



Atelier B5 avec la participation de Beckman Coulter

Marqueurs de l'inflammation et COVID-19

Rita Creidy - CHIC Créteil

JFBM 4^{èmes} Journées Francophones de
Biologie Médicale

07/10/2021

Déclaration d'absence de conflit d'intérêts

BECKMAN COULTER



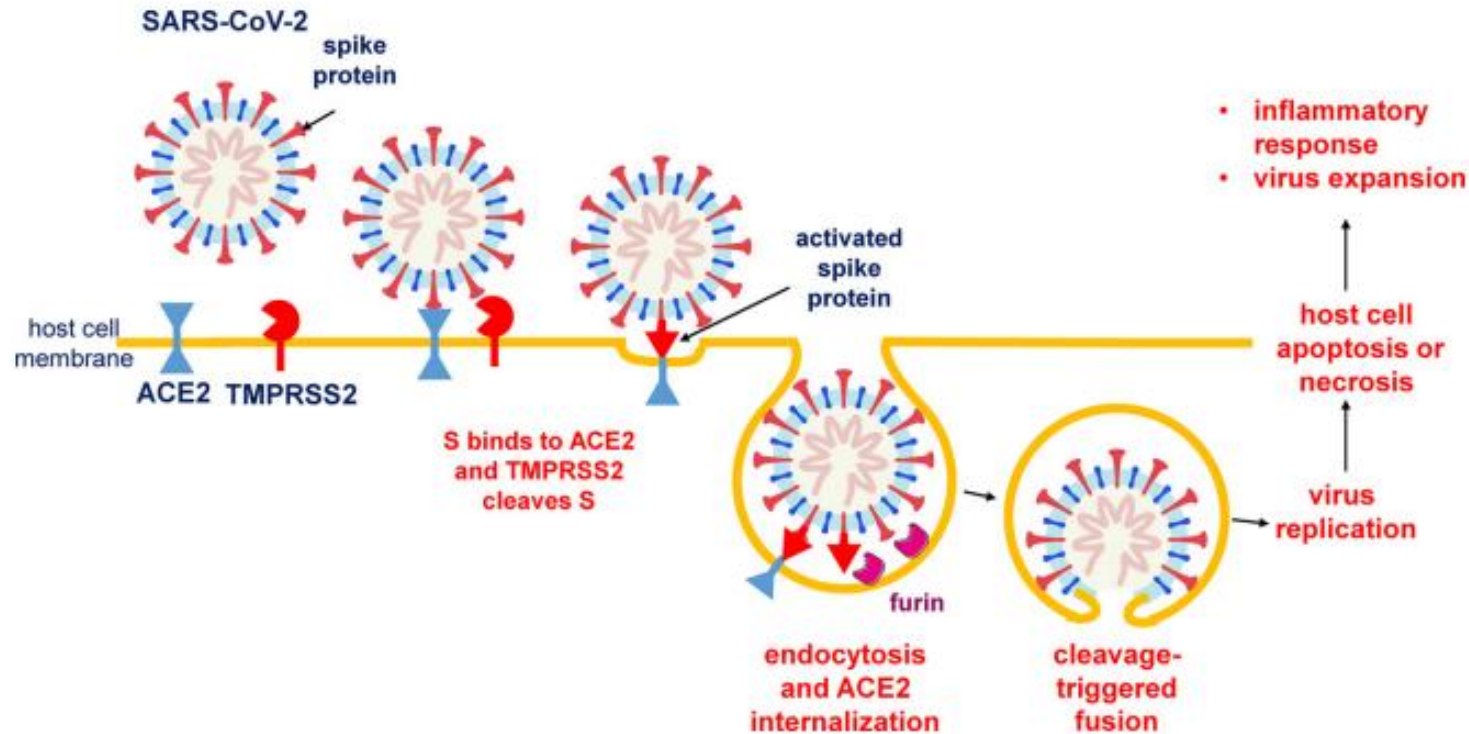
ROCHE

NOVARTIS

SANOFI

ABBOTT

Interaction du SARS-Cov-2 avec la cellule hôte



- Spike/ACE2
- Spike/ACE2/Sérine protéase (TMPRSS2)
- Endocytose avec internalisation d'ACE2 (réduction d'ACE2 membranaire)
- La furine, protéase, libère le peptide de fusion spike et permet la libération du virus dans la cellule hôte

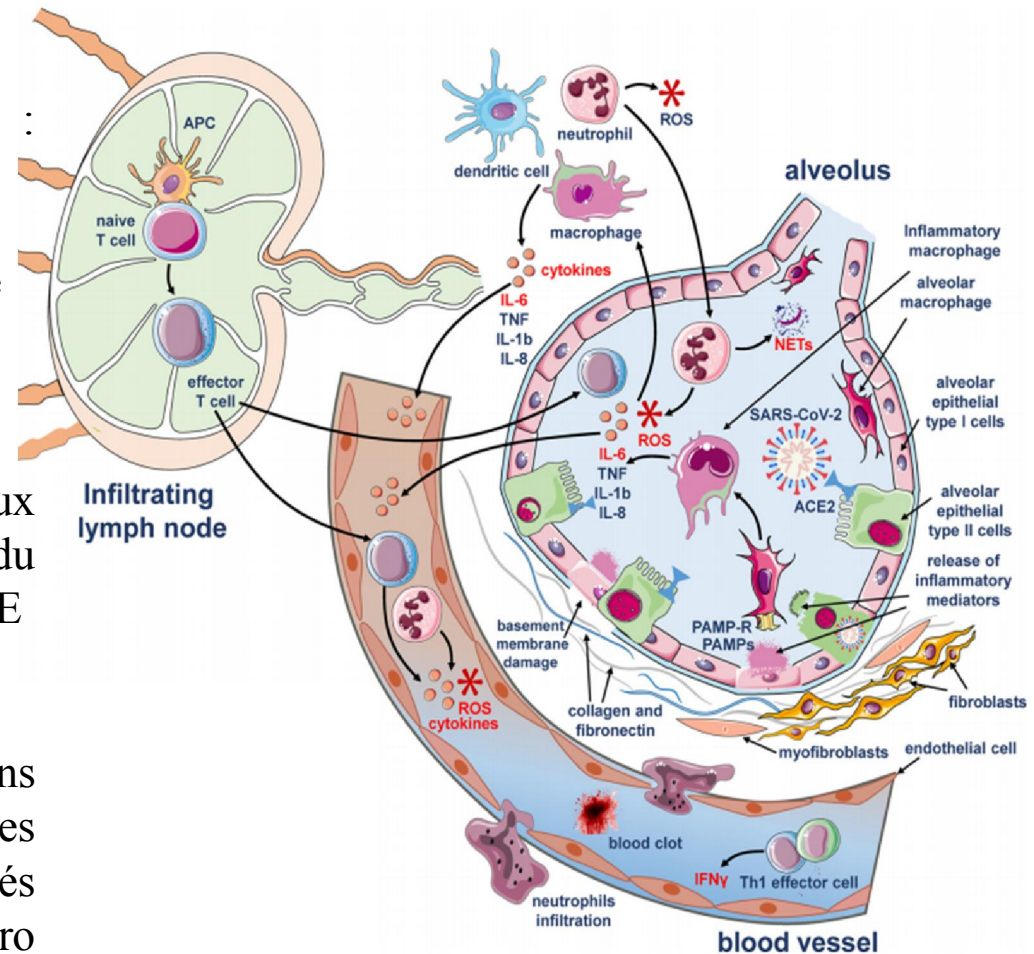
Réponse immunitaire locale et systémique (1)

Réponse innée

- Relargage de médiateurs inflammatoires : chimiokines, IL-1, IL-6 et TNF- α
- Augmentation de la perméabilité vasculaire
- Recrutement des cellules immunitaires
- La perméabilité élevée des vaisseaux pulmonaires facilite la dissémination du virus vers d'autres organes exprimant l'ACE

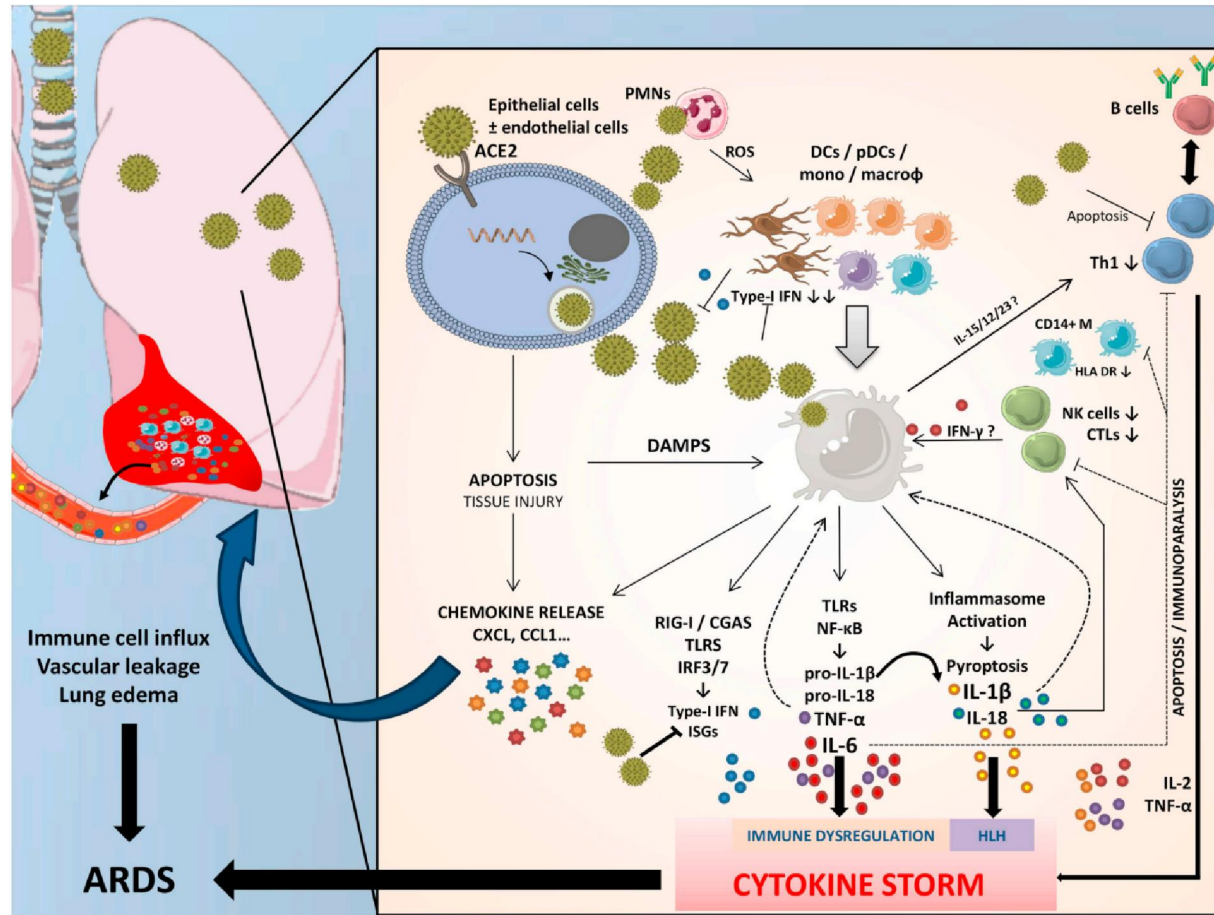
Réponse Adaptative

- Les C.P.A se déplacent vers les ganglions satellites avec génération de lymphocytes effecteurs qui passent dans les tissus infectés avec relargage de cytokines pro inflammatoires



Cytokines+++ avec un « S.A.M » pulmonaire

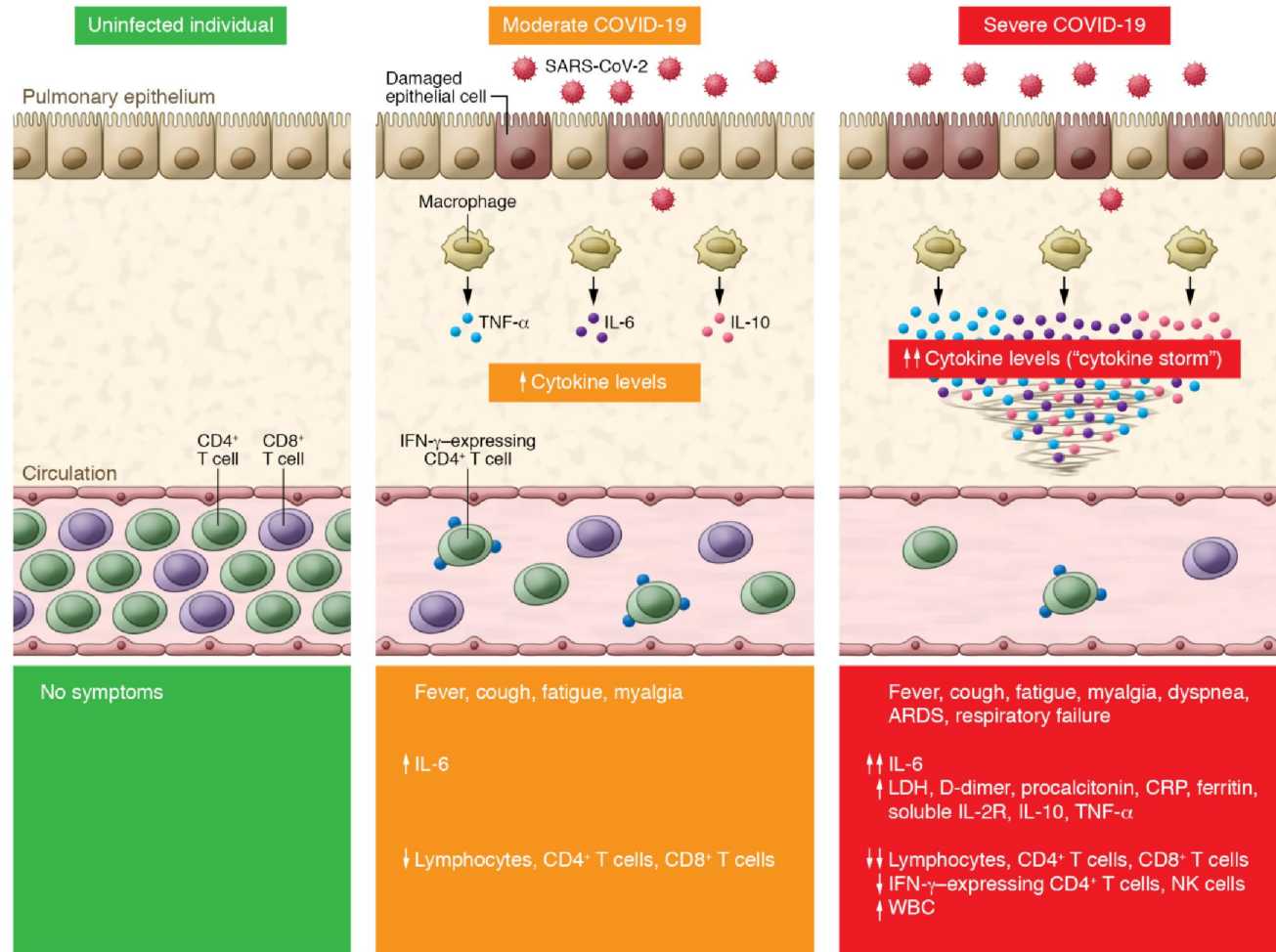
Réponse immunitaire locale et systémique (2)



SARS-Cov-2 *down*régule la réponse à l'IFN de type I et induit une apoptose des lymphocytes T. Les cytokines proinflammatoires accélèrent la formation des lymphocytes Th1 et Tc qui sécrètent à leur tour des cytokines proinflammatoires permettant d'entretenir une hypersécrétion de cytokines (**orage cytokinique, hypercoagulabilité et SDRA**)

(Jamilloux Y et al., *Autoimmunity reviews*, 2020)

Réponse immunitaire et formes cliniques

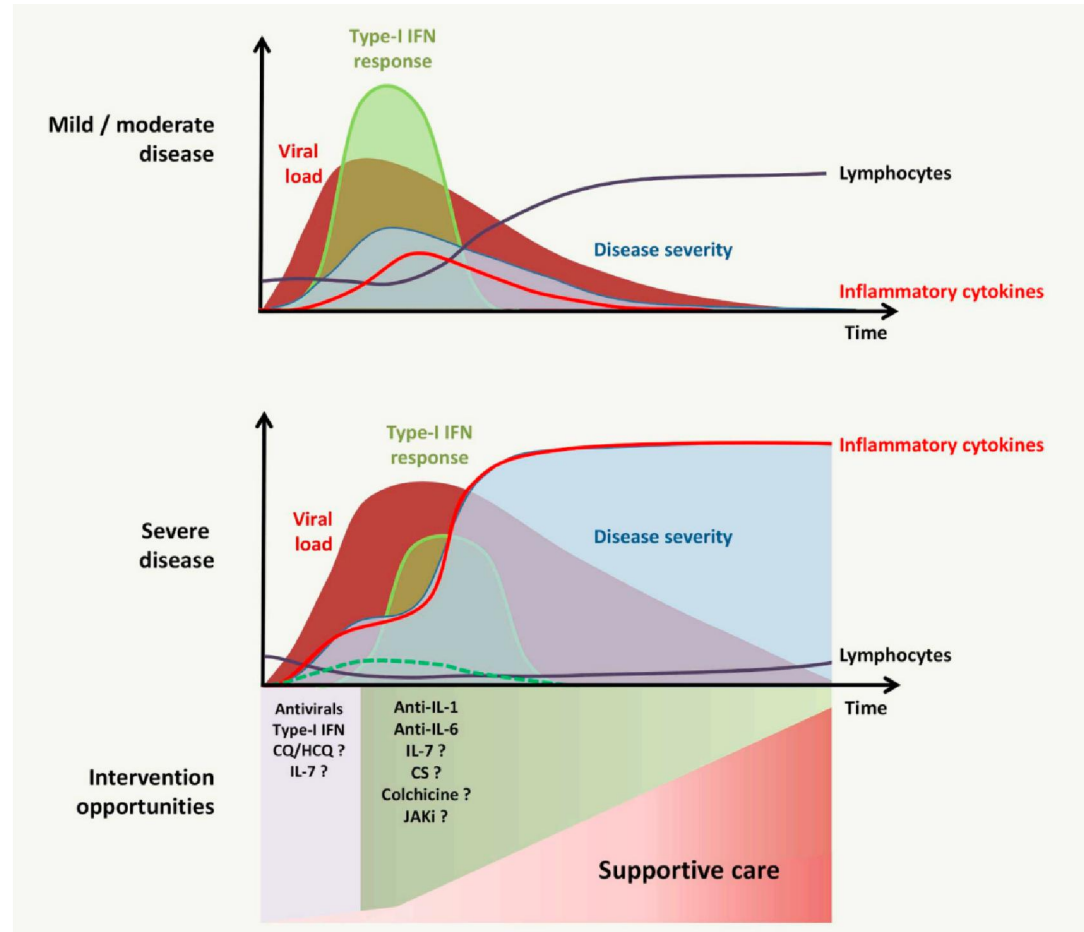


Les **formes sévères** de COVID-19 sont toujours associées à un **orage cytokinique+lymphopénie sévère**

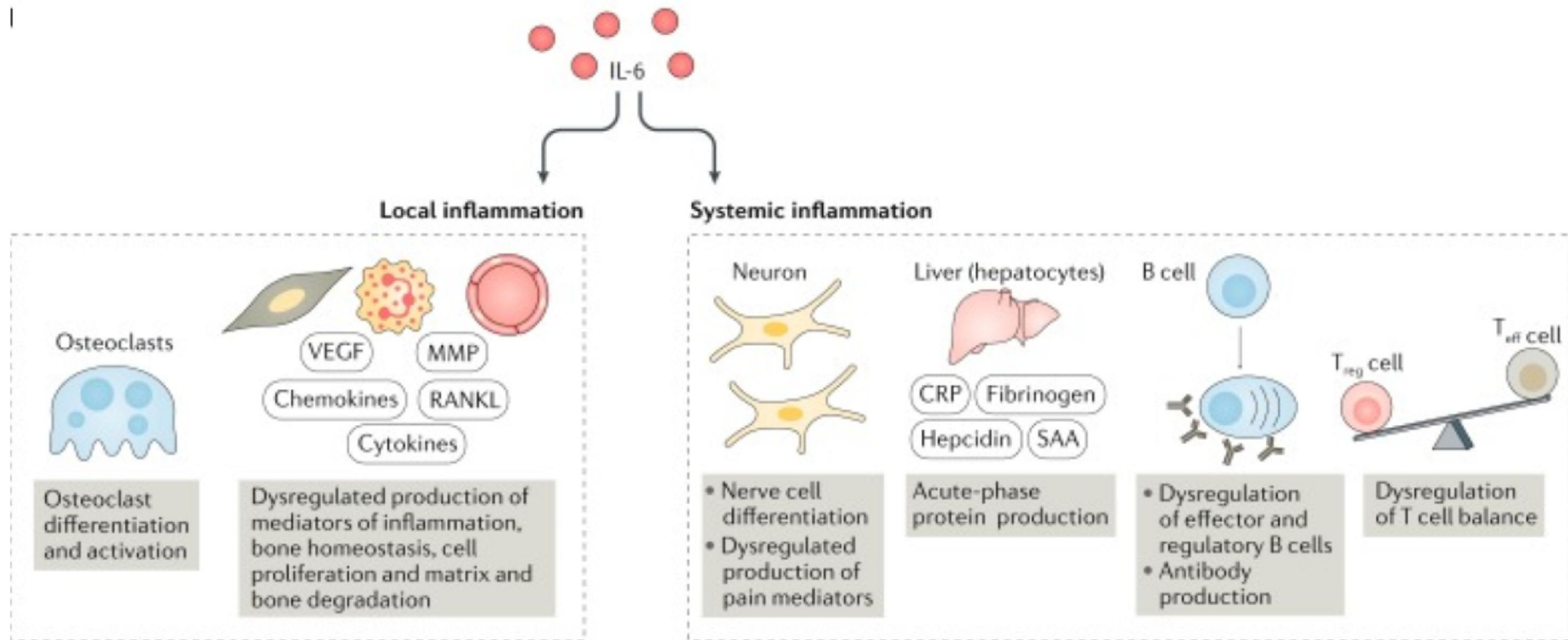
(Perdersen SF et al., J Clin Invest, 2020)

Profil cytokinique inflammatoire et formes cliniques

- Les **formes modérées** de COVID-19 sont associées à une **sécrétion précoce d'IFN de type I**, une **diminution de la charge virale**, une **diminution progressive des cytokines proinflammatoires** et une **survie lymphocytaire**
- Les **formes sévères** de COVID-19 sont associées à une **faible sécrétion d'IFN de type I**, une **augmentation de la charge virale**, un **orage cytokinique** et une **mort lymphocytaire**

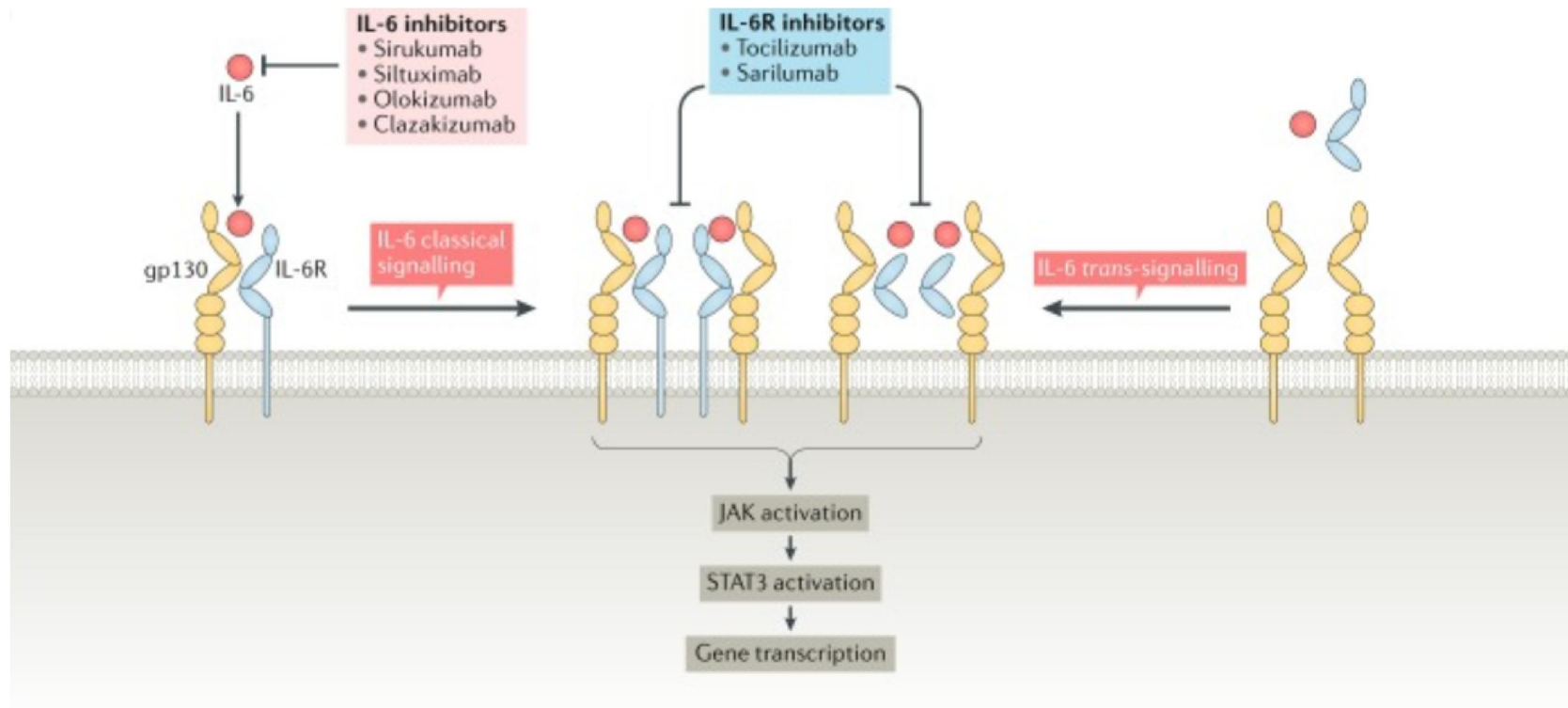


Effets proinflammatoires locaux et systémiques de l'IL-6



Pourquoi ne pas bloquer les effets proinflammatoires de l'IL-6 dans les formes sévères du COVID-19?

Stratégies pratiques de blocage de l'IL-6 (1)

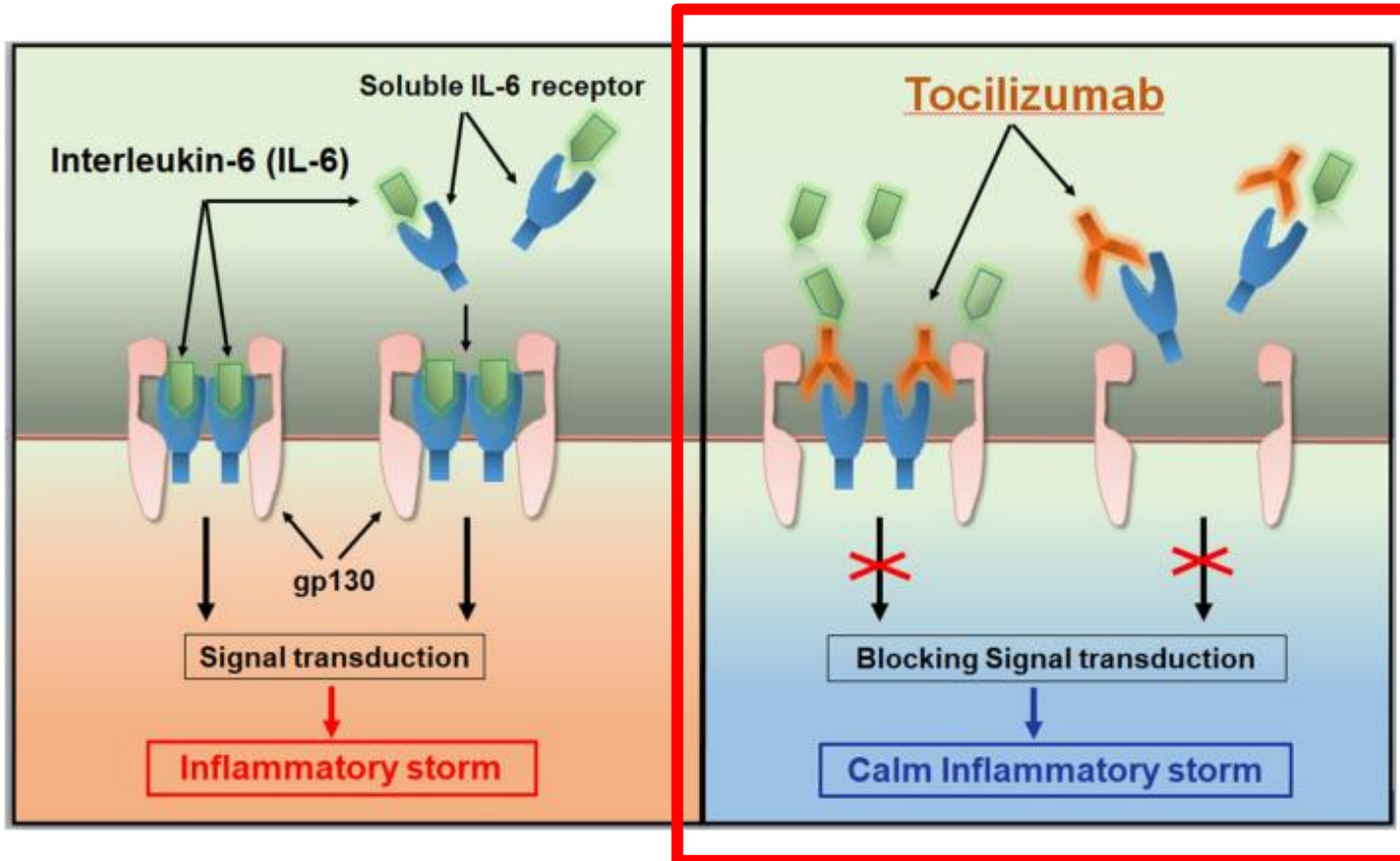


- Inhibiteurs de l'IL-6

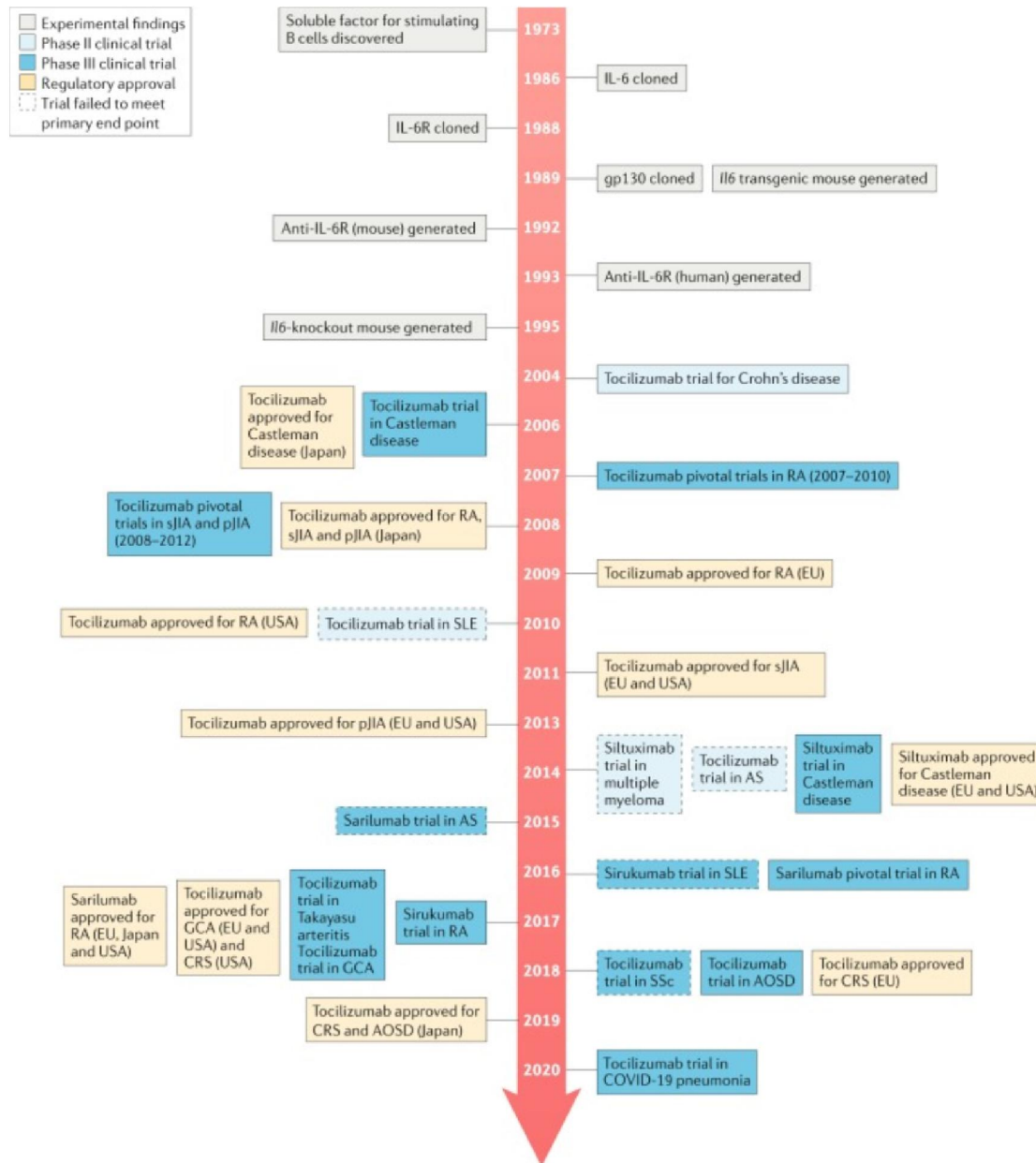
OU

- Inhibiteurs du récepteur de l'IL-6

Stratégies pratiques de blocage de l'IL-6 (2)



Inhibiteurs du récepteur de l'IL-6 : déjà utilisé en clinique



Maladies autoimmunes

- Polyarthrite rhumatoïde
- Maladie de Still de l'adulte et de l'enfant
- Artérite à cellules géantes (maladie de Horton)
- Vascularites affectant les vaisseaux de gros calibres (artérite de Takayasu)

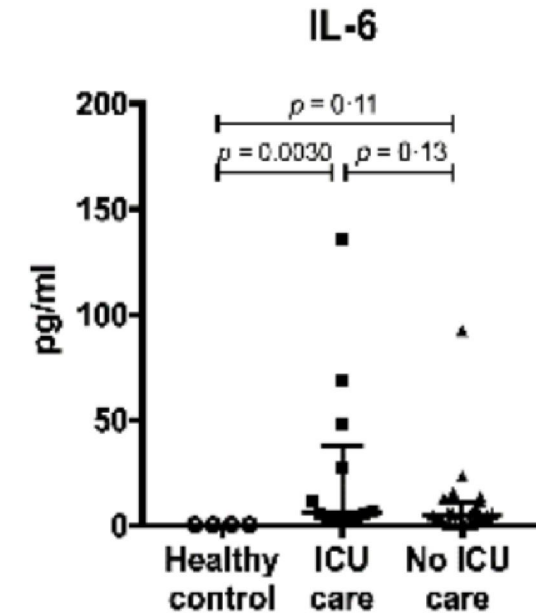
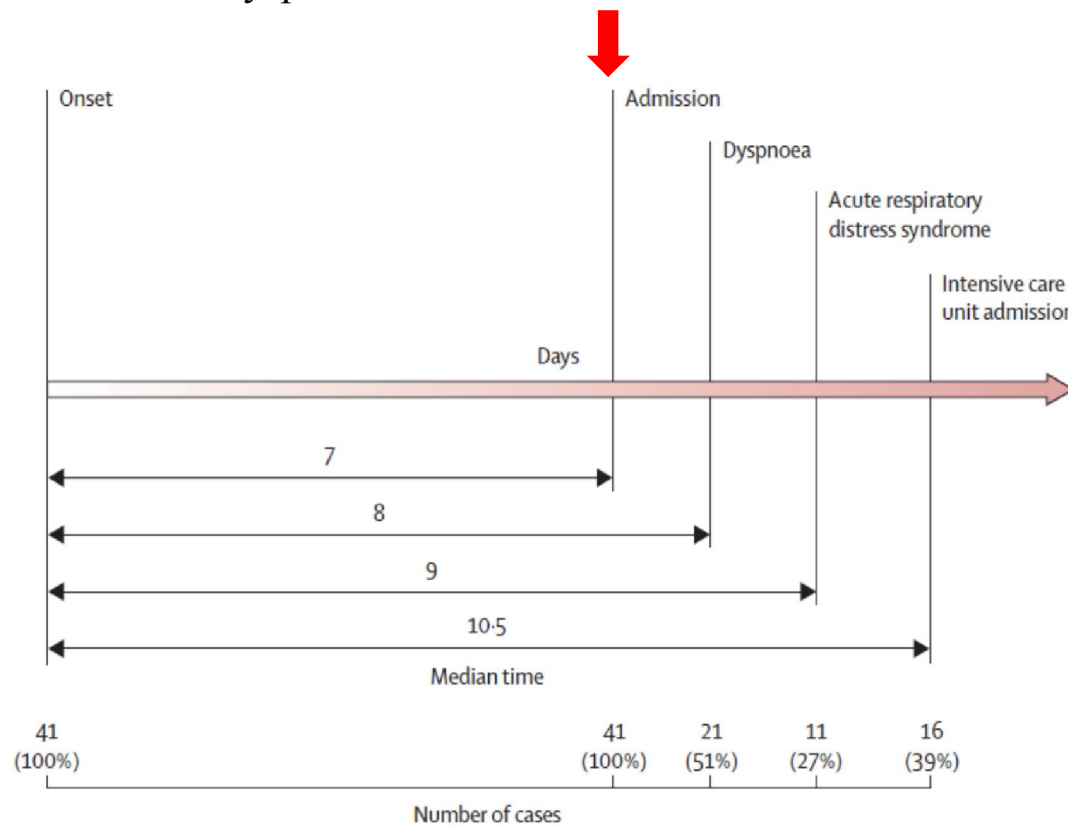
Et

- Maladie de Castleman
- CRS

Pourquoi le dosage de l'IL-6 au laboratoire? (1)

- Etude observationnelle monocentrique, 41 patients
- Dosage de l'IL-6 à l'admission, puis quotidiennement

Plus de la moitié des patients présentant une dyspnée sont ensuite admis en soins intensifs



Concentrations d'IL-6 chez les patients COVID-19

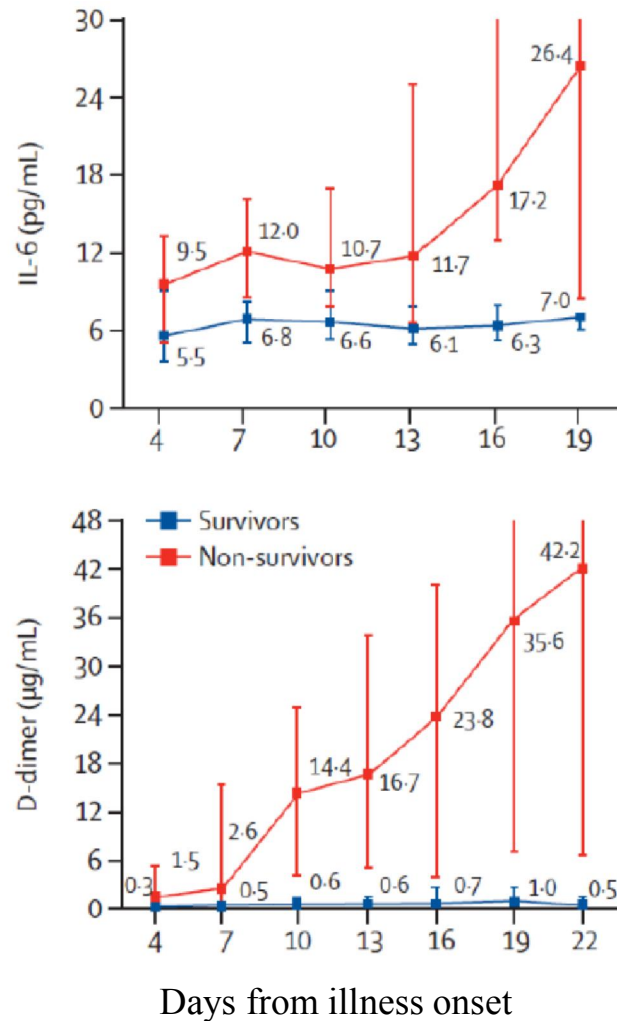
- Dans les unités de soins intensifs (ICU care)
- vs. Unités de soins courants (No ICU care)

L'IL-6 augmente avec la sévérité de la maladie

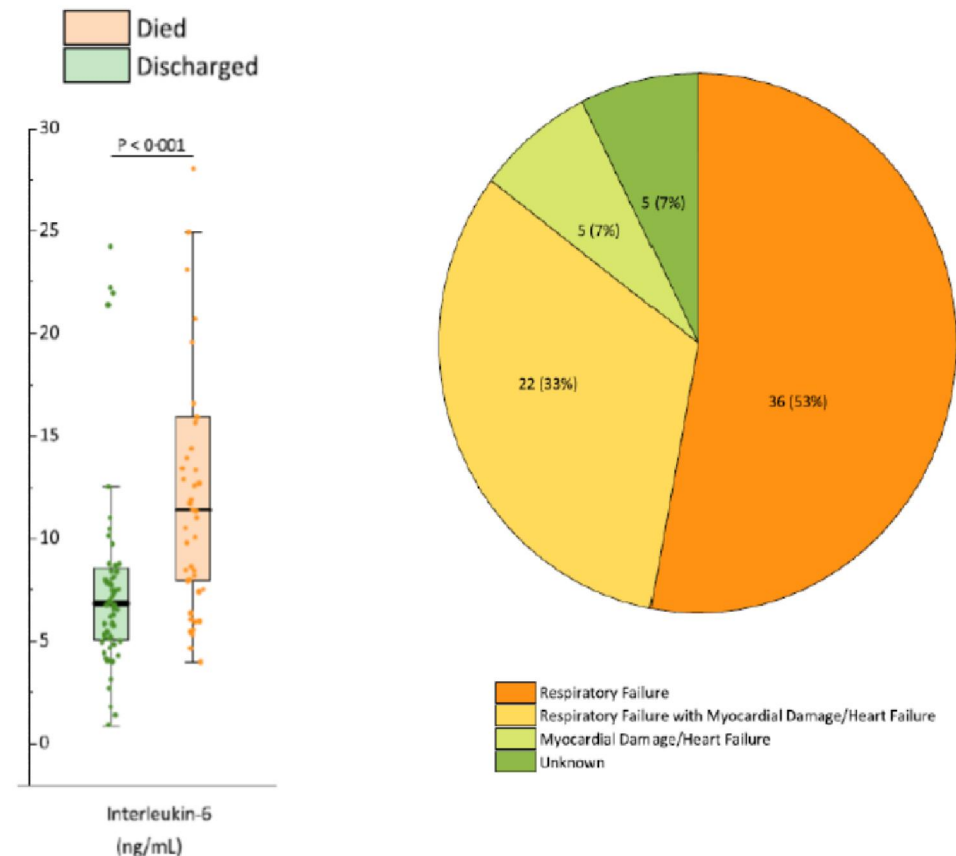
(Huang C et al., the Lancet, 2020)

Pourquoi le dosage de l'IL-6 au laboratoire? (2)

Etude chinoise rétrospective bicentrique, 191 patients



Etude chinoise rétrospective bicentrique, 150 patients



L'augmentation de l'IL-6 est un facteur de mauvais pronostic

(Zhou F et al., *The Lancet*, 2020)

(Ruan Q et al., *Intensive Care Med*, 2020)

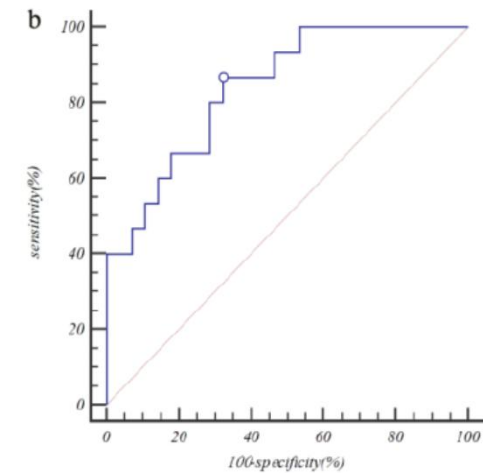
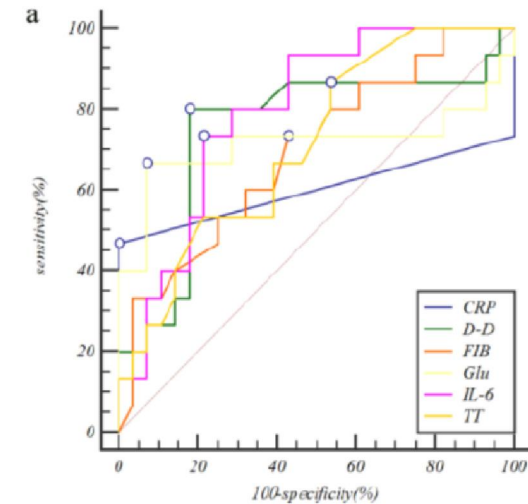
Pourquoi le dosage de l'IL-6 au laboratoire? (3)

Seuil prédictif d'un COVID-19 sévère :

- IL-6 > 24,3 pg/ml (dosé sur Cobas e 601/Roche)
- DDIM > 0,28 µg/l

TABLE 5 Analysis of the effectiveness of individual and joint indicators (IL-6 and D-Dimer) for predicting the occurrence of the severe COVID-19

	Sensitivity (%)	Specificity (%)	AUC (95%CI)
IL-6	73.3	89.3	0.813(0.665,0.915)
D-D	86.7	82.1	0.844(0.701,0.936)
IL-6 or D-D	93.3	75.0	0.872(0.698,0.935)
IL-6 and D-D	66.7	96.4	0.815(0.668,0.917)



Le taux d'IL-6 combiné aux DDIM prédit les complications respiratoires du COVID-19

(Gao T et al., J Med Virol, 2020)

Mise en place du dosage de l'IL-6 au LBM du CHIC



Cobas e 601

- Technique ECLIA en *sandwich*
- Valeurs de référence < ou = à 7 pg/ml
- Coût raisonnable à environ 1 euro/test
- Seuls les patients avec un taux élevé d'IL-6 ont bénéficié de Tocilizumab

	IL-6 (pg/mL)					
	Médiane	Moyenne	Minimum	Maximum	N = 281	n
SRIS	62.1	150	≤ 1.5	2062	94	159
Sepsis	131	294	6.47	3122	65	
Sepsis sévère	346	1827	15.2	39121	60	122
Choc septique	659	8835	8.55	171257	62	

Caractéristiques des patients ayant eu au moins un dosage d'IL-6 et qui ont été traités par Tocilizumab

Age (ans)	Sexe	Facteurs de risque	Taux d'IL-6 (pg/ml)	Nombre et date d'injection du Tocilizumab par rapport à l'installation des signes cliniques	Evolution post Tocilizumab
75	F	Obésité, HTA et DNID	125,3	1 injection J 17	Amélioration biologique et clinique progressive à partir de J3
69	F	HTA, DID et IR	263,5	1 injection J 6	Décès le jour de l'injection par IDM
43	H	Aucun identifié	216,3	1 injection J 10	Amélioration biologique et clinique progressive à partir de J2
71	H	Aucun identifié	113,2	1 injection J 25	Amélioration biologique et clinique progressive à partir de J3
46	H	HIV+ et ICG	122,2	1 injection J 11	Amélioration biologique et clinique progressive à partir de J2
64	H	DNID et HTA	235,2	1 injection J 11	Amélioration biologique et clinique progressive à partir de J2
32	H	DNID	1544,0	1 injection J 10	Décès 3 jours après injection par SRC
40	H	Aucun identifié	82,0	1 injection J 28	Amélioration biologique et clinique progressive à partir de J2
76	H	ACFA	196,7	1 injection J 16	Décès 5 jours après injection par défaillance cardiaque et respiratoire
35	H	Obésité	682,3	2 injections J 11 J 12	Absence d'amélioration clinique, diminution du syndrome inflammatoire
83	H	DNID	74,9	1 injection J 11	Amélioration biologique et clinique progressive à partir de J2

Caractéristiques des patients ayant eu au moins un dosage d'IL-6 et qui ont été traités par Tocilizumab

Sexe ratio F/H	Age moyen (ans)	Taux IL-6 moyen (pg/ml)	Patients présentant un ou des facteurs de risque (%)	Pourcentage d'amélioration (%)	Pourcentage de décès (%)	Autres facteurs d'inflammation augmentés (CRP, DDIM, Fibrinogène, ferritine)	Autres traitements ayant précédé ou accompagné le Tocilizumab
2/9	57,6 (32-83)	332,3 (ET:435,9)	72,72	72,72	27,27	OUI toujours	OUI toujours

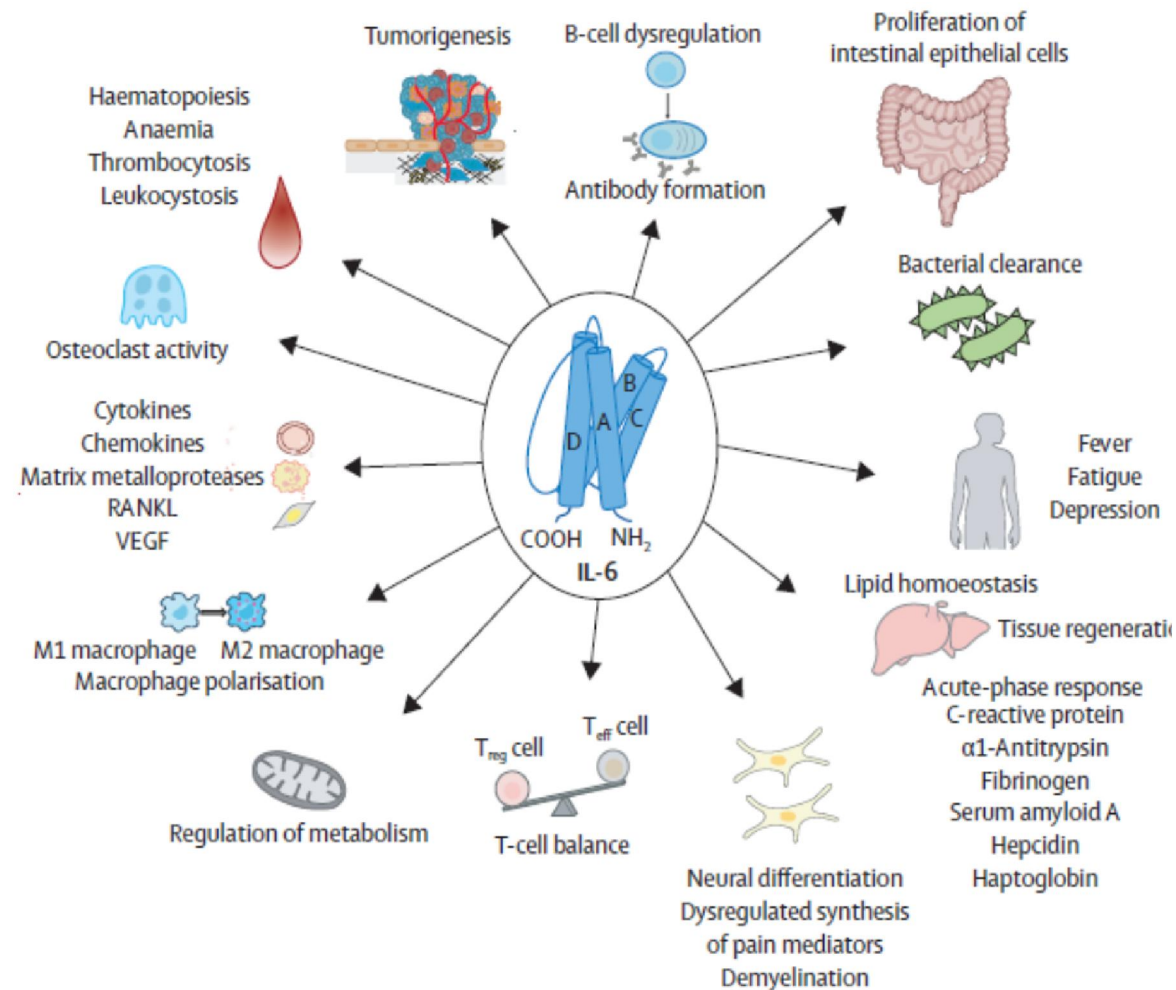
- Tous les patients présentent des signes de pneumopathie sévère et ont nécessité une oxygénothérapie avec ou sans ventilation mécanique
 - **Attention** : difficile de tirer des conclusions avec 11 patients inclus
- Parmi les traitements ayant précédé ou accompagné le Tocilizumab : Plaquenil (2/11), Kaletra (7/11), Dexaméthasone (5/11), antibiothérapie (11/11)
 - Chez les patients décédés, l'administration du Tocilizumab n'est pas tardive
 - Tous les patients décédés ont un ou des facteurs de risque
- Les taux d'IL-6 avant Tocilizumab sont très variables (difficile de déterminer un seuil)
 - Le taux d'IL-6 avant injection n'est pas associé à l'évolution défavorable

Le Tocilizumab efficace ou pas dans les formes modérées à sévères de la maladie?

Résultats contradictoires

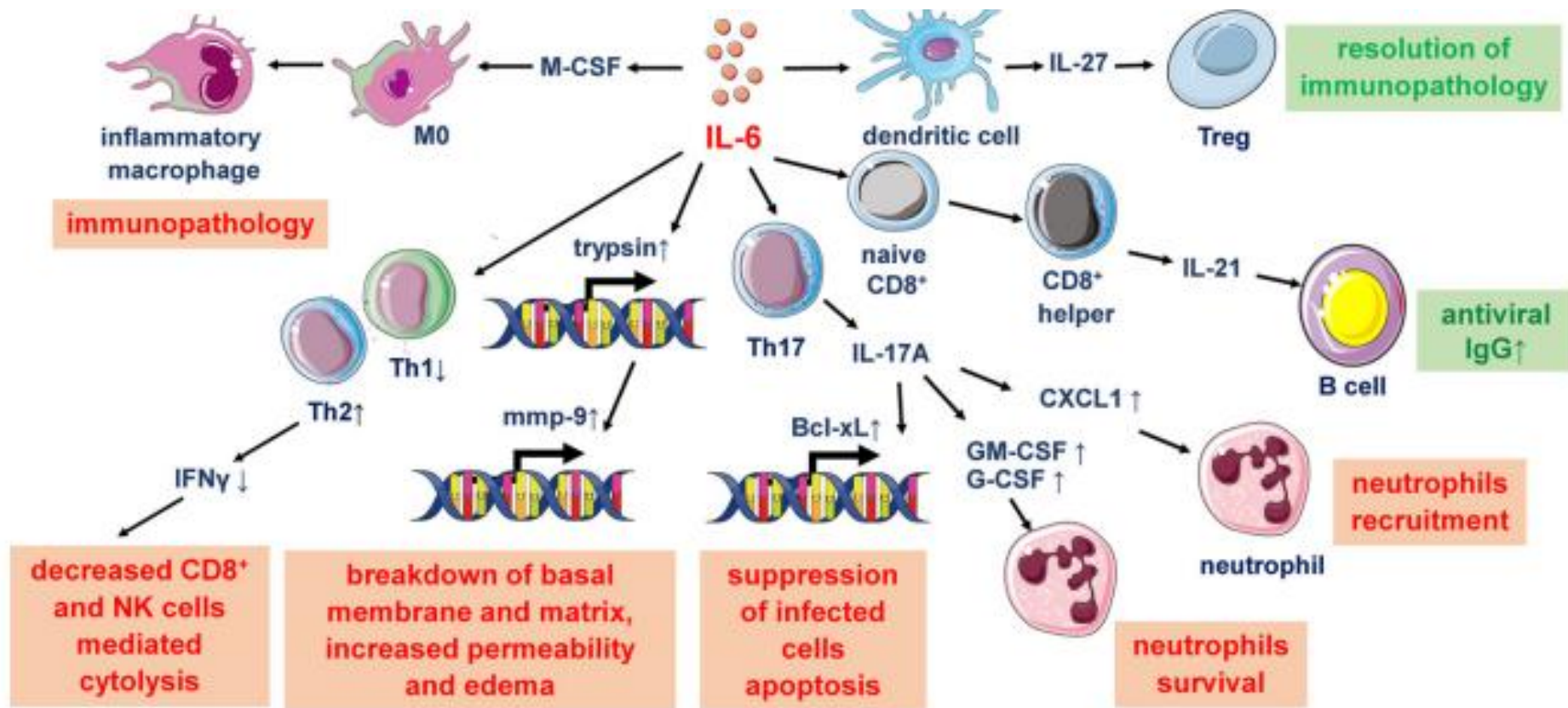
- Certaines méta analyses de cohortes montrent une efficacité du Tocilizumab sur le taux de mortalité et sur la dépendance de la ventilation mécanique (*Klopfenstein T et al., Int J Infect Dis, 2020; Tleyjeh IM et al., Clin Microbiol Infect, 2021*)
- D'autres résultats d'essais cliniques randomisés ne montrent aucun effet du Tocilizumab sur la mortalité dans les formes modérées à sévères de la maladie (*Stone JH et al., N Engl J Med, 2020; Salvarani C et al., JAMA Intern Med, 201, Hermine O et al., JAMA Intern Med, 2021; Salama C et al., N Engl J Med, 2021*)
- Un essai clinique utilisant le Tocilizumab a été brutalement arrêté après inclusion de 129 patients à cause d'une augmentation significative du taux de mortalité dans les formes sévères (*Mahase E, BMJ, 2021*)
- Les deux essais cliniques REMAP-CAP (400 inclusions environ) et RECOVERY (2100 inclusions environ) montrent un effet bénéfique du Tocilizumab sur les formes sévères et critiques de la maladie avec une baisse de la mortalité (28% et 29%) par rapport aux patients contrôles (36% et 33%)

Résultats contradictoires expliqués par l'effet pleiomorphe de l'IL-6



(McElvaney OJ, *Lancet Respir Med*, 2021)

Résultats contradictoires expliqués par les effets contradictoires de l'IL-6 sur la réponse immunitaire



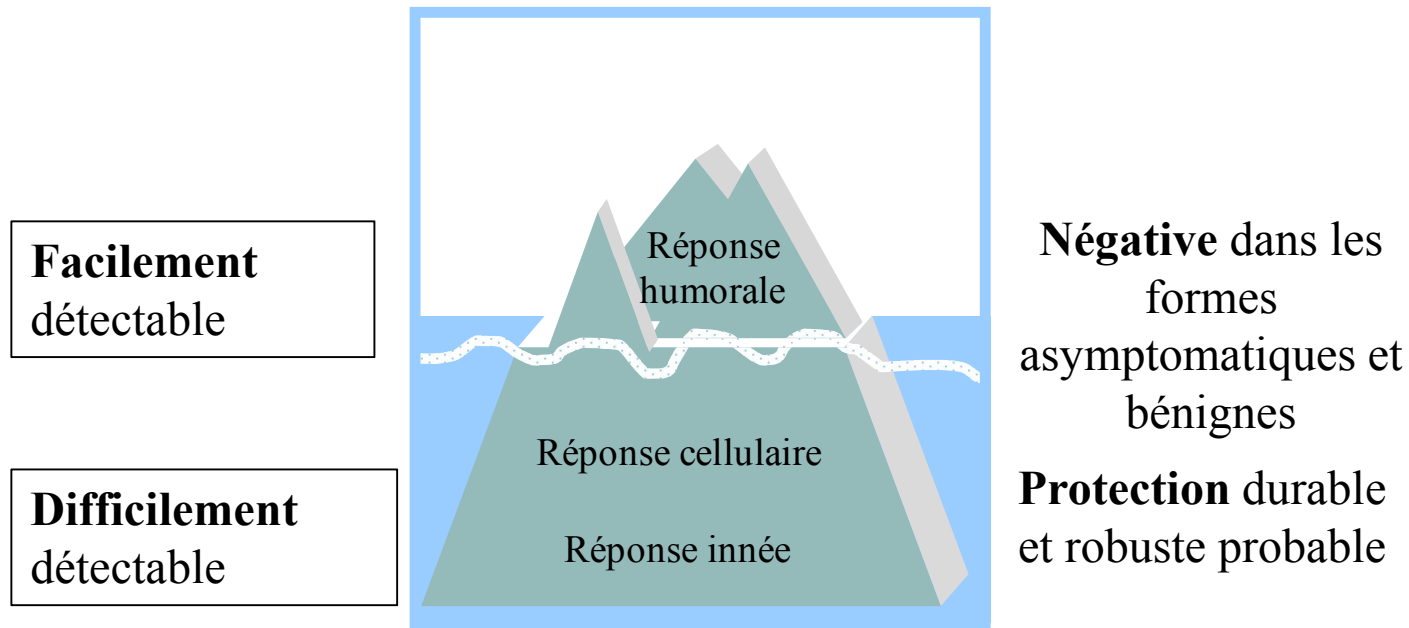
En conclusion....

- Expérience intéressante mise en place à la demande des cliniciens dès le début de la première vague
- Dosage de l'IL-6 au laboratoire et traitement par Tocilizumab au CHIC arrêtés dès mai 2020 : traitement cher et l'association corticothérapie/oxygénothérapie étant devenue le *gold standard* dans le traitement des formes modérées à sévères
- De plus, avec la vaccination, il y a de moins en moins de formes graves
- **NON**, le dosage de l'IL-6 n'est pas indispensable dans la prise en charge des patients COVID-19
- Une meilleure compréhension de la réponse immune anti-SARS-Cov-2 reste nécessaire : projet de recherche clinique en cours au sein du laboratoire (Immunologie et Parasitologie en collaboration avec Marseille)

RATIONNEL - étude ancillaire

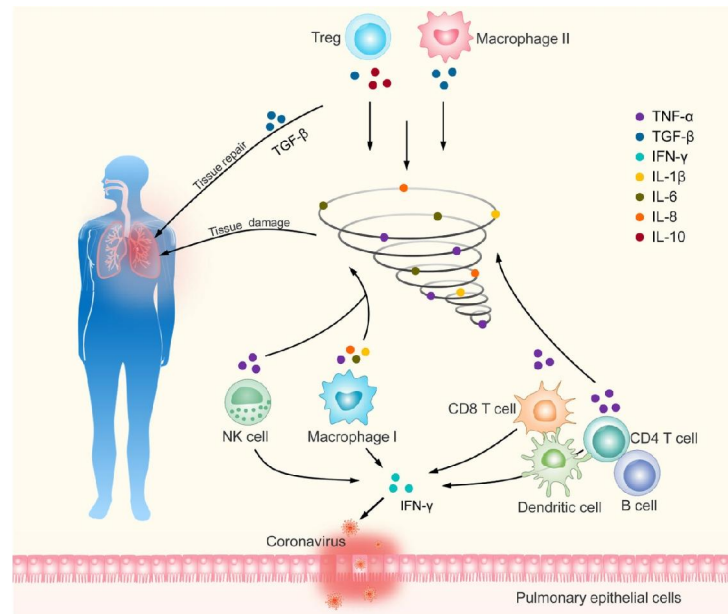
« La quasi totalité des réponses immunitaires anti-infectieuses commencent par une réponse cellulaire T »

Qu'en est-il du SARS-CoV-2?

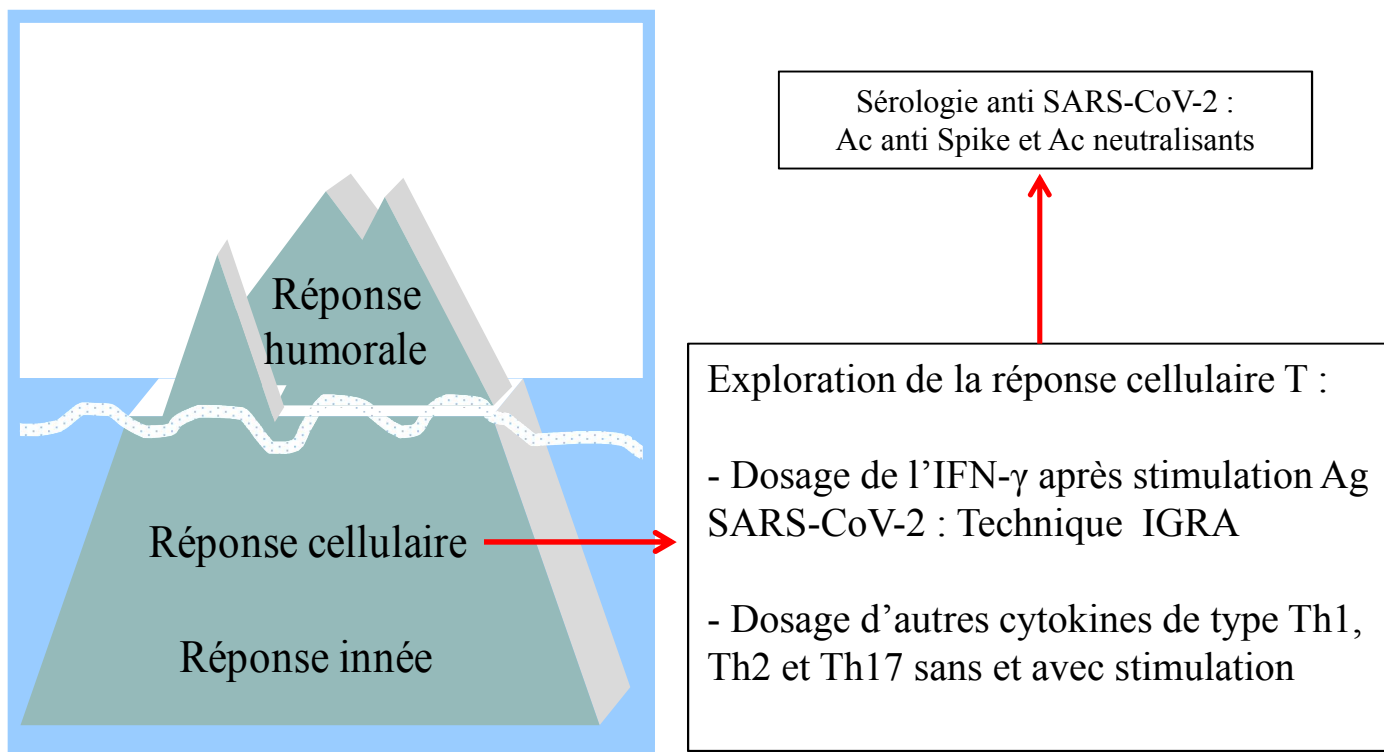


OBJECTIF – étude ancillaire

- Démontrer que l'altération de cette réponse T est corrélée à un risque d'évolution sévère avec des séquelles pulmonaires (fibrose pulmonaire)
- Séquelles pulmonaires évaluées par l'état clinique, biologique et radiologique



MOYENS – étude ancillaire



Etude de réponse cellulaire T et de la réponse humorale à T0, T3 mois et T6 mois poste COVID grave

Objectifs principal et secondaires de l'étude

Objectif principal

Etudier l'intensité et l'évolution de la réponse lymphocytaire T dirigée contre le SARS-CoV-2 chez des patients ayant ou non développé une fibrose pulmonaire

Objectifs secondaires

1- Au-delà de la sécrétion d'IFN- γ , évaluer le profil de cytokines produites par les cellules immunitaires dans le surnageant de culture du test Quantiféron SARS-CoV-2 (IL-6, TNF- α , TWEAK...)

2- Déterminer si une modification de la réponse cellulaire T COVID-spécifique dans ce contexte est associée à une réponse humorale contre le virus (production d'anticorps anti-SARS-COV-2)

3- Utilisation de l'IGRA SARS-Cov-2 en routine chez les patients immunodéprimés ou non répondeurs au vaccin afin d'évaluer leur capacité de protection contre le virus



Biologistes :

Dr Rota Michèle
Dr Curvale Nathalie
Dr Smati-Lafarge Mounira
Dr Aberrane Saïd
Dr Soismier Nathalie

Cliniciens :

Dr Froissart Antoine
Dr Garrait Valérie
Pr Bernard Maître
Dr Schortgen Frédérique