influences. *Cell*. 2015 Jan;160(1–2):37–47.
17. Thomas S, Rouilly V, Patin E, Alanio C, Dubois A, Delval C, et al. The Milieu Intérieur study — An integrative approach for study of human immunological variance. *Clinical Immunology*. 2015 Apr;157(2):277–93.
18. Julia V, Macia L, Dombrowicz D. The impact of diet on asthma and allergic diseases. *Nat Rev Immunol*. 2015 May;15(5):308–22.
19. Lasselin J, Alvarez-Salas E, Grigoleit JS. Well-being and immune response: a multi-system perspective. *Current Opinion in Pharmacology*. 2016 Aug;29:34–41.
20. Carr EJ, Dooley J, Garcia-Perez JE, Lagou V, Lee JC, Wouters C, et al. The cellular composition of the human immune system is shaped by age and cohabitation. *Nat Immunol*. 2016 Apr;17(4):461–8.
21. Gjevestad GO, Holven KB, Ulven SM. Effects of Exercise on Gene Expression of Inflammatory Markers in Human Peripheral Blood Cells: A Systematic Review. *Curr Cardiovasc Risk Rep*. 2015 Jul;9(7):34.
22. Nono JK, Kamdem SD, Musaigwa F, Nnaji CA, Brombacher F. Influence of schistosomiasis on host vaccine responses. *Trends in Parasitology*. 2022 Jan;38(1):67–79.

23. Vatanen T, Kostic AD, d'Hennezel E, Siljander H, Franzosa EA, Yassour M, et al. Variation in Microbiome LPS Immunogenicity Contributes to Autoimmunity in Humans. *Cell*. 2016 May;165(4):842–53.
24. Narayan NR, Méndez-Lagares G, Ardeshir A, Lu D, Van Rompay KKA, Hartigan-O'Connor DJ. Persistent effects of early infant diet and associated microbiota on the juvenile immune system. *Gut Microbes*. 2015 Jul 4;6(4):284–9.
25. Harris VC, Armah G, Fuentes S, Korpela KE, Parashar U, Victor JC, et al. Significant Correlation Between the Infant Gut Microbiome and Rotavirus Vaccine Response in Rural Ghana. *The Journal of Infectious Diseases*. 2017 Jan 1;215(1):34–41.
26. Speck SH, Ganem D. Viral Latency and Its Regulation: Lessons from the γ-Herpesviruses. *Cell Host & Microbe*. 2010 Jul;8(1):100–15.
27. Traylen CM, Patel HR, Fondaw W, Mahatme S, Williams JF, Walker LR, et al. Virus Reactivation: a Panoramic View in Human Infections. *Future Virol*. 2011 Apr;6(4):451–63.
28. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) [Internet]. 2023. Taxonomy Browser. Available from: <https://ictv.global/taxonomy>
29. Wang Y, Yu J, Pei Y. Identifying the key regulators orchestrating Epstein-Barr virus reactivation. *Front Microbiol*. 2024 Dec 5;15:1505191.
30. Shenk TE, Stinski MF, editors. *Human Cytomegalovirus* [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2008 [cited 2022 Dec 4]. (Compans RW, Cooper MD, Honjo T, Koprowski H, Melchers F, Oldstone MBA, et al., editors. *Current Topics in Microbiology and Immunology*; vol. 325). Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-540-77349-8>
31. Pasquier C, Bertagnoli S, Dunia D, Izopet J. *Virologie humaine et zoonoses*. Paris: DUNOD; 2013.
32. Maguire C, Chen J, Roush N, Pickering H, Phan HV, Glascock A, et al. Chronic Viral Reactivation and Associated Host Immune Response and Clinical Outcomes in Acute COVID-19 and Post-Acute Sequelae of COVID-19 [Internet]. *Immunology*; 2024 [cited 2025 Apr 18]. Available from: <http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/2024.11.14.622799>

33. Young LS, Rickinson AB. Epstein–Barr virus: 40 years on. *Nat Rev Cancer*. 2004 Oct;4(10):757–68.
34. Thorley-Lawson DA, Gross A. Persistence of the Epstein–Barr Virus and the Origins of Associated Lymphomas. *N Engl J Med*. 2004 Mar 25;350(13):1328–37.
35. Khalesi Z, Tamrchi V, Razizadeh MH, Letafati A, Moradi P, Habibi A, et al. Association between human herpesviruses and multiple sclerosis: A systematic review and meta-analysis. *Microbial Pathogenesis*. 2023 Apr;177:106031.
36. Soldan SS, Lieberman PM. Epstein–Barr virus and multiple sclerosis. *Nat Rev Microbiol*. 2023 Jan;21(1):51–64.
37. Su Y, Yuan D, Chen DG, Ng RH, Wang K, Choi J, et al. Multiple early factors anticipate post-acute COVID-19 sequelae. *Cell*. 2022 Mar;185(5):881-895.e20.
38. Lupo J, Truffot A, Andreani J, Habib M, Germi R, Morand P. Les marqueurs virologiques des cancers associés au virus d'Epstein-Barr. *Revue Francophone des Laboratoires*. 2024 Jan;2024(558):35–45.
39. Mesri EA, Feitelson MA, Munger K. Human viral oncogenesis: a cancer hallmarks analysis. *Cell Host Microbe*. 2014 Mar 12;15(3):266–82.
40. Machiels B, Dourcy M, Xiao X, Javaux J, Mesnil C, Sabatel C, et al. A gammaherpesvirus provides protection against allergic asthma by inducing the replacement of resident alveolar macrophages with regulatory monocytes. *Nat Immunol*. 2017 Dec 1;18(12):1310–20.
41. gandhi2004.pdf.
42. Sijmons S, Thys K, Mbong Ngwese M, Van Damme E, Dvorak J, Van Loock M, et al. High-Throughput Analysis of Human Cytomegalovirus Genome Diversity Highlights the Widespread Occurrence of Gene-Disrupting Mutations and Pervasive Recombination. Hutt-Fletcher L, editor. *J Virol*. 2015 Aug;89(15):7673–95.
43. Abiteboul D. L'infection à cytomégalovirus : où en est-on ? *MISE AU POINT*. 2020;10.
44. Schäffer L, Ochsenbein N, Boulvain M, Baud D, Raio L, Duppenthaler A, et al. Cytomégalovirus (CMV) et grossesse. 2016 Jun;4.

45. Goodrum F, Caviness K, Zagallo P. Human cytomegalovirus persistence: HCMV persistence. *Cellular Microbiology*. 2012 May;14(5):644–55.
46. Sinclair J, Sissons P. Latency and reactivation of human cytomegalovirus. *Journal of General Virology*. 2006 Jul 1;87(7):1763–79.
47. Soderberg-Naucler C. Does cytomegalovirus play a causative role in the development of various inflammatory diseases and cancer? *J Intern Med*. 2006 Mar;259(3):219–46.
48. Freeman, Jr. RB. The ‘Indirect’ Effects of Cytomegalovirus Infection. *American Journal of Transplantation*. 2009 Nov;9(11):2453–8.
49. Goodrum F. Human Cytomegalovirus Latency: Approaching the Gordian Knot. *Annu Rev Virol*. 2016 Sep 29;3(1):333–57.
50. Soderberg-Naucler - 2006 - Does cytomegalovirus play a causative role in the .pdf.
51. Gandhi MK, Khanna R. Human cytomegalovirus: clinical aspects, immune regulation, and emerging treatments. *The Lancet Infectious Diseases*. 2004 Dec;4(12):725–38.
52. Muhlestein JB, Anderson JL. Infectious Serology and Atherosclerosis: How Burdensome Is the Risk? *Circulation*. 2003 Jan 21;107(2):220–2.
53. Rahbar A, Söderberg-Nauclér C. Human Cytomegalovirus Infection of Endothelial Cells Triggers Platelet Adhesion and Aggregation. *J Virol*. 2005 Feb 15;79(4):2211–20.
54. Zhu J, Quyyumi AA, Norman JE, Csako G, Epstein SE. Cytomegalovirus in the pathogenesis of atherosclerosis. *Journal of the American College of Cardiology*. 1999 Nov;34(6):1738–43.
55. Bamoulid J, Carron C, Crépin T, Saas P, Ducloux D. Implications cliniques de l’immunosénescence dans les maladies rénales chroniques. *Med Sci (Paris)*. 2015 May;31(5):484–6.
56. Faist B, Fleischer B, Jacobsen M. Cytomegalovirus Infection- and Age-Dependent Changes in Human CD8<sup>+</sup> T-Cell Cytokine Expression Patterns. *Clin Vaccine Immunol*. 2010 Jun;17(6):986–92.

57. Hornef MW, Bein G, Fricke L, Steinhoff J, Wagner HJ, Hinderer W, et al. COINCIDENCE OF EPSTEIN-BARR VIRUS REACTIVATION, CYTOMEGALOVIRUS INFECTION, AND REJECTION EPISODES IN RENAL TRANSPLANT RECIPIENTS: *Transplantation*. 1995 Sep;60(5):474–80.
58. Scheinberg P, Fischer SH, Li L, Nunez O, Wu CO, Sloand EM, et al. Distinct EBV and CMV reactivation patterns following antibody-based immunosuppressive regimens in patients with severe aplastic anemia. *Blood*. 2007 Apr 15;109(8):3219–24.
59. Kugelberg E. Virus boosts protection. *Nat Rev Immunol*. 2015 May;15(5):269–269.
60. Furman D, Jovic V, Sharma S, Shen-Orr SS, Angel CJL, Onengut-Gumuscu S, et al. Cytomegalovirus infection enhances the immune response to influenza. *Sci Transl Med*. 2015 Apr 1;7(281):281ra43.
61. l'Agence fédérale des médicaments et des produits de santé (AFMPS) [Internet]. l'Agence fédérale des médicaments et des produits de santé (AFMPS). Available from: [https://www.afmps.be/fr/humain/medicaments/medicaments/covid\\_19/vaccins](https://www.afmps.be/fr/humain/medicaments/medicaments/covid_19/vaccins)
62. Fiolet T, Kherabi Y, MacDonald CJ, Ghosn J, Peiffer-Smadja N. Comparing COVID-19 vaccines for their characteristics, efficacy and effectiveness against SARS-CoV-2 and variants of concern: a narrative review. *Clinical Microbiology and Infection*. 2022 Feb;28(2):202–21.
63. Bettini E, Locci M. SARS-CoV-2 mRNA Vaccines: Immunological Mechanism and Beyond. *Vaccines*. 2021 Feb 12;9(2):147.
64. Mendonça SA, Lorincz R, Boucher P, Curiel DT. Adenoviral vector vaccine platforms in the SARS-CoV-2 pandemic. *npj Vaccines*. 2021 Aug 5;6(1):97.
65. Provine NM, Klenerman P. Adenovirus vector and mRNA vaccines: Mechanisms regulating their immunogenicity. *Eur J Immunol*. 2023 Jun;53(6):2250022.
66. Tabynov K, Turebekov N, Babayeva M, Fomin G, Yerubayev T, Yespolov T, et al. An adjuvanted subunit SARS-CoV-2 spike protein vaccine provides protection against Covid-19 infection and transmission. *npj Vaccines*. 2022 Feb 23;7(1):24.

67. Mai F, Kordt M, Bergmann-Ewert W, Reisinger EC, Müller-Hilke B. NVX-CoV2373 induces humoral and cellular immune responses that are functionally comparable to vector and mRNA-based vaccines. *Front Immunol*. 2024 Mar 18;15:1359475.
68. Kirtipal N, Bharadwaj S, Kang SG. From SARS to SARS-CoV-2, insights on structure, pathogenicity and immunity aspects of pandemic human coronaviruses. *Infection, Genetics and Evolution*. 2020 Nov;85:104502.
69. Koonin EV, Krupovic M, Agol VI. The Baltimore Classification of Viruses 50 Years Later: How Does It Stand in the Light of Virus Evolution? *Microbiol Mol Biol Rev*. 2021 Aug 18;85(3):e00053-21.
70. Bai C, Zhong Q, Gao GF. Overview of SARS-CoV-2 genome-encoded proteins. *Sci China Life Sci*. 2022 Feb;65(2):280–94.
71. Sher EK, Ćosović A, Džidić-Krivić A, Farhat EK, Pinjić E, Sher F. Covid-19 a triggering factor of autoimmune and multi-inflammatory diseases. *Life Sciences*. 2023 Apr;319:121531.
72. Harari S, Tahor M, Rutsinsky N, Meijer S, Miller D, Henig O, et al. Drivers of adaptive evolution during chronic SARS-CoV-2 infections. *Nat Med*. 2022 Jul;28(7):1501–8.
73. OMS. Organisation mondiale de la Santé. [cited 2025 May 20]. Suivi des variants du SARS-CoV-2. Available from: <https://www.who.int/fr/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants>
74. 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 Feb 20;382(8):727–33.
75. Wiersinga WJ, Rhodes A, Cheng AC, Peacock SJ, Prescott HC. Pathophysiology, Transmission, Diagnosis, and Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. *JAMA*. 2020 Aug 25;324(8):782.
76. Khan M, Yoo SJ, Clijsters M, Backaert W, Vanstapel A, Speleman K, et al. Visualizing in deceased COVID-19 patients how SARS-CoV-2 attacks the respiratory and olfactory mucosae but spares the olfactory bulb. *Cell*. 2021 Nov;184(24):5932-5949.e15.

77. Hou YJ, Okuda K, Edwards CE, Martinez DR, Asakura T, Dinnon KH, et al. SARS-CoV-2 Reverse Genetics Reveals a Variable Infection Gradient in the Respiratory Tract. *Cell*. 2020 Jul;182(2):429-446.e14.
78. Gupta A, Madhavan MV, Sehgal K, Nair N, Mahajan S, Sehrawat TS, et al. Extrapulmonary manifestations of COVID-19. *Nat Med*. 2020 Jul;26(7):1017–32.
79. Chen Y, Klein SL, Garibaldi BT, Li H, Wu C, Osevala NM, et al. Aging in COVID-19: Vulnerability, immunity and intervention. *Ageing Research Reviews*. 2021 Jan;65:101205.
80. Harrison AG, Lin T, Wang P. Mechanisms of SARS-CoV-2 Transmission and Pathogenesis. *Trends in Immunology*. 2020 Dec;41(12):1100–15.
81. Lamers MM, Haagmans BL. SARS-CoV-2 pathogenesis. *Nat Rev Microbiol*. 2022 May;20(5):270–84.
82. Sievers BL, Cheng MTK, Csiba K, Meng B, Gupta RK. SARS-CoV-2 and innate immunity: the good, the bad, and the “goldilocks.” *Cell Mol Immunol*. 2023 Nov 20;21(2):171–83.
83. Boechat JL, Chora I, Morais A, Delgado L. The immune response to SARS-CoV-2 and COVID-19 immunopathology – Current perspectives. *Pulmonology*. 2021 Sep 30;27(5):423–37.
84. Huang J, Hume AJ, Abo KM, Werder RB, Villacorta-Martin C, Alyssandratos KD, et al. SARS-CoV-2 Infection of Pluripotent Stem Cell-Derived Human Lung Alveolar Type 2 Cells Elicits a Rapid Epithelial-Intrinsic Inflammatory Response. *Cell Stem Cell*. 2020 Dec;27(6):962-973.e7.
85. Castanheira FVS, Kubes P. Neutrophils during SARS-CoV -2 infection: Friend or foe? *Immunological Reviews*. 2023 Mar;314(1):399–412.
86. Delorey TM, Ziegler CGK, Heimberg G, Normand R, Yang Y, Segerstolpe Å, et al. COVID-19 tissue atlases reveal SARS-CoV-2 pathology and cellular targets. *Nature*. 2021 Jul 1;595(7865):107–13.
87. Al-Samkari H, Karp Leaf RS, Dzik WH, Carlson JCT, Fogerty AE, Waheed A, et al. COVID-19 and coagulation: bleeding and thrombotic manifestations of SARS-CoV-2 infection. *Blood*. 2020 Jul 23;136(4):489–500.

88. Yu ED, Narowski TM, Wang E, Garrigan E, Mateus J, Frazier A, et al. Immunological memory to common cold coronaviruses assessed longitudinally over a three-year period pre-COVID19 pandemic. *Cell Host & Microbe*. 2022 Sep;30(9):1269-1278.e4.
89. Melms JC, Biermann J, Huang H, Wang Y, Nair A, Tagore S, et al. A molecular single-cell lung atlas of lethal COVID-19. *Nature*. 2021 Jul 1;595(7865):114–9.
90. Zubchenko S, Kril I, Nadizhko O, Matsyura O, Chopyak V. Herpesvirus infections and post-COVID-19 manifestations: a pilot observational study. *Rheumatol Int*. 2022 Sep;42(9):1523–30.
91. Brooks B, Tancredi C, Song Y, Mogus AT, Huang MLW, Zhu H, et al. Epstein–Barr Virus and Human Herpesvirus-6 Reactivation in Acute COVID-19 Patients. *Viruses*. 2022 Aug 25;14(9):1872.
92. Chen T, Song J, Liu H, Zheng H, Chen C. Positive Epstein–Barr virus detection in coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients. *Sci Rep*. 2021 May 25;11(1):10902.
93. Paolucci S, Cassaniti I, Novazzi F, Fiorina L, Piralla A, Comolli G, et al. EBV DNA increase in COVID-19 patients with impaired lymphocyte subpopulation count. *International Journal of Infectious Diseases*. 2021 Mar;104:315–9.
94. Simonnet A, Engelmann I, Moreau AS, Garcia B, Six S, El Kalioubie A, et al. High incidence of Epstein–Barr virus, cytomegalovirus, and human-herpes virus-6 reactivations in critically ill patients with COVID-19. *Infectious Diseases Now*. 2021 May;51(3):296–9.
95. Libert N, Bigaillon C, Chargari C, Bensalah M, De Rudnicki S, Muller V, et al. Epstein-Barr virus reactivation in critically ill immunocompetent patients. *Biomed J*. 2015;38(1):70.
96. Wang C, Ramasamy A, Verduzco-Gutierrez M, Brode WM, Melamed E. Acute and post-acute sequelae of SARS-CoV-2 infection: a review of risk factors and social determinants. *Virol J*. 2023 Jun 16;20(1):124.
97. Smith P, Charafeddine R, Drieskens S, De Pauw R, De Ridder K, Demarest S, et al. Etude COVIMPACT - Infection COVID-19 et ses implications physiques, mentales et sociales à long terme : résultats du suivi à 3 et 6 mois suivant l'infection [Internet]. Sciensano; 2022 [cited 2024 Aug 6]. Available from: <https://www.sciensano.be/node/68937>

98. Akbarialiabad H, Taghrir MH, Abdollahi A, Ghahramani N, Kumar M, Paydar S, et al. Long COVID, a comprehensive systematic scoping review. *Infection*. 2021 Dec;49(6):1163–86.
99. Mantovani A, Morrone MC, Patrono C, Santoro MG, Schiaffino S, Remuzzi G, et al. Long Covid: where we stand and challenges ahead. *Cell Death Differ* [Internet]. 2022 Sep 7 [cited 2024 May 22]; Available from: <https://www.nature.com/articles/s41418-022-01052-6>
100. Taquet M, Skorniewska Z, De Deyn T, Hampshire A, Trender WR, Hellyer PJ, et al. Cognitive and psychiatric symptom trajectories 2–3 years after hospital admission for COVID-19: a longitudinal, prospective cohort study in the UK. *The Lancet Psychiatry*. 2024 Sep;11(9):696–708.
101. Mendelson M, Nel J, Blumberg L, Madhi SA, Dryden M, Stevens W, et al. Long-COVID: An evolving problem with an extensive impact. *S Afr Med J*. 2020 Nov 23;111(1):10.
102. Altmann DM, Whettlock EM, Liu S, Arachchillage DJ, Boyton RJ. The immunology of long COVID. *Nat Rev Immunol*. 2023 Oct;23(10):618–34.
103. Altmann DM, Whettlock EM, Liu S, Arachchillage DJ, Boyton RJ. The immunology of long COVID. *Nat Rev Immunol*. 2023 Oct;23(10):618–34.
104. Donneau AF, Guillaume M, Bours V, Dandoy M, Darcis G, Desmecht D, et al. University population-based prospective cohort study of SARS-CoV-2 infection and immunity (SARSSURV-ULiège): a study protocol. *BMJ Open*. 2022 Jan;12(1):e055721.
105. Su Y, Yuan D, Chen DG, Ng RH, Wang K, Choi J, et al. Multiple early factors anticipate post-acute COVID-19 sequelae. *Cell*. 2022 Mar;185(5):881-895.e20.
106. Paolucci S, Cassaniti I, Novazzi F, Fiorina L, Piralla A, Comolli G, et al. EBV DNA increase in COVID-19 patients with impaired lymphocyte subpopulation count. *Int J Infect Dis*. 2021 Mar;104:315–9.
107. Simonnet A, Engelmann I, Moreau AS, Garcia B, Six S, El Kalioubie A, et al. High incidence of Epstein–Barr virus, cytomegalovirus, and human-herpes virus-6 reactivations in critically ill patients with COVID-19. *Infectious Diseases Now*. 2021 May;51(3):296–9.

108. Gold JE, Okyay RA, Licht WE, Hurley DJ. Investigation of Long COVID Prevalence and Its Relationship to Epstein-Barr Virus Reactivation. *Pathogens*. 2021 Jun 17;10(6):763.
109. Peluso MJ, Deveau TM, Munter SE, Ryder D, Buck A, Beck-Engeser G, et al. Chronic viral coinfections differentially affect the likelihood of developing long COVID. *Journal of Clinical Investigation*. 2023 Feb 1;133(3):e163669.
110. Watanabe A, Iwagami M, Yasuhara J, Takagi H, Kuno T. Protective effect of COVID-19 vaccination against long COVID syndrome: A systematic review and meta-analysis. *Vaccine*. 2023 Mar;41(11):1783–90.
111. Harvey WT, Carabelli AM, Jackson B, Gupta RK, Thomson EC, Harrison EM, et al. SARS-CoV-2 variants, spike mutations and immune escape. *Nat Rev Microbiol*. 2021 Jul;19(7):409–24.
112. Qiu F, Liang CL, Liu H, Zeng YQ, Hou S, Huang S, et al. Impacts of cigarette smoking on immune responsiveness: Up and down or upside down? *Oncotarget*. 2017 Jan 3;8(1):268–84.
113. Saint-André V, Charbit B, Biton A, Rouilly V, Possémé C, Bertrand A, et al. Smoking changes adaptive immunity with persistent effects. *Nature*. 2024 Feb 22;626(8000):827–35.

## 6. ANNEXES

### Annexe 1 : Protocole de réalisation des tests ELISA

1. Les échantillons sériques ont été dilués dans une plaque Deepwell à 1:100 en ajoutant 10 µL de sérum à 990 µL de solution de dilution (DILB), conformément aux instructions du fabricant. Chaque dilution a été soigneusement homogénéisée avant le transfert dans les plaques de microtitration.
2. Un volume de 100 µL de chaque échantillon dilué a été déposé dans les puits des plaques ELISA, préalablement revêtus d'anticorps spécifiques du cytomégalovirus (CMV) ou du virus Epstein-Barr (EBV). Les contrôles fournis (positif, négatif et standard) ont été placés dans des puits distincts.
  - A1 = Blanc de substrat
  - B1 = Contrôle négatif
  - C1 = Sérum standard 2
  - D1 = Sérum standard 1
  - E1 = Contrôle négatif
3. Les plaques ont été incubées pendant 60 minutes à 37 °C dans une chambre humide, afin de permettre la fixation des anticorps éventuellement présents dans les échantillons aux antigènes fixés.
4. Un lavage a ensuite été effectué, consistant en quatre cycles de rinçage avec 300 µL de solution de lavage par puits, pour éliminer les anticorps non spécifiques.
5. Après cette étape, 100 µL d'un anticorps secondaire anti-IgG humain conjugué à la phosphatase alcaline ont été ajoutés dans chaque puits, permettant de révéler les anticorps fixés lors de l'incubation précédente.
6. Une seconde incubation de 30 minutes à 37 °C a été réalisée, toujours en chambre humide.
7. Un nouveau lavage en quatre cycles a été effectué, selon la même procédure que précédemment.
8. Un volume de 100 µL de substrat enzymatique (pNPP) a été ajouté dans chaque puits. Ce substrat génère une coloration jaune en présence de phosphatase alcaline, proportionnelle à la concentration d'anticorps dans l'échantillon.
9. Les plaques ont ensuite été incubées pendant 30 minutes supplémentaires à 37 °C.
10. La réaction a été stoppée par l'ajout de 100 µL de solution d'arrêt dans chaque puits.
11. La lecture des plaques a été réalisée à 405 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques, dans les minutes suivant l'ajout de la solution d'arrêt.

## Annexe 2 : description des données.

Variable (EN)	Variable (FR)	Type de variable
TypeParticipant	Type de participant	Catégorielle nominale
Gender	Sexe	Catégorielle nominale
AgeFirstSample	Âge au premier prélèvement	Quantitative continue
Smoking	Tabagisme	Binaire
BMI	IMC (Indice de Masse Corporelle)	Quantitative continue
BloodGroup	Groupe sanguin	Catégorielle nominale
Rhesus	Facteur Rhésus	Catégorielle nominale
Diabetes	Diabète	Binaire
Hypertension	Hypertension	Binaire
HeartFailure	Insuffisance cardiaque	Binaire
StrokeHistory	Antécédent d'AVC	Binaire
LungDisease	Maladie pulmonaire	Binaire
Asthma	Asthme	Binaire
AutoimmuneDisease	Maladie auto-immune	Catégorielle
Immunodeficiency	Immunodéficience	Binaire
PrimaryVaccination	Type de vaccin primaire	Catégorielle nominale
VaxBrand	Marque du vaccin	Catégorielle nominale
NumberOfExposures	Nombre d'expositions	Quantitative discrète
NeutralizingAntibodies	Anticorps neutralisants	Quantitative continue
AntiSpikeIgG	IgG anti-Spike	Quantitative continue
Ag1	Réponse LT envers Ag 1	Quantitative continue
Ag2	Réponse LT envers Ag 2	Quantitative continue
SignalNucleocapsid	Signal nucléocapside	Quantitative continue
ResultNucleocapsid	Résultat nucléocapside	Binaire
Anosmia	Anosmie	Binaire
Fatigue	Fatigue	Binaire
Fever	Fièvre	Binaire
Ageusia	Agueusie	Binaire
Headache	Céphalées	Binaire
Diarrhea	Diarrhée	Binaire
SoreThroat	Douleur pharyngée	Binaire
ChestPain	Douleurs thoraciques	Binaire
DyspneaEffort	Dyspnée à l'effort	Binaire
DyspneaRest	Dyspnée au repos	Binaire
Myalgia	Myalgies	Binaire
Nausea	Nausées	Binaire
ParesthesiaDysesthesia	Paresthésies / Dysesthésies	Binaire
LossOfAppetite	Perte d'appétit	Binaire
MemoryLoss	Perte de mémoire	Binaire
Rhinorrhea	Rhinorrhée	Binaire
ConfusionalSyndrome	Syndrome confusionnel	Binaire
WetCough	Toux grasse	Binaire
DryCough	Toux sèche	Binaire
Vomiting	Vomissements	Binaire

### Annexe 3

**Tableau II. Descriptives of the population, overall and by EBV status.**

Variables	Categories	EBV negative (N=115)	EBV positive (N=963)	Overall (N=1078)	p-value
Type Participant	<b>Student</b>	<b>77 (67.0%)</b>	<b>312 (32.4%)</b>	<b>389 (36.1%)</b>	<b>&lt;0.001<sup>b</sup></b>
	<b>Staff</b>	<b>38 (33.0%)</b>	<b>651 (67.6%)</b>	<b>689 (63.9%)</b>	
Gender	<b>Female</b>	<b>59 (51.3%)</b>	<b>596 (61.9%)</b>	<b>655 (60.8%)</b>	<b>0.036<sup>b</sup></b>
	<b>Male</b>	<b>56 (48.7%)</b>	<b>367 (38.1%)</b>	<b>423 (39.2%)</b>	
Age at first blood sample	<b>Mean (SD)</b>	<b>31.4 (11.2)</b>	<b>43.3 (14.6)</b>	<b>42.0 (14.7)</b>	<b>0.003<sup>a</sup></b>
	<b>Median [Q1, Q3]</b>	<b>27.5 [23.1, 34.4]</b>	<b>43.7 [29.4, 54.5]</b>	<b>41.0 [28.0, 53.7]</b>	
Smoking	No	109 (94.8%)	875 (90.9%)	984 (91.3%)	0.217 <sup>b</sup>
	Yes	6 (5.2%)	88 (9.1%)	94 (8.7%)	
BMI (kg/m^2)	<b>Mean (SD)</b>	<b>23.7 (3.61)</b>	<b>24.8 (12.7)</b>	<b>24.7 (12.0)</b>	<b>0.035<sup>a</sup></b>
	<b>Median [Q1, Q3]</b>	<b>22.9 [21.1, 25.3]</b>	<b>23.5 [21.0, 26.3]</b>	<b>23.4 [21.0, 26.3]</b>	
Blood Group	O	43 (37.4%)	338 (35.1%)	381 (35.3%)	0.204 <sup>c</sup>
	A	34 (29.6%)	376 (39.0%)	410 (38.0%)	
	B	10 (8.7%)	64 (6.6%)	74 (6.9%)	
	AB	3 (2.6%)	34 (3.5%)	37 (3.4%)	
	missing	25 (21.7%)	151 (15.7%)	176 (16.3%)	
Rhesus	Positive(+)	70 (60.9%)	641 (66.6%)	711 (66.0%)	0.296 <sup>b</sup>
	Negative(-)	17 (14.8%)	145 (15.1%)	162 (15.0%)	

	Unknown	28 (24.3%)	177 (18.4%)	205 (19.0%)	
Diabete	No	111 (100%)	923 (98.1%)	1034 (98.3%)	0.244 <sup>c</sup>
	Yes	0 (0%)	18 (1.9%)	18 (1.7%)	
	Missing	4 (3.5%)	22 (2.3%)	26 (2.4%)	
Hypertension	No	104 (94.5%)	862 (92.1%)	966 (92.4%)	0.468 <sup>b</sup>
	Yes	6 (5.5%)	74 (7.9%)	80 (7.6%)	
	Missing	5 (4.3%)	27 (2.8%)	32 (3.0%)	
Insuffisance Cardiac	No	112 (100%)	933 (99.0%)	1045 (99.1%)	0.608 <sup>c</sup>
	Yes	0 (0%)	9 (1.0%)	9 (0.9%)	
	Missing	3 (2.6%)	21 (2.2%)	24 (2.2%)	
Antecedent Avc	No	114 (100%)	953 (99.2%)	1067 (99.3%)	0.999 <sup>c</sup>
	Yes	0 (0%)	8 (0.8%)	8 (0.7%)	
	Missing	1 (0.9%)	2 (0.2%)	3 (0.3%)	
Maladie Pulmonaire	No	108 (96.4%)	942 (98.6%)	1050 (98.4%)	0.093 <sup>c</sup>
	Yes	4 (3.6%)	13 (1.4%)	17 (1.6%)	
	Missing	3 (2.6%)	8 (0.8%)	11 (1.0%)	
Asthma	No	102 (90.3%)	853 (90.3%)	955 (90.3%)	0.999 <sup>b</sup>
	Yes	11 (9.7%)	92 (9.7%)	103 (9.7%)	
	Missing	2 (1.7%)	18 (1.9%)	20 (1.9%)	
Auto-immune disease	0	106 (96.4%)	898 (94.5%)	1004 (94.7%)	0.555 <sup>b</sup>
	1	4 (3.6%)	52 (5.5%)	56 (5.3%)	
	Missing	5 (4.3%)	13 (1.4%)	18 (1.7%)	

Immunodeficiency	No	106 (98.1%)	937 (99.8%)	1043 (99.6%)	0.055 <sup>c</sup>
	Yes	2 (1.9%)	2 (0.2%)	4 (0.4%)	
	Missing	7 (6.1%)	24 (2.5%)	31 (2.9%)	
<b>Primary vaccination</b>	<b>DNA</b>	<b>7 (6.5%)</b>	<b>168 (18.0%)</b>	<b>175 (16.8%)</b>	<b>0.0037<sup>b</sup></b>
	<b>mRNA</b>	<b>101 (93.5%)</b>	<b>765 (82.0%)</b>	<b>866 (83.2%)</b>	
	<b>Missing</b>	<b>7 (6.1%)</b>	<b>30 (3.1%)</b>	<b>37 (3.4%)</b>	
<b>Vax brand</b>	<b>ChAdOx1</b>	<b>5 (4.6%)</b>	<b>141 (15.1%)</b>	<b>146 (14.0%)</b>	<b>0.010<sup>c</sup></b>
	<b>mRNA_1273</b>	<b>7 (6.5%)</b>	<b>61 (6.5%)</b>	<b>68 (6.5%)</b>	
	<b>BNT162b2</b>	<b>94 (87.0%)</b>	<b>704 (75.5%)</b>	<b>798 (76.7%)</b>	
	<b>Ad26.Cov2.S</b>	<b>2 (1.9%)</b>	<b>27 (2.9%)</b>	<b>29 (2.8%)</b>	
	<b>Missing</b>	<b>7 (6.1%)</b>	<b>30 (3.1%)</b>	<b>37 (3.4%)</b>	
<b>Number of exposures</b>	<b>1</b>	<b>21 (20.2%)</b>	<b>117 (13.3%)</b>	<b>138 (14.0%)</b>	<b>0.037<sup>c</sup></b>
	<b>2</b>	<b>35 (33.7%)</b>	<b>222 (25.2%)</b>	<b>257 (26.1%)</b>	
	<b>3</b>	<b>37 (35.6%)</b>	<b>366 (41.5%)</b>	<b>403 (40.9%)</b>	
	<b>4</b>	<b>9 (8.7%)</b>	<b>152 (17.3%)</b>	<b>161 (16.3%)</b>	
	<b>5</b>	<b>2 (1.9%)</b>	<b>23 (2.6%)</b>	<b>25 (2.5%)</b>	
	<b>6</b>	<b>0 (0%)</b>	<b>1 (0.1%)</b>	<b>1 (0.1%)</b>	
	<b>Missing</b>	<b>11 (9.6%)</b>	<b>82 (8.5%)</b>	<b>93 (8.6%)</b>	
Neutralizing Antibodies	Mean (SD)	205 (256)	227 (286)	225 (283)	0.385 <sup>a</sup>
	Median [Q1, Q3]	80.0 [40.0, 320]	80.0 [40.0, 320]	80.0 [40.0, 320]	
Neutralizing Antibodies	0	11 (9.6%)	135 (14.0%)	146 (13.5%)	0.496 <sup>b</sup>

	20	11 (9.6%)	85 (8.8%)	96 (8.9%)	
	40	17 (14.8%)	133 (13.8%)	150 (13.9%)	
	80	24 (20.9%)	140 (14.5%)	164 (15.2%)	
	160	18 (15.7%)	176 (18.3%)	194 (18.0%)	
	320	19 (16.5%)	131 (13.6%)	150 (13.9%)	
	640	9 (7.8%)	91 (9.4%)	100 (9.3%)	
	1000	6 (5.2%)	72 (7.5%)	78 (7.2%)	
Anti-Spike IgG	Mean (SD)	3430 (4960)	3550 (5050)	3540 (5040)	0.810 <sup>a</sup>
	Median [Q1, Q3]	1600 [626, 4200]	1720 [507, 4820]	1690 [523, 4740]	
Ag1	Mean (SD)	0.977 (1.13)	0.897 (1.20)	0.905 (1.19)	0.538 <sup>a</sup>
	Median [Q1, Q3]	0.660 [0.300, 1.04]	0.500 [0.200, 1.11]	0.510 [0.200, 1.11]	
	Missing	30 (26.1%)	173 (18.0%)	203 (18.8%)	
Ag2	Mean (SD)	1.37 (1.45)	1.30 (1.69)	1.31 (1.66)	0.708 <sup>a</sup>
	Median [Q1, Q3]	0.970 [0.430, 1.69]	0.680 [0.310, 1.64]	0.710 [0.320, 1.66]	
	Missing	30 (26.1%)	173 (18.0%)	203 (18.8%)	
Signal Nucleocapside	Mean (SD)	33.1 (183)	40.3 (378)	39.5 (363)	0.731 <sup>a</sup>
	Median [Q1, Q3]	0.0730 [0.0700, 0.324]	0.0730 [0.0700, 2.44]	0.0730 [0.0700, 2.00]	
Result Nucleocapside	No	91 (79.1%)	728 (75.6%)	819 (76.0%)	0.469 <sup>b</sup>
	Yes	24 (20.9%)	235 (24.4%)	259 (24.0%)	

<sup>a</sup>t-test; <sup>b</sup>chi-square test; <sup>c</sup>fisher's exact test;

#### Annexe 4

**Tableau III. Descriptives of the population, overall and by CMV status.**

Variables	Categories	CMV negative (N=594)	CMV positive (N=485)	Overall (N=1079)	p-value	
Type Participant	Student	229 (38.6%)	163 (33.6%)	392 (36.3%)	0.106 <sup>b</sup>	
	Staff	365 (61.4%)	322 (66.4%)	687 (63.7%)		
Gender	Female	353 (59.4%)	300 (61.9%)	653 (60.5%)	0.453 <sup>b</sup>	
	Male	241 (40.6%)	185 (38.1%)	426 (39.5%)		
Age at first blood sample	Mean (SD)	<b>40.8 (14.6)</b>	<b>43.6 (14.8)</b>	<b>42.0 (14.8)</b>	<b>0.002<sup>a</sup></b>	
	Median [Q1, Q3]	38.6 [27.3, 51.9]	43.7 [29.4, 56.0]	41.0 [27.9, 53.8]		
Smoking	No	542 (91.2%)	444 (91.5%)	986 (91.4%)	0.947 <sup>b</sup>	
	Yes	52 (8.8%)	41 (8.5%)	93 (8.6%)		
BMI (kg/m^2)	Mean (SD)	24.4 (7.28)	25.1 (16.0)	24.7 (12.0)	0.363 <sup>a</sup>	
	Median [Q1, Q3]	23.3 [20.9, 26.3]	23.7 [21.2, 26.3]	23.4 [21.0, 26.3]		
Blood Group	O	210 (35.4%)	171 (35.3%)	381 (35.3%)	0.027 <sup>b</sup>	
	A	233 (39.2%)	180 (37.1%)	413 (38.3%)		
	B	45 (7.6%)	29 (6.0%)	74 (6.9%)		
	AB	11 (1.9%)	26 (5.4%)	37 (3.4%)		
	missing	95 (16.0%)	79 (16.3%)	174 (16.1%)		
	Rhesus	Positive(+)	389 (65.5%)	321 (66.2%)	710 (65.8%)	0.969 <sup>b</sup>
		Negative(-)	92 (15.5%)	73 (15.1%)	165 (15.3%)	

	Unknown	113 (19.0%)	91 (18.8%)	204 (18.9%)	
Diabete	No	563 (98.1%)	470 (98.3%)	1033 (98.2%)	0.950 <sup>b</sup>
	Yes	11 (1.9%)	8 (1.7%)	19 (1.8%)	
	Missing	20 (3.4%)	7 (1.4%)	27 (2.5%)	
Hypertension	No	539 (92.8%)	426 (91.4%)	965 (92.2%)	0.487 <sup>b</sup>
	Yes	42 (7.2%)	40 (8.6%)	82 (7.8%)	
	Missing	13 (2.2%)	19 (3.9%)	32 (3.0%)	
Insuffisance Cardiac	No	577 (99.1%)	468 (98.9%)	1045 (99.1%)	0.579 <sup>c</sup>
	Yes	5 (0.9%)	5 (1.1%)	10 (0.9%)	
	Missing	12 (2.0%)	12 (2.5%)	24 (2.2%)	
Antecedent Avc	No	589 (99.5%)	479 (99.0%)	1068 (99.3%)	0.478 <sup>c</sup>
	Yes	3 (0.5%)	5 (1.0%)	8 (0.7%)	
	Missing	2 (0.3%)	1 (0.2%)	3 (0.3%)	
Maladie Pulmonaire	No	579 (98.8%)	472 (97.9%)	1051 (98.4%)	0.369 <sup>b</sup>
	Yes	7 (1.2%)	10 (2.1%)	17 (1.6%)	
	Missing	8 (1.3%)	3 (0.6%)	11 (1.0%)	
Asthma	No	526 (90.1%)	431 (90.7%)	957 (90.4%)	0.793 <sup>b</sup>
	Yes	58 (9.9%)	44 (9.3%)	102 (9.6%)	
	Missing	10 (1.7%)	10 (2.1%)	20 (1.9%)	
Auto-immune disease	0	545 (93.6%)	459 (96.0%)	1004 (94.7%)	0.112 <sup>b</sup>
	1	37 (6.4%)	19 (4.0%)	56 (5.3%)	
	Missing	12 (2.0%)	7 (1.4%)	19 (1.8%)	

Immunodeficiency	0	579 (99.5%)	465 (99.8%)	1044 (99.6%)	0.633 <sup>c</sup>
	1	3 (0.5%)	1 (0.2%)	4 (0.4%)	
	Missing	12 (2.0%)	19 (3.9%)	31 (2.9%)	
Primary vaccination	DNA	93 (16.2%)	85 (18.2%)	178 (17.1%)	0.451 <sup>b</sup>
	mRNA	481 (83.8%)	383 (81.8%)	864 (82.9%)	
	Missing	20 (3.4%)	17 (3.5%)	37 (3.4%)	
Vax brand	ChAdOx1	79 (13.8%)	69 (14.7%)	148 (14.2%)	0.106 <sup>b</sup>
	mRNA_1273	46 (8.0%)	21 (4.5%)	67 (6.4%)	
	BNT162b2	435 (75.8%)	362 (77.4%)	797 (76.5%)	
	Ad26.Cov2.S	14 (2.4%)	16 (3.4%)	30 (2.9%)	
	Missing	20 (3.4%)	17 (3.5%)	37 (3.4%)	
Number of exposures	1	69 (12.8%)	68 (15.2%)	137 (13.9%)	0.586 <sup>c</sup>
	2	147 (27.2%)	107 (24.0%)	254 (25.8%)	
	3	226 (41.9%)	181 (40.6%)	407 (41.3%)	
	4	85 (15.7%)	78 (17.5%)	163 (16.5%)	
	5	13 (2.4%)	11 (2.5%)	24 (2.4%)	
	6	0 (0%)	1 (0.2%)	1 (0.1%)	
	Missing	54 (9.1%)	39 (8.0%)	93 (8.6%)	
Neutralizing Antibodies	Mean (SD)	223 (270)	228 (302)	225 (285)	0.766 <sup>a</sup>
	Median [Q1, Q3]	160 [40.0, 320]	80.0 [20.0, 320]	80.0 [40.0, 320]	
Neutralizing Antibodies	0	74 (12.5%)	73 (15.1%)	147 (13.6%)	0.052 <sup>b</sup>
	20	46 (7.7%)	50 (10.3%)	96 (8.9%)	

	40	86 (14.5%)	62 (12.8%)	148 (13.7%)	
	80	87 (14.6%)	80 (16.5%)	167 (15.5%)	
	160	112 (18.9%)	81 (16.7%)	193 (17.9%)	
	320	96 (16.2%)	53 (10.9%)	149 (13.8%)	
	640	57 (9.6%)	42 (8.7%)	99 (9.2%)	
	1000	36 (6.1%)	44 (9.1%)	80 (7.4%)	
Anti-Spike IgG	Mean (SD)	3610 (5100)	3450 (4980)	3540 (5050)	0.615 <sup>a</sup>
	Median [Q1, Q3]	1760 [582, 4770]	1610 [449, 4520]	1670 [521, 4720]	
Ag1	Mean (SD)	0.883 (1.19)	0.924 (1.19)	0.901 (1.19)	0.618 <sup>a</sup>
	Median [Q1, Q3]	0.500 [0.200, 0.995]	0.510 [0.220, 1.20]	0.500 [0.200, 1.11]	
	Missing	107 (18.0%)	95 (19.6%)	202 (18.7%)	
Ag2	Mean (SD)	1.27 (1.60)	1.36 (1.74)	1.31 (1.66)	0.471 <sup>a</sup>
	Median [Q1, Q3]	0.710 [0.310, 1.58]	0.685 [0.330, 1.70]	0.710 [0.320, 1.66]	
	Missing	107 (18.0%)	95 (19.6%)	202 (18.7%)	
Signal Nucleocapside	Mean (SD)	47.9 (444)	29.3 (225)	39.5 (362)	0.374 <sup>a</sup>
	Median [Q1, Q3]	0.0730 [0.0700, 0.982]	0.0740 [0.0700, 3.84]	0.0730 [0.0700, 1.98]	
Result Nucleocapside	No	459 (77.3%)	361 (74.4%)	820 (76.0%)	0.310 <sup>b</sup>
	Yes	135 (22.7%)	124 (25.6%)	259 (24.0%)	

<sup>a</sup>t-test; <sup>b</sup>chi-square test; <sup>c</sup>fisher's exact test;

**Annexe 5 :**

**Tableau IV. Symptoms Prevalence at the first day of infection, overall and by CMV status**

		Overall (N=531)	Negative (N=286)	Positive (N=245)	P-value <sup>a</sup>
Anosmie	Presence	466 (87.8%)	253 (88.5%)	213 (86.9%)	0.594
	Absence	65 (12.2%)	33 (11.5%)	32 (13.1%)	
Fatigue	Presence	135 (25.4%)	67 (23.4%)	68 (27.8%)	0.253
	Absence	396 (74.6%)	219 (76.6%)	177 (72.2%)	
Fievre	Presence	318 (59.9%)	164 (57.3%)	154 (62.9%)	0.196
	Absence	213 (40.1%)	122 (42.7%)	91 (37.1%)	
Agueusie	Presence	464 (87.4%)	251 (87.8%)	213 (86.9%)	0.776
	Absence	67 (12.6%)	35 (12.2%)	32 (13.1%)	
Cephalees	Presence	211 (39.7%)	111 (38.8%)	100 (40.8%)	0.638
	Absence	320 (60.3%)	175 (61.2%)	145 (59.2%)	
Diarrhee	Presence	470 (88.5%)	254 (88.8%)	216 (88.2%)	0.815
	Absence	61 (11.5%)	32 (11.2%)	29 (11.8%)	
Douleur Pharyngee	Presence	192 (36.2%)	110 (38.5%)	82 (33.5%)	0.233
	Absence	339 (63.8%)	176 (61.5%)	163 (66.5%)	
Douleurs Thoraciques	Presence	461 (86.8%)	252 (88.1%)	209 (85.3%)	0.341
	Absence	70 (13.2%)	34 (11.9%)	36 (14.7%)	
DyspneeEffort	Presence	411 (77.4%)	227 (79.4%)	184 (75.1%)	0.241
	Absence	120 (22.6%)	59 (20.6%)	61 (24.9%)	
DyspneeRepos	Presence	486 (91.5%)	264 (92.3%)	222 (90.6%)	0.484

**Tableau IV. Symptoms Prevalence at the first day of infection, overall and by CMV status**

		Overall (N=531)	Negative (N=286)	Positive (N=245)	P-value <sup>a</sup>
	Absence	45 (8.5%)	22 (7.7%)	23 (9.4%)	
Myalgies	Presence	288 (54.2%)	159 (55.6%)	129 (52.7%)	0.498
	Absence	243 (45.8%)	127 (44.4%)	116 (47.3%)	
Nausees	Presence	477 (89.8%)	253 (88.5%)	224 (91.4%)	0.259
	Absence	54 (10.2%)	33 (11.5%)	21 (8.6%)	
Paresthesies Dysesthesies	Presence	494 (93.0%)	267 (93.4%)	227 (92.7%)	0.751
	Absence	37 (7.0%)	19 (6.6%)	18 (7.3%)	
Perte Appetit	Presence	408 (76.8%)	220 (76.9%)	188 (76.7%)	0.959
	Absence	123 (23.2%)	66 (23.1%)	57 (23.3%)	
Perte Memoire	Presence	519 (97.7%)	279 (97.6%)	240 (98.0%)	0.753
	Absence	12 (2.3%)	7 (2.4%)	5 (2.0%)	
Rhinorrhee	Presence	144 (27.1%)	73 (25.5%)	71 (29.0%)	0.372
	Absence	387 (72.9%)	213 (74.5%)	174 (71.0%)	
Syndrome Confusion nel	Presence	497 (93.6%)	270 (94.4%)	227 (92.7%)	0.411
	Absence	34 (6.4%)	16 (5.6%)	18 (7.3%)	
Toux Grasse	Presence	407 (76.6%)	225 (78.7%)	182 (74.3%)	0.234
	Absence	124 (23.4%)	61 (21.3%)	63 (25.7%)	
Toux Seche	Presence	234 (44.1%)	121 (42.3%)	113 (46.1%)	0.377
	Absence	297 (55.9%)	165 (57.7%)	132 (53.9%)	

**Tableau IV. Symptoms Prevalence at the first day of infection, overall and by CMV status**

		Overall (N=531)	Negative (N=286)	Positive (N=245)	P-value <sup>a</sup>
Vomissements	Presence	521 (98.1%)	282 (98.6%)	239 (97.6%)	0.375
	Absence	10 (1.9%)	4 (1.4%)	6 (2.4%)	
<sup>a</sup> Chi-square test					

**Annexe 6 :****Tableau V. Symptoms Prevalence at the first day of infection, overall and by EBV status**

		Overall (N=531)	Negative (N=47)	Positive (N=484)	P-value
Anosmie	Presence	466 (87.8%)	44 (93.6%)	422 (87.2%)	0.439
	Absence	65 (12.2%)	3 (6.4%)	62 (12.8%)	
Fatigue	Presence	135 (25.4%)	14 (29.8%)	121 (25.0%)	0.772
	Absence	396 (74.6%)	33 (70.2%)	363 (75.0%)	
Fievre	Presence	318 (59.9%)	31 (66.0%)	287 (59.3%)	0.673
	Absence	213 (40.1%)	16 (34.0%)	197 (40.7%)	
Agueusie	Presence	464 (87.4%)	43 (91.5%)	421 (87.0%)	0.674
	Absence	67 (12.6%)	4 (8.5%)	63 (13.0%)	
Cephalees	Presence	211 (39.7%)	18 (38.3%)	193 (39.9%)	0.978
	Absence	320 (60.3%)	29 (61.7%)	291 (60.1%)	
Diarrhee	Presence	470 (88.5%)	44 (93.6%)	426 (88.0%)	0.516
	Absence	61 (11.5%)	3 (6.4%)	58 (12.0%)	
Douleur Pharyngée	Presence	192 (36.2%)	21 (44.7%)	171 (35.3%)	0.444

**Tableau V. Symptoms Prevalence at the first day of infection, overall and by EBV status**

		Overall (N=531)	Negative (N=47)	Positive (N=484)	P-value
	Absence	339 (63.8%)	26 (55.3%)	313 (64.7%)	
Douleurs Thoraciques	Presence	461 (86.8%)	43 (91.5%)	418 (86.4%)	0.612
	Absence	70 (13.2%)	4 (8.5%)	66 (13.6%)	
DyspneeEffort	Presence	411 (77.4%)	39 (83.0%)	372 (76.9%)	0.632
	Absence	120 (22.6%)	8 (17.0%)	112 (23.1%)	
DyspneeRepos	Presence	486 (91.5%)	43 (91.5%)	443 (91.5%)	1
	Absence	45 (8.5%)	4 (8.5%)	41 (8.5%)	
Myalgies	<b>Presence</b>	<b>288 (54.2%)</b>	<b>34 (72.3%)</b>	<b>254 (52.5%)</b>	<b>0.033</b>
	<b>Absence</b>	<b>243 (45.8%)</b>	<b>13 (27.7%)</b>	<b>230 (47.5%)</b>	
Nausees	Presence	477 (89.8%)	40 (85.1%)	437 (90.3%)	0.533
	Absence	54 (10.2%)	7 (14.9%)	47 (9.7%)	
Paresthesies Dysesthesies	Presence	494 (93.0%)	46 (97.9%)	448 (92.6%)	0.394
	Absence	37 (7.0%)	1 (2.1%)	36 (7.4%)	
Perte Appetit	Presence	408 (76.8%)	41 (87.2%)	367 (75.8%)	0.209
	Absence	123 (23.2%)	6 (12.8%)	117 (24.2%)	
PerteMemoire	Presence	519 (97.7%)	46 (97.9%)	473 (97.7%)	0.998
	Absence	12 (2.3%)	1 (2.1%)	11 (2.3%)	
Rhinorrhee	Presence	144 (27.1%)	14 (29.8%)	130 (26.9%)	0.911
	Absence	387 (72.9%)	33 (70.2%)	354 (73.1%)	

**Tableau V. Symptoms Prevalence at the first day of infection, overall and by EBV status**

		Overall (N=531)	Negative (N=47)	Positive (N=484)	P-value
SyndromeConfusionnel	Presence	497 (93.6%)	43 (91.5%)	454 (93.8%)	0.826
	Absence	34 (6.4%)	4 (8.5%)	30 (6.2%)	
TouxGrasse	Presence	407 (76.6%)	33 (70.2%)	374 (77.3%)	0.551
	Absence	124 (23.4%)	14 (29.8%)	110 (22.7%)	
TouxSeche	Presence	234 (44.1%)	28 (59.6%)	206 (42.6%)	0.081
	Absence	297 (55.9%)	19 (40.4%)	278 (57.4%)	
Vomissements	Presence	521 (98.1%)	47 (100%)	474 (97.9%)	0.61
	Absence	10 (1.9%)	0 (0%)	10 (2.1%)	

<sup>a</sup>Chi-square test

## Annexe 7 : Avis Comité d'Éthique Hospitalo-Facultaire Universitaire de Liège

### Comité d'Ethique Hospitalo-Facultaire Universitaire de Liège (707)



Sart Tilman, le 25/02/2025

Monsieur Laurent GILLET  
Madame Marie HOLOGNE  
Madame Maureen DARIMONT  
Service de VACCINOLOGIE VÉTÉRINAIRE

Concerne: Votre demande d'avis au Comité d'Ethique  
Notre réf: 2025/185

"Etude de l'influence des infections par le virus d'Epstein Barr et par le cytomegalovirus humain sur la réponse immunitaire à l'encontre de l'infection et de la vaccination contre le SARS-COV-2 et sur les symptômes consécutifs à l'infection par le SARS-COV-2."

Protocole : Version 1

Cher Collègue,

Le Comité constate que votre étude entre dans le cadre de la loi du 19 décembre 2008 relative à la collecte et à l'utilisation de matériel corporel humain (MCHR).

Le Comité d'Ethique donne un avis favorable à la réalisation de cette étude sur base des documents approuvés suivants :

- La demande d'avis préalable de Maureen DARIMONT du 04/02/2025
- La demande d'avis du 08/02/2025
- Le résumé du protocole Version 1 du 13/02/2025
- Le protocole Version 1 du 13/02/2025
- Le Material Transfer Agreement (BHUL / Université de Liège)
- Le CV et le Certificat GCP de Marie HOLOGNE
- Le CV et le Certificat GCP de Maureen DARIMONT.

Vous trouverez, sous ce pli, la composition du Comité d'Ethique.

Je vous prie d'agréer, Cher Collègue, l'expression de mes sentiments les meilleurs.

Prof. D. LEDOUX  
Président du Comité d'Ethique

---

C.H.U. de LIEGE – Site du Sart Tilman – Avenue de l'Hôpital, 1 – 4000 LIEGE

Président : Professeur D. LEDOUX

Vice-Présidents : Docteur G. DAENEN – Docteur E. BAUDOUX – Professeur P. FIRKET

Secrétariat administratif : 04/323.21.58

Coordination scientifique: 04/323.22.65

Mail : [ethique@chuliege.be](mailto:ethique@chuliege.be)

Infos disponibles sur: <http://www.chuliege.be/orggen.html#ceh>



MEMBRES DU COMITE D'ETHIQUE MEDICALE  
HOSPITALO-FACULTAIRE UNIVERSITAIRE DE LIEGE

Monsieur le Professeur **Didier LEDOUX**  
Intensiviste, CHU

Président

Monsieur le Docteur **Etienne BAUDOUX**  
Expert en Thérapie Cellulaire, CHU

Vice-Président

Monsieur le Docteur **Guy DAENEN**  
Honoraire, Gastro-entérologue, membre extérieur au CHU

Vice-Président

Monsieur le Professeur **Pierre FIRKET**  
Généraliste, membre extérieur au CHU

Vice-Président

Monsieur **Resmi AGIRMAN**  
Représentant des volontaires sains, membre extérieur au CHU

Madame **Viviane DESSOUROUX** / Monsieur **Pascal GRILLI** (suppléant)  
Représentant (e) des patients, membres extérieurs au CHU

Madame **Régine HARDY** / Madame la Professeure **Adélaïde BLAVIER** (suppléante)  
Psychologue, CHU Psychologue, membre extérieure au CHU

Madame **Isabelle HERMANS**  
Assistante sociale, CHU

Monsieur le Professeur **Maurice LAMY**  
Honoraire, Anesthésiste-Réanimateur, membre extérieur au CHU

Madame la Docteure **Marie-Paule LECART**  
Rhumato-gériatre, CHU

Madame **Marie LIEBEN**  
Philosophe, membre extérieure au CHU

Madame **Patricia MODANESE**  
Infirmière cheffe d'unité, CHU

Madame la Professeure **Anne-Simone PARENT**  
Pédiatre, CHU

Monsieur le Professeur **Marc RADERMECKER**  
Chirurgien, CHU

Monsieur **Stéphane ROBIDA**  
Juriste, membre extérieur au CHU

Madame **Isabelle ROLAND** / Monsieur le Professeur **Vincent SEUTIN** (suppléant)  
Pharmacien, CHU Pharmacologue, ULiège

Madame la Docteure **Liliya ROSTOMYAN**  
Endocrinologue, membre extérieure au CHU

Madame la Docteure **Isabelle RUTTEN**  
Radiothérapeute, membre extérieure au CHU

Madame **Cécile THIRION**  
Infirmière cheffe d'unité, CHU

## Annexe 8.



### Engagement de non plagiat.

Je soussigné(e) NOM Prénom : DARIMONT Maureen

Matricule étudiant : s185199

Déclare avoir pris connaissance de la charte anti-plagiat de l'Université de Liège et des dispositions du Règlement général des études et des évaluations. Je suis pleinement conscient(e) que la copie intégrale ou d'extraits de documents publiés sous quelque forme que ce soit (ouvrages, publications, rapports d'étudiant, internet, etc...) sans citation (i.e. mise en évidence de la citation par des guillemets) ni référence bibliographique précise est un plagiat qui constitue une violation des droits d'auteur relatifs aux documents originaux copiés indûment ainsi qu'une fraude. En conséquence, je m'engage à citer, selon les standards en vigueur dans ma discipline, toutes les sources que j'ai utilisées pour produire et écrire le mémoire que je dépose.

Fait le 26/05/2025

Signature

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Darimont".