



Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID-19. The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect, the company's public news and information website.

Elsevier hereby grants permission to make all its COVID-19-related research that is available on the COVID-19 resource centre - including this research content - immediately available in PubMed Central and other publicly funded repositories, such as the WHO COVID database with rights for unrestricted research re-use and analyses in any form or by any means with acknowledgement of the original source. These permissions are granted for free by Elsevier for as long as the COVID-19 resource centre remains active.

C0087

## La vaccination par ARNm des sujets naïfs ou convalescents de la COVID-19 permet la génération de lymphocytes B mémoires capables de reconnaître et de neutraliser les variants du SARS-CoV-2

A. Sokal<sup>1,\*</sup>, G. Barba-Spaeth<sup>2</sup>, I. Fernandez<sup>2</sup>, M. Broketa<sup>3</sup>, I. Azzaoui<sup>4</sup>, A. De La Selle<sup>5</sup>, A. Vandenberghe<sup>6</sup>, S. Fourati<sup>7</sup>, A. Roeser<sup>8</sup>, E. Crickx<sup>8</sup>, M. Michel<sup>9</sup>, B. Godeau<sup>9</sup>, Y. Nguyen<sup>10</sup>, V. Zarrouk<sup>11</sup>, P. Bruhns<sup>3</sup>, F. Rey<sup>2</sup>, J.C. Weill<sup>12</sup>, C.A. Reynaud<sup>12</sup>, P. Chappert<sup>6</sup>, M. Mahevas<sup>9</sup>

<sup>1</sup> Médecine interne, hôpital Henri-Mondor AP-HP, Créteil

<sup>2</sup> Unité de virologie structurale, Institut Pasteur, Paris

<sup>3</sup> Unité anticorps en thérapie et pathologie, Institut Pasteur, Paris

<sup>4</sup> Imrb-u955-equipe n°2 "transfusion et maladies du globule rouge", EFS île-de-france, Créteil

<sup>5</sup> Développement du système immunitaire, I.N.E.M., Paris

<sup>6</sup> Inserm u1151/cnrs umr8253, faculté de médecine paris descartes,

Inem - institut necker-enfants malades, Paris

<sup>7</sup> Département de virologie, bactériologie, hygiène et mycologie-parasitologie, Centre Hospitalier universitaire Henri-Mondor, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP), Paris

<sup>8</sup> Service de médecine interne, hôpital Henri-Mondor AP-HP, Créteil

<sup>9</sup> Médecine interne, hôpital Henri-Mondor, Créteil

<sup>10</sup> Centre de recherche en épidémiologie et santé des populations, Inserm U1018, Villejuif

<sup>11</sup> Médecine interne, hôpital Beaujon, Clichy

<sup>12</sup> Inem-institut necker-enfants malades-inserm u1151/cnrs umr8253, faculté de médecine Paris Descartes-Site Broussais, Paris

\* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : [aurelien@sokal.net](mailto:aurelien@sokal.net) (A. Sokal)

**Introduction** La mémoire immunitaire est un mécanisme qui protège les individus contre la réinfection. Cette stratégie de défense de l'organisme, qui est à la base du succès des vaccins, comprend la production d'anticorps protecteurs dans le sang ainsi que la formation de cellules à mémoire, capables de se réactiver rapidement en cellules productrices d'anticorps lors d'une nouvelle infection. Les vaccins à ARNm, codant pour la protéine Spike du SARS-CoV-2, ont été rapidement déployés dans le monde entier, avec une grande efficacité clinique. Déterminer les caractéristiques de la réponse lymphocytaire B mémoire générée par ces vaccins est d'une importance majeure, notamment dans le contexte de circulation de variants du SARS-CoV-2, porteurs de mutations dans la protéine Spike. Nous avons étudié la dynamique, l'évolution clonale, et l'affinité des cellules B à mémoire chez des patients vaccinés par le vaccin à ARNm, ainsi que leur capacité à reconnaître et à neutraliser les variants du SARS-CoV-2 dans deux cohortes longitudinales de patients, l'une infectée lors de la première vague (convalescents-vaccinés), et l'autre n'ayant pas été infectée (naïfs-vaccinés).

**Patients et méthodes** Les patients infectés lors de la première vague de la pandémie ont été inclus dans l'étude MEMO-CoV2. Une partie de ces patients avec une forme sévère hospitalisée, ou une forme modérée ambulatoire ont reçu une dose de vaccin à ANR messenger (BNT162b2) un an après l'infection. De façon parallèle, une cohorte de soignants, naïfs de toute infection et avec une sérologie négative, ont été vaccinés avec deux doses de vaccin à ARNm. Ces deux cohortes ont été suivies et analysées (Sérologie, Cytométrie en flux des cellules B) longitudinalement jusqu'à 2 mois après le boost vaccinal (première injection pour les convalescents, deuxième injection pour les naïfs). Les cellules B mémoires spécifiques du domaine RBD de la protéine Spike ont été isolées, triées et cultivées en cellule unique. Pour chaque cellule anti-RBD mémoire, nous avons séquencé la chaîne lourde de l'immunoglobuline et nous avons déterminé l'affinité par Biolayer-interferometry des anticorps produits contre des variants préoccupants ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$ ).

Nous avons aussi déterminé pour certains clones leur capacité à neutraliser le virus D614G (dominant lors de la première vague) et  $\beta$  in vitro.

**Résultats** La vaccination induisait une réponse sérologique IgG anti-RBD robuste chez tous les patients analysés ( $n=47$ ). L'activité neutralisante du sérum contre le virus D614G était excellente pour tous les patients. Néanmoins, la neutralisation sérique des variants  $\beta$  et  $\delta$  était très nettement meilleure chez les patients déjà infectés, suggérant que les plasmocytes mobilisés lors du boost vaccinal proviennent de cellules mémoires matures. L'analyse en cytométrie en flux, a mis en évidence une expansion du pool mémoires chez les patients convalescents à un niveau supérieur à celui des naïfs. L'analyse de plus de 2400 séquences de la chaîne lourde de l'immunoglobuline provenant de cellules B mémoires anti-RBD cultivées en cellule unique, a révélé que la réponse vaccinale anti-RBD mobilise des cellules peu mutées, donc nouvellement générées, chez les individus naïfs. À l'inverse les cellules mémoires mobilisées après le boost chez patients convalescents arboraient de nombreuses mutations somatiques, témoignant de la mobilisation de mémoires préexistantes. L'analyse du répertoire des cellules B mémoires montrait que sa diversité était conservée après la vaccination malgré son expansion. Nous avons ensuite analysé l'affinité de 382 anticorps monoclonaux issus cellules B mémoires mobilisées par le boost vaccinal, contre le RBD de différents variants ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\kappa$ ). L'affinité des anticorps contre la RBD sauvage était plus forte chez les convalescents que chez les naïfs et corrélait avec le nombre de mutations somatiques dans la chaîne lourde de l'immunoglobuline, reflétant le processus de maturation d'affinité. Des clones de très haute affinité contre tous les RBD variants étaient détectés chez tous les individus testés, y compris chez les naïfs, ainsi que des clones neutralisant le variant  $\beta$ , qui a la plus grande capacité à échapper à la réponse immune.

**Conclusion** Chez les patients convalescents, la vaccination amplifie un large répertoire de cellules B mémoires matures et génère des plasmocytes neutralisant les variants. Chez les individus naïfs, la vaccination induit un pool de mémoire contenant des clones neutralisants puissants contre tous les variants préoccupants actuels, dont bêta et delta. Nos résultats suggèrent qu'une troisième dose chez les sujets naïfs permettrait de différencier en plasmocytes les lymphocytes B mémoires de grande qualité générés par le schéma vaccinal initial et ainsi d'augmenter l'activité neutralisante des sérums contre les variants du SARS-CoV-2.

**Déclaration de liens d'intérêts** En dehors de ce travail, M.M. a reçu des fonds de recherche de GSK et des financements personnels de LFB et Amgen ; J.C.W. a reçu des financements de consultant de l'Institut Mérieux ; P.B. a reçu des financements de consultant de Regeneron Pharmaceuticals ; F.R. est membre du board de MELE-TIOS Therapeutics et du Scientific Advisory Board d'eureKARE.

<https://doi.org/10.1016/j.revmed.2021.10.287>