

Le Masque et la petite revue de presse quotidienne... plume



Drs Stéphanie Sigaut, Bénédicte Grigoresco, Emmanuel Weiss DAR Beaujon
Dr Mylene Defaye, CHU de Bordeaux SAR SUD
Drs Arthur James, Cyril Quemeneur DAR Pitié-Salpêtrière

Point épidémiologique

< Données au 27/04/2020 >

COVID-19 - France

128 339[Ⓢ]
(+ 3 764)
cas confirmés

23 293[Ⓢ]
(+ 437)
cumul des décès

Données hospitalières

28 055[Ⓢ]
(- 162)
hospitalisations

45 513[Ⓢ]
(+ 610)
retours à domicile

4 608[Ⓢ]
(- 74)
en réanimation

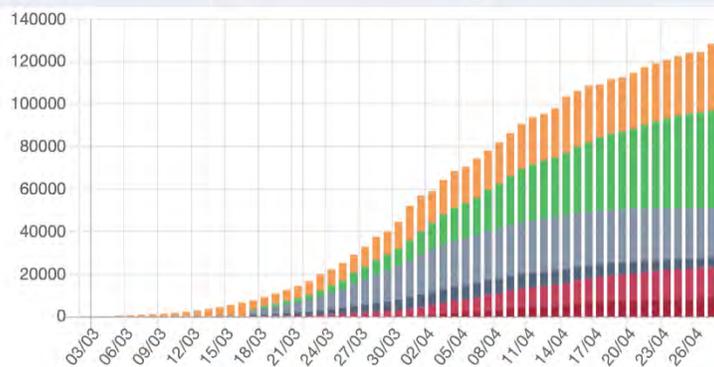
14 497[Ⓢ]
(+ 295)
décès à l'hôpital

Données EHPAD et EMS

30 227[Ⓢ]
(+ 584)
cas confirmés en
EHPAD et EMS

37 503[Ⓢ]
(- 22)
cas probables en
EHPAD et EMS

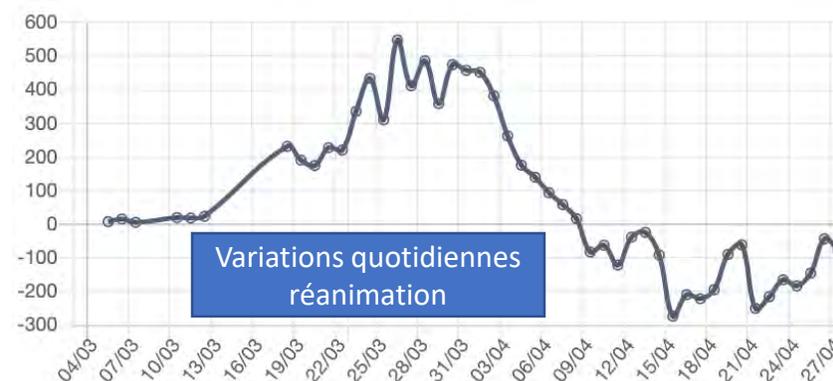
8 796[Ⓢ]
(+ 142)
décès en EHPAD
et EMS



Hospitalisation

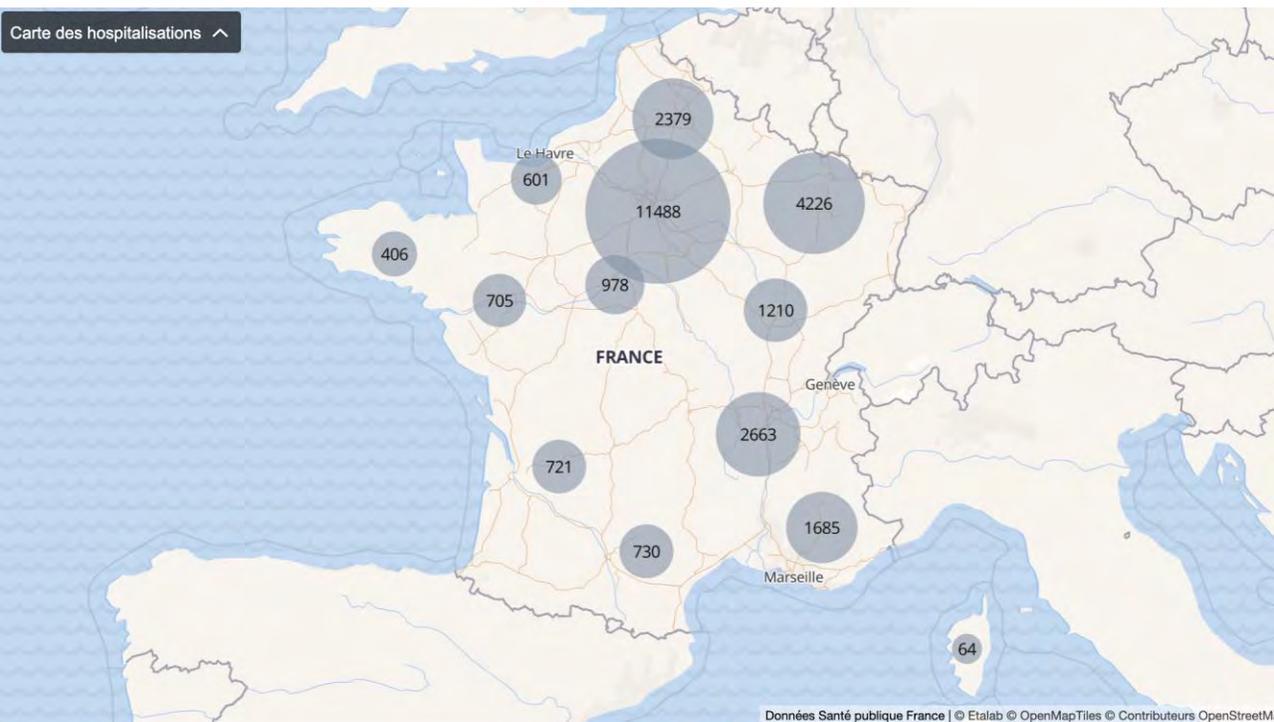


Réanimation

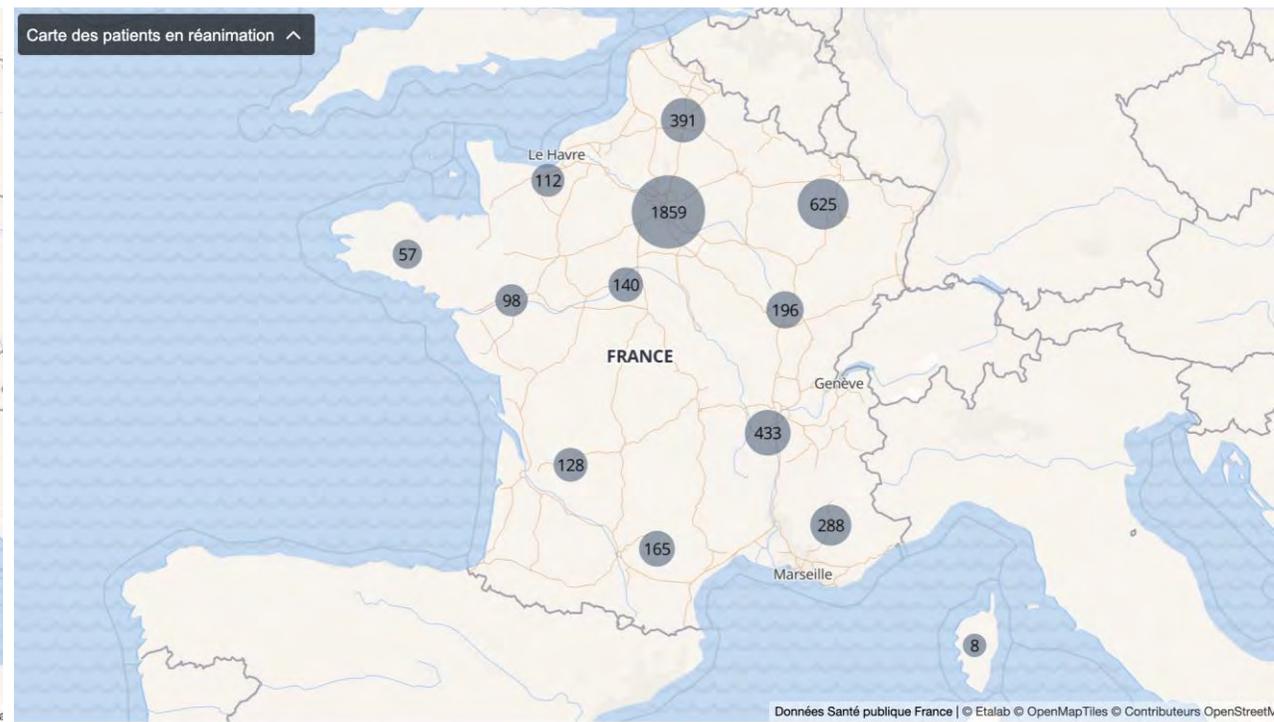


Point épidémiologique

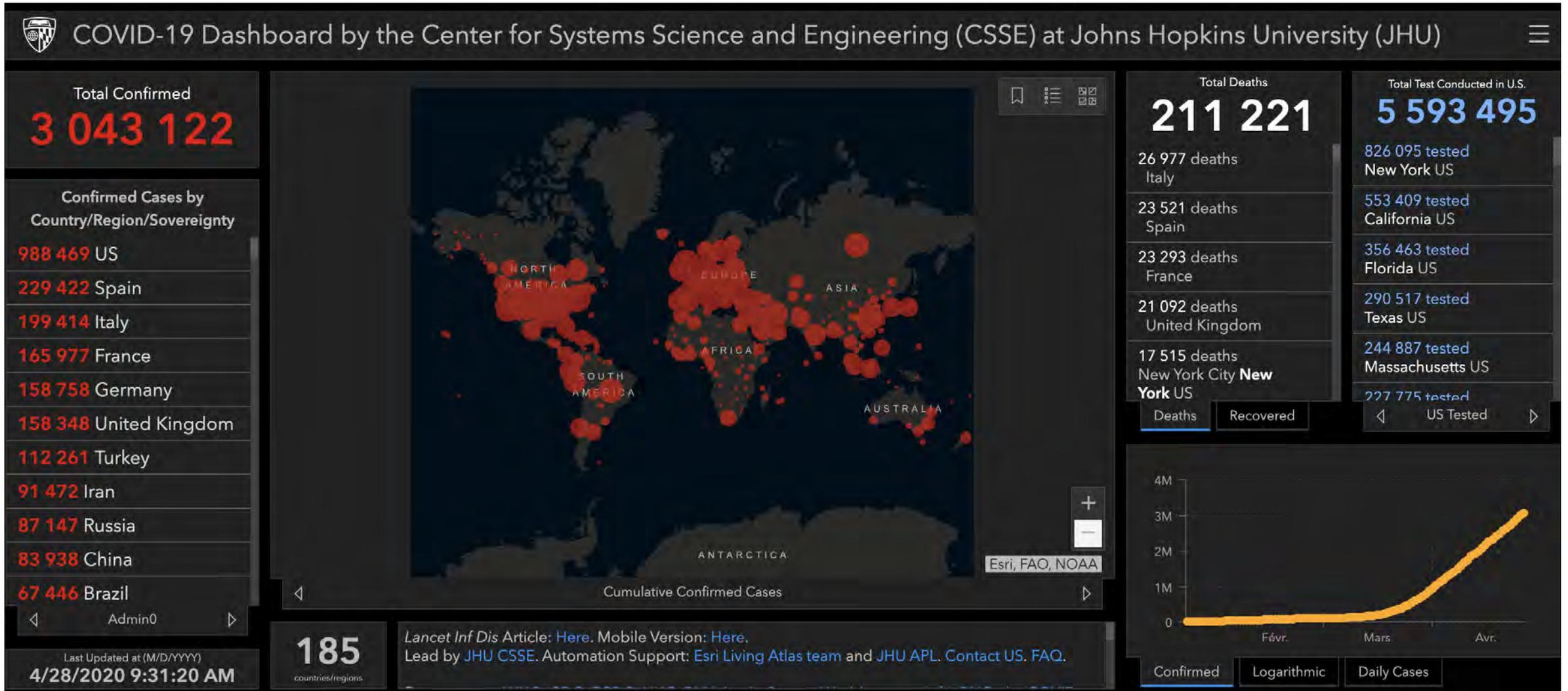
Carte des hospitalisations



Carte des réanimations



• LE MONDE le 28/04/2020 à 09h31



Réponse inflammatoire déséquilibrée : la signature de la COVID-

19 Blanco-Melo et al, Cell 2020 DOI: 10.1016/j.cell.2020.04.026

- Méthode :
- Analyse transcriptomique de la réponse à l'infection par SARS-CoV-2
- Dans des modèles de cultures tissulaires et cellulaires, animaux, et chez des patients
- Comparaison avec d'autres virus respiratoires (MERS-CoV, SARS-CoV-1, virus parainfluenza de type 3 (HPIV3), virus respiratoire syncytial (RSV), et virus de la grippe A (IAV))

/\ Papier de recherche fondamentale avec de nombreux modèles, mais nous allons tout vous expliquer !

Les clefs pour comprendre :

Physiopathologie : Lorsqu'un virus infecte une cellule, celle-ci grâce à des récepteurs, les PRRs (Pattern Recognition Receptors), va détecter la présence intracellulaire de signes de réplication virale.

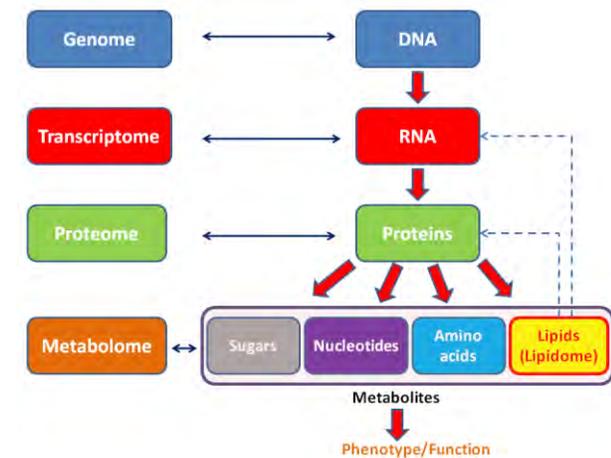
L'activation de ces PRRs va alors entraîner l'activation de facteurs de transcriptions, essentiellement IRFs (interferon regulator factors) et NFkB (Nuclear Factor kB) qui vont lancer des programmes cellulaires antiviraux aboutissant classiquement à la production d'interférons (IFN-I et IFN-III) et de chimiokines (ces dernières permettant le recrutement leucocytaire)

Dans ce papier cette réponse cellulaire à l'infection est analysée à l'étape du transcriptome = expression génique = ARN

RNA-Seq ou séquençage à haut débit de l'ARN : technologie permettant le séquençage du transcriptome entier et qui va donc permettre ici l'observation des changements d'expression des gènes dans une cellule au cours de l'infection

Modèles *in vitro* :

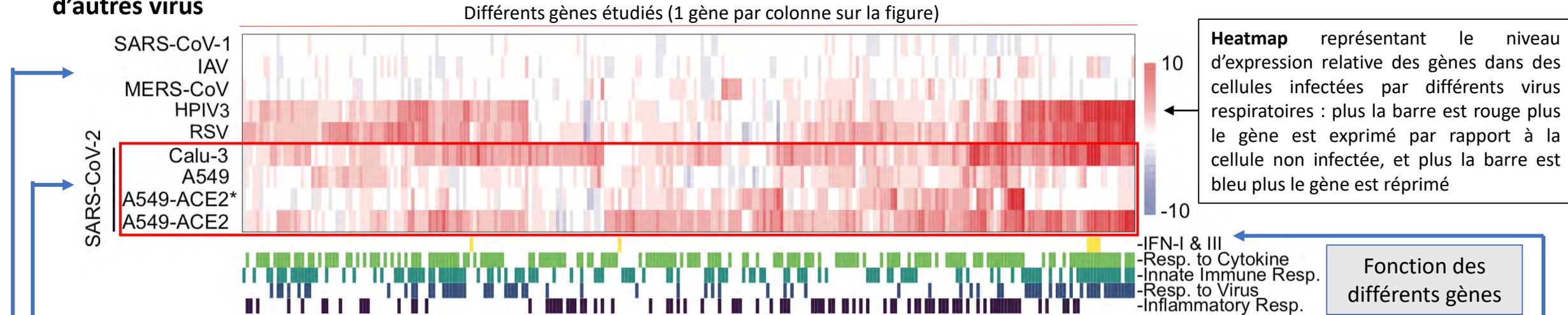
- Culture de lignée : cellules rendues "immortelles", que l'on peut maintenir en culture indéfiniment > culture facile, mais les lignées sont exposées au risque de dérivation de souche, qui pose des problèmes de reproductibilité entre deux laboratoires différents (chaque laboratoire va avoir ses propres conditions et habitudes de manipulation, qui vont induire des pressions de sélection différentes sur la lignée)
- Culture primaire : cellules isolées directement à partir de tissus ou d'organes vivants, ici de l'épithélium bronchique humain, et donc plus représentatives de l'état physiologique *in vivo* que les cellules immortalisées (mais plus fragiles, très sensibles à leur environnement et donc de culture plus difficile)



Réponse inflammatoire déséquilibrée : la signature de la COVID-19

Blanco-Melo et al, Cell 2020 DOI: 10.1016/j.cell.2020.04.026

1. Réponse transcriptionnelle (RNA-Seq) au SARS-CoV-2 *in vitro*, sur culture de lignées cellulaires humaines respiratoires, comparaison à d'autres virus



On peut voir que en fonction de la lignée cellulaire utilisée, la réponse au SARS-CoV-2 est très différente. La lignée A549 présente moins de modifications que la lignée Calu-3. En effet dans cette lignée de base ACE2 est peu exprimé et donc elle est peu infectée, il faut la « compléter » en ACE2 (lignes A549-ACE2 et A549-ACE2*) (* indique une quantité de virus utilisé pour infecter les cellules plus faible), la cellule est alors plus infectée et la réponse transcriptionnelle est plus marquée.

À noter que les analyses avec les virus MERS-CoV et SARS-CoV-1 ont été faites sur une autre lignée, MRC5, et que les analyses pour IAV, HPIV3 et RSV ont été faites sur la lignée A549 sans ajout d'ACE2 > *validité des comparaisons ?*

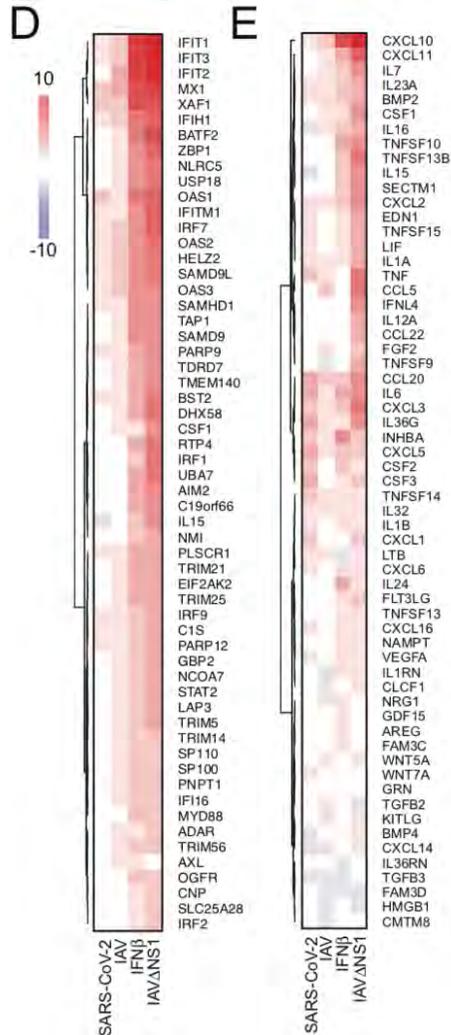
On voit aussi que les cellules A549 exprimant ACE2 mais pour lesquelles une faible quantité de virus a été utilisée (A549-ACE2*), il n'y a pas de changement dans l'expression des Interférons de type I et III mais une signature proinflammatoire cytokinique unique

Ces analyses indiquent que la réponse transcriptionnelle dans les cellules permettant une forte réplication du SARS-CoV-2 est significativement différente de la réponse à tous les autres virus testés

Réponse inflammatoire déséquilibrée : la signature de la COVID-19

Blanco-Melo et al, Cell 2020 DOI: 10.1016/j.cell.2020.04.026

2. Réponse transcriptionnelle (RNA-Seq) au SARS-Cov-2 *in vitro*, sur culture primaire de cellule épithéliales bronchiques humaines, comparaison à une stimulation par Interféron ou à l'infection par le virus de la grippe 1 (IVA)



Heatmap représentant l'expression relative des gènes impliqués dans :

D- la réponse IFN de type I

E- l'activité cytokinique et chimiokinique

En réponse à l'infection par SARS-CoV-2, virus de la grippe A sauvage (IAV), virus de la grippe A mutant (IAV Δ NS1, sans NS1 qui normalement antagonise les mécanismes antiviraux cellulaires et notamment la sécrétion d'IFN-I), ou stimulation par IFN-I

Ces analyses sur cellules épithéliales bronchiques humaines en culture montrent :

- Une réponse globalement modeste à l'infection par SARS-CoV-2 (et aussi pour IAV sauvage, mais plus importante pour la stimulation directe par interféron et surtout pour l'infection à IAV mutant)
- Avec une réponse IFN-I diminuée
- Mais une forte réponse inflammatoire et chimiotactique (avec l'expression augmentée de *CCL20*, *CXCL1*, *IL-1B*, *IL-6*, *CXCL3*, *CXCL5*, *CXCL6*, *CXCL2*, *CXCL16*, et *TNF*)

Réponse inflammatoire déséquilibrée : la signature de la COVID-19

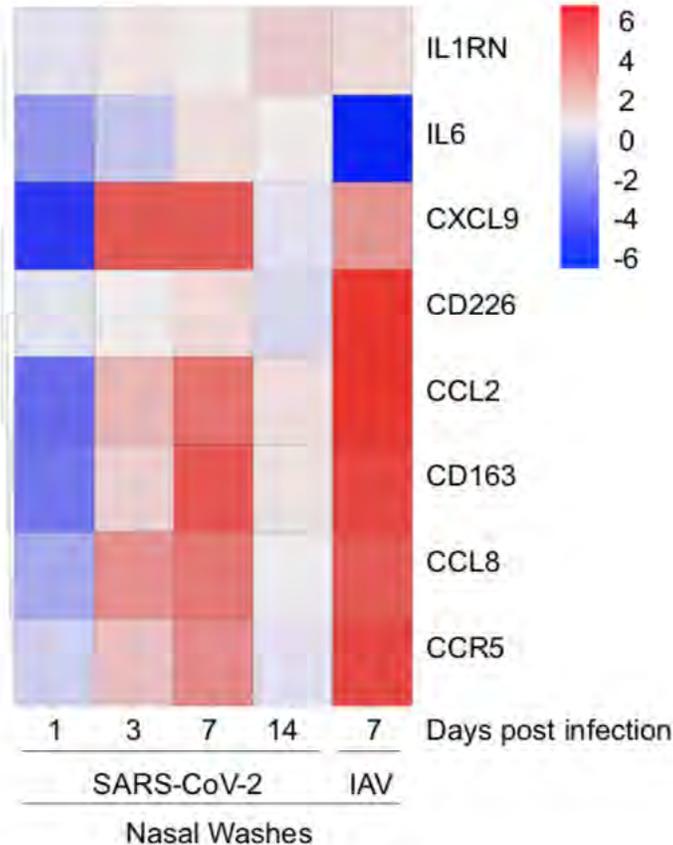
Blanco-Melo et al, Cell 2020 DOI: 10.1016/j.cell.2020.04.026

3. Réponse transcriptionnelle (RNA-Seq) au SARS-Cov-2 *in vivo*, chez des furets

SARS-CoV-2 intranasal
(ou IVA ou rien=contrôle)



Lavage nasale à J1, J3, J7 et J14 pour suivi longitudinal de la charge viral et du transcriptome des cellules des voies aériennes supérieures



Sur ce modèle animal, il est constaté :

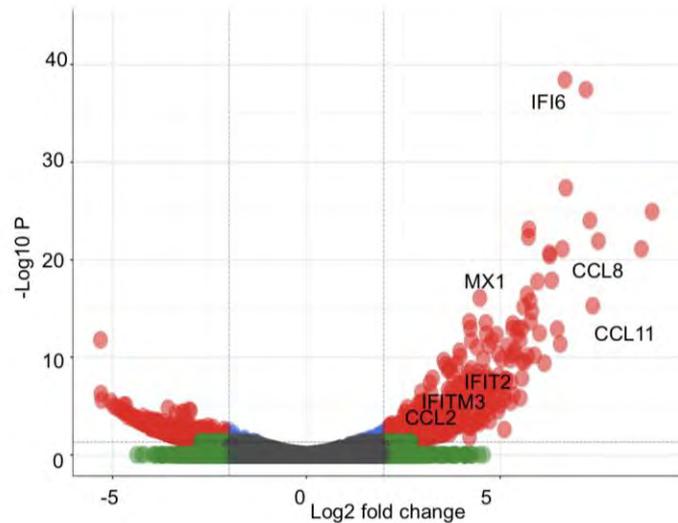
- Un pic de la réplication virale à J3 et une élimination complète du virus à J14
- Un début de la réponse cytokinique à J3 avec l'expression marquée de CXCL9 et CCL8
- Une expansion de cette réponse cytokinique à J7 malgré la baisse de la CV (CCL2, CCL8, CXCL9)
- Une infiltration leucocytaire à J7, mise en évidence par la détection d'ARN de marqueurs de ces cellules (CD163, CD226, CCR5, CCR6, CXCR1, CXCR2 et CXCR7)
- A J14, quasi retour à la normale
- Cette réponse est différente de celle à IAV, qui est plus importante en magnitude et qui inclue l'expression de gènes de la réponse interféron

➤ **Concordant avec les données obtenues *in vitro* avec une signature unique = expression de cytokines et chimiokines, activation leucocytaire, mais pas de réponse interféron**

Réponse inflammatoire déséquilibrée : la signature de la COVID-19

Blanco-Melo et al, Cell 2020 DOI: 10.1016/j.cell.2020.04.026

4. Réponse transcriptionnelle (RNA-Seq) et cytokinique (ELISA) au SARS-Cov-2 *in vivo*, sur du tissus pulmonaire et du sérum humain

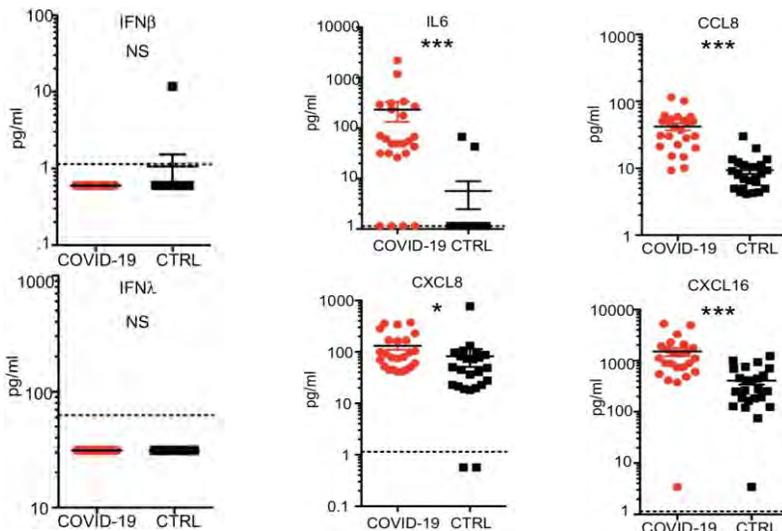


Comparaison du transcriptome du tissu pulmonaire obtenu post-mortem chez 2 patients COVID+ avec celui de biopsies de poumons sains chez 2 individus non infectés :

- Environ 2000 gènes sont exprimés différemment chez les patients infectés, notamment des gènes impliqués dans la réponse immunitaire innée et humorale
- Mais pas d'expression d'IFN-I ou IFN-III

➤ **Concordant avec les modèles *in vitro* et le modèle animal**

Volcano plot, représente la différence statistique (P en ordonnée) en fonction de l'amplitude de la variation (fold change en abscisse); en rouge les gènes avec variation d'expression significative, en vert ceux dont la variation n'est pas significative



Dosage de cytokines dans le sérum (et donc détection de protéines et non d'ARN comme précédemment, confirme que l'ARN transcrit a bien été traduit en protéine) de 24 patients COVID+, comparé à 24 contrôles hospitalisés pour pathologie respiratoire mais COVID- :

- Dosage des Interférons β et λ constamment négatif
- Augmentation significative de IL-6 et de chimiokines recrutant les lymphocytes T ou NK (CXCL9 et CXCL16), les monocytes (CCL8 et CCL2) et les PNN (CXCL8)

➤ **Concordant avec les données transcriptomiques des modèles *in vitro*, du modèle animal et des tissus humains post-mortem**

Réponse inflammatoire déséquilibrée : la signature de la COVID-19

Blanco-Melo et al, Cell 2020 DOI: 10.1016/j.cell.2020.04.026

- **Conclusion :**
- Le SARS-CoV-2 a une **signature unique** en terme d'expression génique, distincte de celle des autres coronavirus ou d'autres virus à tropisme respiratoire :
 - **Réponse IFN-I/-III diminuée**, qui pourrait contribuer au développement de la maladie
 - **Hauts niveaux de chimiokines**, induisant le recrutement de cellules immunitaires
- Cette réponse est **déséquilibrée** car elle favorise l'activation de l'immunité adaptative (chimiokine) au détriment du contrôle de la réplication virale (interférons)
- **La mise en évidence et la compréhension de cette dynamique particulière peut ainsi permettre d'orienter la recherche sur les traitements de la COVID-19**
- *Limites : si les résultats de tous les modèles sont concordants, l'effectif des échantillons humains reste faible et il est nécessaire de l'augmenter pour valider ces résultats*

COVID-Anesthésie

Quel est le devenir des patients opérés et malades de COVID-19?

Plus de complications respiratoires?
Devenir à J28?

Pas de réponse sans registre prospectif national.

Merci de votre participation!!!

<https://sfar.org/covidanesthesie/>

Mettons à l'honneur nos réanimations dans
Le Masque et La Plume:
Nous avons décidé de publier des photos
des différentes équipes de France.
Adressez-nous les photos de vos équipes à
cyril.quemeneur@aphp.fr

#COVID: confinement vie à domicile

#Partagez

#Retweetez