

UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

ANNEE: 2021

THESES 2021 TOU3 2052

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement
par

PARRAUD DELPHINE

ETUDE DES MARQUEURS VIROLOGIQUES AU COURS DE L'INFECTION A SARS-CoV-2 CHEZ LES PATIENTS TRANSPLANTES D'ORGANE AU CHU DE TOULOUSE

Le 10/09/2021

Directeur de thèse : Dr ABRAVANEL Florence

JURY

Président : Dr CHAPUY-REGAUD Sabine
1er assesseur : Pr IZOPET Jacques
2ème assesseur : Dr DEL BELLO Arnaud

PERSONNEL ENSEIGNANT
de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de l'Université Paul Sabatier
au 1er octobre 2020

Professeurs Emérites

Mme BARRE A.	Biologie Cellulaire
M. BENOIST H.	Immunologie
M. BERNADOU J.	Chimie Thérapeutique
M. CAMPISTRON G.	Physiologie
M. GAIRIN J.E.	Pharmacologie
Mme NEPVEU F.	Chimie analytique
M. ROUGE P.	Biologie Cellulaire
M. SALLES B.	Toxicologie

Professeurs des Universités

Hospitalo-Universitaires		Universitaires	
Mme AYYOUB M.	Immunologie	Mme BERNARDES-GÉNISSON V.	Chimie thérapeutique
M. CESTAC P.	Pharmacie Clinique	Mme BOUTET E.	Toxicologie - Sémiologie
M. CHATELUT E.	Pharmacologie	Mme COUDERC B.	Biochimie
Mme DE MAS MANSAT V.	Hématologie	M. CUSSAC D. (Vice-Doyen)	Physiologie
M. FAVRE G.	Biochimie	M. FABRE N.	Pharmacognosie
Mme GANDIA P.	Pharmacologie	Mme GIROD-FULLANA S.	Pharmacie Galénique
M. PARINI A.	Physiologie	M. GUIARD B.	Pharmacologie
M. PASQUIER C. (Doyen)	Bactériologie - Virologie	M. LETISSE F.	Chimie pharmaceutique
Mme ROQUES C.	Bactériologie - Virologie	Mme MULLER-STAUTMONT C.	Toxicologie - Sémiologie
Mme ROUSSIN A.	Pharmacologie	Mme REYBIER-VUATTOUX K.	Chimie analytique
Mme SALLERIN B.	Pharmacie Clinique	M. SEGUI B.	Biologie Cellulaire
M. VALENTIN A.	Parasitologie	Mme SIXOU S.	Biochimie
		M. SOUCHARD J-P.	Chimie analytique
		Mme TABOULET F.	Droit Pharmaceutique
		M. VERHAEGHE P.	Chimie Thérapeutique

Maîtres de Conférences des Universités

Hospitalo-Universitaires		Universitaires	
M. DELCOURT N.	Biochimie	Mme ARELLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme JUILLARD-CONDAT B.	Droit Pharmaceutique	Mme AUTHIER H.	Parasitologie
M. PUISSET F.	Pharmacie Clinique	M. BERGE M. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme ROUCH L.	Pharmacie Clinique	Mme BON C. (*)	Biophysique
Mme ROUZAUD-LABORDE C.	Pharmacie Clinique	M. BOUJILA J. (*)	Chimie analytique
Mme SERONIE-VIVIEN S. (*)	Biochimie	M. BROUILLET F.	Pharmacie Galénique
Mme THOMAS F. (*)	Pharmacologie	Mme CABOU C.	Physiologie
		Mme CAZALBOU S. (*)	Pharmacie Galénique
		Mme CHAPUY-REGAUD S.	Bactériologie - Virologie
		Mme COLACIOS C.	Immunologie
		Mme COSTE A. (*)	Parasitologie
		Mme DERAËVE C. (*)	Chimie Thérapeutique
		Mme ECHINARD-DOUIN V.	Physiologie
		Mme EL GARAH F.	Chimie Pharmaceutique
		Mme EL HAGE S.	Chimie Pharmaceutique
		Mme FALLONE F.	Toxicologie
		Mme FERNANDEZ-VIDAL A.	Toxicologie
		Mme GADEA A.	Pharmacognosie
		Mme HALOVA-LAJOIE B.	Chimie Pharmaceutique
		Mme JOUANJUS E.	Pharmacologie
		Mme LAJOIE-MAZENC I.	Biochimie
		Mme LEFEVRE L.	Physiologie
		Mme LE LAMER A-C.	Pharmacognosie
		M. LE NAOUR A.	Toxicologie
		M. LEMARIE A.	Biochimie
		M. MARTI G.	Pharmacognosie
		Mme MONFERRAN S.	Biochimie
		M. SAINTE-MARIE Y.	Physiologie
		M. STIGLIANI J-L.	Chimie Pharmaceutique
		M. SUDOR J. (*)	Chimie Analytique
		Mme TERRISSE A-D.	Hématologie
		Mme TOURRETTE-DIALLO A. (*)	Pharmacie Galénique
		Mme VANSTEELANDT M.	Pharmacognosie
		Mme WHITE-KONING M. (*)	Mathématiques

(*) Titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

Enseignants non titulaires

Assistants Hospitalo-Universitaires		Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche (ATER)	
Mme LARGEAUD L.	Immunologie	M. François-Xavier TOUBLET	Chimie Thérapeutique
M. LE LOUEDEC F.	Pharmacologie		
M. MOUMENI A.	Biochimie		
M. PAGES A.	Pharmacie Clinique		
Mme SALABERT A.S	Biophysique		
Mme TRIBAUDEAU L.	Droit Pharmaceutique		

Remerciements

A Madame le **Docteur Sabine CHAPUY-REGAUD**

Merci d'avoir accepté de présider ce jury, et de l'intérêt que vous avez porté à mon travail. Je vous remercie également de m'avoir donné l'opportunité d'apprendre à vos côtés lors de mon master 1 afin de découvrir le monde de la recherche.

A Monsieur le **Professeur Jacques IZOPET**

Je vous remercie de m'avoir fait l'honneur de siéger au sein de mon jury et de participer à la critique de ce travail. Je vous suis également très reconnaissante de m'avoir intégrée, le temps d'un stage, au sein de votre équipe.

A Monsieur le **Docteur Arnaud DEL BELLO**

Merci d'avoir accepté d'être membre de ce jury et d'apporter une expertise clinique sur ce sujet. Je vous suis reconnaissante de m'avoir permis de travailler à vos côtés pour ce projet.

A Madame le **Docteur Florence ABRAVANEL**

Je vous remercie d'avoir accepté de diriger ma thèse et de m'avoir fait confiance pour le travail qui m'a été attribué. Merci pour votre disponibilité, vos conseils précieux et votre implication tant dans ce travail que dans l'encadrement de mon stage au laboratoire de Virologie malgré ces temps difficiles.

A ma famille,

A mes parents, merci d'avoir toujours créé un environnement dans lequel il était facile de s'épanouir. Merci pour m'avoir donné ce goût de la curiosité et l'envie d'aller toujours plus loin.

A Sophie ma petite sœur, aussi insupportable qu'attachante, je suis quand même un peu fière de la personne que tu es devenue.

A ma Mamie Mireille pour toute la force que tu m'as donnée depuis mon plus jeune âge et pour toute l'inspiration que j'ai pu tirer de tes expériences.

A mes Marseillais que j'ai gardés dans le cœur :

Emma, ma grande sœur de cœur, quand je repense à la première fois que je t'ai vu avec ta minirobe verte fluo, on en a fait du chemin depuis. Merci d'avoir toujours été bienveillante, attentive, toujours pleine de joie même dans les moments les plus difficiles.

KMY, mon petit chat, la première personne à avoir cru en moi pour la PACES, les exams, le concours, la thèse... Quand tu t'es cognée la tête ce jour d'octobre 2013 à la prépa j'ai tout de suite su que tu étais une personne incroyable. Merci pour tous ces sushis et ces BIER(s).

Camille P, quoi qu'il arrive je ne t'oublie pas, j'ai hâte qu'on puisse se refaire des trucs plus souvent quand je me serai extirpée de la région Occitanie qui est beaucoup trop loin de chez nous !

Cédric I., merci de toujours avoir su prendre soin de moi quand il le fallait.

A la meilleure promo de biologie médicale de l'histoire, ceux qui me supportent tous les jours au labo depuis 3 ans :

Mes deux supers copines du premier jour : Marine, ma Dame d'Avignon, tu sais que tu auras toujours une petite place réservée chez moi où que j'aille ; **Orancie**, l'association improbable de mon internat, si différente de moi mais si complémentaire. Notre trio restera une des plus jolies amitiés que j'ai pu créer jusqu'ici.

A **Dorian** pour avoir été comme mon grand frère, et pour m'avoir aidé à me relever à chaque moment difficile (surtout dans les escaliers). Si tu m'oublies je te pète une côte.

A **Alban** la beauté sensible, merci d'avoir été une si bonne copine même quand je faisais la chouineuse. Pour moi t'es un fraté.

A **Caroline** (ALLO ?) pour ce soutien mutuel ces derniers mois, comme quoi la sororité c'est vraiment quelque chose d'incroyable. Rendez-vous dans quelques années quand on sera au sommet de la PU-PHerie.

A **Pilu**, pardon pour l'oubli initial, si tu relis ça un jour sache que ton accent restera toujours dans ma mémoire !

Laurie ma co-VP, on en aura vécu des rebondissements ensemble ! **Julia** qui m'a permis de supporter le stage de biochimie, **Yolla**.

Aux autres copains de l'internat :

Anissa pour toute cette douceur que tu as pu m'apporter, viens vite me voir à Paris !

Adrien le blagueur au grand cœur, trop hâte de la prochaine soirée paillettes.

Pauline G la bête du sud-ouest, **Maxime** le plus grand trompettiste de l'histoire de la fanfare, **Cédric B.** (je compte sur toi pour prendre bien soin de l'appartement), **Paul** l'amateur de Leffe Ruby, **Nolween et Julien** les vétérans, **Pauline M, Eugénie.**

Aux plus vieux :

Aude, à tous ces moments où on a réfléchi à notre avenir, see you à Lyon !

Pierre (je n'arrive pas à croire que je passe ma thèse avant toi)

Pauline C et nos supers recettes du confinement, pour toutes les valeurs qu'on partage

Imane pour toutes les bêtises que tu peux dire à la minute,

Ali, Hugo, Marie, Maximin, Sabine.

Emilie G, merci pour l'aide précieuse que tu m'as apportée, sans toi ce manuscrit aurait mis beaucoup plus de temps à voir le jour.

Pauline et Clémence, les deux mégères de bactério

Aux plus jeunes :

Mathilde, merci pour le feu d'artifice avec des étoiles dans les yeux et le super crumble,

Germain, finalement je n'aurai jamais réussi à squatter ta piscine...

Benjamin le meilleur binôme d'hémato ! **Apolline** (merci pour l'aide pour le plan même si j'ai tout changé ensuite haha). **Lucie F** pour d'avoir essayé d'être mon disciple, il te manque encore un peu d'entraînement. **Les jumelles Thène**, mes dernières rencontres Toulousaines mais pas des moindres.

Merci à toutes ces personnes rencontrées pendant cette période sud-ouestienne de ma vie, je reprends maintenant mon baluchon pour changer d'air et aller étudier des virus super dangereux (attention à la prochaine pandémie, ça viendra peut-être de moi qui ai manipulé avec mes deux mains gauches hahaha). Je vous garde tous dans un petit coin de ma tête et je vous dis à la prochaine <3 !

A **Jamal**, pour tout.

Table des matières

INDEX.....	9
LISTE DES ABREVIATIONS	10
1. Introduction.....	11
2. Généralités sur le SARS-CoV-2.....	12
2.1. Le virus.....	12
2.1.1. La famille des <i>Coronaviridae</i> (taxonomie).....	12
2.1.2. Structure du virus et génome.....	14
2.1.3. Interaction virus-cellule et réplication virale.....	16
2.1.4. Mode de transmission	18
2.1.5. Epidémiologie	18
2.2. Pouvoir pathogène	20
2.2.1. Réponse immunitaire et physiopathologie	20
2.2.2. Clinique et biologie.....	23
2.2.3. Etat des lieux sur les traitements	25
2.2.4. Vaccination	27
2.3. Méthodes de diagnostic	28
2.3.1. Diagnostic direct.....	28
2.3.2. Diagnostic indirect.....	29
2.4. Cas de l'infection par le SARS-CoV-2 chez les patients transplantés d'organe	30
2.4.1. Immunosuppression et transplantation.....	30
2.4.2. Infection à SARS-CoV-2 chez les patients transplantés d'organe.....	31
3. Objectifs.....	34
4. Matériel et méthodes.....	34
4.1. Patients et échantillons	34
4.2. Etude statistique.....	35
4.3. Détection de l'ARN viral	35
4.4. Dosages des immunoglobulines totales (Kit Wantai).....	36
5. Résultats	37
5.1. Etude des différents paramètres en fonction de la sévérité.....	39
5.2. Etude des différents paramètres en fonction de la létalité	42
5.3. Etude des différents paramètres en fonction de la virémie.....	44
5.4. Etude des différents paramètres en fonction de l'excrétion du virus dans les selles.....	46
5.5. Etude des différents paramètres en fonction de la détection urinaire du virus.....	48
6. Discussion	51
7. Conclusion et perspectives.....	56

INDEX

TABLEAUX

TABLEAU 1 : EMERGENCE DES CORONAVIRUS HUMAINS	12
TABLEAU 2 : FONCTION DES PROTEINES NON STRUCTURALES DU SARS-COV-2	15
TABLEAU 3 : LISTE DES VACCINS DIRIGES CONTRE LE SARS-COV-2 AYANT UNE AMM EN FRANCE	27
TABLEAU 4 : LISTES DES CAS DE PATIENTS TRANSPLANTES INFECTES A SARS-COV-1 ET MERS-COV.....	32
TABLEAU 5 : DONNEES GENERALES DE LA POPULATION	37
TABLEAU 6 : DONNEES EN FONCTION DE LA FORME DE LA MALADIE (NON SEVERE OU SEVERE)	41
TABLEAU 7 : DONNEES COLLECTEES EN FONCTION DE LA SURVENUE D'UN DECES	43
TABLEAU 8 : DONNEES EN FONCTION DE LA DETECTION D'ARN VIRAL DANS LE SANG (VIREMIE).....	44
TABLEAU 9 : DONNEES EN FONCTION DE LA DETECTION D'ARN DANS LES SELLES.....	46
TABLEAU 10 : DONNEES EN FONCTION DE LA DETECTION URINAIRE DE L'ARN VIRAL	48

FIGURES

FIGURE 1 : ARBRE PHYLOGENETIQUE REPRESENTANT LE GENRE BETACORONAVIRUS	14
FIGURE 2 : ASPECT DU SARS-COV-2 EN MICROSCOPIE ELECTRONIQUE	14
FIGURE 3 : ORGANISATION DU GENOME DU SARS-COV-2	15
FIGURE 4 : CYCLE DE REPLICATION DU SARS-COV-2	17
FIGURE 5 : NOMBRE DE CAS CONFIRMES EN FRANCE DEPUIS LE DEBUT DE LA PANDEMIE	19
FIGURE 6 : SPECTRE CLINIQUE ET IMMUNOLOGIQUE DE LA COVID-19.....	21
FIGURE 7 : VARIATION AU COURS DU TEMPS DES DIFFERENTS TESTS DIAGNOSTIC DE L'INFECTION A SARS-COV-2.....	28
FIGURE 8 : SCHEMA DES INTERACTIONS ENTRE LES CPA ET LES LYMPHOCYTES T AVEC LES DIFFERENTS MODES D'ACTION DES THERAPIES IMMUNOSUPPRESSIVES	31
FIGURE 9 : NOMBRE DE CAS DE SARS-COV-2 CHEZ LES PATIENTS GREFFES D'ORGANES DIAGNOSTIQUES AU CHU DE TOULOUSE PAR RT-PCR SUR ECOUVILLONNAGE NASOPHARYNGE.....	39

LISTE DES ABREVIATIONS

DMV : double membrane vesicles

DFG : débit de filtration glomérulaire

ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay

HAS : Haute autorité de santé

HCoV : Human coronavirus

HTA : Hypertension artérielle

IL : Interleukine

IMC : Indice de masse corporelle

LBA : Liquide broncho alvéolaire

sLHL : lymphohistiocytose hémophagocytaire secondaire

MERS : Middle East Respiratory Syndrome

OMS : Organisation mondiale de la santé

ORF : Open Reading Frame

RBD : Domaine de liaison au récepteur

SAM : syndrome d'activation macrophagique

SARS : Severe acute respiratory syndrome

SDRA : Syndrome de détresse respiratoire aigu

UTR : Untranslated Transcribed Region

TNF : Tumor necrosis factor

1. Introduction

Le XXI^{ème} siècle a été marqué par plusieurs épisodes de pandémies virales d'origine zoonotiques. Le SARS-CoV-1 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus) en 2002, le virus de la grippe H1N1 en 2009 et, depuis 2019, le SARS-CoV-2 sont des virus respiratoires qui ont émergé à partir d'un réservoir animal et qui ont franchi la barrière d'espèce pour infecter l'Homme. Chez l'Homme, les premiers coronavirus ont été isolés en culture dans les années 1960 (1,2), et depuis la pandémie de SARS-CoV-1, ils sont considérés comme des virus à fort potentiel d'émergence. Les hypothèses expliquant l'émergence de ces virus sont multiples, parmi elles le postulat d'une cohabitation humaine de plus en plus proche des habitats naturels d'espèces sauvages impliquant des contacts inter-espèces rapprochés.

La maladie à coronavirus 2019 ou COVID-19 est une infection zoonotique virale aiguë causée par le SARS-CoV-2. Il s'agit d'une pandémie dont le foyer initial a été mis en évidence à Wuhan dans la province de Hubei en Chine en décembre 2019 (3). Le 31 décembre 2019, les premiers cas d'une « pneumonie d'étiologie non identifiée » ont été notifiés à l'office chinois de l'organisation mondiale de la santé (OMS). Le 7 janvier 2020, l'agent pathogène causal est isolé et identifié à partir d'échantillons provenant de patients présentant une pneumonie sévère à l'hôpital de Wuhan. Le 11 janvier, l'OMS reçoit l'information que l'épidémie en cours serait en relation avec un marché de poissons et fruits de mer à Wuhan (4).

Le 12 janvier les autorités chinoises partagent la séquence génétique du pathogène : il s'agit d'un nouveau bêta-coronavirus encore jamais mis en évidence en pathologie humaine (5). Le 13 janvier 2020, la Thaïlande, le Japon et la Corée du Sud déclarent les premiers cas sur leur territoire. Dès lors le nombre de cas détectés en Chine ne cesse de grimper avec 258 cas dans la province de Hubei le 20 janvier, et une dissémination du virus aux autres continents : des cas sont déclarés en France, au Népal, en Malaisie puis fin janvier en Espagne, aux Etats-Unis, et au Canada. Le 30 janvier la Chine signale 7 711 cas et 170 décès, et le 2 février le premier décès hors de Chine est déclaré aux Philippines. Pour faire face à la diffusion du virus, de nombreux pays utilisent alors progressivement un panel de mesures sanitaires : fermeture des frontières, mise en place de gestes barrières (avec notamment lavage régulier des mains, désinfection des surfaces, port du masque chirurgical ou FFP2) et confinement de la population. Malgré ces mesures, la diffusion du virus est rapidement incontrôlable. Le 11 mars, l'OMS déclare que ce coronavirus est responsable d'une pandémie.

2. Généralités sur le SARS-CoV-2

2.1. Le virus

2.1.1. La famille des *Coronaviridae* (taxonomie)

Les coronavirus sont des virus responsables d'infections respiratoires et de gastro-entérites chez les mammifères et les oiseaux (6). La famille des *Coronaviridae* (ordre des Nidovirales) regroupe 4 genres de coronavirus classés en fonction de leur génome : les *Alphacoronavirus*, les *Betacoronavirus*, les *Gammacoronavirus* et les *Deltacoronavirus*. Les *Alphacoronavirus* et les *Betacoronavirus* sont notamment responsables d'infections chez les mammifères (7). Jusqu'en 2019, les coronavirus identifiés comme capables de passer la barrière d'espèce et d'infecter l'Homme (human coronaviruses ou HCoV) étaient au nombre de six : le HCoV-NL63, le HCoV-229E, le HCoV-OC43 et le HCoV-HKU1 qui sont responsables dans la plupart des cas d'infections respiratoires mineures, le SARS-CoV-1 et le MERS-CoV (Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus), responsables d'infections respiratoires sévères (7) (**Tableau 1**).

Tableau 1 : Emergence des coronavirus humains
(Adapté du traité de virologie médicale, 2ème édition)

Coronavirus humain	Origine possible	Hôte intermédiaire	Date d'émergence	Circulation humaine
HCoV-229E Alphacoronavirus	Chauve-souris	Camelidae, Alpaca sp.	Début XIXe siècle	Ubiquitaire, saisonner
HCoV-NL63 Alphacoronavirus	Chauve-souris	Inconnu	XIIIe siècle	Ubiquitaire, saisonner
HCoV-OC43 Betacoronavirus	Rongeurs ?	Bovidae	Fin du XIXe siècle	Ubiquitaire, saisonner
HCoV-HKU1 Betacoronavirus	Rongeurs ?	Rongeurs ?	Inconnue	Ubiquitaire, saisonner
SARS-CoV-1 Betacoronavirus	Chauve-souris	Paguma larvata (civette)	2002	Pandémie décembre 2002 – juillet 2003 Arrêt de la circulation
MERS-CoV Betacoronavirus	Chauve-souris	Camelus dromedarius	2012	Circulation péninsule arabique
SARS-CoV-2 Betacoronavirus	Chauve- souris ?	?	2019	Pandémie débutée en décembre 2019

Le SARS-CoV-1, identifié pour la première fois dans le sud de la Chine entre 2002 et 2003, est l'agent responsable de la première pandémie infectieuse du XXI^{ème} siècle. Ce virus est responsable d'un tableau clinique pulmonaire (pneumopathies sévères). Il a été détecté dans 30 pays, avec 8 098 cas probables et 774 décès (8). Sa circulation a pu être interrompue grâce à des mesures de santé publique prises au niveau international. Le MERS-CoV quant à lui a été responsable d'une épidémie dans la péninsule arabique entre avril 2012 et août 2018, et a été détecté dans 27 pays(9). En date du 30 octobre 2018, 2 266 cas d'infections avaient été recensés dont 804 ont conduit à un décès(9). Ces deux virus ont comme origine commune les chiroptères, et c'est par l'intermédiaire d'un hôte mammifère : la civette ou *Paguma larvata* pour le SARS-CoV-1 (10) et le dromadaire ou *Camelus dromedarius* pour le MERS-CoV (11) qu'ils ont pu passer la barrière d'espèce et infecter l'Homme.

En 2019 un septième coronavirus pouvant infecter l'Homme est identifié dans la région de Wuhan (Chine) : le SARS-CoV-2, un *Betacoronavirus* lui aussi responsable d'infections respiratoires sévères. Son génome présente environ 79% d'homologie avec celui du SARS-CoV-1 et environ 50% avec celui du MERS-CoV (12). Son origine est pour le moment indéterminée. Au niveau phylogénétique, son génome est étroitement lié à celui de deux coronavirus animaux (**figure 1**) : le bat-SL-CoVZC45 et le bat-SL-CoVZXC21 (88% d'identité). Ceci suggère que les chauves-souris seraient l'hôte d'origine et/ou le réservoir de ce virus (12). Cependant les données suggèrent qu'un autre réservoir animal serait en jeu comme pour le SARS-CoV-1 et le MERS-CoV l'hôte d'origine est la chauve-souris mais la contamination de l'Homme se fait par contact avec un hôte intermédiaire.

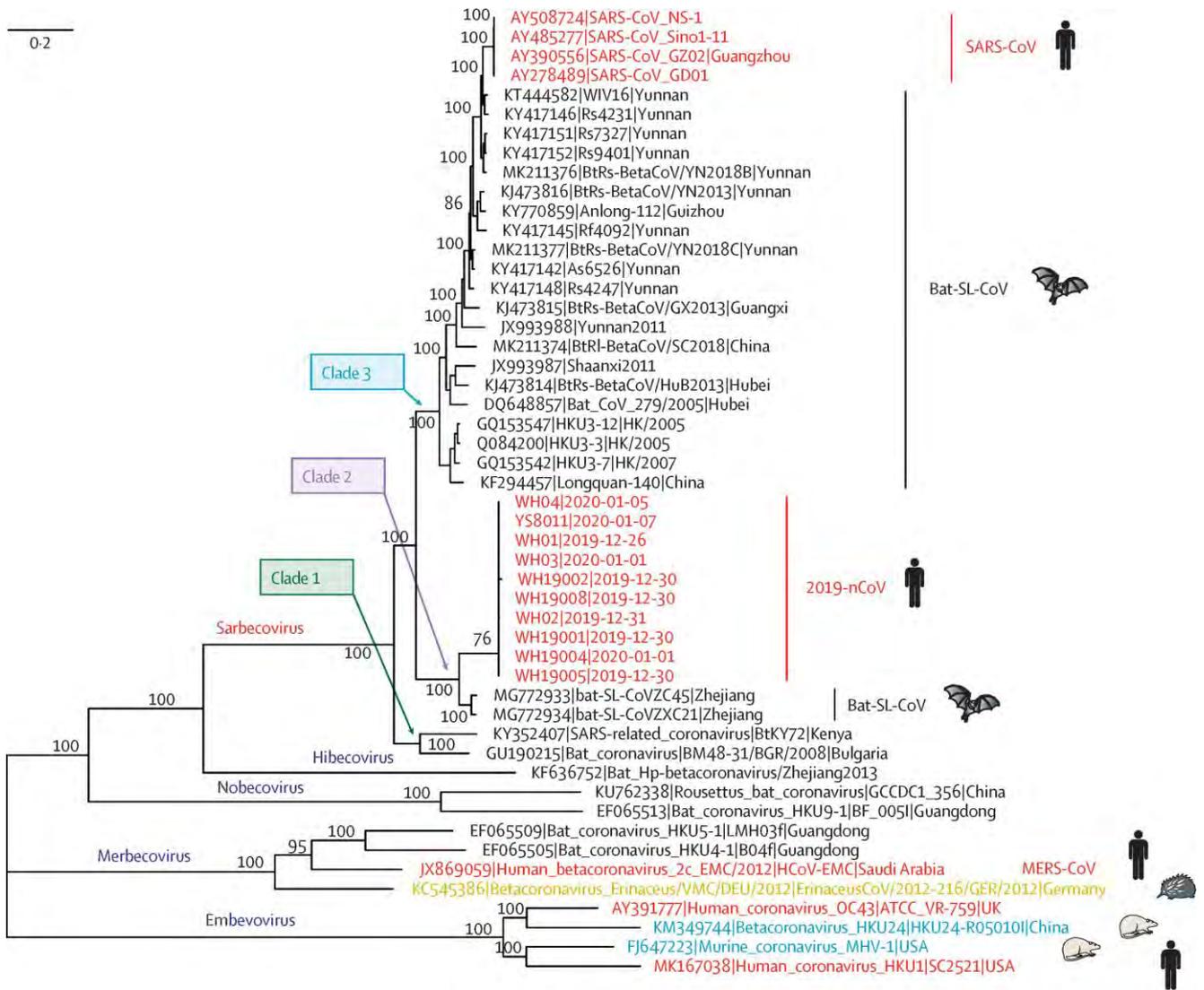


Figure 1 : Arbre phylogénétique représentant le genre Betacoronavirus (12)

2.1.2. Structure du virus et génome

Le terme coronavirus vient de l'aspect en couronne des virions lorsqu'ils sont observés en microscopie électronique (**figure 2**). Cet aspect est dû à la présence de la protéine nommée Spike au niveau de l'enveloppe virale (1).

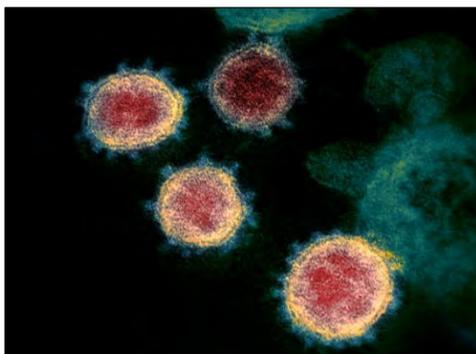


Figure 2 : Aspect du SARS-CoV-2 en microscopie électronique (National Institute of Allergy and Infectious Diseases) (13)

Les virions de coronavirus mesurent entre 100 et 160 nm de diamètre (4) et possèdent le plus grand génome au sein des virus à ARN. Le SARS-CoV-2 est un virus enveloppé à capsidie hélicoïdale et possède un génome à ARN monocaténaire non segmenté de polarité positive de 29.9kB (3).

Le génome est organisé sur le modèle représenté sur la **figure 3** (14) : il inclut du côté 5' et du côté 3' des régions non transcrites (UTR) de 265 et 358 nucléotides, respectivement, et code pour six open reading frame (ORF) qui donneront deux réplisases (ORF1a/ORF1b, en jaune), une protéine Spike (S, en bleu), une protéine d'enveloppe (E, en orange), une protéine de membrane (M, en rouge) et une protéine de la nucléocapside (N, en bleu).



Figure 3 : Organisation du génome du SARS-CoV-2 (Chan 2020)

Les réplisases codent pour une polyprotéine pp1ab qui va être clivée pour donner 16 protéines non structurales (en violet) dont les fonctions sont listées dans le **tableau 2**. La protéine transmembranaire Spike comprend 1 273 acides aminés et est composée de deux sous-unités : S1 comprenant un peptide de signal, un domaine N-terminal et un domaine de liaison au récepteur (RBD), et S2 comprenant un peptide de fusion, un domaine « heptad repeat » (motif structural constitué d'une répétition de 7 acides aminés) , un domaine transmembranaire et un domaine cytoplasmique (15). Cette protéine est organisée sous forme de trimère à la surface de la particule virale. Elle est primordiale pour les premières étapes du cycle viral.

Tableau 2 : Fonction des protéines non structurales du SARS-CoV-2 (15)

PL-pro : papaine like protease, DMV : double membrane vesicles,, 3CL-pro : endopeptidase

Fonction	
Nsp1	Suppression de la réponse antivirale de l'hôte
Nsp2	Inconnue
Nsp3	Domaine PL-pro
Nsp4	Complexe avec nsp3 et 6 : formation du DMV
Nsp5	Domaine 3CL-pro
Nsp6	Complexe avec nsp3 et 4 : formation du DMV
Nsp7	Primase
Nsp8	Primase
Nsp9	Liaison de l'ADN et de l'ARN
Nsp10	Complexe avec nsp14
Nsp11	Peptide court à la fin de ORF1a
Nsp12	ARN polymérase ARN dépendante

Nsp13	Hélicase
Nsp14	Exonucléase
Nsp15	Endoribonucléase
Nsp16	Méthyltransférase

2.1.3. Interaction virus-cellule et réplication virale

Le virus pénètre l'organisme par les voies aériennes supérieures. Il a été établi que, de même que pour le SARS-CoV-1, le récepteur d'entrée au niveau cellulaire du SARS-CoV-2 est l'Enzyme de Conversion de l'Angiotensine 2 (ACE2) (16,17). Cette enzyme fait partie du système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA). Le SRAA présente deux composantes : (a) la voie activatrice permettant la production angiotensine II qui est vasoconstrictrice, pro-fibrosante et pro-inflammatoire, et (b) la voie inhibitrice permettant la formation d'angiotensine [1-7] (AT[1-7]), aux propriétés inverses à celles de l'AT2. L'ACE2 fait partie de la voie inhibitrice induisant donc une vasodilatation et une diminution de l'inflammation ainsi que de la fibrose.

L'ACE2 existe sous deux formes : la forme transmembranaire qui est notamment localisée au niveau des cellules de la sphère ORL et du tractus respiratoire, mais aussi au niveau de l'intestin, du colon, du rein et du cœur, et la forme soluble circulante dans le sang (18).

L'entrée du virus dans la cellule nécessite une interaction spécifique entre la sous-unité S1 de la protéine Spike de l'enveloppe virale et son récepteur ainsi qu'avec les chaînes d'héparane sulfate à la surface cellulaire ce qui va initier l'internalisation (19). Après la liaison au récepteur par le domaine RBD, la fusion de l'enveloppe virale et de la membrane cellulaire permet de libérer le génome viral associé à la nucléocapside dans la cellule cible. Cette fusion peut s'opérer grâce à un changement de conformation de la protéine Spike réalisé à l'aide de la protéase transmembranaire à sérine 2 (TMPRSS2) : la sous unité S1 de la protéine Spike est alors clivée pour révéler la sous unité S2 qui va permettre la fusion des membranes. Après décapsidation, le génome viral est libéré dans le cytoplasme de la cellule infectée. S'en suit la traduction précoce des cadres de lecture ORF1a et ORF1b en deux polyprotéines pp1a et pp1ab qui vont maturer et être clivées en protéines non structurales, parmi lesquelles on retrouve notamment la réplicase RpRd qui est nécessaire à la réplication du génome et la production des protéines non structurales.

De façon concomitante, des organelles de réplication virale ou DMV vont se former à partir de la membrane du réticulum endoplasmique pour créer un environnement protecteur pour la

réplication. Les autres ORFs peuvent alors être transcrits en ARNm qui seront traduits en protéines structurales. Les protéines structurales vont transloquer du réticulum endoplasmique à un compartiment intermédiaire nommé ER-to-Golgi (ERGIC) où elles vont pouvoir être assemblées avec le génome viral produit. Les virions assemblés pourront ensuite être excrétés hors de la cellule par exocytose (**figure 4**) (20).

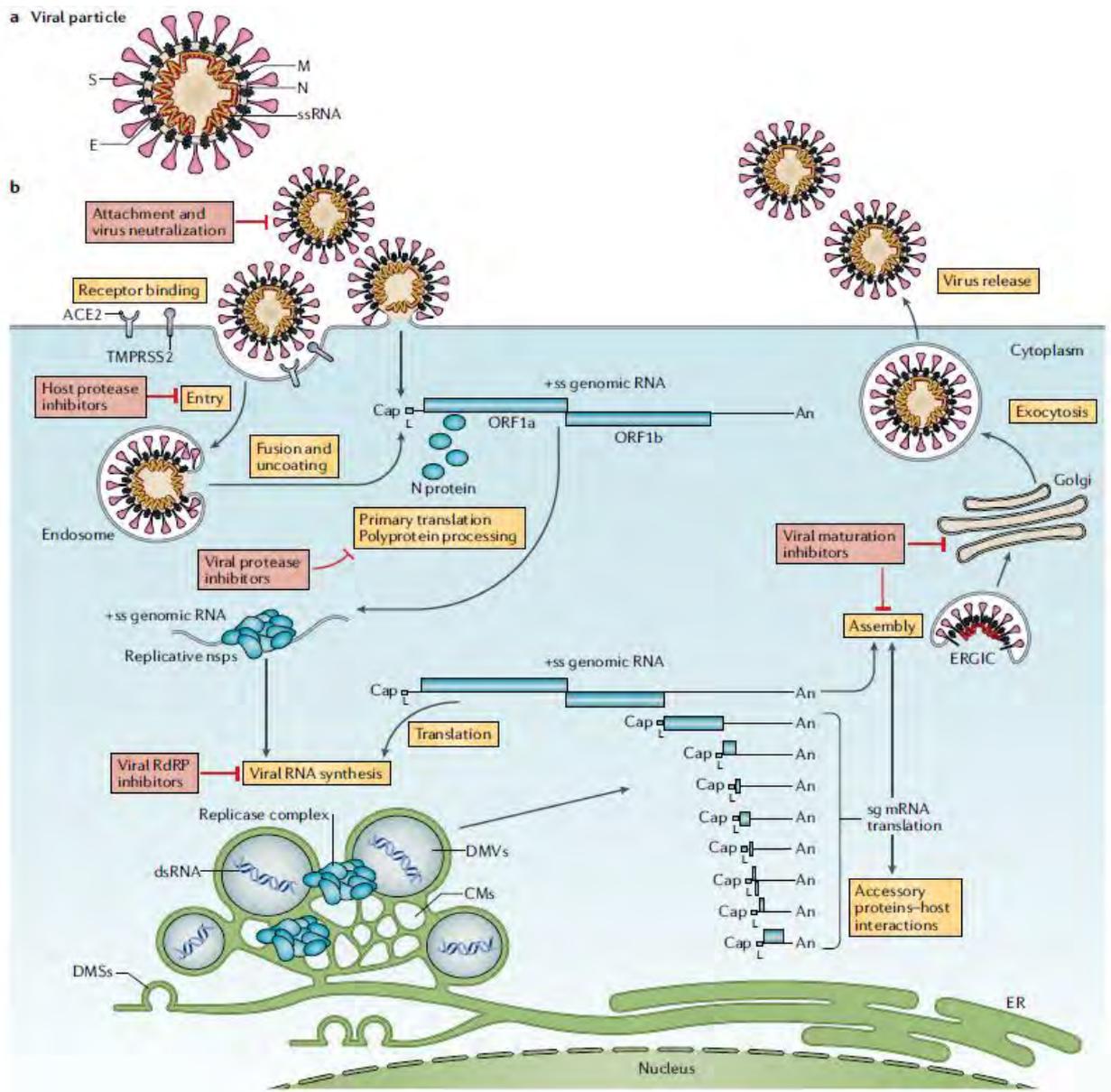


Figure 4 : Cycle de réplication du SARS-CoV-2 (20)

2.1.4. Mode de transmission

Le SARS-CoV-2 est un virus à transmission principalement respiratoire. La contamination peut se faire de façon directe par l'intermédiaire de sécrétions respiratoires et gouttelettes émises par les sujets infectés et par les aérosols en suspension dans l'air, ou indirecte par le contact avec des surfaces contaminées.

Concernant les gouttelettes respiratoires, elles peuvent être produites lors d'une quinte de toux, d'un éternuement ou même d'une conversation. Une fois émises, les gouttelettes peuvent rencontrer les muqueuses respiratoires des sujets en contact étroit avec la personne infectée ou rester en suspension et créer un aérosol infectieux pouvant perdurer jusqu'à 9 minutes après émission dans une pièce non ventilée (21).

Le virus peut donc se transmettre entre individus et former une situation de cas groupés ou cluster (22) (terme défini par la survenue d'au moins 3 cas confirmés ou probables sur une période de 7 jours au sein du même groupe d'individus).

Les gouttelettes excrétées par les sujets infectés peuvent se déposer sur les objets et surfaces alentours. En fonction du type de matériel contaminé et des conditions ambiantes, le virus peut survivre de quelques heures à quelques jours : en effet l'ARN viral est détectable jusqu'à 4 heures après contamination sur du cuivre, 24 heures sur du carton et 72 heures sur du plastique (23). On suppose donc que des personnes saines peuvent se contaminer via des surfaces infectées, mais le risque reste difficilement évaluable.

D'autres modes de contamination sont supposés sans être avérés, notamment la transmission fécale du virus ainsi que la transmission par voie sanguine. Le SARS-CoV-2 a pu être détecté dans ce types d'échantillons mais les contaminations engendrées n'ont pas pu être objectivées.

2.1.5. Epidémiologie

Depuis le 31 décembre 2019, plus de 207 millions de cas ont été recensés dans le monde avec 4,3 millions de décès dont 748 358 en Europe, 610 000 aux Etats-Unis, 547 000 au Brésil, et 418 000 en Inde (*données Santé Publique France*). En France actuellement environ 6,6 millions de cas ont été confirmés depuis janvier 2020, avec 113 000 décès au 24 août 2021.

La **figure 5** montre le nombre de cas confirmés de COVID-19 en France depuis le début de la pandémie, on peut voir nettement les 3 vagues épidémiques qui ont touché le pays (mars à mai 2020, août à décembre 2020 et février à avril 2021).

Le nombre de reproduction de base ou R_0 d'une infection peut être considéré comme le nombre moyen attendu de cas directement générés par un cas dans une population où tous les individus sont sensibles à l'infection. Le R_0 du SARS-CoV-2 a été estimé lors des premiers mois de la pandémie entre 2.24 (95%CI: 1.96-2.55) to 3.58 (95%CI: 2.89-4.39)(24).

Depuis l'estimation du R_0 a évolué en fonction de l'apparition de différents variants du virus. La deuxième vague a été marquée par l'apparition du variant alpha (ou lignée B.1.1.7) dont le nombre de reproduction est 43 à 90% plus élevé que les autres souches qui circulaient à cette période-là (25). En France, le variant principalement retrouvé actuellement est le variant delta. Ce variant delta (ou lignée B.1.617.2) est apparu en Inde en octobre 2020 et présente un R_0 à 5.08 (26).

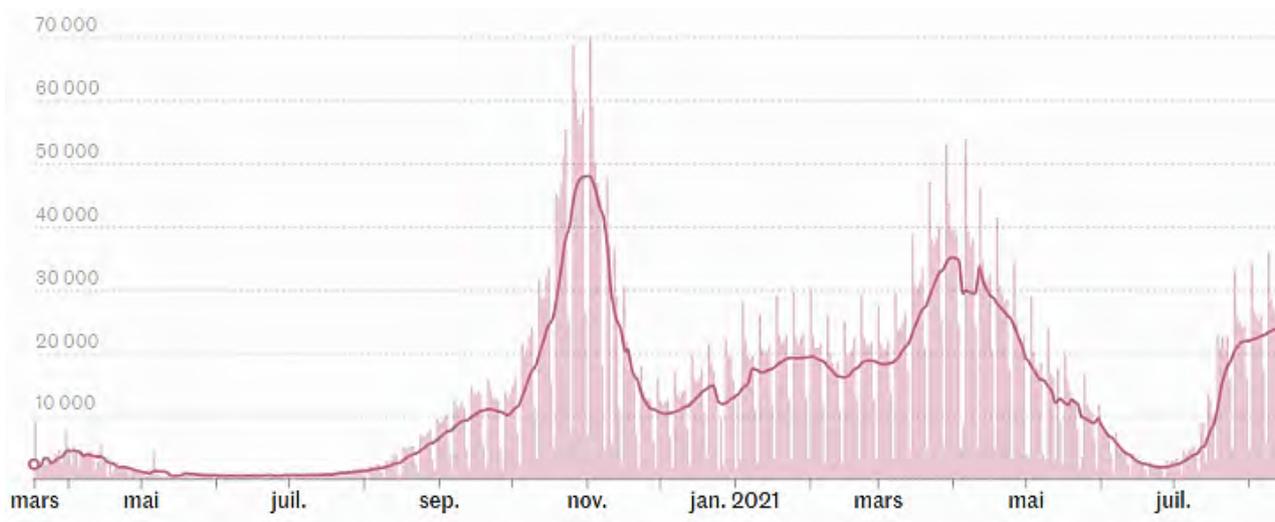


Figure 5 : Nombre de cas confirmés en France depuis le début de la pandémie (Source : John Hopkins University CSSE COVID-19 data)

2.2. Pouvoir pathogène

2.2.1. Réponse immunitaire et physiopathologie

Le SARS-CoV-2 va en premier lieu se répliquer dans les cellules épithéliales du nasopharynx puis va se propager jusqu'au tractus respiratoire profond. Il va pouvoir alors infecter les pneumocytes de type I et de type II ainsi que les macrophages alvéolaires (27), ce qui va initier une forte réponse immunitaire innée.

La reconnaissance du virus par le système immunitaire inné se fait par l'intermédiaire des pattern recognition receptors (PRRs) comme les toll-like receptors (TLRs), exprimés par les cellules épithéliales ainsi que par les cellules impliquées dans la réponse immunitaire innée (notamment les macrophages intra-alvéolaires), qui vont reconnaître des pathogen associated molecular patterns (PAMPs). L'activation de facteurs de transcription tels que le NF- κ B et l'AP-1 induite par la fixation des PPR à leur ligand permet une production de cytokines pro-inflammatoires (IL-6, IL-1B, TNF) et d'interféron qui vont permettre d'augmenter localement l'inflammation et recruter d'autres cellules de l'immunité innée (polynucléaires neutrophiles, monocytes, lymphocytes NK, cellules dendritiques) (28)(29).

La présentation du virus aux lymphocytes T par les cellules présentatrices d'antigène induit une activation, une différenciation des cellules T et une production de cytokines (IL-1, IL-6, IL-8, IL-21, TNF, IFN) permettant le recrutement d'autres lymphocytes (29). Puis, d'une part la coopération des cellules TCD4+ et des lymphocytes B permet leur différenciation en plasmocytes et une production d'anticorps dirigés contre le virus, et d'autre part les cellules cytotoxiques TCD8+ permettent une clairance des cellules infectées (28).

La létalité liée à la COVID-19 serait expliquée entre autre par un orage cytokinique qui apparait au cours de l'infection. Cet orage cytokinique est semblable à celui retrouvé dans la lymphohistiocytose hémophagocytaire secondaire (sHLH) ou syndrome d'activation macrophagique (SAM): il s'agit d'un syndrome hyperinflammatoire caractérisé par une hypercytokinémie fulminante provoquant une défaillance multi-viscérale et entraînant le décès du sujet. Les taux sanguins de paramètres biologiques inflammatoires tels que d'IL-6, d'IL-1B, IL-2, d'IL-7 et de TNF- α mesurés au cours des infections sévères à SARS-CoV-2 sont similaires à ceux retrouvés au cours de la sHLH (30). En parallèle, dans les prélèvements respiratoires des patients sévères, des taux de macrophages exprimant les CCL2, CCL3, CCL20, CXCL1, CXCL3, CXCL10, IL8, IL1B et TNF sont plus élevés que chez

les patients présentant une forme modérée (31). La **figure 6** représente les différentes formes cliniques (A) en fonction de l'état inflammatoire du patient (B).

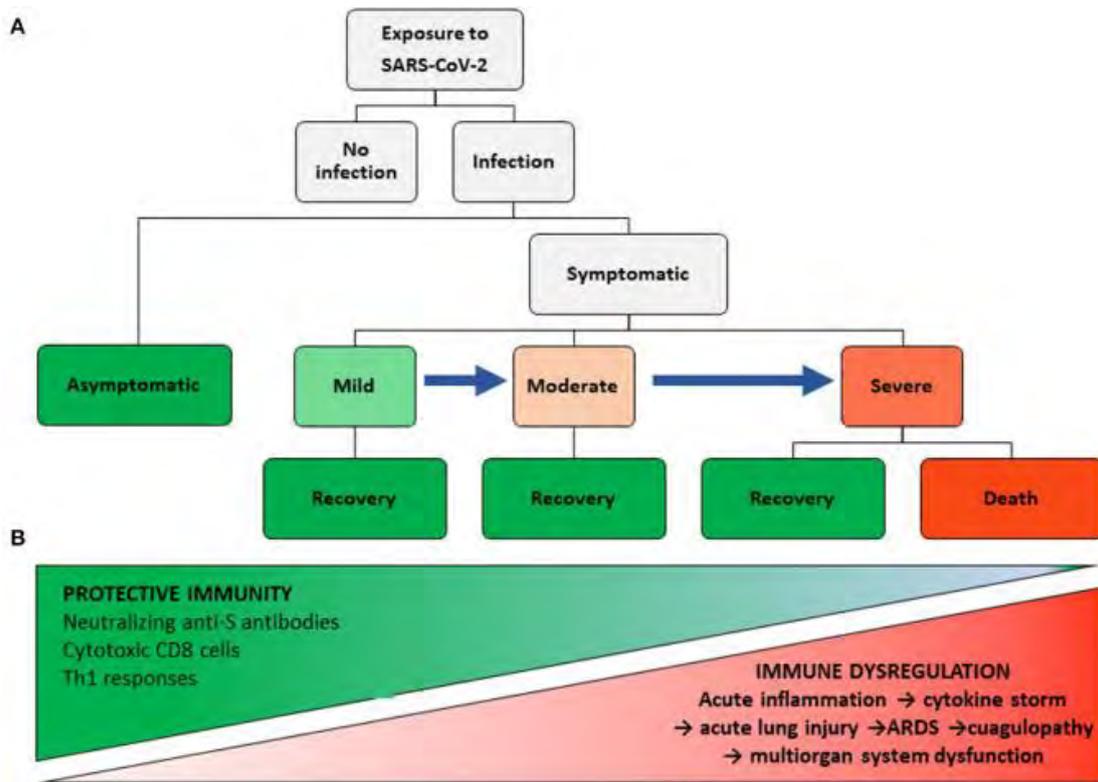


Figure 6 : Spectre clinique et immunologique de la COVID-19 (28)

En parallèle un lien entre un déficit en IFN et une forme sévère de la maladie a été mis en évidence. Zhang *et al.* ont séquencé le génome de patients ayant fait toutes formes de la maladie (asymptomatique, non-sévère, sévère ou critique). Ils ont mis en évidence que parmi les patients présentant une forme sévère ou critique de la COVID-19, 3.7% présentaient une mutation dans un des gènes appartenant aux voies de signalisation TLR3 et IFN-I, rendant ces sujets incapables de produire de l'IFN (32). Bastard *et al.* ont eux mis en évidence la présence d'auto-anticorps dirigés contre les IFN de type I chez 10% des patients présentant une forme sévère de la maladie (33). Ces deux types d'anomalies influencent donc la balance en faveur du virus, ce qui implique que les IFN ont un rôle crucial dans la réponse immunitaire anti SARS-CoV-2.

Lors d'autopsies de patients décédés suites à une forme sévère de la COVID-19, les études histologiques réalisées ont montré différentes atteintes en relation avec l'hyperinflammation. Sur des coupes histologiques de poumons d'un patient ayant présenté une forme sévère on retrouve une desquamation des pneumocytes, la présence d'œdèmes et un infiltrat lymphocytaire qui sont

des signes d'un syndrome de détresse respiratoire aigu (SDRA) et d'une atteinte cytopathologique virale (34).

Comme énoncé précédemment, le récepteur d'entrée du SARS-CoV-2 dans les cellules est l'ACE2. Cette enzyme est présente en grande quantité dans le rein.

Le développement d'une insuffisance rénale est un évènement commun lors de l'infection par les coronavirus responsables de syndromes respiratoires sévères. Lors de l'infection à SARS-CoV-1, l'atteinte rénale semble due à la défaillance multi-viscérale plutôt qu'à une atteinte rénale directe due au virus (35). En opposition, lors de l'épidémie de MERS-CoV, l'étude de la fonction rénale et des paramètres virologiques des patients infectés avait mis en évidence une détection du virus dans les urines, suggérant une atteinte directe des cellules rénales par le virus (36).

Le taux de patients présentant une insuffisance rénale aiguë au cours de l'infection à SARS-CoV-2 varie entre 0,5 et 56,9% selon les études (37). Il apparaît que les patients âgés ou présentant des comorbidités (diabète de type 2 ou hypertension) sont plus à même d'être atteints d'une insuffisance rénale aiguë lors de leur infection. L'atteinte rénale peut être due à une association de facteurs : l'hypoxie entraînée par l'atteinte pulmonaire, l'orage cytokinique, l'instabilité hémodynamique associée au sepsis, l'état pro-thrombotique et l'atteinte directe du virus sur le rein sont des facteurs pouvant mener à une insuffisance rénale aiguë (37). L'étude histologique de reins de patients décédés de la COVID-19 a permis d'observer une atteinte tubulaire sévère à modérée associée à une accumulation d'ARN viral dans les tubules rénaux ainsi qu'une forte concentration de protéines de la nucléocapside ainsi que de la protéine Spike dans les zones riches en ACE2 (38). Des atteintes glomérulaires de type podocytopathies ou glomérulopathies membranaires ont également pu être mises en évidence (39).

La protéine ACE2 est également exprimée dans les cellules glandulaires de l'épithélium gastrique, duodéal et rectal (40), de même que la protéase TMPRSS2 (41) nécessaire à la fusion. L'ACE2 y joue un rôle dans la régulation des transporteurs d'ions qui maintiennent la sécrétion/l'absorption à travers l'épithélium intestinal. L'expression de ces protéines dans les cellules du système gastro-intestinal indique qu'il s'agit d'un site possible d'infection cellulaire. Lin *et al.* ont en effet mis en évidence la présence d'ARN du SARS-CoV-2 sur des biopsies des différents segments du système gastro-intestinal (œsophage, estomac, duodénum et rectum)(42). Ces données pourraient expliquer l'atteinte digestive possible au cours de l'infection.

2.2.2. Clinique et biologie

La période d'incubation de la COVID-19 (période entre l'exposition au virus et apparition des symptômes) est en moyenne 5 jours, et peut aller jusqu'à 24 jours dans certains cas (43).

La part des infections asymptomatiques est encore difficilement estimable. Au début de la pandémie une méta-analyse basée sur sept études incluant des populations prédéfinies a mis en évidence que dans 31% des cas le sujet restera asymptomatique au cours de l'infection, mais cette valeur est amenée à varier selon les études et populations (44). Depuis Sah *et al.* ont confirmé ces données en regroupant 350 études et estimant ce pourcentage à 35.1% avec un lien significatif avec l'âge : le pourcentage des cas asymptomatiques observé est de 46.7% chez les sujets entre 0 et 18 ans, de 32,1% chez pour ceux entre 19 et 59 ans et 19,7% chez les patients âgés de plus de 60 ans ($p < 0,01$) (45).

Chez les patients symptomatiques, les premiers signes cliniques observés sont par ordre de fréquence : la fièvre, la toux sèche, la fatigue, une dyspnée et des troubles digestifs (diarrhées, nausées, anorexie, vomissements) (43,46). En parallèle, l'agueusie et l'anosmie sont des signes très caractéristiques de la COVID-19 pouvant apparaître dans 64% des cas (47). D'autres symptômes moins fréquents peuvent également apparaître : myalgie, arthralgies, atteinte cardiaque (thrombose, myocardite, embolie pulmonaire), atteinte cutanée (vascularite), atteinte neurologique (méningite, encéphalite, syndrome de Guillain-Barré) (48).

Dans certains cas la pathologie respiratoire devient sévère et peut mener à une insuffisance respiratoire majeure impliquant des soins intensifs ou une réanimation. L'OMS a défini les niveaux de sévérité de la COVID-19 en fonction de l'état clinique du patient (49) :

- COVID-19 avec état critique : définie par les critères du SDRA, un état septique, un choc septique ou d'autres problèmes nécessitant normalement des soins vitaux, comme la mise sous ventilation mécanique (invasive ou non invasive) ou l'administration de vasopresseurs.
- Forme sévère de la COVID-19 : définie par n'importe laquelle des catégories suivantes :
 - Saturation en oxygène < 90 % en air ambiant.
 - Fréquence respiratoire > 30 respirations/min pour les adultes et les enfants > 5 ans ; ≥ 60 respirations/min pour les enfants < 2 mois ; ≥ 50 pour les enfants de 2 à 11 mois ; et ≥ 40 pour les enfants de 1 à 5 ans.
 - Signes de détresse respiratoire sévère (utilisation des muscles accessoires, incapacité

à former une phrase complète et, s'agissant des enfants, tirage costal important, geignement expiratoire, cyanose centrale ou tout autre signe général inquiétant).

- Forme non sévère de la COVID-19 : définie comme l'absence de tout signe de forme sévère ou critique de la COVID-19.

Les populations les plus à risques de développer une forme grave de la COVID-19 ont rapidement été identifiées. Les facteurs de risques énoncés par la haute autorité de santé (HAS) sont les suivants (50):

- Comorbidités préalablement identifiées comme à risque avéré et important d'hospitalisations ou de décès :
 - L'âge : si l'âge médian des patients infectés est de 50 ans, les patients de plus de 60 ans sont eux plus à risque d'une forme respiratoire sévère voire de décès que les sujets plus jeunes (51).
 - L'obésité : les patients ayant un indice de masse corporelle (IMC) $> 30 \text{ kg/m}^2$ présentent un surrisque d'hospitalisation (OR = 2,36) et de mortalité (OR = 1,49) (52)
 - Le diabète : les patients atteints de diabètes présentent un surrisque de forme grave ou de décès (RR = 2.96) (53)
 - Les sujets transplantés d'organe,
 - L'insuffisance rénale chronique,
 - La trisomie 21 : les sujets atteints de cette pathologie ont quatre fois plus de risque d'être hospitalisés au cours de l'infection et dix fois plus de risque de décès (54)
 - La grossesse expose à un risque supérieur d'issues graves de la COVID-19 par rapport aux femmes non enceinte (55)
- Autres comorbidités préalablement identifiés comme facteur de risque faible ou modéré d'hospitalisations ou de décès :
 - Les cancers oncologiques et hématologiques,
 - L'hypertension artérielle (HTA),
 - L'insuffisance cardiaque,

- La bronchopneumopathie chronique obstructive et de l'insuffisance respiratoire

Pour ce qui est des paramètres biologiques, dès le début de la pandémie la tendance à l'hyperinflammation au cours de l'infection était évidente. En effet, les patients présentant des formes sévères de l'infection (nécessitant des soins intensifs) ont présentait certains des critères biologiques suivants : une leucopénie avec notamment une lymphopénie (56), une thrombopénie (57), une élévation des D-Dimères (56), une hypoalbuminémie, une hyperferritinémie, une augmentation de la CRP et de l'IL-6 (57).

2.2.3. Etat des lieux sur les traitements

L'infection à SARS-CoV-2 peut donc être scindée en deux phases distinctes : la première avec une réplication virale massive et un effet cytopathogène du virus pendant laquelle l'utilisation de thérapies antivirales peut être entreprise, et la seconde caractérisée par une inflammation majeure induisant un SDRA puis une possible défaillance multi-viscérale, au cours de laquelle des thérapeutiques immunomodulatrices peuvent être utilisées (58).

Concernant les thérapies antivirales utilisées au cours de la première phase de l'infection, aucun effet bénéfique n'a été mis en évidence chez les patients hospitalisés inclus dans l'étude Discovery dirigée par l'OMS. Cette étude a inclus 11 330 patients hospitalisés atteints de la COVID-19 et a comparé la létalité de l'infection chez des patients recevant un des quatre traitements suivants : l'hydroxychloroquine, le remdesivir, le lopinavir et l'IFN-bêta-1a (59). L'OMS a donc décidé de ne pas recommander l'utilisation de ces traitements dans la prise en charge des infections à SARS-CoV-2.

Les thérapies immunosuppressives ont, elles, fait preuve de leur efficacité dans la phase hyperinflammatoire de l'infection. Les molécules dont l'utilisation est recommandée dans les formes sévères et critiques de la COVID-19 sont les suivantes :

- Les inhibiteurs de l'IL-6 (tocilizumab)
- Les corticostéroïdes : l'utilisation des corticoïdes à forte dose par voie systémique est recommandée depuis septembre 2020 par l'OMS à la dose de 6mg/jour de dexaméthasone ou 50mg/j d'hydrocortisone (60). En effet leur utilisation permet de diminuer le risque de mortalité à 28 jours chez les patients sévères (RR 0.80, 95% CI 0.70–0.92) et critiques (RR 0.80, 95% CI 0.70–0.91), ainsi que de diminuer leurs besoins en terme de ventilation mécanique invasive (RR 0.74, 95% CI 0.59–0.93).

Concernant les anticorps monoclonaux dirigés contre le SARS-CoV-2, dès février 2021, le bamlanivimab a été utilisé dans le traitement des formes modérées de l'infection chez les patients fragiles. Le 15 mars 2021, l'ANSM a permis l'accès à deux bithérapies (casirivimab/imdevimab et bamlanivimab/étésévimab) dans le cadre d'autorisations temporaires d'utilisation de cohorte (ATUc).

Le bamlanivimab (LY-CoV555) et l'étésévimab (LY3832479 ou LY-CoV016) sont des anticorps monoclonaux neutralisants de type IgG1 dirigés contre la protéine virale spike du Sars-CoV-2 et conçu pour bloquer l'ancrage du virus et son entrée dans les cellules humaines. En préclinique, il a été montré que l'étésévimab se lie à un épitope différent de celui du bamlanivimab et neutralise les mutants résistants au bamlanivimab, ce qui justifie l'intérêt de l'association de ces deux anticorps chez les patients atteints de COVID-19. L'essai clinique BLAZE-1 a permis de mettre en évidence un lien entre l'utilisation de l'association bamlanivimab/étésévimab et une diminution de la charge virale au cours de l'hospitalisation ainsi qu'un risque de décès plus faible chez des patients ambulatoires (61).

Le casirivimab (REGN10933) et l'imdevimab (REGN10987) sont des anticorps monoclonaux spécifiquement dirigés contre la protéine S du SARS-CoV-2, conçus pour bloquer la fixation et l'entrée du virus dans les cellules humaines. L'association de ces deux anticorps monoclonaux a elle aussi démontré une efficacité en terme de diminution de la charge virale chez des patients ambulatoires (62).

Cependant, les données récentes en relation avec la circulation majoritaire du variant delta ont mis en évidence une inefficacité du bamlanivimab vis-à-vis de ce variant (63). Ceci a incité les autorités de santé à recommander l'utilisation de l'association casirivimab/imdevimab afin d'éviter un défaut d'efficacité du traitement et une sélection de variant.

Ces anticorps monoclonaux doivent être prioritairement utilisés chez les patients ambulatoires à risque élevé d'évolution vers les formes sévères, en initiant le traitement le plus rapidement possible après le début des symptômes (soit dans les 5 jours). Ceci implique leur utilisation chez les patients présentant des facteurs de risque cités précédemment.

En août 2021 leur indication a été étendue au traitement préexposition à la COVID-19 des patients fragiles, n'ayant pas développé du fait de leur immunodépression une réponse vaccinale satisfaisante malgré un schéma complet de vaccination conformément aux recommandations en

vigueur (patients non-répondeurs ou faiblement répondeurs) et appartenant à l'un des sous-groupes à haut risque de forme sévère de COVID-19.

2.2.4. Vaccination

Devant l'urgence sanitaire mondiale, il a été nécessaire de trouver des moyens de prévention contre cette infection.

A la date du 24 août 2021, 296 vaccins dirigés contre le SARS-CoV-2 étaient en cours de développement dont 184 en phase d'essai préclinique et 112 en phase d'essai clinique.

Différentes technologies ont été utilisées pour développer des plateformes vaccinales : l'utilisation de virus entier (vaccins vivants atténués et vaccins inactivés), des vaccins protéiques et des vaccins utilisant du matériel génétique viral (vaccins à ADN, vaccins à ARN).

Il a été mis en évidence que la réponse immunitaire humorale neutralisante est particulièrement dirigée contre les protéines de l'enveloppe virale (protéine Spike)(29). La plupart des vaccins développés contre le SARS-CoV-2 contiennent donc au moins une partie de la protéine S (domaine S1 ou RBD) afin de générer une réponse immunitaire protectrice et neutralisante. Actuellement, en France, 4 vaccins ont obtenu une autorisation de mise sur le marché (AMM) (**Tableau 3**).

Tableau 3 : Liste des vaccins dirigés contre le SARS-CoV-2 ayant une AMM en France

	Nombre d'injections	Indication	Technologie
Comirnaty (Pfizer & BioNTech) BNT162b2	2 (21 jours d'intervalle)	Individus âgés de 12 ans et plus	Vaccin à ARN messenger. Comprend les instructions pour produire la protéine Spike du SARS-CoV-2. Nucléoside modifié encapsulé dans des nanoparticules lipidiques.
COVID-19 Vaccine (Moderna) mRNA-1273	2 (28 jours d'intervalle)	Individus âgés de 18 ans et plus	Vaccin à ARN messenger. Comprend les instructions pour produire la protéine Spike du SARS-CoV-2
Vaxzevria (Astrazeneca) AZD1222	2 (28 à 84 jours d'intervalle)	Individus âgés de 55 ans et plus	Vecteur viral non répliquatif. Adénovirus de chimpanzé codant la glycoprotéine Spike du SARS-CoV-2 (ChAdOx1-S)
COVID-19 Vaccine (Janssen) Ad26	1	Individus âgés de 18 ans et plus	Vecteur viral vivant non répliquatif. Adénovirus humain recombinant de type 26 exprimant la protéine Spike du SARS-CoV-2 (Ad26.COVS-2)

2.3. Méthodes de diagnostic

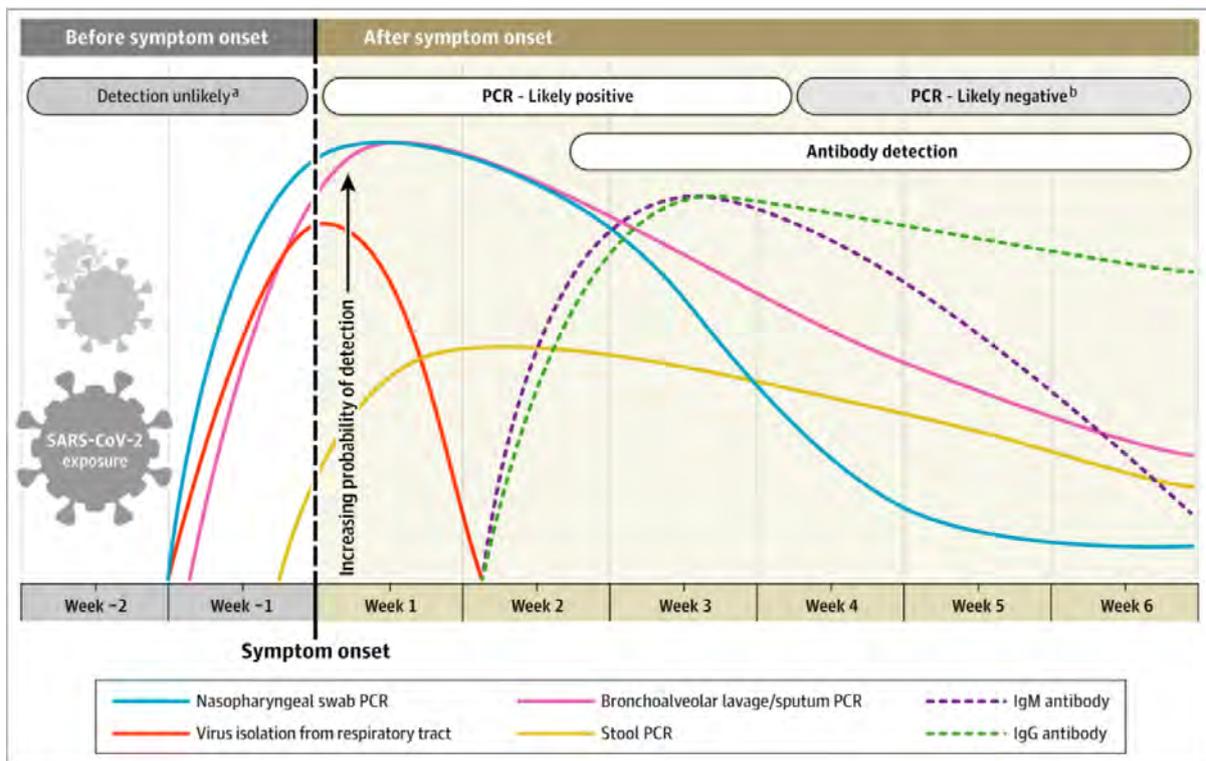


Figure 7 : Variation au cours du temps des différents tests diagnostic de l'infection à SARS-CoV-2 (64)

2.3.1. Diagnostic direct

La mise en évidence de la présence d'ARN viral dans les échantillons biologiques peut être réalisée par des tests de biologie moléculaire. Le virus peut être isolé à partir d'échantillons respiratoires tels que l'écouvillon nasopharyngé, la salive, le liquide broncho-alvéolaire (LBA) (64), plus rarement dans les selles (65), les urines (66) et le sang (66).

La détection de l'ARN dans les prélèvements respiratoires est la technique la plus précoce et peut rester positive jusqu'à plusieurs semaines après l'infection (**figure 7**). Le prélèvement de choix pour le diagnostic de l'infection à SARS-CoV-2 est l'écouvillonnage nasopharyngé. En effet il contient une charge virale plus élevée comparé aux prélèvements salivaires (67). L'écouvillon doit être inséré dans la cavité nasale jusqu'à la partie postérieure du nasopharynx afin de recueillir des cellules infectées (68).

Il est également possible de rechercher des antigènes viraux sur des prélèvements nasopharyngés. Il s'agit dans de tests détectant les antigènes de la nucléocapside ou la protéine Spike. Ces tests

permettent d'obtenir un résultat en 15 à 30 minutes, ce qui représente un certain avantage par rapport aux tests de biologie moléculaire qui peuvent nécessiter jusqu'à plusieurs heures. Selon l'OMS, les tests antigéniques ne doivent être utilisés que si leur sensibilité est supérieure ou égale à 80% et leur spécificité supérieure ou égale à 97% par rapport à un test RT-PCR, lorsque les tests RT-PCR ne sont pas disponibles ou que la situation clinique nécessite un résultat rapide (69).

2.3.2. Diagnostic indirect

Les anticorps dirigés contre le SARS-CoV-2 apparaissent en général pendant la deuxième semaine après le début des symptômes : entre le 8^{ème} et le 14^{ème} jour (**figure 7**), les anticorps totaux sont détectables chez 90 à 98% des patients (70,71). Les tests détectant les anticorps totaux montrent une plus grande sensibilité et précocité de détection que les tests détectant indépendamment les IgM et les IgG. Différents types de trousse ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) existent actuellement : celles détectant les anticorps totaux anti-N (retrouvés en situation post infectieuse) et celles détectant les anticorps anti-S (post vaccinaux et post infectieux).

La détection des anticorps neutralisants (ou détection qualitative) est réalisée par test de séroneutralisation. Le sérum à tester est mis en contact avec une suspension contenant une quantité donnée de particules virales. Après incubation, une culture cellulaire estensemencée avec cette solution. La quantité de virus infectant les cellules est évaluée par l'estimation des unités formant plages ou UFP (nombre de régions de cellules infectées). On peut alors calculer la concentration de sérum nécessaire pour diminuer de 50% le nombre d'UFP par rapport à un témoin (virus seulensemencé sur les cellules). Il n'existe actuellement pas de seuil déterminant pour considérer le sujet comme protégé contre l'infection à SARS-CoV-2.

2.4. Cas de l'infection par le SARS-CoV-2 chez les patients transplantés d'organe

2.4.1. Immunosuppression et transplantation

L'immunosuppression est un enjeu majeur en transplantation. Elle se base en premier lieu sur un traitement dit d'induction qui va permettre de prévenir le rejet aigu, suivi d'un traitement d'entretien, permettant de contenir la composante immunologique au long cours (**figure 8**).

Le traitement d'induction est utilisé dans le cas d'un risque immunologique fort. Il existe différents types de traitement d'induction :

- Sérum anti-lymphocytaire (SAL) ou immunoglobulines anti-lymphocytaires : ils sont produits par immunisation d'animaux contre des antigènes lymphocytaires humains. L'utilisation d'un traitement court par SAL peut induire une lymphopénie jusqu'à un an après l'introduction (72).
- Anticorps anti-IL2 ou CD25 : le basiliximab ou daclizumab

Le traitement d'entretien est lui composé d'une association de différentes classes de molécules (**figure 8**) :

- Les corticoïdes : Ils entraînent après fixation à leur récepteur intracytoplasmique une inhibition des facteurs de transcriptions nucléaires comme NF- κ B et AP-1 et inhibent ainsi la sécrétion des cytokines. Ils induisent également une déplétion et l'apoptose des lymphocytes T, bloquent leur différenciation Th1 et altèrent les fonctions des macrophages.
- Les agents antiprolifératifs comprenant :
 - Les inhibiteurs des bases puriques : L'acide mycophénolique ou mycophénolate mofétil (MMF) et l'azathioprine. La synthèse des bases puriques est une étape nécessaire à la prolifération cellulaire et notamment lymphocytaire.
 - Les inhibiteurs de mTOR (mammalian target of rapamycin) : Le sirolimus et l'everolimus. L'inhibition de la mTOR entraîne le blocage de plusieurs voies spécifiques de transduction des signaux, empêchant le passage de la phase G0 à G1 du cycle cellulaire induisant donc une inhibition de la prolifération lymphocytaire.
 - Les inhibiteurs de la calcineurine : le tacrolimus et la ciclosporine. Ils se fixent sur leur récepteur intracytoplasmique et inhibent l'action de la calcineurine, indispensable à la

translocation nucléaire du facteur NFAT (Nuclear Factor of activated T cells). Ce mécanisme inhibe l'expression des différents gènes de sécrétion de cytokines notamment l'IL-2.

- Le Belatacept qui est d'une protéine de fusion (CTLA-4 Ig) évitant l'interaction entre le CD80 et le CD86 présents sur les CPA avec le CD28 des lymphocytes T et l'activation de ces derniers.

Parmi les autres molécules nommées sur la **figure 8**, les anticorps anti-CD3 ont été utilisés en transplantation comme traitement d'induction, puis abandonnés en raison de leurs effets secondaires liés en partie à leur origine animale. Les anti-CD40 sont des molécules évoquées dans le traitement des transplantés d'organe (73). Le toficitinib est utilisé pour le traitement de maladies auto-immunes et l'alemtuzumab est un anticorps monoclonal utilisé pour traiter les leucémies lymphoïdes chroniques.

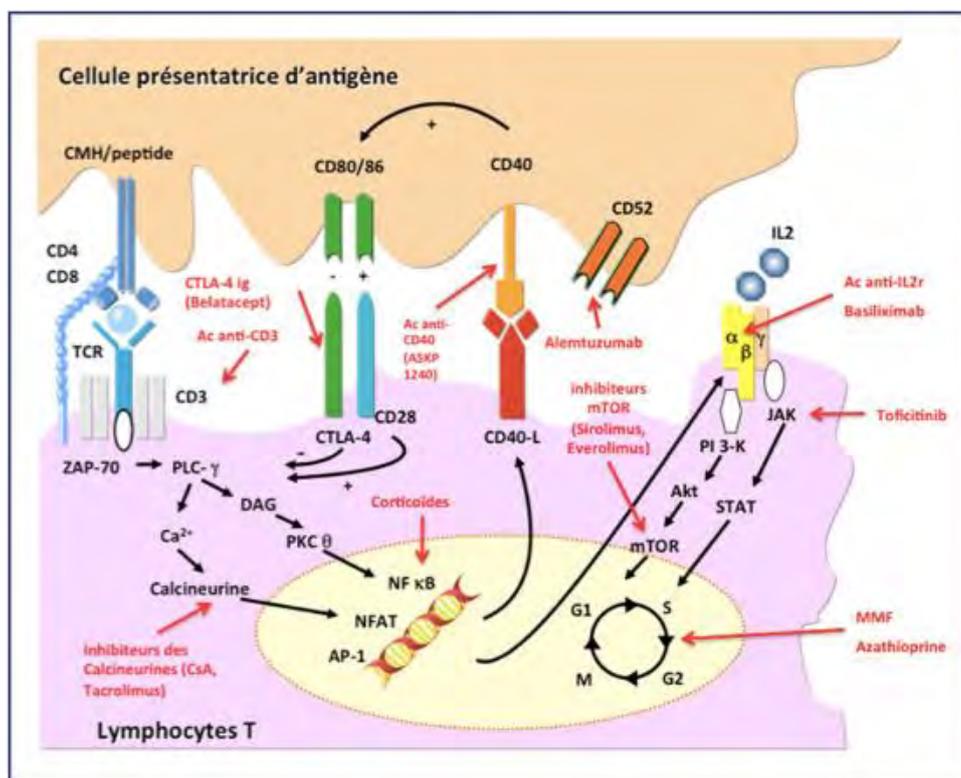


Figure 8 : Schéma des interactions entre les CPA et les lymphocytes T avec les différents modes d'action des thérapies immunosuppressives (74)

2.4.2. Infection à SARS-CoV-2 chez les patients transplantés d'organe

Les patients transplantés d'organe solide sont particulièrement vulnérables face aux infections, incluant les pathologies virales respiratoires au cours desquelles ils peuvent présenter des formes

plus sévères que la population générale (75). Les coronavirus humains font partie des virus responsables d'infections respiratoires basses chez les patients transplantés (76). Concernant les coronavirus humains responsables de pathologies respiratoires sévères, le nombre de cas rapportés chez les patients transplantés à ce jour reste faible (**tableau 4**).

Tableau 4 : Listes des cas de patients transplantés infectés à SARS-CoV-1 et MERS-CoV

Virus	Nombre de cas	Pays	Sexe	Organe greffé	Décès	Année	Référence
SARS-CoV	1	Canada	M	Foie	Oui	2003	(77)
MERS-CoV	1	Arabie Saoudite	M	Rein	Oui	2015	(78)
MERS-CoV	1	Arabie Saoudite	M	Rein	Non	2015	(78)
MERS-CoV	1	France	M	Rein	Oui	2013	(79)

Au vu des résultats de ces rapports, il est rationnel de s'interroger sur l'impact de la pandémie de SARS-CoV-2 sur les patients transplantés d'organe solide. Du fait de l'immunodépression chronique à laquelle ils sont soumis, ils sont théoriquement plus à risque de développer des formes sévères de la COVID-19.

Depuis décembre 2019, de nombreuses équipes ont rapporté les données relatives aux patients transplantés d'organe solide infectés par le SARS-CoV-2 dans le monde. L'infection à SARS-CoV-2 chez ces patients semble être plus sévère que dans la population générale. Les symptômes retrouvés fréquemment sont la fièvre, la toux, la dyspnée ainsi que la diarrhée (80). L'apparition d'une insuffisance rénale aiguë est rapportée chez 45 à 74% des patients (81,82).

Concernant l'évolution de ces patients greffés infectés, entre 30 et 50% des patients présentent une forme respiratoire sévère nécessitant des soins intensifs ou une réanimation (81,83). La létalité varie de 18 à 32%, représentant parfois plus de 50% des formes sévères (81,82).

Sur le plan biologique, les patients transplantés infectés à SARS-CoV-2 ont tendance à présenter une leucopénie avec une profonde lymphopénie, avec que des taux de lymphocytes CD3+ et CD4+ plus faible (83) et une diminution progressive du taux de lymphocytes NK au cours de l'infection dans les cas de formes sévères (84) ; ainsi qu'une augmentation des paramètres inflammatoires : CRP, IL-6, ferritine (83,85) avec des valeurs plus extrêmes chez les patients non-survivants (82). Cravedi *et al* ont mis en évidence qu'un débit de filtration glomérulaire (DFG) diminué et un taux d'IL-6 élevé pourraient être des facteurs prédictifs de mortalité chez cette population de patients (82).

Les études de l'excrétion virale dans les différents compartiments biologiques chez les patients transplantés d'organe sont encore peu nombreuses. Christensen *et al* ont mesuré une virémie positive chez quatre patients transplantés sur cinq au cours de leur étude. Parmi ces quatre patients deux sont décédés à la suite de l'infection (85).

La Société Française de Transplantation a émis les recommandations suivantes concernant la modification des thérapies immunosuppressives chez les patients transplantés d'organes atteints de la COVID-19 (86) :

- COVID-19 symptomatique ambulatoire :
 - Diminution de 50% de l'acide mycophénolique et reprise dès guérison à la dose habituelle
 - Diminution de 50% de l'azathioprine
 - Arrêt de l'inhibiteur de mTOR (everolimus ou sirolimus) et reprise dès guérison à la dose habituelle
 - Maintien des corticoïdes à la dose habituelle (de 5 à 10 mg/jour d'équivalent prednisone)
 - Maintien du tacrolimus en ciblant des concentrations sanguines résiduelles entre 4 et 7 ng/mL
 - Maintien de la ciclosporine en ciblant concentrations sanguines résiduelles entre 50 et 125 ng/mL
 - Ne pas faire l'injection de bélatcept en phase aiguë de la maladie et discuter sa reprise sous contrôle de l'équipe de transplantation.
- Infection COVID-19 symptomatique hospitalisée en service de médecine sans signe de gravité :
 - Arrêt de l'acide mycophénolique et reprise dès guérison à la dose habituelle
 - Arrêt de l'azathioprine et reprise dès guérison à la dose habituelle
 - Arrêt de l'inhibiteur de mTOR et reprise dès guérison à la dose habituelle
 - Maintien du corticoïde à la dose habituelle (de 5 à 10 mg/jour d'équivalent prednisone)
 - Maintien du tacrolimus en ciblant des concentrations sanguines résiduelles entre 4 et 6 ng/mL
 - Maintien de la ciclosporine en ciblant concentrations sanguines résiduelles entre 50 et 75 ng/mL

- Ne pas faire l’injection de bélatcept en phase aiguë de la maladie et discuter sa reprise sous contrôle de l’équipe de transplantation
- COVID-19 grave avec détresse respiratoire :
 - Arrêt de l’acide mycophénolique et reprise dès guérison à la dose habituelle
 - Arrêt de l’inhibiteur de mTOR et reprise dès guérison à la dose habituelle
 - Arrêt temporaire de l’inhibiteur de la calcineurine (tacrolimus ou ciclosporine) et reprise dès guérison à la dose habituelle
 - Ne pas faire l’injection de bélatcept en phase aiguë de la maladie et discuter sa reprise ultérieure sous contrôle de l’équipe de transplantation
 - Maintien (ou introduction si le patient était sous bithérapie sans stéroïde) du corticoïde à 10 mg/jour d’équivalent prednisone

3. Objectifs

La pandémie actuelle de COVID-19 et son impact sur les populations fragiles comme les patients transplantés d’organe méritent une attention toute particulière afin de mieux comprendre le processus infectieux dans cette population et d’améliorer la prise en charge de ces patients. L’objectif de ce travail a été d’étudier les différents marqueurs virologiques et biologiques de la COVID-19 chez les patients transplantés d’organe, notamment l’excrétion du virus dans les différents compartiments (nasopharyngé, sang, urines, selles) et de mettre en lien ces paramètres avec la sévérité de la maladie.

4. Matériel et méthodes

4.1. Patients et échantillons

Il s’agit d’une étude rétrospective monocentrique menée au CHU de Toulouse. Nous avons collecté les données et échantillons des patients transplantés d’organe hospitalisés dans les différents services du CHU lors des 3 vagues épidémiques de COVID-19 (de mars 2020 à mai 2021), soit 103 patients au total. Nous avons considéré la date de la première RT-PCR positive au niveau nasopharyngée comme date de diagnostic pour tous les patients. Nous avons rassemblé les données démographiques de chaque patient (âge, sexe, type de greffe, temps entre la greffe et l’infection,

comorbidités associées). Nous avons également recueilli les paramètres biologiques relatifs à l'immunité (lymphocytes CD3, CD4, CD19, NK, IL6), à l'inflammation (CRP, ferritine), à la fonction rénale (urée, créatinine, DFG), à la fonction hépatique (TGO, TGP), à la fonction cardiaque (troponine) et à l'hémostase (D-Dimères). Nous avons enfin collecté les données concernant les traitements immunosuppresseurs de ces patients (traitement d'induction et traitement d'entretien), ainsi que la notion de traitement par anticorps-monoclonaux dirigés contre le SARS-CoV-2, la vaccination et le cas échéant le décès des patients. Ces paramètres ont été mis en relation avec l'excrétion du virus dans les différents compartiments ainsi qu'avec la sévérité de l'infection. Nous avons exclu de cette étude les patients ayant présenté une infection sans hospitalisation nécessaire ainsi que les patients hospitalisés pour lesquels nous n'avons pas pu recueillir les données biologiques et virologiques excepté une PCR nasopharyngée.

4.2. Etude statistique

L'ensemble des analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel STATA® version 14.0 (StataCorp, Texas, USA).

Nous avons réalisé une analyse univariée, les données des patients ont été analysées à l'aide d'un test du Chi-2 ou du test exact de Fisher (si l'effectif théorique était inférieur à 5) pour toutes les variables discrètes. Les variables continues ont été analysées à l'aide du test de Mann-Whitney.

4.3. Détection de l'ARN viral

Entre février et septembre 2020, pour la détection génomique, deux techniques ont été utilisées :

- Une partie des échantillons a suivi le circuit suivant : une première étape d'extraction a été réalisée à l'aide du kit MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume (Roche) à partir de 200µL d'échantillon puis l'amplification est réalisée sur le Light-Cycler 480 (LC480) (Roche Diagnostics) utilisant la polymérase AccuStart™ Taq DNA Polymerase (Quantabio).
- Certains échantillons sont passés sur le PANTHER Fusion® (Hologic) en Open Access

Ces deux techniques ont utilisé les mêmes amorces, sondes (IP-2 et IP-4) et programme que décrit par l'Institut Pasteur(87,88). Le gène ciblé est la RdRp.

A partir de septembre 2020, les échantillons respiratoires, de selles et d'urines ont été testés sur le système PANTHER Fusion® (Hologic) à l'aide du kit Aptima™ SARS-CoV-2 Assay. Il s'agit d'un test de biologie moléculaire basé sur le principe de TMA (transcription mediated amplification). La détection de l'ARN est qualitative.

Un volume de 500µL de l'échantillon est transféré dans les tubes Specimen Lysis Tube Panther Fusion® (Hologic) contenant 710 µL de tampon de lyse, permettant de lyser les cellules et de libérer les acides nucléiques. L'instrument prélève ensuite 360 µL auxquels sont ajoutés un contrôle interne permettant de vérifier qu'il y a eu amplification génomique, des oligonucléotides de capture permettant de séparer acides nucléiques de l'échantillon et des microparticules magnétiques venant se fixer sur les nucléotides de capture. L'application d'un champ magnétique va attirer les complexes micropaticules-oligonucéotides de capture-acides nucléiques contre la paroi du tube. Les acides nucléiques hybridés vont être lavés à plusieurs reprises puis élués pour être amplifiés. Une transcriptase inverse va synthétiser un brin d'ADN à partir de l'ARN viral qui va être amplifié après fixation spécifique des amorces et sondes. Les cibles d'amplification sont deux séquences dans le gène ORF1ab qui se sont avérées très conservées dans le temps. Les signaux d'amplification des deux séquences sont détectés par un canal du PANTHER tandis que celui du contrôle interne est détecté par un autre canal. La sensibilité de ce test, définie par la limite de détection, est évaluée par le fournisseur à 1×10^{-2} TCID50/mL (median tissue culture infectious dose). La spécificité a été évaluée par le fournisseur en testant 26 pathogènes respiratoires avec le kit, et aucune interférence n'a été démontrée.

4.4. Dosages des immunoglobulines totales (Kit Wantai)

Les sérologies ont été réalisées en ELISA à l'aide du kit Wantai SARS-CoV-2 Ab, une technique qualitative permettant de mettre en évidence les anticorps totaux dirigés contre le SARS-CoV-2.

Il s'agit d'une méthode ELISA « sandwich » : le sérum du patient est mis en contact avec une plaque recouverte d'antigènes recombinants (domaine RBD de la protéine Spike) du SARS-CoV-2. Les anticorps spécifiques dirigés contre le virus contenu dans le sérum vont donc se fixer sur la plaque. Après incubation et lavage, un deuxième antigène recombinant du SARS-CoV-2 couplé à une

peroxydase est ajouté et la plaque va être incubée une deuxième fois. La plaque est de nouveau lavée, puis deux substrats chromogènes sont ajoutés. Une dernière incubation à l'abri de la lumière est nécessaire pour que la réaction enzymatique entre les substrats chromogènes et la peroxydase se fasse. La réaction est ensuite arrêtée et l'absorbance est ensuite mesurée à 450 nm sur l'automate EVOLIS (Bio-Rad).

Cette technique ne permet pas de mettre en évidence le taux d'anticorps neutralisants, mais les données du laboratoire permettent de parler d'une corrélation entre le taux d'anticorps totaux et le taux d'anticorps neutralisants.

5. Résultats

Les données de la population concernant les différents paramètres relevés dans cette étude sont répertoriées dans le **tableau 5**. Les données ont été collectées pour 103 patients transplantés d'organe solide (rein, foie, cœur) infectés par le SARS-CoV-2 hospitalisés au CHU de Toulouse. Au sein de ce groupe comprenant 75 hommes et 28 femmes, la médiane d'âge était de 58,3 ans. Au total 30% des patients (soit 32/103) ont présenté une forme sévère ou critique de la maladie parmi lesquels 10 sont décédés. L'ARN viral était détectable dans 16,5% des échantillons sanguins (13/79), 73,7% des échantillons de selles (42/57) et 11% des échantillons d'urines (8/70). Au sein du groupe nous avons retrouvé 15% de patients séronégatifs après l'infection

Tableau 5 : Données générales de la population

Population		N = 103 [min ; max]
Age (années)		58.3 [23.6 ; 86.9]
Sexe (H/F)		75/28
Type de greffe	Rein	79 (77%)
	Foie	12 (11.7%)
	Cœur	9 (8.7%)
	Rein et foie	3 (2.9%)
Délai greffe-infection (semaines)		123.8 [-2.8 ; 823.8]
Dernière PCR nasopharyngée positive (jours)		16 [0 ; 60]
Première PCR nasopharyngée négative (jours)		27 [1 ; 180]
Détection anticorps totaux		64/75 (85.3%)
Délai d'apparition des anticorps par rapport au diagnostic (jours)		8 [0 ; 380]
Délai d'apparition des anticorps par rapport au début des symptômes (jours)		12 [1 ; 381]
Virémie		13/79 (16.5%)
Détection d'ARN dans les selles		42/57 (73.7%)
Détection d'ARN dans les urines		8/70 (11.4%)
Forme sévère		32/103 (31.1%)

Comorbidités	Cardiopathie Maladie respiratoire Diabète Cancer Hypertension artérielle Obésité	47/94 (50%) 21/95 (22.1%) 40/96 (41.7%) 12/94 (12.8%) 67/96 (69.8%) 24/92 (26.1%)
Traitement inducteur	Anti-CD25 SAL SAL + Rituximab Pas d'induction	49 (47.6%) 23 (22.3%) 2 (1.9%) 29 (28.1%)
Traitement immunosuppresseur d'entretien	Tacrolimus <i>Posologie du Tacrolimus</i> <i>Dosage sanguin Tacrolimus</i> Ciclosporine MMF <i>Posologie MMF</i> Inhibiteur de m-Tor Belatacept Azathioprine Corticoïdes	86 (83.5%) 4 [1.5 ; 16] 6.9 [1.3 ; 35] 5 (4.8%) 69 (67%) 720 [360 ; 2000] 18 (17.5%) 3 (2.9%) 1 (0.97%) 87 (84.5%)
Traitement par anticorps monoclonaux	Monothérapie Bamlanivimab Bamlanivimab/Etesivimab Carsivimab/Imdevimab	19/103 (17.5%) 5/19 (26.3%) 12/19 (63.2%) 2/19 (10.5%)
Taux de lymphocytes (ly/mm³)	Totaux CD3 CD4 CD19 NK	784.5 [53 ; 3003] 584 [0 ; 2464] 307.5 [0 ; 1670] 47 [0 ; 497] 102.5 [0 ; 990]
IL6 (pg/mL)	VN : < 5 mg/L	16.4 [1.2 ; 678]
D-Dimères (µg/L)	VN : < 500 µg/L	1585 [530 ; 4000]
Urée (mmol/L)	VN : 2 – 7 mmol/L	11.2 [3.4 ; 39.9]
Créatinine (µmol/L)	VN : 59 – 104 µmol/L	150 [35 ; 1456]
DFG (mL/min/1.73m²)	VN : > 90 mL/min/1.73m ²	43 [3 ; 113]
TGO (UI/L)	VN : 0 – 50 UI/L	27 [12 ; 210]
TGP (UI/L)	VN : 0 – 40 UI/L	25 [8 ; 183]
Troponine (ng/L)	VN : < 14 ng/L	26.1 [7 ; 302]
CRP (mg/L)	VN : < 5 mg/L	36 [0.6 ; 331]
Ferritine (µg/L)	VN : 30 – 400 µg/L	616.4 [23.8 ; 5857]
Vaccination au diagnostic		9/103 (8.7%)
Décès		10/103 (9.7%)

VN : valeurs normales utilisées au laboratoire du CHU de Toulouse

5.1. Etude des différents paramètres en fonction de la sévérité

Sur la période de mars 2020 à juin 2021, 103 patients greffés d'organes ont été diagnostiqués par RT-PCR sur écouvillonnage nasopharyngé puis hospitalisés au CHU de Toulouse. Parmi ces patients, 31% (32/103) ont présenté une forme dite « sévère » ou « critique » de la COVID-19 (classification OMS). Sur la **figure 9**, les trois vagues épidémiques entre mars 2020 et juin 2021 apparaissent distinctement. La deuxième vague (août à décembre 2020) concentre 51,5% (53/103) des cas de COVID-19 chez les patients transplantés, 65,6% (21/32) des cas sévères et 70% (7/10) des décès. La période d'utilisation thérapeutique des anticorps monoclonaux dirigés contre le SARS-CoV-2 est signifiée par l'alinéa bleu.

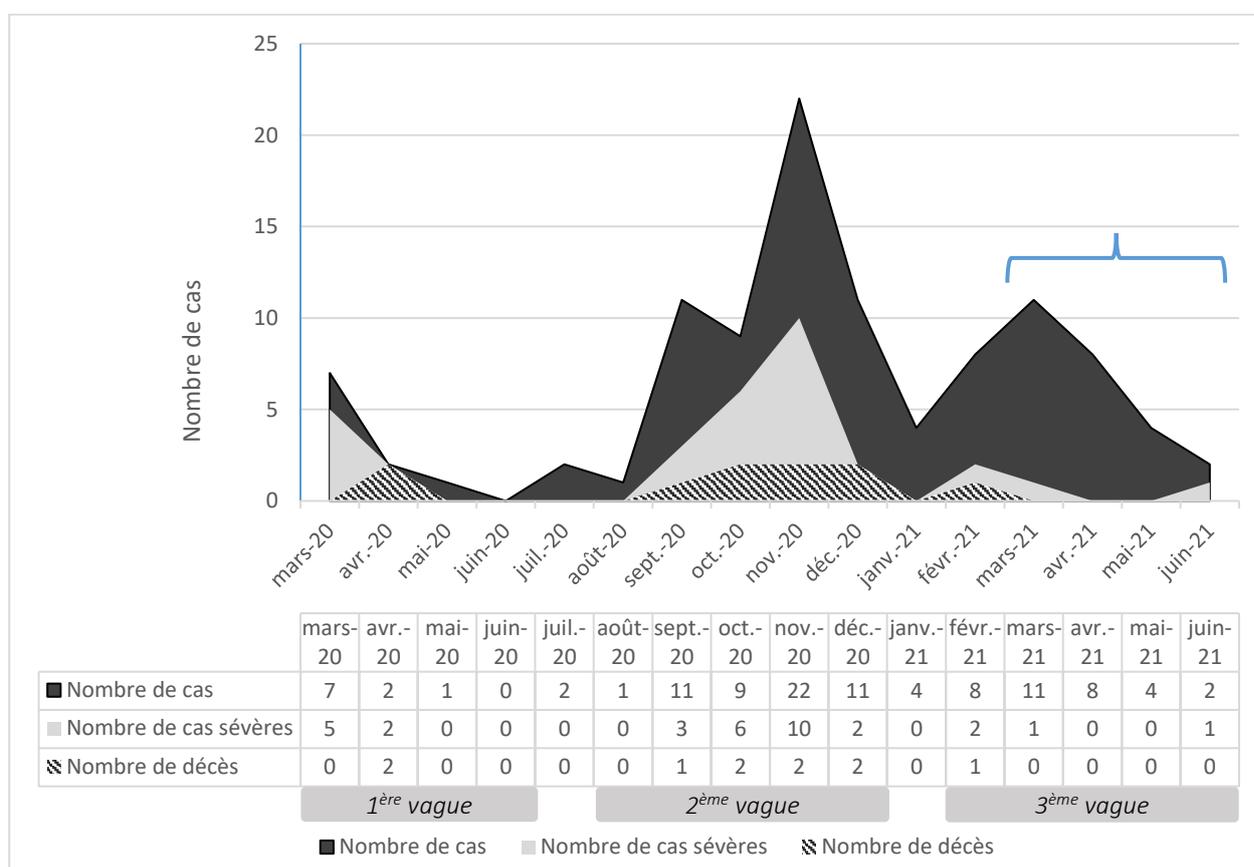


Figure 9 : Nombre de cas de SARS-CoV-2 chez les patients greffés d'organes diagnostiqués au CHU de Toulouse par RT-PCR sur écouvillonnage nasopharyngé

Le taux de formes sévères recensées lors de chaque vague épidémique est : 70% (7/10) pour la première vague, 39% (21/54) pour la deuxième vague et 12% (4/33) pour la troisième vague. La différence entre les trois vagues concernant le nombre de forme sévères est significative ($p < 0.001$).

Les paramètres démographiques, thérapeutiques et biologiques des patients ayant présenté une forme non sévère ($n=71$) ont été comparés à ceux des patients présentant une forme sévère ($n=32$). Les données collectées sont rapportées dans le **tableau 6**.

L'analyse des données démographiques (sexe, l'âge ou le type de greffe) n'a pas mis en évidence de différence significative entre les deux groupes de patients. La mortalité chez les patients sévères était de 32% alors qu'elle est de 0% chez les patients non sévère ($p < 0,001$). A propos des comorbidités, seule la présence d'une maladie respiratoire associée à la transplantation induit un risque plus élevé de forme sévère (35.4% contre 15.6% chez les patients non sévères) ($p=0,036$). Les patients présentant une hypertension artérielle ont eu tendance à faire des formes sévères (83,4% contre 63,1%) sans que lien ne soit significatif ($p=0,056$).

Concernant les paramètres virologiques, les patients sévères ont excrété le virus au niveau nasopharyngé une semaine de plus que les patients non sévères ($p=0,037$). Aucune différence significative n'a été mise en évidence entre le groupe des patients sévères et celui des patients non sévères concernant l'excrétion du virus dans le sang, les selles ou les urines. A noter qu'aucun patient sévère n'a présenté de virurie.

Aucune association entre les traitements immunosuppresseurs d'induction et la forme sévère de la maladie n'a été retrouvée. Concernant les traitements immunosuppresseurs au long cours, la prise d'acide mycophénolique était en lien avec une forme sévère de la maladie ($p=0,039$).

A propos des paramètres biologiques, le taux de lymphocytes CD3+ et CD4+ est significativement plus bas chez les patients sévères ($p=0,003$ et $p=0,014$).

Les paramètres biologiques significativement plus élevés chez les patients sévères sont : les D-Dimères (médiane à 3090 $\mu\text{g/L}$ chez les patients sévères contre 1240 chez les non sévères, $p=0,034$), et la CRP (médianes respectivement à 69,4 et 25,9 mg/L , $p=0,002$). De plus les patients sévères ont eu tendance à avoir une fonction rénale plus altérée par rapport aux patients non sévères, notamment avec une urée plus élevée (médiane respectivement à 14,2 et 3,9 mmol/L $p=0,020$).

L'utilisation d'anticorps monoclonaux dirigés contre le SARS-CoV-2 est protecteur vis-à-vis des formes sévères : en effet parmi les 19 patients ayant eu accès à ce traitement, aucun n'a développé

une forme sévère (p=0,02). Au sein du groupe 5 patients ont reçu une monothérapie de bamlanivimab, 12 une bithérapie de bamlanivimab/étésivimab et 2 une bithérapie de carisivimab/imdesimab.

Tableau 6 : Données en fonction de la forme de la maladie (non sévère ou sévère)

Forme sévère (N = 103)		Non (n=71)	Oui (n=32)	p
Sexe (H/F)		49/22	26/6	0.196
Age (années)		57.3 [23.6 ; 86.9]	58.5 [25.7 ; 82.3]	0.187
Type de greffe				0.523
	Rein	52	27	
	Foie	9	3	
	Cœur	8	1	
	Rein et foie	2	1	
Comorbidités				
	Cardiopathie	30/63 (47.6%)	17/31 (54.8%)	0.661
	Maladie respiratoire	10/64 (15.6%)	11/31 (35.4%)	0.036
	Diabète	24/64 (37.5%)	16/32 (50%)	0.277
	Cancer	6/64 (9.4%)	6/30 (20%)	0.188
	HTA	41/65 (63.1%)	26/31 (83.4%)	0.056
	Obésité	14/63 (22.2%)	10/29 (34.5%)	0.306
Délai greffe-infection (semaines)		129.6 [0 ; 823.8]	103.5 [-2.8 ; 594.3]	0.290
Dernière PCR nasopharyngée positive (jours)		15 [0 ; 60]	21 [0 ; 50]	0.037
Première PCR nasopharyngée négative (jours)		27 [1 ; 180]	30 [1 ; 68]	0.345
Détection anticorps totaux		39/49 (79.5%)	25/26 (96.5%)	0.084
Délai d'apparition des anticorps par rapport au diagnostic (jours)		6 [0 ; 380]	8 [0 ; 120]	0.156
Délai d'apparition des anticorps par rapport au début des symptômes (jours)		12 [1 ; 381]	14 [1 ; 132]	0.961
Virémie positive		6/53 (11.3%)	7/26 (26.9%)	0.079
Détection d'ARN dans les selles		33/46 (71.7%)	9/11 (81.8%)	0.495
Détection d'ARN dans les urines		8/50 (16%)	0/20 (0%)	0.057
Traitement inducteur				
	Anti-CD25	36/71 (50.7%)	13/32 (40.6%)	0.343
	SAL	17/71 (23.9%)	6/32 (18.8%)	0.558
	SAL + Rituximab	1/71 (1.4%)	1/31(3.2%)	0.559
	Pas d'induction	17/71 (23.9%)	12/32 (37.5%)	0.157
Traitement immunosuppresseur d'entretien				
	Tacrolimus	61/71 (85.9%)	25/32 (78.1%)	0.324
	<i>Posologie du Tacrolimus</i>	5 [1.5 ; 16]	4 [2 ; 12.5]	
	<i>Dosage sanguin Tacrolimus</i>	6.7 [1.3 ; 29.6]	7.1 [2 ; 35]	
	Ciclosporine	5/71 (7%)	0/32 (0%)	0.124
	MMF	43/71 (60.6%)	26/32 (81.3%)	0.039
	<i>Posologie MMF</i>	720 [360 ; 2000]	720 [360 ; 2000]	
	Inhibiteur de m-Tor	12/71 (16.9%)	6/32 (18.8%)	0.511
	Belatacept	2/71 (2.8%)	1/32 (3.1%)	0.931
	Azathioprine	1/71 (1.4%)	0/32 (0%)	0.500
	Corticoïdes	58/71 (81.7%)	29/32 (90.6%)	0.176
	<i>Posologie corticoïdes</i>	5 [5 ; 80]	5 [5 ; 10]	

Taux de lymphocytes (ly/mm³)	Totaux	809 [57 ; 3003]	464 [53 ; 1402]	0.009
	CD3	634 [33 ; 2464]	308 [43 ; 1141]	0.003
	CD4	340 [23 ; 1670]	189 [32 ; 891]	0.014
	CD19	48 [5 ; 497]	50 [5 ; 300]	0.985
	NK	109 [10 ; 553]	71 [4 ; 990]	0.963
IL6 (pg/mL)	VN : < 5 mg/L	12.9 [1.8 ; 149]	26.7 [1.2 ; 678]	0.057
D-Dimères (µg/L)	VN : < 500 µg/L	1240 [530 ; 2060]	3090 [1090 ; 4000]	0.034
Urée (mmol/L)	VN : 2 – 7 mmol/L	9.3 [3.4 ; 39.9]	14.2 [3.5 ; 30.9]	0.020
Créatinine (µmol/L)	VN : 59 – 104 µmol/L	144 [64 ; 1456]	167.5 [35 ; 378]	0.087
DFG (mL/min/1.73m²)	VN : > 90 mL/min/1.73m ²	15 [3 ; 106]	35 [13 ; 113]	0.119
TGO (UI/L)	VN : 0 – 50 UI/L	25 [12 ; 210]	32 [14 ; 146]	0.064
TGP (UI/L)	VN : 0 – 40 UI/L	24 [8 ; 183]	25 [14 ; 141]	0.130
Troponine (ng/L)	VN : < 14 ng/L	22.4 [7 ; 249]	36 [8.9 ; 302]	0.113
CRP (mg/L)	VN : < 5 mg/L	25.9 [0.6 ; 208.4]	69.4 [2.5 ; 331]	0.002
Ferritine (µg/L)	VN : 30 – 400 µg/L	558 [24 ; 5069]	916 [158 ; 5857]	0.060
Vaccination au diagnostic		8/71 (11.3%)	1/32 (3.1%)	0.176
Traitement par anticorps monoclonaux		19/71 (26.7%)	0/32 (0%)	0.002
Décès		0/71 (0%)	10/32 (32%)	<0.001

5.2. Etude des différents paramètres en fonction de la létalité

Nous avons relevé 10 décès parmi les 103 patients. Les données collectées en fonction du décès ou de la survie sont regroupées dans le **tableau 7**.

Parmi les paramètres démographiques, l'âge est un paramètre qui est lié à la létalité de la maladie : la médiane de l'âge des patients décédés est plus élevée que celle des patients non décédés (57,3 ans contre 69,8 ans, $p=0,012$). Aucune des comorbidités relevées n'était liée à la létalité.

Le décès des patients était lié à la virémie détectable chez 12,9% (soit 9/70) des patients non décédés ont présenté une virémie positive contre 44,4% (soit 4/9) chez les patients décédés ($p=0,036$).

Parmi les traitements immunosuppresseurs d'induction aucun n'a influencé la survenue d'un décès. Pour ce qui est des traitements d'entretien, le nombre de patients sous tacrolimus était moins élevé dans le groupe des décès (60% contre 80%, $p=0,058$).

Aucun des patients traités par anticorps monoclonal en monothérapie ou en bithérapie n'est décédé.

Parmi les paramètres biologiques, les D-Dimères plus élevés sont associé à la létalité ($p=0,004$), de même que les TGO ($p=0,013$) et la troponine ($p=0,034$).

Tableau 7 : Données collectées en fonction de la survenue d'un décès

Décès		Non (n=93)	Oui (n=10)	p
Sexe (H/F)		68/25	7/3	1
Age (années)		57.3 [23.6 ; 86.9]	69.8 [47.9 ; 82.3]	0.012
Type de greffe				0.233
	Rein	70 (75.2%)	9 (90.7%)	
	Foie	12 (12.9%)	0	
	Cœur	9 (9.7%)	0	
	Rein et foie	2 (2.2%)	1 (0.9%)	
Comorbidités				
	Cardiopathie	41/84 (48.8%)	6/10 (60%)	0.739
	Maladie respiratoire	17/85 (20%)	4/10 (40%)	0.220
	Diabète	36/86 (41.9%)	4/10 (40%)	1
	Cancer	10/84 (11.9%)	2/10 (20%)	0.611
	HTA	59/86 (68.6%)	8/10 (80%)	0.718
	Obésité	20/84 (23.8%)	4/8 (50%)	0.199
Délai greffe-infection (semaines)		114 [-2.8 ; 823.8]	146 [7.1 ; 532.5]	0.424
Dernière PCR nasopharyngée positive (jours)		16 [0 ; 60]	21 [9 ; 36]	0.278
Première PCR nasopharyngée négative (jours)		27 [1 ; 180]	41 [22 ; 60]	0.335
Détection anticorps totaux		57/68 (83.8%)	7/7 (100%)	0.584
Délai d'apparition des anticorps par rapport au diagnostic (jours)		8 [0 ; 380]	8 [5 ; 13]	0.675
Délai d'apparition des anticorps par rapport au début des symptômes (jours)		12 [1 ; 381]	17 [5 ; 26]	0.986
Forme sévère		22/93 (23.7%)	10/10 (100%)	1
Virémie		9/70 (12.9%)	4/9 (44.4%)	0.032
Détection de l'ARN dans les selles		40/55 (72.7%)	2/2 (100%)	1
Détection de l'ARN dans les urines		8/65 (12.3%)	0/5 (0%)	1
Traitement inducteur				
	Anti-CD25	45/93 (48.4%)	4/10 (40%)	0.744
	SAL	20/93 (21.5%)	3/10 (30%)	0.689
	SAL + Rituximab	1/93 (1.1%)	1/10 (10%)	0.186
	Pas d'induction	27/93 (29%)	2/10 (20%)	0.721
Traitement immunosuppresseur d'entretien				
	Tacrolimus	80/93 (86%)	6/10 (60%)	0.058
	<i>Posologie du Tacrolimus</i>	5 [1.5 ; 16]	2.5 [2 ; 9]	0.249
	<i>Dosage sanguin Tacrolimus</i>	6.9 [1.3 ; 33.4]	6.7 [4.5 ; 35]	0.612
	Ciclosporine	5/93 (5.4%)	0/10 (0%)	1
	MMF	61/93 (65.6%)	8/10 (80%)	0.490
	<i>Posologie MMF</i>	720 [360 ; 2000]	860 [360 ; 2000]	
	Inhibiteur de m-Tor	17/93 (18.3%)	1/10 (10%)	1
	Belatacept	2/93 (2.2%)	1/10 (10%)	0.266
	Azathioprine	1/93 (1.1%)	0/10 (0%)	1
	Corticoïdes	77/91 (84.6%)	10/10 (100%)	0.349
	<i>Posologie corticoïdes</i>	5 [5 ; 80]	5 [5 ; 5]	
Taux de lymphocytes (ly/mm ³)				
	Totaux	793 [57 ; 3003]	580 [53 ; 1402]	0.168
	CD3	593 [0 ; 2464]	340 [43 ; 1141]	0.221

	CD4	311 [0 ; 1670]	219 [32 ; 891]	0.452
	CD19	49 [0 ; 497]	24 [6 ; 164]	0.130
	NK	103 [0 ; 990]	71 [4 ; 352]	0.671
IL6 (pg/mL)	VN : < 5 mg/L	15 [1.2 ; 678]	24.7 [4.4 ; 420]	0.419
D-Dimères (µg/L)	VN : < 500 µg/L	1240 [530 ; 3090]	4000 [2520 ; 4000]	0.004
Urée (mmol/L)	VN : 2 – 7 mmol/L	10.9 [3.4 ; 39.9]	13.7 [3.5 ; 25.6]	0.293
Créatinine (µmol/L)	VN : 59 – 104 µmol/L	149.6 [64 ; 1456]	168 [35 ; 350]	0.794
DFG (mL/min/1.73m²)	VN : > 90 mL/min/1.73m ²	43 [3 ; 106]	37 [13 ; 113]	0.551
TGO (UI/L)	VN : 0 – 50 UI/L	26 [12 ; 210]	43 [19 ; 146]	0.013
TGP (UI/L)	VN : 0 – 40 UI/L	25 [8 ; 183]	28 [14 ; 141]	0.307
Troponine (ng/L)	VN : < 14 ng/L	24.9 [7 ; 302]	65.2 [11 ; 240]	0.034
CRP (mg/L)	VN : < 5 mg/L	34.9 [0.6 ; 331]	65 [9.9 ; 322.1]	0.074
Ferritine (µg/L)	VN : 30 – 400 µg/L	616.4 [23.8 ; 5857]	644.4 [158.2 ; 5200]	0.866
Vaccination au diagnostic		9/93 (9.68%)	0/10 (0%)	0.594
Traitement par anticorps monoclonaux		19/93 (20.43%)	0/10 (0%)	0.201

5.3. Etude des différents paramètres en fonction de la virémie

Les données concernant la détection dans le sang du SARS-CoV-2 ont été collectées (**tableau 8**).

Soixante-dix-neuf patients ont été testés pour la virémie au moment du diagnostic.

L'ARN viral a été détecté dans 16,5% (13/79) des échantillons sanguins. Nous avons étudié quels étaient les paramètres liés à cette détection du virus dans le compartiment sanguin.

Tableau 8 : Données en fonction de la détection d'ARN viral dans le sang (virémie)

Virémie positive (n=79)	Non (n=66)	Oui (n=13)	p
Sexe (H/F)	44/22	10/3	0.467
Age (années)	57.4 [23.6 ; 83]	54.5 [42.6 ; 71.9]	0.526
Type de greffe			0.453
Rein	48	12	
Foie	9	1	
Cœur	7	0	
Rein et foie	2	0	
Délai greffe-infection (semaines)	118.9 [-2.8 ; 626.8]	48.3 [0 ; 383.2]	0.050
Dernière PCR nasopharyngée positive (jours)	18 [0 ; 60]	16 [9 ; 50]	0.394
Première PCR nasopharyngée négative (jours)	28 [1 ; 180]	31 [16 ; 65]	0.467
Détection anticorps totaux	44/48 (91.7%)	9/9 (100%)	0.907
Délai d'apparition des anticorps par rapport au diagnostic (jours)	10 [0 ; 380]	8 [2 ; 12]	0.836
Délai d'apparition des anticorps par rapport au début des symptômes (jours)	17 [1 ; 381]	9 [4 ; 12]	0.055
Forme sévère	19/66 (28.8%)	7/13 (53.8%)	0.079
Détection d'ARN dans les selles	33/43 (76.7%)	2/4 (50%)	0.241

Détection d'ARN dans les urines		8/51 (15.7%)	0/8 (0%)	0.228
Traitement inducteur				
	Anti-CD25	31/66 (47%)	3/13 (23.1%)	0.112
	SAL	14/66 (21.2%)	5/13 (38.5%)	0.183
	SAL + Rituximab	0/66 (0%)	2/13 (15,4%)	0.001
	Pas d'induction	21/66 (31.8%)	3/13 (23.1%)	0.531
Traitement immunosuppresseur d'entretien				
	Tacrolimus	58/66 (87.9%)	9/13 (69.2%)	0.087
	<i>Posologie du Tacrolimus</i>	5 [1.5 ; 16]	7 [3 ; 14]	
	<i>Dosage sanguin Tacrolimus</i>	6.9 [1.3 ; 35]	7 [4.7 ; 19.2]	
	Ciclosporine	3/66 (4.5%)	0/13 (0%)	0.433
	MMF	45/66 (68.2%)	7/13 (53.8%)	0.319
	<i>Posologie MMF</i>	720 [360 ; 2000]	1000 [360 ; 2000]	
	Inhibiteur de m-Tor	11/66 (16.7%)	1/13 (7.7%)	0.410
	Belatacept	2/66 (3.0%)	1/13 (7.7%)	0.421
	Azathioprine	1/66 (1.5%)	0/13 (0%)	0.655
	Corticoïdes	57/66 (83,3%)	10/11 (90.9%)	0.678
	<i>Posologie corticoïdes</i>	5 [5 ; 80]	5 [5 ; 10]	
Taux de lymphocytes (ly/mm³)	Totaux	793 [57 ; 3003]	470 [53 ; 1463]	0.047
	CD3	596 [33 ; 2464]	312 [43 ; 1264]	0.113
	CD4	313 [23 ; 1670]	189 [32 ; 805]	0.174
	CD19	51 [5 ; 497]	11 [5 ; 80]	0.002
	NK	103 [10 ; 990]	35 [4 ; 160]	0.011
IL6 (pg/mL)	VN : < 5 mg/L	14.6 [1.2 ; 460]	54.1 [2.3 ; 678]	0.276
D-Dimères (µg/L)	VN : < 500 µg/L	1240 [530 ; 4000]	2060 [540 ; 4000]	0.642
Urée (mmol/L)	VN : 2 – 7 mmol/L	10.3 [3.4 ; 31.6]	11.9 [6.4 ; 25.6]	0.191
Créatinine (µmol/L)	VN : 59 – 104 µmol/L	148.5 [35 ; 1047]	149 [66 ; 356]	0.416
DFG (mL/min/1.73m²)	VN : > 90 mL/min/1.73m ²	46 [5 ; 113]	36 [13 ; 106]	0.372
TGO (UI/L)	VN : 0 – 50 UI/L	26 [12 ; 210]	30 [14 ; 68]	0.341
TGP (UI/L)	VN : 0 – 40 UI/L	26 [11 ; 183]	25 [17 ; 48]	0.951
Troponine (ng/L)	VN : < 14 ng/L	26.1 [7 ; 62]	53.5 [9.8 ; 240]	0.286
CRP (mg/L)	VN : < 5 mg/L	35.3 [0.6 ; 331]	57.6 [11.3 ; 322.1]	0.109
Ferritine (µg/L)	VN : 30 – 400 µg/L	673 [23.8 ; 5857]	718.5 [158.2 ; 5200]	0.926
Vaccination au diagnostic		9/66 (13.6%)	0/13 (0%)	0.157
Traitement par anticorps monoclonaux		14/66 (21.1%)	3/13 (23.1%)	1
Décès		5/66 (7.6%)	4/13 (30.8%)	0.036

Parmi les paramètres démographiques, le délai entre la greffe et l'infection est significativement plus court chez les patients virémiques (médiane à 48,3 mois) que chez les patients non virémiques (médiane à 118,9 mois) (p=0,05).

Nous avons cherché à expliquer ce délai plus court en étudiant les traitements immunosuppresseur d'induction et la virémie : l'association SAL+Rituximab semble être plus à même d'induire une virémie positive (p=0,001) mais nous ne disposons pas d'assez de données concernant cette association (n=2) pour arriver à une conclusion. Les traitements immunosuppresseurs d'entretien n'ont pas eu d'influence sur la virémie.

Concernant les paramètres virologiques, la détection du virus dans le compartiment sanguin n'est pas associée avec la détection dans les selles ($p=0,241$) ni avec la détection dans les urines ($p=0,228$). Aucun des patients virémiques n'a présenté une virurie. Le délai d'apparition des anticorps par rapport à l'apparition des symptômes a eu tendance à être plus long (17 jours) chez les patients non virémiques que chez les patients virémiques (9 jours) ($p=0,055$).

A propos des paramètres biologiques relevés chez ces patients, le taux de lymphocytes totaux était plus bas chez les patients virémiques ($p=0,047$) avec une déplétion sur les lymphocytes CD19 et NK ($p=0,002$ et $p=0,011$). Aucun autre paramètre biologique étudié n'est significativement lié à la virémie.

5.4. Etude des différents paramètres en fonction de l'excrétion du virus dans les selles

Les données concernant l'excrétion du virus dans les selles sont résumées dans le **tableau 9**.

Au total nous avons testé 57 échantillons de selles au sein desquels 42 étaient positifs (soit 74%). A noter que les échantillons de selles ont été pour la plupart congelés pendant une période de plusieurs semaines, puis testées en TMA, ce qui a pu induire un biais au niveau de la détection de l'ARN viral. Les paramètres démographiques n'ont pas de lien avec l'excrétion virale dans les selles.

Tableau 9 : Données en fonction de la détection d'ARN dans les selles

Détection de l'ARN dans les selles	Négative (n=15)	Positive (n=42)	p
Sexe (H/F)	12/3	28/14	0.333
Age (années)	54.2 [35.8 ; 66.2]	59.8 [23.6 ; 79.1]	0.067
Type de greffe			0.641
Rein	13	30	
Foie	1	4	
Cœur	1	6	
Rein et foie	0	2	
Délai greffe-infection (semaines)	64.6 [3.8 ; 341.8]	140 [1 ; 823.8]	0.205
Dernière PCR nasopharyngée positive (jours)	12 [0 ; 28]	21 [0 ; 60]	0.039
PCR nasopharyngée négative (jours)	16 [1 ; 38]	27 [6 ; 90]	0.028
Détection anticorps totaux	5/9 (55.6%)	27/28 (96.4%)	0.020
Délai d'apparition des anticorps par rapport au diagnostic (jours)	12 [0 ; 28]	17 [0 ; 60]	0.564
Délai d'apparition des anticorps par rapport aux symptômes (jours)	16 [1 ; 38]	28 [1 ; 180]	0.648
Forme sévère	2/15 (13.3%)	9/42 (21.4%)	0.495

Virémie		2/12 (16.7%)	2/35 (5.7%)	0.241
Détection d'ARN dans les urines		0/11 (0%)	6/36 (16.7%)	0.147
Traitement inducteur				
	Anti-CD25	7/15 (46.7%)	23/42 (57.8%)	0.590
	SAL	2/15 (13.3%)	10/42 (23.8%)	0.393
	SAL + Rituximab	0/15 (0%)	0/42 (0%)	
	Pas d'induction	6/15 (40%)	9/42 (21.4%)	0.161
Traitement immunosuppresseur d'entretien				
	Tacrolimus	12/15 (80%)	27/42 (64.4%)	0.438
	<i>Posologie du Tacrolimus</i>	4.0 [3.0 ; 14.0]	5.0 [1.5 ; 13]	
	<i>Dosage sanguin Tacrolimus</i>	7.5 [4.0 ; 19.2]	6.5 [1.3 ; 35]	
	Ciclosporine	1/15 (6.7%)	3/42 (7.1%)	0.951
	MMF	10/15 (66.7%)	26/42 (61.9%)	0.743
	<i>Posologie MMF</i>	720 [500 ; 1500]	720 [360 ; 2000]	
	Inhibiteur de m-Tor	1/15 (6.7%)	8/42 (19.1%)	0.259
	Belatacept	1/15 (6.7%)	0/42 (0%)	0.091
	Azathioprine	0/15 (0%)	1/41 (2.4%)	0.547
	Corticoïdes	11/14 (78,6%)	36/42 (85.7%)	0.529
	<i>Posologie corticoïdes</i>	5 [5 ; 10]	5 [5 ; 80]	
Taux de lymphocytes (ly/mm³)	Totaux	1226 [290 ; 2523]	721 [57 ; 3003]	0.067
	CD3	995 [97 ; 2016]	440 [33 ; 2324]	0.063
	CD4	451 [36 ; 1035]	292 [23 ; 1325]	0.105
	CD19	64 [5 ; 232]	50 [5 ; 424]	0.843
	NK	161 [26 ; 435]	92 [10 ; 990]	0.015
IL6 (pg/mL)	VN : < 5 mg/L	9 [1.8 ; 36.9]	24.7 [2.2 ; 420]	0.058
D-Dimères (µg/L)	VN : < 500 µg/L	1425 [789.9 ; 2060]	1189 [1090 ; 1590]	1
Urée (mmol/L)	VN : 2 – 7 mmol/L	8.1 [5 ; 16.2]	12.2 [3.4 ; 34]	0.030
Créatinine (µmol/L)	VN : 59 – 104 µmol/L	143 [102 ; 228]	149.5 [64 ; 1456]	0.663
DFG (mL/min/1.73m²)	VN : > 90 mL/min/1.73m ²	47 [26 ; 76]	43.5 [3 ; 104]	0.341
TGO (UI/L)	VN : 0 – 50 UI/L	26 [14 ; 55]	28 [12 ; 210]	0.802
TGP (UI/L)	VN : 0 – 40 UI/L	27 [15 ; 70]	23 [12 ; 183]	0.505
Troponine (ng/L)	VN : < 14 ng/L	11.4 [7.7 ; 249.2]	28.4 [7 ; 302]	0.375
CRP (mg/L)	VN : < 5 mg/L	24 [0.6 ; 208.4]	35.8 [1.1 ; 177.4]	0.335
Ferritine (µg/L)	VN : 30 – 400 µg/L	439.6 [118.5 ; 2890]	616.1 [23.8 ; 5069]	0.254
Vaccination au diagnostic		2/15 (13.3%)	5/37 (13.5%)	0.885
Traitement par anticorps monoclonaux		5/15 (33.3%)	10/42 (23.8%)	0.358
Décès		0/15 (0%)	2/42 (4,76%)	1

Les patients ayant des selles positives ont excrété le virus plus longtemps au niveau nasopharyngé, qu'il s'agisse de la dernière PCR positive (21 jours contre 12 chez les patients dont les selles étaient négatives, $p=0,036$) ou de la première PCR négative (27 jours contre 16, $p=0,028$). Concernant les sérologies réalisées, les patients ayant des selles positives ont eu tendance à développer plus souvent des anticorps (96.4% soit 27/28) que les patients ayant des selles négatives (55,6% soit 5/9) ($p=0,025$). Mais de façon surprenante, le délai d'apparition des anticorps était plus long chez les

patients ayant des selles positives (17 jours, contre 12 chez les patients ayant des selles négatives), sans lien significatif.

Concernant les paramètres viraux, l'excrétion du virus dans les selles n'a pas de lien avec la détection dans le sang ou dans les urines.

Parmi les traitements immunosuppresseurs d'induction ou d'entretien, aucun n'est en lien avec l'excrétion virale dans les selles.

A propos des paramètres biologiques étudiés, les taux de lymphocytes NK (CD16+/CD56+) est significativement plus bas chez les patients présentant une excrétion du virus dans les selles (médiane à 92 lymphocytes/mm³) par rapport aux patients non excrétant (médiane à 161 lymphocytes/mm³) (p=0,015).

Les taux d'IL-6 ont eu tendance à être plus élevés chez les patients excrétant (médiane à 24,7 pg/mL) par rapport aux patients non excrétants (médiane à 9 pg/mL) (p=0,058). Les taux d'urée sont eux significativement plus élevés chez les patients excrétant (médiane à 12,2 mmol/L) que chez les patients non excrétants (médiane à 8,1 mmol/L) (p=0,03).

5.5. Etude des différents paramètres en fonction de la détection urinaire du virus

Nous avons pu tester l'ARN viral urinaire chez 70 patients au moment du diagnostic. Huit patients se sont avérés positifs (soit 11,4%) et nous avons étudié les différents paramètres biologiques chez ces patients afin d'expliquer cette détection urinaire. Les données collectées en fonction de la détection urinaire d'ARN sont regroupées dans le **tableau 10**.

Tableau 10 : Données en fonction de la détection urinaire de l'ARN viral

Détection urinaire de l'ARN viral		Non (n=62)	Oui (n=8)	p
Sexe (H/F)		45/17	2/6	0.007
Age (années)		57.4 [23.6 ; 83]	61.4 [34.9 ; 69.2]	0.480
Type de greffe				0.231
	Rein	49	4	
	Foie	5	2	
	Cœur	6	2	
	Rein et foie	2	1	
Délai greffe-infection (semaines)		104 [-2.8 ; 823.8]	6.9 [1.1 ; 351.9]	0.070

Dernière PCR nasopharyngée positive (jours)		16 [0 ; 50]	21 [5 ; 39]	0.693
Première PCR nasopharyngée négative (jours)		25 [1 ; 135]	51 [22 ; 180]	0.038
Détection anticorps totaux		37/42 (88.1%)	5/6 (83.3%)	0.572
Délai d'apparition des anticorps par rapport au diagnostic (jours)		6 [0 ; 380]	12 [11 ; 39]	0.025
Délai d'apparition des anticorps par rapport au début des symptômes (jours)		12 [1 ; 381]	12 [11 ; 44]	0.388
Forme sévère		20/62 (32.3%)	0/8 (0%)	0.057
Virémie		8/51 (15.6%)	0/8 (0%)	0.228
Détection de l'ARN viral dans les selles		30/41 (73.1%)	6/6 (100%)	0.147
Traitement inducteur				
	Anti-CD25	32/62 (51.6%)	3/8 (37.5%)	0.452
	SAL	14/62 (22.6%)	4/8 (50%)	0.095
	SAL + Rituximab	0/62 (0%)	0/8 (0%)	
	Pas d'induction	16/62 (25.8%)	1/8 (12.5%)	0.409
Traitement immunosuppresseur d'entretien				
	Tacrolimus	54/62 (87,1%)	7/8 (87.5%)	0.974
	<i>Posologie du Tacrolimus</i>	4.5 [1.5 ; 14]	5 [1.5 ; 16]	
	<i>Dosage sanguin Tacrolimus</i>	7.1 [2 ; 35]	6.5 [1.3 ; 11.6]	
	Ciclosporine	2/62 (3.2%)	1/8 (12.5%)	0.223
	MMF	42/62 (67.7%)	5/8 (62.5%)	0.766
	<i>Posologie MMF</i>	860 [360 ; 2000]	720 [360 ; 2000]	
	Inhibiteur de m-Tor	11/62 (17.7%)	1/8 (12.5%)	0.711
	Belatacept	3/62 (4.8%)	0/8 (0%)	0.525
	Azathioprine	1/62 (1.6%)	0/8 (0%)	0.717
	Corticoïdes	52/61 (85.2%)	7/8 (87.5%)	0.865
	<i>Posologie corticoïdes</i>	5 [5 ; 10]	5 [5 ; 80]	
Traitement par anticorps monoclonaux		13/62 (21%)	2/8 (25%)	1
Décès		5/62 (7.6%)	0/8 (0%)	1
Taux de lymphocytes (ly/mm³)	Totaux	809 [57 ; 3003]	900 [218 ; 2056]	0.879
	CD3	596 [33 ; 2464]	757 [138 ; 1751]	0.557
	CD4	312 [23 ; 1670]	398 [53 ; 1007]	0.565
	CD19	41 [5 ; 424]	109 [5 ; 497]	0.153
	NK	109 [10 ; 990]	66 [23 ; 258]	0.252
IL6 (pg/mL)	VN : < 5 mg/L	18.8 [1.8 ; 678]	8.7 [3.6 ; 107]	0.595
D-Dimères (µg/L)	VN : < 500 µg/L	1580 [530 ; 4000]		
Urée (mmol/L)	VN : 2 – 7 mmol/L	11.8 [3.4 ; 39.9]	9.9 [5.2 ; 19.3]	0.276
Créatinine (µmol/L)	VN : 59 – 104 µmol/L	151.5 [64 ; 1047]	103 [77 ; 352]	0.128
DFG (mL/min/1.73m²)	VN : > 90 mL/min/1.73m ²	41.5 [5 ; 104]	52.5 [13 ; 87]	0.427
TGO (UI/L)	VN : 0 – 50 UI/L	29 [14 ; 210]	21 [12 ; 36]	0.028
TGP (UI/L)	VN : 0 – 40 UI/L	27 [8 ; 183]	23 [11 ; 71]	0.378
Troponine (ng/L)	VN : < 14 ng/L	23.8 [7 ; 302]	25.7 [7.9 ; 144]	0.744
CRP (mg/L)	VN : < 5 mg/L	39.6 [0.6 ; 331]	35.1 [5.4 ; 68.4]	0.580
Ferritine (µg/L)	VN : 30 – 400 µg/L	682.9 [79.7 ; 5857]	459 [23.8 ; 2534]	0.467
Vaccination au diagnostic		5/62 (8.1%)	1/8 (12.5%)	0.673

Le sexe semble être un facteur influant sur l'excrétion urinaire du virus : les femmes représentent 75% des patients viruriques et 27% des patients non viruriques (p=0,007). Concernant les paramètres virologiques, les patients viruriques sont restés détectables plus longtemps en PCR

nasopharyngée que les patients non viruriques ($p=0,038$). De façon surprenante, l'excrétion du virus au niveau urinaire ne semble être liée ni à la virémie ($p=0,228$), ni à l'excrétion du virus dans les selles ($p=0,147$). A noter que 100% des patients viruriques pour lesquels des selles ont été testées ont également une excrétion fécale du virus.

Au sein du groupe des patients viruriques nous n'avons constaté aucune forme sévère ni décès.

Aucun des paramètres biologiques étudiés n'est associé avec une excrétion urinaire du virus : l'atteinte de la fonction rénale n'était pas différente entre les deux groupes

6. Discussion

Ce travail permet de faire un point sur l'infection à SARS-CoV-2 chez les patients hospitalisés transplantés d'organe en mettant notamment les données virologiques en lien avec l'évolution clinique.

Les données présentées sur la **figure 9** nous permettent d'établir les constats suivants : la première vague épidémique (mars à mai 2020) a épargné la région Occitanie, ce qui explique le peu d'hospitalisation durant cette période. La deuxième vague épidémique (août à décembre 2020) est celle qui regroupe plus de la moitié des cas de notre étude et comprend 70% des décès. Dès fin février 2021, le traitement par anticorps monoclonaux a été utilisé efficacement en traitement afin d'éviter les formes sévères (89,90). Le nombre de cas sévère a alors chuté, la troisième vague ne représentant plus que 4% des cas hospitalisés et moins de 1% des décès. Les deux patients ayant présenté une forme sévère entre mars et juin 2021 n'ont pas pu recevoir de traitement par anticorps monoclonal, du fait de leur présentation clinique déjà sévère à l'arrivée au CHU.

Concernant l'influence des traitements immunosuppresseurs sur l'évolution de la COVID-19, la société francophone de transplantation recommande de diminuer la dose voire d'arrêter les inhibiteurs des bases puriques, et ce en fonction de la présentation clinique. L'association entre le traitement par mycophénolate mofetil et forme sévère de la COVID-19 observé dans notre groupe a été décrit précédemment chez les patients transplantés (91), ainsi que chez les populations traitées pour des rhumatismes inflammatoires et troubles musculo-squelettiques (92).

Le délai d'excrétion virale au niveau nasopharyngé était plus long chez les patients sévères (21 jours contre 15 chez les patients non sévères, $p=0,037$). Marinelli *et al.* ont mesuré la durée d'excrétion virale nasopharyngée dans un groupe de 30 patients transplantés avec une médiane à 10 jours et seulement deux patients (6,7%) présentant une excrétion supérieure à 30 jours (93). Chez les patients immunodéprimés, cette excrétion prolongée peut être à l'origine d'une sélection de variant plus adapté à l'Homme et donc potentiellement plus transmissible voire plus délétère (94). L'utilisation d'un traitement par anticorps monoclonaux chez cette population permet d'éviter les formes sévères et pourrait donc permettre d'éviter cette sélection de variants.

Les résultats concernant les paramètres biologiques associés aux formes sévères dans notre groupe sont en accord avec les données de la littérature : un état inflammatoire avec une élévation de la CRP, une tendance à avoir un taux de ferritine et d'IL-6 plus élevés, ainsi que des D-Dimères élevés

(85) ; et une leucopénie prédominant sur les lymphocytes TCD3+ et TCD4+ (83). Diao *et al.* ont mis en évidence que chez des patients atteints de la COVID-19 avaient des taux de lymphocyte T inférieurs à la valeur normale (qu'il s'agisse de lymphocytes TCD3+, TCD4+ ou TCD8+) et que ces taux étaient plus bas chez les patients plus sévères (95).

Le délai entre la greffe et l'infection influence la présence d'une virémie : dans notre étude ce délai est significativement plus court chez les patients virémiques comparé aux patients non virémiques. Mais ce délai n'est pas lié à la sévérité dans notre groupe de patient. Banerjee *et al.* ont étudié l'infection à SARS-CoV-2 chez 7 patients transplantés et parmi eux 2 étaient transplantés depuis moins de 3 mois : les deux patients ont été hospitalisés, un patient a nécessité une ventilation non invasive et aucun des deux patients n'est décédé (96). Demir *et al.* ont mis en avant le fait que les patients ayant eu un traitement d'induction ont un risque plus élevé de développer une forme sévère de la maladie, ce qui n'est pas le cas dans notre groupe (97).

Concernant la létalité liée à l'infection à SARS-CoV-2 chez les patients transplantés, de nombreuses études rapportent des valeurs entre 18 et 32% (81,82,98). La létalité au sein de notre groupe de patient s'est avérée plus faible (9%), ceci pouvant être expliqué par notre inclusion de patients infectés lors de la 3^{ème} vague épidémique de COVID-19 (soit jusqu'au 11 juin 2021) contrairement aux publications citées incluant des patients jusqu'en janvier 2021. Néanmoins, la létalité de l'infection chez les transplantés d'organe solide semble varier selon les pays, en effet Softeland *et al.* ont récemment publié un état des lieux de l'infection chez cette population en Suède, montrant un taux de létalité de 9,6% au total sur une cohorte de 230 patients incluant des patients hospitalisés et non hospitalisés (99). Nous avons constaté très peu de décès lors la troisième vague dans notre groupe de patients, ceci pouvant être expliquée par l'utilisation des anticorps monoclonaux anti-SARS-CoV-2 dès le début des symptômes. Un autre paramètre à prendre en compte pour expliquer la létalité plus faible est l'incidence de la maladie en Occitanie : en effet cette région a été peu touchée par la première vague de COVID-19 (période de mars à mai 2020) ce qui a influencé en premier lieu le nombre de patients transplantés infectés ainsi que la facilité de prise en charge au CHU de Toulouse. En parallèle, notre étude comporte un biais de sélection : seuls les patients hospitalisés ont été inclus, écartant donc les patients testés positifs dans des laboratoires extérieurs au CHU pour des formes non symptomatiques (dépistage des cas contact) ou vus en téléconsultation pour des formes peu symptomatiques. De même, nous avons exclu les patients venus en consultation ou en hospitalisation de jour pour lesquels aucun bilan biologique n'a été prélevé (hormis une PCR nasopharyngée pour le diagnostic d'infection).

L'association entre comorbidités et mortalité des patients transplantés par infection à SARS-CoV-2 est débattue : en effet Kates *et al.* décrivent une implication des comorbidités (notamment les pathologies respiratoires, l'obésité et l'insuffisance cardiaque) dans la létalité (80) tandis que Kremer *et al.* ne retrouvent pas de lien significatif entre comorbidités et décès dans leur méta-analyse (98). Dans notre groupe de patients transplantés nous avons mis en évidence un surrisque de faire une forme sévère de la maladie chez les patients présentant une pathologie respiratoire chronique, et une tendance chez les patients atteints d'hypertension artérielle. Mais aucune des comorbidités que nous avons relevées n'était liée à un décès.

Concernant les traitements immunosuppresseurs d'entretien et leur influence sur le décès des patients transplantés, à l'inverse des inhibiteurs des bases puriques, le traitement inhibiteur de la calcineurine (tacrolimus ou ciclosporine) a montré un effet positif sur la survie des patients (100).

Dans notre groupe, nous avons observé que les patients virémiques avaient tendance à présenter des formes plus sévères (28.8% de décès chez les patients non sévères et virémiques contre 53.8% chez les patients sévères et virémiques, $p=0,079$), même si la différence n'était pas statistiquement significative. Cela peut être dû aux données manquantes concernant les mesures de virémie : au total nous avons analysé 79 échantillons ce qui implique 6 mesures manquantes pour les patients sévères et 18 pour les patients non sévères. Nous avons cependant constaté que la virémie est associée au risque de décès ($p=0,036$). Les données sur la virémie chez les patients transplantés sont encore rares. Christensen *et al.* ont mesuré la virémie chez 5 patients, obtenant un taux de virémie à 67%, avec un taux de létalité chez les patients virémiques de 40% (85). Au sein de la population générale, le taux de patients virémiques semble varier entre 15% (56) et 74% (101). Ces variations de détection de l'ARN dans le sang peuvent être expliquées par les différences de performances des techniques d'extraction et d'amplification utilisées. En effet Veyer *et al.* ont utilisé le kit QIAamp Viral RNA Mini (QIAGEN, Hilden, Allemagne) pour réaliser leur extraction suivi d'une amplification par ddPCR pour arriver à un taux de 74% de patients virémiques chez des patients immunocompétents, avec des charges virales plus élevées en cas de forme sévère (101). Bermejo *et al.* ont utilisé la même technique d'amplification pour arriver aux résultats suivants sur un groupe de 250 patients : une virémie détectée chez 1% des patients non sévères, 27% des patients sévères et 78% des patients critiques (102). D'autres équipes telles que Hagman *et al.*, Li *et al.* et Eberhardt *et al.* ont utilisé le kit d'extraction MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume (Roche) et l'amplification sur COBAS qui possède une limite de détection de 1000 copies/mL arrivent à des résultats de respectivement 36.5%, 37% et 44% de virémies positives (103–105). Dans notre étude, parmi les échantillons de

sang rendus positifs, 3 sont passés en TMA et 10 en RT-PCR sur LightCycler 480 avec une limite de détection estimée au moins à 500 copies/mL pour ces deux techniques.

Concernant la déplétion en lymphocytes NK chez les patients virémiques, elle peut être expliquée par plusieurs mécanismes : les patients présentant une virémie ont tendance à présenter une forme sévère, ce qui implique une augmentation de l'état inflammatoire et une production importante d'IL-6, qui peut altérer l'activité des lymphocytes NK (106). De plus, les cellules NK sont particulièrement importantes lors des infections virales respiratoires, elles permettent de diminuer la charge virale pour le virus de la grippe ou les virus respiratoires syncytiaux dans des modèles animaux(106). Leur séquestration pulmonaire peut être supposée lors des infections respiratoires graves, ce qui induit une diminution des taux sanguins mesurés (106). Ce phénomène avait déjà été décrit chez des patients immunocompétents infectés par le SARS-CoV-1, avec des taux plus bas chez les patients présentant des formes graves (107).

Dans notre groupe de patients, il n'existe pas de lien entre la détection du virus dans les selles et la sévérité de la maladie. Lin *et al.* sont arrivés à la même conclusion, et ont étudié l'excrétion fécale du SARS-CoV-2 : dans leur étude le virus est détecté dans les selles des patients non symptomatiques au niveau gastro-intestinal sans différence significative avec les patients symptomatiques (52.4% contre 39.1%, $p=0.310$) (42). Ils ont également détecté de l'ARN viral dans les tissus du système gastro-intestinal par RT-PCR sur des biopsies d'œsophage, d'estomac, de duodénum et de rectum de 2 patients ayant présenté des formes sévères de la maladie, en opposition à 4 patients non sévères chez qui aucune détection n'a été mise en évidence (excepté un patient chez qui le virus a été détecté dans une biopsie duodénale) (42).

Concernant la détection urinaire du virus, nous avons pu arriver à la conclusion qu'elle était probablement artefactuelle dans notre groupe de patients. Les arguments en faveur de cette hypothèse sont les suivants : les patients virémiques ne présentent pas de virémie et n'ont pas une fonction rénale plus altérée que les patients non virémiques. D'autre part ils présentent tous une excrétion fécale du virus. Il est donc fort probable que la détection urinaire du virus vienne en réalité d'une contamination fécale des urines. En effet 75% des patients virémiques sont des femmes (anatomiquement la probabilité de contaminer les urines avec les selles est plus grande dans la population féminine), et après interrogation des cliniciens et des dossiers cliniques, une grande partie des patients infectés présentaient des diarrhées à leur entrée dans le service, augmentant le risque de contaminer les prélèvements urinaires. En effet les troubles digestifs au cours de la COVID-19 sont retrouvés chez 20 à 50% des patients transplantés (80,83). Afin de vérifier cette hypothèse

nous nous sommes intéressés aux résultats des examens cytobactériologiques des urines (ECBU) réalisés chez ces patients le même jour que le prélèvement d'urines pour détection du SARS-CoV-2. Sept ECBU ont été réalisés et parmi eux cinq étaient contaminés. Il est donc probable que la détection urinaire du SARS-CoV-2 chez ces patients soit la conséquence d'une contamination des urines par les selles et non d'une réelle excrétion urinaire du virus. Les données de la littérature restent rares concernant la virurie au cours de l'infection à SARS-CoV-2. En effet, parmi 34 études testant entre autre les urines des patients infectés (au total 549 patients testés), seulement sept (66,108–113) ont déclaré détecter du SARS-CoV-2 dans les urines et ce pour 38 patients soit 6.9% (114). Il serait nécessaire de comparer ces résultats à des RT-PCR fécales et sanguines. Peng *et al.* ont étudié l'excrétion du virus au niveau oro-pharyngé, sanguin, urinaire et fécal chez neuf patients (66). Une seule patiente présentait une excrétion virale urinaire sans virémie ni excrétion dans les selles. Des échantillons de population plus larges sont nécessaires pour étudier la relation entre l'infection et son impact sur le tractus urinaire et rénal.

7. Conclusion et perspectives

La pandémie actuelle de COVID-19 représente un défi majeur dans l'histoire de la recherche médicale. Il est nécessaire de collecter et d'analyser un maximum de données pour comprendre les mécanismes physiopathologiques de l'infection et combattre le virus.

Les patients transplantés d'organe solide représentent une population fragile vis-à-vis des infections, avec la plupart du temps des comorbidités associées venant compliquer leur prise en charge. Au sein de notre groupe de patients transplantés d'organe solide hospitalisés nous avons relevé 31% de formes sévères et 9% de décès. Les patients présentant une forme sévère ont excrété le virus au niveau nasopharyngé environ une semaine de plus que les patients présentant des formes non sévères. L'étude des paramètres virologiques chez ces patients a permis de mettre en évidence le lien entre la virémie et le décès. Le délai entre la greffe et l'infection influence la présence d'une virémie avec des délais plus courts chez les patients virémiques. La détection du virus dans les selles n'est pas liée à la sévérité de l'infection et se retrouve dans 73,7% des cas. La détection urinaire du virus quant à elle ne doit pas être considérée comme une excrétion mais possiblement comme une contamination fécale des urines, car elle est rare, et n'est liée ni à une fonction rénale altérée, ni à la virémie.

Concernant la prévention de l'infection, la vaccination de ces patients semble être peu efficace avec les schémas de vaccinations utilisés en population générale. En effet, après une dose de vaccin à ARN seulement 4% des transplantés développent des anticorps dirigés contre le SARS-CoV-2, et 40% après une deuxième dose. C'est pourquoi l'utilisation d'une troisième dose est déjà recommandée, induisant le développement d'une immunité dans 68% des cas (115).

Cependant il est nécessaire de continuer à utiliser les autres moyens de prévention de l'infection chez ces patients, notamment le respect des gestes barrière, le port du masque et depuis août 2021 l'utilisation en préexposition des anticorps monoclonaux dirigés contre le SARS-CoV-2 s'il n'y a pas de développement d'une immunité, ainsi qu'en post-exposition quel que soit le statut immunitaire. En effet au sein de notre groupe de patient, l'utilisation de ces traitements s'est avéré protecteur vis-à-vis du développement d'une forme sévère de la maladie.

Bibliographie

1. Kendall EJ, Bynoe ML, Tyrrell DA. Virus isolations from common colds occurring in a residential school. *Br Med J.* 1962;2(5297):82-6.
2. Tyrrell DA, Bynoe ML. CULTIVATION OF A NOVEL TYPE OF COMMON-COLD VIRUS IN ORGAN CULTURES. *Br Med J.* 1965;1(5448):1467-70.
3. Wu F, Zhao S, Yu B, Chen Y-M, Wang W, Song Z-G, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature.* 2020;579(7798):265-9.
4. World Health Organization. Novel Coronavirus (2019-nCoV): situation report, 1 [Internet]. World Health Organization; 2020. Disponible sur: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/330760>
5. Zhou P, Yang X-L, Wang X-G, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature.* 2020;579(7798):270-3.
6. Vabret A, Dina J, Brison E, Brouard J, Freymuth F. Coronavirus humains (HCoV). *Pathol Biol (Paris).* 2009;57(2):149-60.
7. Cui J, Li F, Shi Z-L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol.* 2019;17(3):181-92.
8. Agence de la santé publique du CanadaCanada. Coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS) - Fiche Technique Santé-Sécurité : Agents Pathogènes. [Internet]. 2011. Disponible sur: <https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/biosecurite-biosurete-laboratoire/fiches-techniques-sante-securite-agents-pathogenes-evaluation-risques/coronavirus-syndrome-respiratoire-aigu-severe.html>
9. Agence de la santé publique du Canada. Résumé de l'évaluation du risque associé au coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV) pour la santé publique au Canada [Internet]. 2013. Disponible sur: <https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/agents-pathogenes-voies-respiratoires-emergents/coronavirus/resume-evaluation-risque-associe-coronavirus-syndrome-respiratoire-moyen-orient-mers-sante-publique-canada-1.html>
10. Guan Y, Zheng BJ, He YQ, Liu XL, Zhuang ZX, Cheung CL, et al. Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China. *Science.* 2003;302(5643):276-8.
11. Alagaili AN, Briese T, Mishra N, Kapoor V, Sameroff SC, Burbelo PD, et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus infection in dromedary camels in Saudi Arabia. *mBio.* 2014;5(2):e00884-00814.
12. Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet Lond Engl.* 2020;395(10224):565-74.
13. National Institute of Allergy and Infectious Diseases, Rocky Mountain Laboratories. New Images of Novel Coronavirus SARS-CoV-2. 2021.
14. Su S, Wong G, Shi W, Liu J, Lai ACK, Zhou J, et al. Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses. *Trends Microbiol.* 2016;24(6):490-502.

15. Chan JF-W, Kok K-H, Zhu Z, Chu H, To KK-W, Yuan S, et al. Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan. *Emerg Microbes Infect.* 2020;9(1):221-36.
16. Samavati L, Uhal BD. ACE2, Much More Than Just a Receptor for SARS-COV-2. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020;10:317.
17. Li W, Moore MJ, Vasilieva N, Sui J, Wong SK, Berne MA, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature.* 2003;426(6965):450-4.
18. Scialo F, Daniele A, Amato F, Pastore L, Matera MG, Cazzola M, et al. ACE2: The Major Cell Entry Receptor for SARS-CoV-2. *Lung.* 2020;198(6):867-77.
19. Tiwari V, Beer JC, Sankaranarayanan NV, Swanson-Mungerson M, Desai UR. Discovering small-molecule therapeutics against SARS-CoV-2. *Drug Discov Today.* 2020;25(8):1535-44.
20. V'kovski P, Kratzel A, Steiner S, Stalder H, Thiel V. Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. *Nat Rev Microbiol.* 2021;19(3):155-70.
21. Somsen GA, van Rijn C, Kooij S, Bem RA, Bonn D. Small droplet aerosols in poorly ventilated spaces and SARS-CoV-2 transmission. *Lancet Respir Med.* 2020;8(7):658-9.
22. Li Q, Guan X, Wu P, Wang X, Zhou L, Tong Y, et al. Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia. *N Engl J Med.* 2020;382(13):1199-207.
23. van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, Holbrook MG, Gamble A, Williamson BN, et al. Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *N Engl J Med.* 2020;382(16):1564-7.
24. Zhao S, Lin Q, Ran J, Musa SS, Yang G, Wang W, et al. Preliminary estimation of the basic reproduction number of novel coronavirus (2019-nCoV) in China, from 2019 to 2020: A data-driven analysis in the early phase of the outbreak. *Int J Infect Dis IJID Off Publ Int Soc Infect Dis.* 2020;92:214-7.
25. Davies NG, Abbott S, Barnard RC, Jarvis CI, Kucharski AJ, Munday JD, et al. Estimated transmissibility and impact of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 in England [Internet]. 2021 [cité 25 août 2021] p. 2020.12.24.20248822. Disponible sur: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.12.24.20248822v3>
26. Liu Y, Rocklöv J. The reproductive number of the Delta variant of SARS-CoV-2 is far higher compared to the ancestral SARS-CoV-2 virus. *J Travel Med.* 2021;taab124.
27. Chu H, Chan JF-W, Wang Y, Yuen TT-T, Chai Y, Hou Y, et al. Comparative Replication and Immune Activation Profiles of SARS-CoV-2 and SARS-CoV in Human Lungs: An Ex Vivo Study With Implications for the Pathogenesis of COVID-19. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2020;71(6):1400-9.
28. García LF. Immune Response, Inflammation, and the Clinical Spectrum of COVID-19. *Front Immunol.* 2020;11:1441.
29. Li G, Fan Y, Lai Y, Han T, Li Z, Zhou P, et al. Coronavirus infections and immune responses. *J Med Virol.* 2020;92(4):424-32.
30. Mehta P, McAuley DF, Brown M, Sanchez E, Tattersall RS, Manson JJ, et al. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet Lond Engl.* 2020;395(10229):1033-4.

31. Chua RL, Lukassen S, Trump S, Hennig BP, Wendisch D, Pott F, et al. COVID-19 severity correlates with airway epithelium-immune cell interactions identified by single-cell analysis. *Nat Biotechnol.* 2020;38(8):970-9.
32. Zhang Q, Bastard P, Liu Z, Pen JL, Moncada-Velez M, Chen J, et al. Inborn errors of type I IFN immunity in patients with life-threatening COVID-19. *Science.* 2020;370(6515).
33. Bastard P, Rosen LB, Zhang Q, Michailidis E, Hoffmann H-H, Zhang Y, et al. Autoantibodies against type I IFNs in patients with life-threatening COVID-19. *Science [Internet].* 23 oct 2020 [cité 23 août 2021];370(6515). Disponible sur: <https://science.sciencemag.org/content/370/6515/eabd4585>
34. Xu Z, Shi L, Wang Y, Zhang J, Huang L, Zhang C, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med.* 2020;8(4):420-2.
35. Chu KH, Tsang WK, Tang CS, Lam MF, Lai FM, To KF, et al. Acute renal impairment in coronavirus-associated severe acute respiratory syndrome. *Kidney Int.* 2005;67(2):698-705.
36. Poissy J, Goffard A, Parmentier-Decrucq E, Favory R, Kouv M, Kipnis E, et al. Kinetics and pattern of viral excretion in biological specimens of two MERS-CoV cases. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol.* 2014;61(2):275-8.
37. Hassanein M, Radhakrishnan Y, Sedor J, Vachharajani T, Vachharajani VT, Augustine J, et al. COVID-19 and the kidney. *Cleve Clin J Med.* 2020;87(10):619-31.
38. Diao B, Wang C, Wang R, Feng Z, Zhang J, Yang H, et al. Human kidney is a target for novel severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection. *Nat Commun.* 2021;12(1):2506.
39. Kudose S, Batal I, Santoriello D, Xu K, Barasch J, Peleg Y, et al. Kidney Biopsy Findings in Patients with COVID-19. *J Am Soc Nephrol JASN.* 2020;31(9):1959-68.
40. Xiao F, Tang M, Zheng X, Liu Y, Li X, Shan H. Evidence for Gastrointestinal Infection of SARS-CoV-2. *Gastroenterology.* 2020;158(6):1831-1833.e3.
41. Kumar A, Faiq MA, Pareek V, Raza K, Narayan RK, Prasoon P, et al. Relevance of SARS-CoV-2 related factors ACE2 and TMPRSS2 expressions in gastrointestinal tissue with pathogenesis of digestive symptoms, diabetes-associated mortality, and disease recurrence in COVID-19 patients. *Med Hypotheses.* 2020;144:110271.
42. Lin L, Jiang X, Zhang Z, Huang S, Zhang Z, Fang Z, et al. Gastrointestinal symptoms of 95 cases with SARS-CoV-2 infection. *Gut.* 2020;69(6):997-1001.
43. Nie X, Fan L, Mu G, Tan Q, Wang M, Xie Y, et al. Epidemiological Characteristics and Incubation Period of 7015 Confirmed Cases With Coronavirus Disease 2019 Outside Hubei Province in China. *J Infect Dis.* 2020;222(1):26-33.
44. Buitrago-Garcia D, Egli-Gany D, Counotte MJ, Hossmann S, Imeri H, Ipekci AM, et al. Occurrence and transmission potential of asymptomatic and presymptomatic SARS-CoV-2 infections: A living systematic review and meta-analysis. *PLoS Med.* 2020;17(9):e1003346.
45. Sah P, Fitzpatrick MC, Zimmer CF, Abdollahi E, Juden-Kelly L, Moghadas SM, et al. Asymptomatic SARS-CoV-2 infection: A systematic review and meta-analysis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2021;118(34):e2109229118.
46. Jiang F, Deng L, Zhang L, Cai Y, Cheung CW, Xia Z. Review of the Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *J Gen Intern Med.* 2020;35(5):1545-9.

47. Spinato G, Fabbris C, Polese J, Cazzador D, Borsetto D, Hopkins C, et al. Alterations in Smell or Taste in Mildly Symptomatic Outpatients With SARS-CoV-2 Infection. *JAMA*. 2020;323(20):2089-90.
48. Favas TT, Dev P, Chaurasia RN, Chakravarty K, Mishra R, Joshi D, et al. Neurological manifestations of COVID-19: a systematic review and meta-analysis of proportions. *Neurol Sci Off J Ital Neurol Soc Ital Soc Clin Neurophysiol*. 2020;41(12):3437-70.
49. World Health Organization. COVID-19 - Prise en charge clinique, orientation évolutives, WHO/2019-nCoV/clinical/2021.1. 25 janv 2021;
50. Haute Autorité de Santé. Stratégie de vaccination contre le Sars-Cov-2, actualisation des facteurs de risque de formes graves de la co-vid-19 et des recommandations sur la stratégie de priorisation des populations à vacciner. 2021;
51. Hu B, Guo H, Zhou P, Shi Z-L. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat Rev Microbiol*. 2021;19(3):141-54.
52. Huang Y, Lu Y, Huang Y-M, Wang M, Ling W, Sui Y, et al. Obesity in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Metabolism*. 2020;113:154378.
53. Guo L, Shi Z, Zhang Y, Wang C, Do Vale Moreira NC, Zuo H, et al. Comorbid diabetes and the risk of disease severity or death among 8807 COVID-19 patients in China: A meta-analysis. *Diabetes Res Clin Pract*. 2020;166:108346.
54. Clift AK, Coupland CAC, Keogh RH, Hemingway H, Hippisley-Cox J. COVID-19 Mortality Risk in Down Syndrome: Results From a Cohort Study of 8 Million Adults. *Ann Intern Med*. 2021;174(4):572-6.
55. Zambrano LD, Ellington S, Strid P, Galang RR, Oduyebo T, Tong VT, et al. Update: Characteristics of Symptomatic Women of Reproductive Age with Laboratory-Confirmed SARS-CoV-2 Infection by Pregnancy Status - United States, January 22-October 3, 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2020;69(44):1641-7.
56. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet Lond Engl*. 2020;395(10223):497-506.
57. Ruan Q, Yang K, Wang W, Jiang L, Song J. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. *Intensive Care Med*. 2020;46(5):846-8.
58. Alberici F, Delbarba E, Manenti C, Econimo L, Valerio F, Pola A, et al. Management of Patients on Dialysis and With Kidney Transplantation During the SARS-CoV-2 (COVID-19) Pandemic in Brescia, Italy. *Kidney Int Rep*. 2020;5(5):580-5.
59. WHO Solidarity Trial Consortium, Pan H, Peto R, Heno-Restrepo A-M, Preziosi M-P, Sathiyamoorthy V, et al. Repurposed Antiviral Drugs for Covid-19 - Interim WHO Solidarity Trial Results. *N Engl J Med*. 2021;384(6):497-511.
60. World Health Organization. Corticosteroids for COVID-19, Living Guidance (WHO/2019-nCoV/Corticosteroids/2020.1). 2 sept 2020;
61. Dougan M, Nirula A, Azizad M, Mocherla B, Gottlieb RL, Chen P, et al. Bamlanivimab plus Etesevimab in Mild or Moderate Covid-19. *N Engl J Med*. 2021;
62. Weinreich DM, Sivapalasingam S, Norton T, Ali S, Gao H, Bhore R, et al. REGN-COV2, a Neutralizing Antibody Cocktail, in Outpatients with Covid-19. *N Engl J Med*. 2021;384(3):238-51.

63. Planas D, Veyer D, Baidaliuk A, Staropoli I, Guivel-Benhassine F, Rajah MM, et al. Reduced sensitivity of SARS-CoV-2 variant Delta to antibody neutralization. *Nature*. 2021;596(7871):276-80.
64. Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *JAMA*. 2020;323(22):2249-51.
65. To KK-W, Tsang OT-Y, Leung W-S, Tam AR, Wu T-C, Lung DC, et al. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study. *Lancet Infect Dis*. 2020;20(5):565-74.
66. Peng L, Liu J, Xu W, Luo Q, Chen D, Lei Z, et al. SARS-CoV-2 can be detected in urine, blood, anal swabs, and oropharyngeal swabs specimens. *J Med Virol*. 2020;92(9):1676-80.
67. Zou L, Ruan F, Huang M, Liang L, Huang H, Hong Z, et al. SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients. *N Engl J Med*. 2020;382(12):1177-9.
68. Petruzzi G, De Virgilio A, Pichi B, Mazzola F, Zocchi J, Mercante G, et al. COVID-19: Nasal and oropharyngeal swab. *Head Neck*. 2020;42(6):1303-4.
69. Haute Autorité de Santé. Revue rapide sur les tests de détection antigénique du virus SARS-CoV-2. 8 oct 2020;
70. Lou B, Li T-D, Zheng S-F, Su Y-Y, Li Z-Y, Liu W, et al. Serology characteristics of SARS-CoV-2 infection after exposure and post-symptom onset. *Eur Respir J*. 2020;56(2):2000763.
71. Zhao J, Yuan Q, Wang H, Liu W, Liao X, Su Y, et al. Antibody Responses to SARS-CoV-2 in Patients With Novel Coronavirus Disease 2019. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2020;71(16):2027-34.
72. Brennan DC, Flavin K, Lowell JA, Howard TK, Shenoy S, Burgess S, et al. A randomized, double-blinded comparison of Thymoglobulin versus Atgam for induction immunosuppressive therapy in adult renal transplant recipients. *Transplantation*. 1999;67(7):1011-8.
73. Espié P, He Y, Koo P, Sickert D, Dupuy C, Chokoté E, et al. First-in-human clinical trial to assess pharmacokinetics, pharmacodynamics, safety, and tolerability of iscalimab, an anti-CD40 monoclonal antibody. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2020;20(2):463-73.
74. Kleinclauss F, Frontczak A, Terrier N, Thuret R, Timsit M-O. [Immunology and immunosuppression in kidney transplantation. ABO and HLA incompatible kidney transplantation]. *Progres En Urol J Assoc Francaise Urol Soc Francaise Urol*. 2016;26(15):977-92.
75. Kumar D, Michaels MG, Morris MI, Green M, Avery RK, Liu C, et al. Outcomes from pandemic influenza A H1N1 infection in recipients of solid-organ transplants: a multicentre cohort study. *Lancet Infect Dis*. 2010;10(8):521-6.
76. Nam HH, Ison MG. Community-acquired respiratory viruses in solid organ transplant. *Curr Opin Organ Transplant*. 2019;24(4):483-9.
77. Kumar D, Tellier R, Draker R, Levy G, Humar A. Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) in a liver transplant recipient and guidelines for donor SARS screening. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2003;3(8):977-81.
78. AlGhamdi M, Mushtaq F, Awn N, Shalhoub S. MERS CoV infection in two renal transplant recipients: case report. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2015;15(4):1101-4.

79. Mailles A, Blanckaert K, Chaud P, Werf S van der, Lina B, Caro V, et al. First cases of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV) infections in France, investigations and implications for the prevention of human-to-human transmission, France, May 2013. *Eurosurveillance*. 2013;18(24):20502.
80. Kates OS, Haydel BM, Florman SS, Rana MM, Chaudhry ZS, Ramesh MS, et al. COVID-19 in solid organ transplant: A multi-center cohort study. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2020;ciaa1097.
81. Raja MA, Mendoza MA, Villavicencio A, Anjan S, Reynolds JM, Kittipibul V, et al. COVID-19 in solid organ transplant recipients: A systematic review and meta-analysis of current literature. *Transplant Rev Orlando Fla*. 2021;35(1):100588.
82. Cravedi P, Mothi SS, Azzi Y, Haverly M, Farouk SS, Pérez-Sáez MJ, et al. COVID-19 and kidney transplantation: Results from the TANGO International Transplant Consortium. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2020;20(11):3140-8.
83. Akalin E, Azzi Y, Bartash R, Seethamraju H, Parides M, Hemmige V, et al. Covid-19 and Kidney Transplantation. *N Engl J Med*. 2020;382(25):2475-7.
84. Del Bello A, Kamar N, Vergez F, Faguer S, Marion O, Beq A, et al. Adaptive lymphocyte profile analysis discriminates mild and severe forms of COVID-19 after solid organ transplantation. *Kidney Int*. 2021;S0085-2538(21)00588-3.
85. Christensen J, Kumar D, Moinuddin I, Bryson A, Kashi Z, Kimball P, et al. Coronavirus Disease 2019 Viremia, Serologies, and Clinical Course in a Case Series of Transplant Recipients. *Transplant Proc*. 2020;52(9):2637-41.
86. Société Française de Transplantation (SFT), Anglicheau D, Ader F, Bertrand D, Blancho G, Brugière O, et al. Prise en charge de l'infection due au SARS-CoV-2 chez les patients adultes transplantés d'organe solide. 2020. 2020;14.
87. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Eurosurveillance*. 2020;25(3):2000045.
88. Trémeaux P, Lhomme S, Abravanel F, Raymond S, Mengelle C, Mansuy J-M, et al. Evaluation of the Aptima™ transcription-mediated amplification assay (Hologic®) for detecting SARS-CoV-2 in clinical specimens. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol*. 2020;129:104541.
89. Del Bello A, Marion O, Vellas C, Faguer S, Izopet J, Kamar N. Anti-SARS-Cov-2 Monoclonal Antibodies in Solid-Organ-Transplant Patients. *Transplantation* [Internet]. 2021 [cité 24 août 2021]; Disponible sur: https://journals.lww.com/transplantjournal/Citation/9000/Anti_SARS_Cov_2_Monoclonal_Antibodies_in.95210.aspx
90. Dhand A, Lobo SA, Wolfe K, Feola N, Nabors C. Bamlanivimab for treatment of COVID-19 in solid organ transplant recipients: Early single-center experience. *Clin Transplant*. 2021;35(4):e14245.
91. Colmenero J, Rodríguez-Perálvarez M, Salcedo M, Arias-Milla A, Muñoz-Serrano A, Graus J, et al. Epidemiological pattern, incidence, and outcomes of COVID-19 in liver transplant patients. *J Hepatol*. 2021;74(1):148-55.
92. FAIR /SFR/SNFMI/SOFREMIP/CRI/IMIDIATE consortium and contributors. Severity of COVID-19 and survival in patients with rheumatic and inflammatory diseases: data from the French RMD COVID-19 cohort of 694 patients. *Ann Rheum Dis*. 2021;80(4):527-38.

93. Marinelli T, Ferreira VH, Ierullo M, Ku T, Lilly L, Kim SJ, et al. Prospective Clinical, Virologic, and Immunologic Assessment of COVID-19 in Transplant Recipients. *Transplantation* [Internet]. 2021 [cité 24 août 2021]; Disponible sur: https://journals.lww.com/transplantjournal/Abstract/9000/Prospective_Clinical,_Virologic,_and_Immunologic.95226.aspx
94. Corey L, Beyrer C, Cohen MS, Michael NL, Bedford T, Rolland M. SARS-CoV-2 Variants in Patients with Immunosuppression. *N Engl J Med* [Internet]. 2021 [cité 26 août 2021]; Disponible sur: <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMs2104756>
95. Diao B, Wang C, Tan Y, Chen X, Liu Y, Ning L, et al. Reduction and Functional Exhaustion of T Cells in Patients With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Front Immunol.* 2020;11:827.
96. Banerjee D, Popoola J, Shah S, Ster IC, Quan V, Phanish M. COVID-19 infection in kidney transplant recipients. *Kidney Int.* 2020;97(6):1076-82.
97. Demir E, Uyar M, Parmaksiz E, Sinangil A, Yelken B, Dirim AB, et al. COVID-19 in kidney transplant recipients: A multicenter experience in Istanbul. *Transpl Infect Dis Off J Transplant Soc.* 2020;22(5):e13371.
98. Kremer D, Pieters TT, Verhaar MC, Berger SP, Bakker SJL, van Zuilen AD, et al. A systematic review and meta-analysis of COVID-19 in kidney transplant recipients: Lessons to be learned. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2021;
99. Sjøfteland JM, Friman G, von Zur-Mühlen B, Ericzon B-G, Wallquist C, Karason K, et al. COVID-19 in solid organ transplant recipients: A national cohort study from Sweden. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2021;21(8):2762-73.
100. Belli LS, Fondevila C, Cortesi PA, Conti S, Karam V, Adam R, et al. Protective Role of Tacrolimus, Deleterious Role of Age and Comorbidities in Liver Transplant Recipients With Covid-19: Results From the ELITA/ELTR Multi-center European Study. *Gastroenterology.* 2021;160(4):1151-1163.e3.
101. Veyer D, Kernéis S, Poulet G, Wack M, Robillard N, Taly V, et al. Highly sensitive quantification of plasma SARS-CoV-2 RNA sheds light on its potential clinical value. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2020;ciaa1196.
102. Bermejo-Martin JF, González-Rivera M, Almansa R, Micheloud D, Tedim AP, Domínguez-Gil M, et al. Viral RNA load in plasma is associated with critical illness and a dysregulated host response in COVID-19. *Crit Care Lond Engl.* 14 déc 2020;24(1):691.
103. Hagman K, Hedenstierna M, Gille-Johnson P, Hammas B, Grabbe M, Dillner J, et al. SARS-CoV-2 RNA in serum as predictor of severe outcome in COVID-19: a retrospective cohort study. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2020;ciaa1285.
104. Li H, Gu X, Li H, Gong F, Xu J, Wang Y, et al. Risk Factors of Viral RNAemia and Its Association With Clinical Prognosis Among Patients With Severe COVID-19. *Chest.* 2021;159(4):1382-6.
105. Eberhardt KA, Meyer-Schwickerath C, Heger E, Knops E, Lehmann C, Rybniker J, et al. RNAemia Corresponds to Disease Severity and Antibody Response in Hospitalized COVID-19 Patients. *Viruses.* 2020;12(9):E1045.
106. Masselli E, Vaccarezza M, Carubbi C, Pozzi G, Presta V, Mirandola P, et al. NK cells: A double edge sword against SARS-CoV-2. *Adv Biol Regul.* 2020;77:100737.

107. The involvement of natural killer cells in the pathogenesis of severe acute respiratory syndrome. *Am J Clin Pathol.* avr 2004;121(4):507-11.
108. Wang L, Li X, Chen H, Yan S, Li D, Li Y, et al. Coronavirus Disease 19 Infection Does Not Result in Acute Kidney Injury: An Analysis of 116 Hospitalized Patients from Wuhan, China. *Am J Nephrol.* 2020;51(5):343-8.
109. Zhang N, Gong Y, Meng F, Shi Y, Wang J, Mao P, et al. Comparative study on virus shedding patterns in nasopharyngeal and fecal specimens of COVID-19 patients. *Sci China Life Sci.* 2021;64(3):486-8.
110. Tan W, Lu Y, Zhang J, Wang J, Dan Y, Tan Z, et al. Viral Kinetics and Antibody Responses in Patients with COVID-19. *medRxiv.* 2020;2020.03.24.20042382.
111. Diao B, Wen K, Chen J, Liu Y, Yuan Z, Han C, et al. Diagnosis of Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection by Detection of Nucleocapsid Protein. *medRxiv.* 2020;2020.03.07.20032524.
112. Guan W-J, Ni Z-Y, Hu Y, Liang W-H, Ou C-Q, He J-X, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med.* 2020;382(18):1708-20.
113. Ling Y, Xu S-B, Lin Y-X, Tian D, Zhu Z-Q, Dai F-H, et al. Persistence and clearance of viral RNA in 2019 novel coronavirus disease rehabilitation patients. *Chin Med J (Engl).* 2020;133(9):1039-43.
114. Brönimann S, Rebhan K, Lemberger U, Misrai V, Shariat SF, Pradere B. Secretion of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in urine. *Curr Opin Urol.* 2020;30(5):735-9.
115. Kamar N, Abravanel F, Marion O, Couat C, Izopet J, Del Bello A. Three Doses of an mRNA Covid-19 Vaccine in Solid-Organ Transplant Recipients. *N Engl J Med.* 12 août 2021;385(7):661-2.

A STUDY OF VIROLOGICAL MARKERS DURING SARS-CoV-2 INFECTION IN SOLID ORGAN TRANSPLANT RECIPIENTS AT THE TOULOUSE UNIVERSITY HOSPITAL

Coronavirus disease (COVID19) is an acute viral zoonotic infection caused by SARS-CoV-2, an enveloped RNA respiratory virus.

This virus can cause an asymptomatic infection, but in certain populations it can lead to severe cases defined by a severe acute respiratory that can induce multiple organ failure. Populations at risk for developing these severe forms include solid organ transplant (SOT) recipients. This study reviews COVID19 in SOT recipients hospitalized at the Toulouse University Hospital between March 2020 and June 2021, investigating virological and biological markers during infection. We investigated the relationship between these markers and COVID19 severity and lethality. One hundred and three patients were included in this study, for whom multiple parameters were collected: RNA detection in blood, urine and fecal samples, antibody expression, and biological markers regarding renal, hepatic and cardiac function, as well as immune response.

Severe disease occurred in 31% of cases (n=32) and was fatal in 9% of cases (n=10). Severe cases were related to an increased blood levels of inflammatory biomarkers (d-dimer and C-reactive protein) as well as lymphopenia with LTCD4+ and LTCD3+ depletion, mycophenolate mofetil treatment and prolonged duration of nasopharyngeal excretion. Lethality was related to advance age (median age in the survival group was approximately 57 years, and 70 years in the deceased group), and increased blood levels of d-dimer, troponin and AST. RNAemia was detected in 44 % of deceased patients and 13% of surviving patients (p=0.032).

Detection of viral RNA in feces was positive in 74% of samples, and was not related to severity or lethality. Urinary viral RNA detection was found to be fecal contamination of urine samples, indeed patients with positive urinary detection did not have more severe kidney injury than other patients, nor did they have a detection of RNAemia.

In conclusion, among virological markers, prolonged duration of nasopharyngeal excretion is associated to COVID19 severity and RNAemia is associated with fatal cases in SOT recipients.

ETUDE DES MARQUEURS VIROLOGIQUES AU COURS DE L'INFECTION A SARS-CoV-2 CHEZ LES PATIENTS TRANSPLANTES D'ORGANE AU CHU DE TOULOUSE

La maladie à coronavirus 2019 ou COVID-19 est une infection zoonotique virale aiguë causée par le SARS-CoV-2. Il s'agit d'un virus enveloppé avec un génome à ARN, dont la transmission est respiratoire. Ce virus est responsable d'une infection allant de la forme asymptomatique aux formes graves caractérisées par un syndrome respiratoire aigu sévère pouvant entraîner une défaillance multi-viscérale. Certaines populations sont considérées comme à risque de développer une forme grave de la maladie, dont les patients transplantés d'organe. L'objectif de ce travail était de faire un état des lieux sur l'infection à SARS-CoV-2 chez les patients transplantés d'organe solide hospitalisés au CHU de Toulouse entre mars 2020 et juin 2021, en étudiant les marqueurs virologiques et biologiques au cours de l'infection. Nous avons cherché à mettre en évidence un lien entre ces marqueurs et la sévérité de l'infection, ainsi qu'avec sa létalité. Nous avons recueilli les échantillons de 103 patients transplantés chez lesquels nous avons relevé entre autre la virémie, l'excrétion urinaire et fécale du virus, l'apparition d'anticorps, ainsi qu'un panel de paramètres biologiques étudiant la fonction rénale, hépatique, cardiaque et la réponse immunitaire.

Dans ce groupe de patients nous avons relevé 31% de formes sévères (n= 32) et 9% de létalité (n=10). La sévérité de la maladie est liée à une élévation des paramètres inflammatoires (D-dimères et CRP), à une lymphopénie portée notamment sur les lymphocytes TCD3+ et TCD4+, à une excrétion prolongée du virus au niveau nasopharyngé et un traitement par mycophénolate mofétil. La létalité est liée elle à l'âge, la médiane d'âge dans le groupe des patients décédés étant de 70 ans contre 57 ans chez les patients non décédés, ainsi qu'à une élévation des D-dimères, de la troponine et des TGO. La virémie est elle aussi en lien avec la létalité : nous avons retrouvé 44% de virémies positives au sein des patients décédés contre 13% chez les patients non décédés (p=0,032). L'excrétion du virus dans les selles a été retrouvée dans 74% des cas (42/57) et n'est pas liée ni à la sévérité ni à la létalité de la maladie. La détection urinaire du virus s'est avérée être une contamination fécale des urines, en effet les patients ayant des urines positives (8/70) ne présentaient pas d'atteinte rénale plus sévère ni de virémie.

En conclusion, parmi les paramètres virologiques étudiés, l'excrétion prolongée du virus est associée aux formes sévères, et la virémie est associée au décès chez les patients transplantés d'organe solide.

DISCIPLINE administrative : Pharmacie- Biologie Médicale

MOTS-CLES : Coronavirus / SARS-CoV-2 / Transplantation / Immunosuppression

Université Toulouse III - Paul Sabatier - Faculté des Sciences Pharmaceutiques
35 chemin des maraîchers 31062
Toulouse Cedex 4

Directeur de thèse : **ABRAVANEL Florence**