

AVIS

relatif à l'utilisation thérapeutique de plasma de convalescents chez les malades atteints de Covid-19

27 avril 2020

Le Haut Conseil de la santé publique (HCSP) a été saisi le 7 avril 2020 par la Direction générale de la santé (DGS) au sujet de l'utilisation du plasma thérapeutique dans un cadre compassionnel chez des malades présentant un Covid-19. La DGS sollicite le HCSP afin de :

- Déterminer les critères d'éligibilité des patients atteints de Covid-19 pour accéder au plasma de sujets convalescents en dehors de la recherche clinique.
- Permettre aux cliniciens d'avoir un cadre établi pour prescrire ces plasmas en situation compassionnelle et déterminer les protocoles thérapeutiques ad hoc dans cette situation.

Afin de répondre à cette saisine le HCSP a réuni des membres du groupe de travail « grippe, coronavirus et infections respiratoires émergentes » appartenant au sous-groupe travaillant sur les aspects thérapeutiques du Covid-19 et a auditionné des représentants de l'établissement français du sang (EFS) et de l'agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM).

Contexte

Le 11 mars 2020, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) déclarait la pandémie de Covid-19. Le 15 mars la France était au stade 3 de l'épidémie, la circulation du virus SARS-CoV-2 est active sur l'ensemble de territoire avec toutefois des situations territoriales hétérogènes

Au 26 avril 2020, Près de 3 millions de personnes infectées par le SARS-CoV-2 ont été recensées dans près de 200 pays. 124 575 cas de Covid-19 ont été recensés en France dont 22 856 décès et 4682 patients hospitalisés en réanimation. La létalité, variable en fonction des pays et des modalités de son évaluation, s'étend de quelques % à plus de 10 %. En l'absence de traitement curatif d'efficacité démontrée, l'utilisation thérapeutique de plasma de convalescents fait l'objet d'évaluation. Deux études observationnelles sur ce sujet ont été publiées et plusieurs essais interventionnels sont actuellement en cours dans le monde, dont 2 en France. Leurs résultats ne seront pas connus avant quelques semaines.

Le HCSP a pris en compte

- **Les données relatives à l'utilisation de plasma de convalescents (PC) chez des malades infectés par les précédents "coronavirus émergents" (SARS et MERS)**

Peu d'études ont été publiées sur le sujet. Toutes sont des études observationnelles.

L'étude de Chen et al. [1] est celle qui a porté sur le plus grand nombre de sujets. Il s'agit d'une étude observationnelle non comparative qui a évalué l'efficacité du plasma de convalescents chez 80 patients hospitalisés pour SRAS à Hong-Kong. Une évolution favorable était définie comme une sortie de l'hôpital au plus tard 22 jours après les premiers symptômes du SRAS. Une évolution défavorable était définie comme un décès ou une durée d'hospitalisation supérieure à 22 jours. Trente-trois patients ont eu une évolution favorable. Ils avaient reçu le plasma de convalescents plus tôt que ceux ayant eu une évolution défavorable (11,7 jours vs 16 jours, $p < 0,001$). Les 48 patients qui ont reçu le plasma de convalescents avant le 14^e jour d'évolution clinique ont eu plus fréquemment une évolution favorable que ceux ayant reçu le plasma après J14 (58,3 % vs 15,6 %, $p < 0,001$). Les 30 patients qui avaient un test positif par RT-PCR et une sérologie négative au moment de l'administration du plasma ont eu plus fréquemment une évolution favorable que ceux qui avaient déjà une sérologie positive (66,7 % vs 20 %, $p < 0,001$). Le taux de létalité global observé chez les 80 patients qui ont reçu du plasma de convalescents était de 12,5 %, comparativement au taux de létalité global de 17 % observé à Hong Kong pendant la même période. Il n'a pas été rapporté d'effets indésirables notables à l'issue de l'administration du plasma.

Cette étude et 7 autres d'effectifs moindres ont fait l'objet d'une analyse systématique de l'efficacité de l'administration de plasma de convalescents, de sérum ou d'immunoglobulines hyperimmunes dans les infections respiratoires aiguës graves d'origine virale (SRAS et grippe grave) [2]. Il ressort de cette analyse que l'administration de plasma de convalescents pourrait réduire la mortalité, à condition de l'administrer précocement après le début des symptômes.

Dans l'infection à MERS-CoV, l'utilisation de plasma de convalescents au cours de l'épidémie survenue en Corée en 2015 a fait l'objet d'une publication [3]. Du plasma de convalescents a été administré à 3 patients sélectionnés comme les plus graves dans un groupe de 15 patients ayant développé une défaillance respiratoire. Les 3 patients sont sortis vivants de l'hôpital. Une activité neutralisante n'a été identifiée que chez deux des quatre donneurs dont le plasma a été administré aux 3 patients. Cette étude ne permet pas de conclure à l'efficacité du plasma de convalescents dans les formes graves d'infection à MERS-CoV.

Le niveau de preuve qu'apportent ces différentes études en termes d'efficacité du traitement par plasma de convalescents reste globalement faible.

- **Les données relatives à l'utilisation de plasma de convalescents dans le Covid-19**

Deux études observationnelles ont été publiées, portant sur 5 et 10 patients atteints de formes graves de Covid-19. Les principales caractéristiques des deux études sont résumées dans le tableau figurant en annexe 3.

Dans l'étude de Shen et al. [4], 5 patients avec syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA), sous ventilation mécanique, et ayant toujours du génome de SARS-CoV-2 détectable par RT-PCR dans les voies respiratoires après plusieurs jours de différents traitements à visée antivirale, ont reçu en une fois, entre 10 et 22 jours après le début des symptômes, 400 ml de plasma prélevé le jour même chez un convalescent. Trois des 5 patients ont été sevrés de la ventilation mécanique et sont sortis de l'hôpital et le SDRA a

régressé chez un 4^{ème} patient. Aucun patient n'est décédé au moment de l'analyse des données. Il n'a pas été enregistré d'effet indésirable grave.

Dans l'étude de Duan et al. [5], 3 des 10 sujets étaient intubés et ventilés, les autres étaient sous oxygène en ventilation spontanée. Tous ont reçu en une fois, entre 10 et 20 jours après le début des symptômes, 200 ml de plasma prélevé le jour même chez un convalescent. Deux des 3 patients ventilés ont été sevrés de la ventilation mécanique. Une amélioration clinique et une réduction des besoins en oxygène ont été observées chez les 10 patients. Au moment de l'analyse des données, 3 patients étaient sortis de l'hôpital et aucun patient n'était décédé. Il n'a pas été enregistré d'effet indésirable grave dans les suites immédiates de la perfusion de plasma.

Dans ces deux études, tous les patients recevaient plusieurs médicaments à visée antivirale et la plupart d'entre eux recevait une antibiothérapie à large spectre et une corticothérapie systémique. Au moment de l'analyse des données, le temps de suivi après l'administration de plasma de convalescents n'est pas le même pour tous les patients et n'excède pas une vingtaine de jours. Si on fusionne les données d'efficacité apportées par ces deux études, sur les 8 patients sous ventilation mécanique au moment du début du traitement par plasma de convalescents, 4 étaient extubés au moment de l'analyse des données.

Le niveau de preuve qu'apportent ces deux études en termes d'efficacité du traitement par plasma de convalescents est très faible. Les données de tolérance sont rassurantes.

- **Les préconisations existantes en matière d'utilisation de plasma de convalescents dans le Covid-19**

Les recommandations du groupe d'experts de l'*Infectious Diseases Society of America (IDSA)*, publiées le 11 avril 2020, sont de réserver l'utilisation de plasma de convalescents aux sujets hospitalisés pour Covid-19 et dans le cadre d'un essai thérapeutique [6].

La *Food and Drug Administration (FDA)* préconise de privilégier l'utilisation de plasma de convalescents à but thérapeutique dans le cadre d'études cliniques (13 avril 2020). Toutefois, en parallèle à ces études cliniques, elle facilite l'accès à du plasma de convalescents, à titre compassionnel [7], pour les patients en situation de menace vitale immédiate (et exclut clairement le recours à ce plasma à finalité préventive dans ce contexte). Elle précise la procédure pour obtenir ces autorisations et émet des recommandations pour la collecte du plasma et l'éligibilité des patients.

- **Les essais thérapeutiques en cours en France**

L'essai CORIPLASM est un essai randomisé niché dans la plateforme CORIMUNO-19. Le promoteur est l'Assistance publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP). L'essai est conduit dans des sites de l'AP-HP, en partenariat avec l'Institut national de la santé et de la recherche médicale (INSERM) et l'EFS. La plateforme CORIMUNO est conçue pour la réalisation rapide et simultanée d'essais contrôlés randomisés de médicaments, notamment des médicaments immuno-modulateurs, chez des patients hospitalisés pour une infection à SARS-CoV-2.

L'essai CORIPLASM inclura au moins 60 patients. La préparation du plasma de convalescents se fera comme habituellement pour les dons de plasma par plasmaphérèse.

Les critères d'inclusion dans l'essai sont les suivants :

- patients inclus dans la cohorte CORIMUNO [annexe 5],
- Covid-19 avec signes de gravité modérée (grade 4 ou 5 de l'échelle OMS [annexe 5] survenant dans les 10 jours après l'apparition des premiers symptômes.

Les critères d'exclusion de l'essai sont les suivants :

- grossesse en cours,

- infection bactérienne en cours, documentée et non maîtrisée,
- antécédents connus de réaction allergique grave (\geq grade 3) à une transfusion de plasma.

Le traitement consiste en l'administration de 2 unités de plasma de 200 à 220 ml chacune. La première administration de plasma doit être réalisée au plus tard dans les 10 jours après les premiers symptômes. En l'absence d'événements indésirables imprévus chez les 3 premiers patients, une deuxième administration de 2 unités de plasma est prévue 24 heures après la première administration. Ce sont ainsi 4 unités de plasma de 200 à 220 ml qui seront administrées à chaque patient.

Dans les deux groupes, les patients reçoivent le meilleur traitement de référence. Ce traitement peut inclure des antiviraux et des corticostéroïdes.

Le critère de jugement principal est la survie à J14 de la randomisation sans recours à une ventilation assistée (incluant la ventilation non invasive) ni adjonction de traitement immunomodulateur (incluant corticostéroïdes et anticorps anti-récepteurs de l'IL-6).

Les critères de jugement en termes de sécurité sont la survenue d'événements indésirables connus comme pouvant être liés à la transfusion de plasma : surcharge circulatoire post-transfusionnelle [*transfusion associated circulatory overload (TACO)*] et lésions pulmonaires aiguës post-transfusionnelles [*transfusion related acute lung injury (TRALI)*] et accidents allergiques graves.

Cette étude ne fournira donc pas de données sur l'efficacité du plasma de convalescents chez les sujets présentant une forme grave de Covid-19.

Un autre essai clinique (CORIPLASMIC, pour CORIPLASM-Intensive Care), destiné aux patients en réanimation, est en cours d'élaboration et pourrait être mis en place prochainement.

L'essai repose sur :

- l'hypothèse que le SARS-CoV-2 persiste en quantité importante dans le parenchyme pulmonaire (et ailleurs), ce qui pourrait contribuer à la gravité de la symptomatologie,
- les résultats des deux études observationnelles disponibles [4,5] qui suggèrent un effet favorable et une bonne tolérance du plasma de convalescent chez ces patients,
- le fait qu'il n'existe à ce jour pas de traitement spécifique efficace dans cette situation grave associée à une très forte létalité.

Cette étude est destinée à des patients atteints de Covid-19 et admis en réanimation pour défaillance respiratoire. Ils recevront au total 2 unités de plasma de 200 ml, la deuxième administrée 24 heures après la première. Le critère principal de jugement sera l'amélioration de l'état respiratoire à J28 (sevrage de la ventilation mécanique et de l'oxygénothérapie). L'analyse sera stratifiée sur le délai d'administration de plasma par rapport aux premiers symptômes de Covid-19 (plus ou moins de 15 jours).

- **Les données immunologiques dans le Covid-19** [pour plus de détails, voir l'annexe 4]

Ce chapitre vise à faire une synthèse des données disponibles sur la réponse humorale contre les coronavirus en général et plus particulièrement le SARS-CoV-2, sa cinétique, les questions de sensibilité et de spécificité des tests évaluant les réponses contre ces différents virus et enfin le caractère protecteur et/ou délétère de la réponse immunitaire induite.

- **Réponses anticorps contre SARS-CoV**

→ Réponses sérologiques

Les réponses anticorps (AC), comme dans toute infection virale, peuvent se faire contre les protéines externes – ici ce sont les réponses contre la protéine S qui ont été les plus étudiées – ou contre les protéines de structure, notamment celle constituant la nucléocapside. L'analyse des réponses sérologiques au cours de l'infection par le SARS-CoV a montré que :

- les IgG spécifiques peuvent être détectées dès J7 [8, 9], atteignent un pic 4 mois après le début de la symptomatologie ;
- le pourcentage de sujets encore séropositifs est de 89 % à 2 ans, 50 à 74% à 4 ans et 8,7% à 6 ans [8, 10, 11] ;
- chez la plupart des individus ayant été infectés, il n'y a pas de réponse B mémoire anti-SARS détectable 6 ans après l'infection [11] ;
- il existe une corrélation entre les taux d'IgG spécifiques détectés par méthodes standard (ELISA) et la présence d'anticorps neutralisants [9].

Par ailleurs l'étude menée par Zhiang et al. a permis d'analyser la corrélation entre la sévérité des symptômes et l'évolution du taux des anticorps neutralisants ou pas [12]. Dans cette étude, il a pu être constaté qu'il existait des différences considérables dans la dynamique des réponses anticorps entre les deux groupes de patients en fonction de leur évolution clinique. Ainsi on note une apparition plus précoce, un taux plus élevé mais également une diminution plus rapide du taux des anticorps chez les patients ayant une forme grave ayant conduit au décès.

→ Spécificité de la réponse anticorps – Anticorps neutralisants et facilitants

Il existe une assez large littérature sur l'analyse des régions les plus immunogéniques de la protéine S du SARS-CoV en termes d'induction d'anticorps neutralisants, ceci dans l'optique de développer un vaccin voire de produire des anticorps très spécifiques à visée d'immunothérapie passive [13]. Ces anticorps interfèrent dans la liaison entre le virus, et notamment la partie RBD de la protéine S, et son récepteur cellulaire ACE2. Des anticorps neutralisants monoclonaux ont été produits suite à ces premiers résultats

Si aucun de ces anticorps n'a été évalué dans des essais cliniques chez l'Homme les études menées chez l'animal semblent indiquer qu'ils ont un effet protecteur [13]. Cependant cela ne semble pas le cas avec tous les anticorps et des effets délétères ont été décrits notamment lorsqu'ils ont été générés après vaccination. Ce type d'effet a été décrit avec d'autres infections virales (dengue, infection par le VIH...) mais est également bien connu dans des infections avec d'autres coronavirus infectant des animaux [14]. Les effets délétères des anticorps peuvent s'associer à plusieurs mécanismes, certains étant médiés par le fragment Fc de ces anticorps et peuvent aboutir soit à une réponse inflammatoire exagérée soit à une diffusion de l'infection via l'infection des macrophages (voir Figure 4 de l'annexe 4).

Plusieurs équipes ont montré qu'in vitro l'adjonction d'anticorps anti-protéine S de SARS-CoV augmentait l'infection des macrophages par le virus ou des particules lentivirales pseudotypées [15]. Cette facilitation de l'infection (*Antibody-Dependent Enhancement*, ou ADE), dépend de la présence et de la capacité de signalisation des récepteurs au fragment Fc des IgG de la famille FcγRII [16]. Certains auteurs ont suggéré que l'effet neutralisant des anticorps anti-S pouvait être fonction de leur concentration: des concentrations élevées d'anticorps étant susceptibles de neutraliser l'infection in vitro cependant que des concentrations moins importantes favoriseraient l'infection et l'induction d'apoptose [16]. Une étude menée en 2019 par Liu et al. dans le modèle d'infection SARS-CoV chez le macaque a mis en évidence le rôle délétère de l'induction d'anticorps anti-S [17]. L'infection par le SARS-CoV des macaques chinois se caractérise souvent par un contrôle rapide de la réplication virale sans apparition des lésions pulmonaires caractéristiques de l'infection chez l'Homme. Les résultats de l'étude de

Liu et al. suggèrent que cette différence réside dans un contrôle rapide de la réplication virale dans les poumons, qui a culminé entre 24 et 48 heures après l'inoculation et diminuant dans les 7 jours, bien avant la production d'anticorps. Or la vaccination préalable des singes avec un vaccin de type MVA codant la protéine S de SARS-CoV ou l'administration précoce d'anticorps neutralisants anti-S, s'ils induisent un contrôle de la réplication virale sont à l'origine de lésions pulmonaires identiques à celles observées chez l'Homme en biaisant la réaction de résolution de l'inflammation. Les auteurs montrent que les macrophages alvéolaires subissent une polarisation fonctionnelle démontrant simultanément des propriétés pro-inflammatoires et caractéristiques de cicatrisation. De manière intéressante, les auteurs montrent que l'adjonction de sérums provenant de patients décédés du SARS-CoV induit des modifications des macrophages conduisant notamment - comme dans le modèle macaque sensibilisé par les anticorps anti-S - à la production de MCP1 et IL-8 cependant que le blocage de FcγR réduit cet effet. A noter qu'un autre groupe a également trouvé, en utilisant une approche identique, un effet inducteur de lésions pulmonaires d'anticorps anti-nucléocapside dans un modèle murin [18].

- **Réponses anticorps contre le SARS-CoV-2**

Plusieurs équipes utilisant des techniques différentes ont pu fournir des premières données sur la réponse adaptative anti-SARS-CoV-2 concernant essentiellement la réponse humorale, la réponse cellulaire restant largement inconnue. Une synthèse des différentes populations et des tests correspondant disponibles à partir des études publiées - ou soumise pour une d'elles, recueillant des données chez plusieurs individus est présentée dans le tableau 2 de l'annexe 4.

Il est important de comprendre que les études publiées à ce jour ont fait appel à différents types de tests.

La synthèse des différentes études actuellement disponibles laisse à penser que l'infection par le SARS-CoV-2 s'accompagne d'une réponse anticorps essentiellement de type IgA et IgG, la réponse IgM semblant moins importante sans possibilité de savoir si cette moins bonne réponse repose sur une problématique technique. Le taux de séroconversion chez les patients symptomatiques semble important avec un pic à J14. Peu de données sont disponibles chez des patients moins symptomatiques mais les données actuelles laissent envisager que le pic d'anticorps est décalé chez ces patients comme cela a été observé au cours de l'infection par SARS-CoV. On retrouve une bonne corrélation entre les tests de dépistage standard des anticorps (type ELISA) et leur activité neutralisante, cette corrélation étant retrouvée dans toutes les études où elle a été recherchée. La spécificité des anticorps semble très bonne et aucune réaction croisée n'a été observée avec les coronavirus saisonniers.

Si certains anticorps ont été responsables d'effets délétères au cours de l'infection SARS-CoV il faut noter que :

- leur effet délétère n'a été observé in vivo que dans des essais de challenge post vaccinaux dans les modèles animaux,
- un effet délétère in vitro de sérums de patients infectés par SARS-CoV n'a été observé que lorsque ces sérums provenaient de patients secondairement décédés, donc atteints de formes graves,
- aucun effet d'aggravation de la pathologie n'a été retrouvé dans des modèles animaux en utilisant des sérums de convalescents.

Ce type d'effet délétère n'a pas été retrouvé à l'heure actuelle au cours de l'infection par SARS-CoV-2. Cependant le peu de recul, la proximité des deux virus et de leur physiopathologie ne permettent pas d'écarter que des anticorps délétères puissent apparaître au cours de l'infection par le SARS-CoV-2. Enfin l'étude de Wu et al [19]. suggère que d'autres mécanismes que les anticorps neutralisants (AC non

neutralisants, réponse T, réponses NK ?) peuvent participer au contrôle de la maladie virale, notamment chez les patients les plus jeunes.

- **La disponibilité en unités de plasma de convalescents dans le cadre de la collecte réalisée par l'EFS**

Le plasma est prélevé chez des donneurs convalescents du Covid-19, éligibles au don de plasma par plasmaphérèse (650 mL). Chaque don permet de disposer de 3 unités thérapeutiques de 200-240 mL. Outre les critères habituels de sélection des donneurs, il faut que la maladie ait été symptomatique, que le diagnostic ait été confirmé par la détection de génome viral par RT PCR sur un prélèvement nasopharyngé, (ou que l'expression clinique de la maladie ait été très évocatrice) et que le sujet convalescent n'ait plus de manifestations cliniques depuis au moins 14 jours.

Dans l'essai clinique CORIPLASM, pour qualifier ce plasma au profit de malades présentant un Covid-19, il faut que le test sérologique (ELISA IgG) soit positif et que le test de séro-neutralisation soit positif au minimum au titre de 40. Les unités de plasma qui ne répondent pas à ces critères sont remises dans la filière normale de plasma thérapeutique.

L'EFS a débuté une collecte de plasma chez des convalescents de Covid-19 début avril 2020. Dans un premier temps, le plasma ainsi collecté sera utilisé pour répondre aux besoins de l'essai thérapeutique CORIPLASM. Selon le plan prévisionnel de collecte, des unités de plasma en excès par rapport aux besoins de l'essai CORIPLASM pourraient commencer à devenir disponibles à compter de la dernière semaine d'avril 2020. C'est donc à compter de cette date qu'une utilisation compassionnelle de plasma de convalescents est envisageable.

- **La sécurité transfusionnelle des unités de plasma de convalescents**

Le plasma qualifié, riche en anticorps anti-SARS-CoV-2, est prélevé selon les procédures en vigueur pour le don de plasma. Il fait l'objet d'un traitement systématique par un procédé d'atténuation des pathogènes (Intercept™ produit par la société Cerus Corporation) dont l'efficacité a été démontrée sur le SARS-CoV et le MERS CoV [20, 21]. Par ailleurs, la prévention du TRALI est assurée par l'exclusion des prélèvements des femmes ayant déjà eu des enfants ou par le dépistage préalable chez celles-ci des anticorps anti-HLA.

Le HCSP recommande

Dans l'attente des résultats des essais thérapeutiques actuellement en cours pour évaluer l'efficacité et la tolérance du plasma de convalescents :

- De privilégier l'utilisation des unités de plasma de convalescents pour la réalisation des essais thérapeutiques en cours en France tant que le nombre de ces unités restera limité,
- Dès que la production d'unités de plasma de convalescents le permettra, soit à partir de la fin du mois d'avril 2020 :
 - de privilégier, chaque fois que possible, l'utilisation thérapeutique de plasma de convalescents dans le cadre des essais thérapeutiques menés en France ;
 - d'autoriser l'utilisation thérapeutique de plasma de convalescents en dehors d'un essai thérapeutique lorsque l'inclusion d'un patient dans un essai thérapeutique n'est pas possible, en particulier pour des raisons d'éloignement géographique, en retenant **les mêmes indications que celles définies par les critères d'inclusion¹** dans les essais thérapeutiques en cours en France ;
 - de laisser ouverte la possibilité d'utilisation thérapeutique de plasma de convalescents dans un nombre limité de situations particulières qui devront faire l'objet d'une décision médicale collégiale au niveau de l'unité de soins où le patient est pris en charge.
- Dans tous les cas d'utilisation thérapeutique de plasma de convalescents hors essai clinique, de prescrire et d'administrer le plasma de convalescents dans le cadre du protocole d'utilisation thérapeutique (PUT) fixé par décision publiée sur le site de l'ANSM. https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=2ahUKewig7obQq5XpAhWmx4UKHd3jBS8QFjAAegQIARAB&url=https%3A%2F%2Fwww.ansm.sante.fr%2Fcontent%2Fdownload%2F176843%2F2312309%2Fversion%2F1%2Ffile%2F20200424_COVID-19_PUT_Plasma-Convalescent.pdf&usq=AOvVaw0itnjzNjs5fJZ08Z7da-jG.

Ces recommandations, élaborées sur la base des connaissances disponibles à la date de publication de cet avis, peuvent évoluer en fonction de l'actualisation des connaissances et des données épidémiologiques.

Avis rédigé par un groupe d'experts, membres ou non du Haut Conseil de la santé publique.

Validé le 27 avril 2020 par le président du Haut Conseil de la santé publique

¹ Critères d'inclusion dans les essais thérapeutiques évaluant les plasmas de convalescents chez les patients atteints de Covid-19 en France

Patient inclus dans CORIMUNO et :

- Pour CORIPLASM : patient atteint de Covid-19 de gravité modérée (grade 4 ou 5 de l'échelle OMS survenant dans les 10 jours après l'apparition des premiers symptômes.
- Pour CORIPLASMIC : patient atteint de forme grave de Covid-19 (grade 6 à 8 de l'échelle OMS), nécessitant une prise en charge en réanimation.

Références

1. Cheng et al. Use of convalescent plasma therapy in SARS patients in Hong Kong. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 24, 44–46 (2005).
2. Mair-Jenkins et al. Convalescent Plasma Study Group. The effectiveness of convalescent plasma and hyperimmune immunoglobulin for the treatment of severe acute respiratory infections of viral etiology: A systematic review and exploratory metaanalysis. *J. Infect. Dis.* 211, 80–90 (2015).
3. Ko et al. Challenges of convalescent plasma infusion therapy in Middle East respiratory coronavirus infection: a single centre experience. *Antivir. Ther.* 23, 617– 622 (2018)
4. Shen et al. Treatment of 5 critically ill patients with COVID-19 with convalescent plasma. *JAMA*. doi:10.1001/jama.2020.4783 (2020).
5. Duan et al. Effectiveness of convalescent plasma therapy in severe COVID-19 patients. *Proc. Natl Acad. Sci USA*, publié en ligne le 6 avril 2020.
6. <https://www.idsociety.org/practice-guideline/covid-19-guideline-treatment-and-management/>
7. <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/investigational-new-drug-ind-or-device-exemption-ide-process-cber/recommendations-investigational-covid-19-convalescent-plasma#Pathways%20for>
8. Wu et al.. Duration of antibody responses after severe acute respiratory syndrome. *Emerg Infect Dis.* 13,)1562-1564 (2007).
9. Liu et al. .Two-year prospective study of the humoral immune response of patients with severe acute respiratory syndrome. *Infect. Dis.* 193, 792-795. (2006).
10. Cao et al, Disappearance of antibodies to SARS-associated coronavirus after recovery, *N Engl J Med* 357:1162e3 (2007).
11. Tang et al. Lack of peripheral memory B cell responses in recovered patients with severe acute respiratory syndrome: a six-year follow-up study. *J. Immunol.* 186, 7264-7268 (2011).
12. Zhiang et al. Antibody responses against SARS coronavirus are correlated with disease outcome of infected individuals, *J. Med. Virol.* 78, 1–8 (2006).
13. Jiang et al. Neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 and other human coronaviruses. *Trends Immunol.* <https://doi.org/10.1016/j.it.2020.03.007> (2020).
14. Perlman S, Dandekar AA. Immunopathogenesis of coronavirus infections: implications for SARS. *Nat Rev Immunol.* ;5,917-927 (2005).
15. Jaume M et al, Anti-severe acute respiratory syndrome coronavirus spike antibodies trigger infection of human immune cells via a pH- and cysteine protease-independent FcγR pathway, *J. Virol.* 85, 10582-10597 (2011).
16. Wang SF et al, Antibody-dependent SARS coronavirus infection is mediated by antibodies against spike proteins, *Bioch. Bioph. Res. Com.*, 451, 208–214 (2014).
17. Liu L et al, Anti-spike IgG causes severe acute lung injury by skewing macrophage responses during acute SARS-CoV infection, *J. Clin. Invest. Insight*, 4,, e123158 (2019).
18. Yasui F et al. Prior immunization with severe acute respiratory syndrome (SARS)-associated coronavirus (SARS-CoV) nucleocapsid protein causes severe pneumonia in mice infected with SARS-CoV. *J. Immunol.* 181, 6337-6648 (2008).
19. Wu F et al, Neutralizing antibody responses to SARS-CoV-2 in a COVID-19 recovered patient cohort and their implications *MedRxiv*, 2020..
20. Hashem AM, Hassan AM, Tolah AM, Alsaadi MA, Abunada Q, Damanhour GA, El-Kafrawy SA, Picard-Maureau M, Azhar EI, Hindawi SI. Amotosalen and ultraviolet A light efficiently inactivate MERS-coronavirus in human platelet concentrates. *Transfus Med.* 2019 Dec;29(6):434-441

21. Pinna D, Sampson-Johannes A, Clementi M, Poli G, Rossini S, Lin L, Vicenzi E. Amotosalen photochemical inactivation of severe acute respiratory syndrome coronavirus in human platelet concentrates. *Transfus Med.* 2005 Aug;15(4):269-76.

Annexe 1 : saisine de la Direction générale de la santé

De : SALOMON, Jérôme (DGS)

Envoyé : mardi 7 avril 2020 16:39

À : HCSP-SECR-GENERAL; CHAUVIN, Franck (DGS/MSR/SGHCSP)

Objet : Saisine HCSP - place du plasma prélevé chez des patients convalescents dans un cadre compassionnel

Monsieur le Président, cher Franck

L'EFS est contributeur d'une recherche impliquant la personne humaine, pilotée par l'Assistance publique des Hôpitaux de Paris, visant à tester l'efficacité de la transfusion de plasmas issus de patients convalescents du COVID-19 à J14 post guérison. Sur cette base, l'EFS débutera le prélèvement des plasmas convalescents à partir du 7 avril 2020.

En dehors de cette recherche clinique, l'EFS est sollicité par des cliniciens pour l'usage de ce plasma dans un cadre compassionnel.

Ces demandes parallèles existent aussi dans les autres pays en capacité de prélever le plasma de patients convalescents, ce qui a motivé la rédaction de lignes directrices par la Commission Européenne et des consignes de la FDA (voir pièce jointe).

Pour limiter la surconsommation de ce plasma destinée à l'étude clinique de l'EFS, et pour répondre dans le même temps aux besoins des patients, l'ANSM a étudié la possibilité réglementaire pour encadrer l'usage de ce plasma à titre compassionnel.

Aussi, je souhaite pouvoir disposer de votre avis, si possible pour le 10 avril, pour :

- Déterminer les critères d'éligibilité des patients COVID-19 pour accéder au plasma de sujets convalescents en dehors de la recherche clinique
- Permettre aux cliniciens d'avoir un cadre établi pour prescrire ces plasmas en situation compassionnelle et déterminer les protocoles thérapeutiques ad hoc dans cette situation ;

Nous sommes pleinement conscients que cette saisine en urgence vous mobilise fortement, c'est pourquoi ces recommandations pourraient d'abord être remises sous une forme provisoire.

Bien amicalement.

Professeur Jérôme SALOMON, CMO, MD MPH PhD

Directeur général de la Santé / Directeur de crise

jerome.salomon@sante.gouv.fr

Direction Générale de la Santé, DGS, FRANCE



Annexe 2 : composition du groupe de travail

Claire ANDREJAK, CHU Amiens
Daniel CAMUS, HCSP, CS MIME
Céline CAZORLA, HCSP, CS MIME
Christian CHIDIAC, HCSP, CS MIME
Bruno HOEN (pilote du groupe de travail)
Catherine LEPORT, COREB
Charles-Edouard LUYT, groupe hospitalier la Pitié Salpêtrière
Sophie MATHERON, , HCSP, CS MIME
Nathalie MORGENSZTEJN, ANSM
Elisabeth NICAND, HCSP, CS MIME
Henri PARTOUCHE, HCSP, CS MIME
Bruno POZZETTO, HCSP, CS MIME
Christophe RAPP, HCSP, CS MIME
Isabelle SAINTE-MARIE, ANSM
Michel SETBON, HCSP, CSRE
Sylvie Van der WERF, CNR

Personnes auditionnées

Jean-Daniel LELIEVRE (AP-HP H Mondor immunologie)
Pascal MOREL (EFS)
Pierre TIBERGHEN (EFS)
Jean-François TIMSIT, APHP, Bichat

SG-HCSP

Sylvie FLOREANI

Annexe 3 : Tableau de synthèse des 2 études de plasma de convalescents dans le Covid-19

Ref	Lieu	Design de l'étude	Nb. patients /critères d'éligibilité	Intervention	Groupe témoin	Critères de jugement	Principaux résultats	Limites de l'étude
Duan K, PNAS 2020	Chine Wuhan	Etude observationnelle avec comparaison à des témoins historiques	10 patients avec infection grave recevant du plasma de convalescent et 10 témoins historiques <u>Groupe traitement :</u> - Age ≥ 18 ans et 1) FR ≥ 30 /min 2) SpO ₂ $\leq 93\%$, ou 3) PaO ₂ /FiO ₂ ≤ 300 Exclusion si 1) ATCD intolérance plasma, 2) gravité clinique incompatible avec la transfusion de plasma Groupe témoins : Sélection aléatoire de 10 patients traités dans le même hôpital, appariés sur âge, sexe et gravité	Transfusion (dans les 4 heures après le don) de 200 mL de PC entre 10 et 20 jours du début des symptômes Titre d'anticorps neutralisants anti-SARS-CoV-2 $>1:640$ dans le PC	Témoins historiques ne recevant pas de PC	Groupe traitement : amélioration clinique (besoin en ventilation mécanique), effets indésirables et mortalité Groupe témoins : amélioration clinique et mortalité	Amélioration des symptômes respiratoires chez 10/10 patients. 3 patients étaient en VA avant traitement, 2 ont été extubés. Réduction des besoins en oxygène. Amélioration des lésions radiologiques. Pas de décès. 3 sorties d'hôpital. Dans le groupe témoins, 3 décès, pas de sortie d'hôpital.	Pas d'ajustement sur les principaux facteurs de confusion On ignore s'il s'agit d'inclusions consécutives dans le groupe traitement Les comédications sont variables chez les patients du groupe traitement
Haut Conseil de la santé publique								

Shen C, 2020	Chine Shenzhen	Etude de cas	<p>5 patients avec SDRA et critères de gravité :</p> <p>1) ventilation mécanique, 2) choc, ou 3) autre défaillance viscérale nécessitant réanimation</p> <p>Inclusion des patients si :</p> <ul style="list-style-type: none"> - pneumonie s'aggravant - CV restant élevée sous traitement - PaO2/FIO2 <300 - ventilation mécanique 	<p>Transfusion (dans la même journée que le don) de 400 mL de PC entre 10 et 22 jours après le début des symptômes</p> <p>Titre d'anticorps anti-SARS-CoV-2 dans le PC :</p> <ul style="list-style-type: none"> -> 1:1000 (IgG binding) -> 40 (neutralisation) 	Pas de groupe témoin	<p>amélioration clinique (besoin en ventilation mécanique), effets indésirables et mortalité</p>	<p>3/5 patients sevrés de la VA et sortis de l'hôpital. Régression du SDRA chez 4/5. Négativation de la CV en 12 jours. Pas d'effets indésirables graves.</p>	<p>On ignore s'il s'agit d'inclusions consécutives Les comédications sont variables chez les patients traités</p>
--------------	----------------	--------------	--	--	----------------------	--	---	---

Duan K, Liu B, Li C, et al. The feasibility of convalescent plasma therapy in severe Covid-19 patients: a pilot study. PNAS 2020

Shen C, Wang Z, Zhao F, et al. Treatment of 5 Critically Ill Patients with Covid-19 with Convalescent Plasma. JAMA 2020

Annexe 4 : Données immunologiques et cinétique des anticorps dans l'infection Covid-19

Professeur Jean Daniel Lelièvre, Service d'immunologie clinique et maladies infectieuses
Centre compétence déficits immunitaires de l'adulte. CHU Henri Mondor

Il existe sept coronavirus susceptibles d'infecter l'Homme (Figure 1), SARS-CoV, MERSCoV et le SRAS-CoV-2 à l'origine de pathologies graves (betacoronavirus), alors que NL63, 229E (groupe I, alphacoronavirus) et HKU1, OC43 (groupe II, betacoronavirus) sont associés à des symptômes beaucoup plus légers.

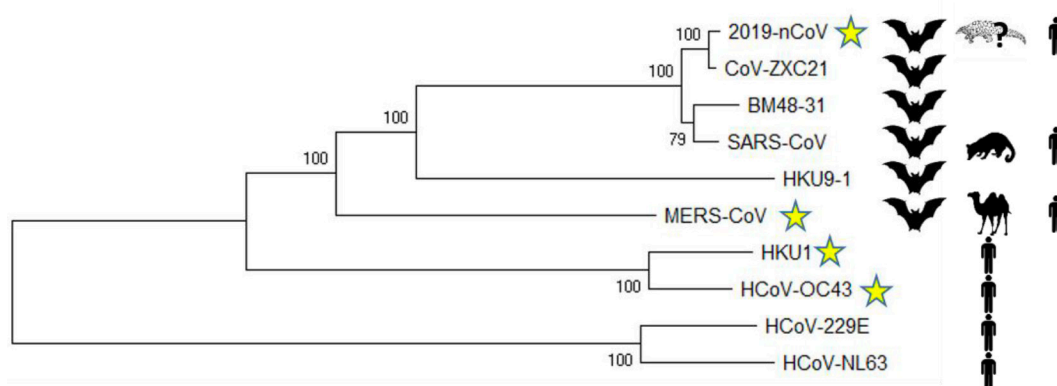


Figure 1 Arbre phylogénétique d'une sélection de coronavirus de chauve-souris ou humains

© Bruno Coutard, Etienne Decroly

Ce chapitre vise à faire une synthèse des données disponibles sur la réponse humorale contre ces différents virus, la cinétique de celle-ci, les questions de sensibilité et de spécificité des réponses contre ces différents virus et enfin le caractère protecteur et/ou délétère de la réponse immunitaire induite.

Réponses anticorps contre les souches de coronavirus peu pathogènes (HKU1, NL63, OC43 et 229E)

Assez peu de données sur la réponse anticorps aux souches de coronavirus peu pathogènes sont disponibles. Les données les plus anciennes montraient la mise en place d'une immunité de courte durée en tout cas lorsqu'elle était appréciée par la mesure du taux d'anticorps s'échelonnant entre 5 mois (*Macnaughton MR, Infect Immun, 1982*) et 1 an (*Reed SE, J Med Virol, 1984*). Une étude de challenge virale menée 1990 sur 16 volontaires a permis de mieux comprendre la cinétique d'apparition et de disparition des anticorps et leur caractère protecteur (*Callow KA, Epidemiol Infect, 1990*). Cette étude menée avec la souche 229 E a montré que les anticorps de type IgG avaient un pic à 12 semaines puis diminuaient rapidement pour retrouver un taux préinfection à 52 semaines. Ces anticorps étaient de type neutralisant. Les sujets qui ne se sont pas infectés après challenge viral avaient des taux d'anticorps significativement plus élevés que les sujets infectés, et leur taux d'anticorps n'a pas varié au cours de l'étude avec toutefois une baisse à la semaine 52 avec des taux inférieurs à ceux des sujets infectés après challenge. Des épreuves de réinfection à 52 semaines ont montré que la majorité des sujets se réinfectaient (6/9 des sujets infectés lors du premier challenge et 5/5 parmi ceux qui ne l'avaient pas été la première fois) même si la durée de portage virale semblait plus courte que lors de la première infection (2 jours vs 5,6 jours) et les signes cliniques moins importants. Parallèlement une étude de la cinétique des anticorps a été effectuée chez 11 sujets ayant fait une infection naturelle montrant une évolution identique à celle obtenue après infection par challenge chez les volontaires sains. Au total ces études montrent l'induction d'une réponse immunitaire protectrice après infection par des coronavirus peu pathogènes avec toutefois une protection de courte durée en accord compte tenu du caractère souvent peu symptomatiques de ces infections avec un cycle d'infection tous les 2 à

3 ans chez l'adulte (Monto, *Yale J Biol Med*, 1974). Une étude de séroprévalence des anticorps contre les 4 différentes souches peu pathogènes effectuée en 2008 chez 10 enfants et 196 adultes américains a montré des taux élevés de séroprévalence (229E, 91.3%; HKU1, 59.2%; NL63, 91.8%; and OC43, 90.8%) (Severance EG, *Clinical and Vaccine Immunology*, 2008). Il est intéressant de constater que cette étude reposait sur l'utilisation d'un test de type immunoassay utilisant des protéines de nucléocapside. Des anticorps anti coronavirus félin étaient également recherchés et la séroprévalence était de 0%. Le virus félin étant plus étroitement lié aux virus NL63 et 229E qu'à l'OC43 et au HKU1, la corrélation observée entre les coronavirus du groupe I et du groupe II sont susceptibles de refléter une exposition partagée plutôt que réactivité croisée et permettant de conclure à une grande spécificité de ce type de test.

Réponses anticorps contre le SARS-CoV

- **Réponses sérologiques**

L'étude de la réponse contre le virus SARS-CoV - virus humain le plus proche du SARS-CoV-2 - a reposé sur l'utilisation de tests ELISA commerciaux mais également fabriqués directement par les équipes (Zhang L J, *Med. Virol*, 2006) - permettant d'obtenir des protéines d'enveloppe dans ces systèmes eukaryotes ayant dès lors une composition plus proche de celle existant sur les virus présents chez l'Homme, même si la glycosylation ne semble pas impacter la réponse anticorps contre les coronavirus comme elle peut le faire comme dans d'autres infections virales (Watanabe Y, *bioRxiv*, 2020) - et des tests de neutralisation (Guan Y et al *Science* 2003). Les différents tests utilisés ont permis de rechercher des anticorps contre la protéine spike (S) et contre la nucléocapside (N) (cf. figure 2)

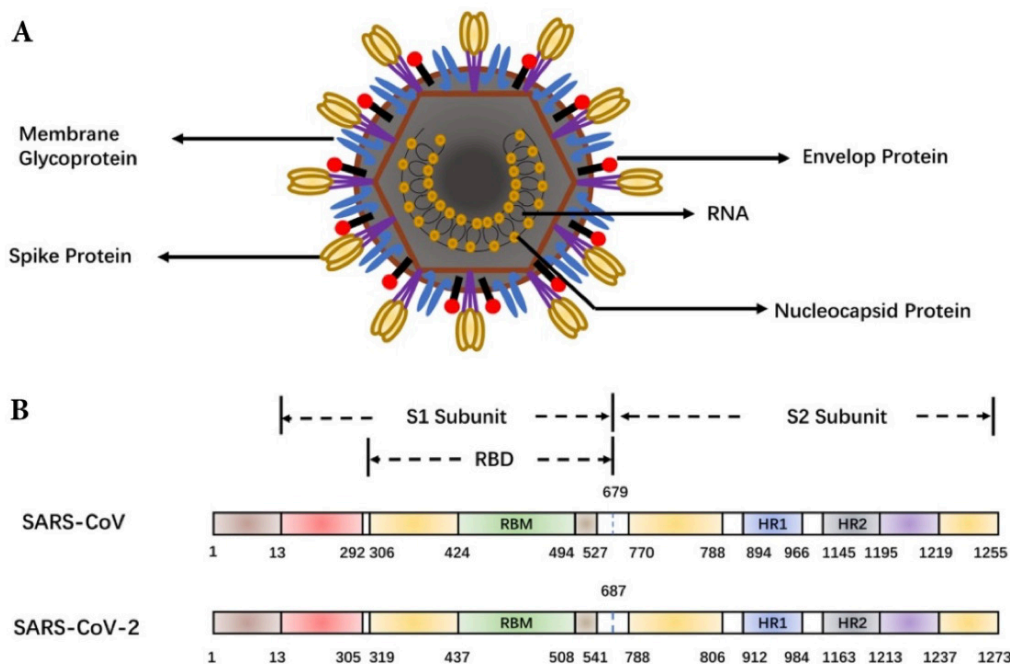


Figure 2 - Représentation schématique du coronavirus et de la protéine spike.

(A) Structure du coronavirus. Les protéines de surface virales (spike, enveloppe et membrane glycoprotéines) sont encastrées dans une enveloppe bicouche lipidique. (B) Comparaison des protéines spike (S) du SARS-CoV et du SARS-CoV-2. RBD, domaine de liaison aux récepteurs ; RBM, motif de liaison au récepteur (Zhou G et al *Int. J. Biol. Sci.* 2020; 16(10): 1718-1723)

L'analyse des réponses sérologiques au cours de l'infection par le SARS-CoV a montré que 1) les IgG spécifiques pouvaient être détectés dès J7 (Wu LP, *Emerg Infect Dis*, 2007 - Liu, *J Infect Dis*, 2006), atteignant un pic au moins 4 après le début de la symptomatologie ; 2) que le pourcentage

de sujet encore séropositif était de 89 % à 2 ans, 50 à 74% à 4 ans et 8,7% à 6 ans (Cao WC, *N Engl J Med*, 2007 - Tang F, *J Immunol*, 2011 -Wu LP, *Emerg Infect Dis*, 2007) ; 3) qu'il n'existait pas à 6 ans chez la plupart des individus ayant été infectés de réponse B mémoire anti-SARS (Tang F, *J Immunol*, 2011) (Figure 3) ; 4) que les taux IgG spécifiques détectés par méthodes standard (ELISA) et les anticorps neutralisants étaient fortement corrélés (Liu, *J Infect Dis*, 2006).

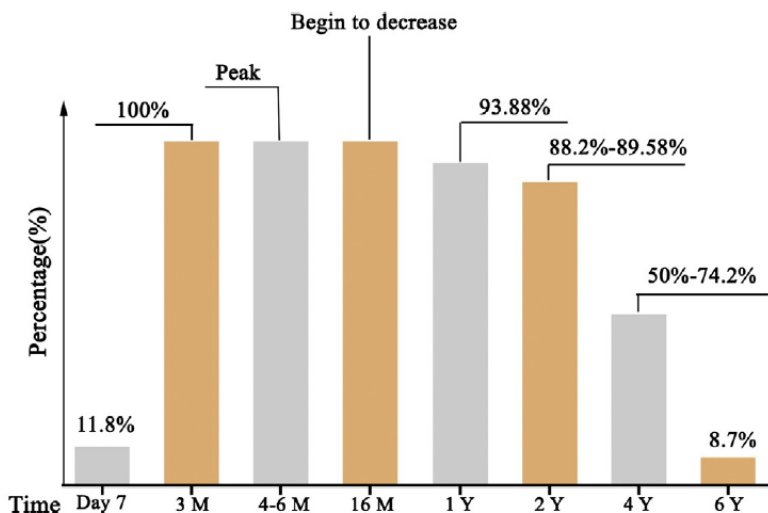


Figure 3 – Evolution du taux d'anticorps anti SARS au cours du temps
(Lin Q et al *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*,
<https://doi.org/10.1016/j.jmii.2020.03.015>)

Par ailleurs, l'étude menée par Zhiang et al. a permis de regarder la corrélation entre la sévérité des symptômes et l'évolution du taux des anticorps neutralisants ou pas (Zhiang L J. *Med. Virol*, 2006). Dans cette étude, il a pu être constaté qu'il existait des différences considérables dans la dynamique des réponses anticorps entre les deux groupes de patients en fonction de leur évolution clinique. Ainsi on note une apparition plus précoce, un taux plus élevé mais également une diminution plus rapide du taux des anticorps chez les patients ayant une forme grave ayant conduit au décès. La différence de cinétique des anticorps spécifiques anti SARS en fonction du tableau clinique n'est pas parfaitement élucidée et les auteurs proposent que l'activation immunitaire intense et rapide présente chez les personnes décédées puisse être à l'origine de ce phénomène.

- **Spécificité de la réponse anticorps – Anticorps neutralisants et facilitants**

Comme pour beaucoup d'autres virus les réponses adaptatives spécifiques protectrices et associées au contrôle de la réplication virale associe des réponses anticorps neutralisantes contre les protéines d'enveloppe (Jiang S, *Trends in Immunology*, 2020) et des réponses cellulaires T contre les protéines de structure mais également d'enveloppe (Janice Oh HL, *Emerg Microbes Infect*, 2012) (cf figure 2). Il est intéressant de noter que dans le modèle d'infection SARS chez la souris la réponse cellulaire T est nécessaire et suffisante pour contrôler la réplication du virus (Zhao J, *J Virol*, 2010) et que chez l'Homme cette réponse persiste plus longtemps que la réponse humorale pendant plus de 10 ans chez certains patients (Ng OW, *Vaccine*, 2016). Il existe une assez large littérature sur l'analyse des régions les plus immunogéniques de la protéine S du SARS en terme d'induction d'anticorps neutralisants ceci dans l'optique de développer un vaccin voire d'utiliser de produire des anticorps très spécifiques à visée d'immunothérapie passive comme cela est envisagé dans d'autres pathologies comme le VIH (Jiang S, *Trends in Immunology*, 2020). Ces anticorps vont interférer dans la liaison entre le virus et notamment la partie RBD de la protéine S (cf figure 2) et son récepteur cellulaire l'ACE2. Le tableau 1 ci-dessus répertorie les différents Ac neutralisants isolés chez l'Homme –ou chez la souris- et leur activité in vitro et in vivo.

Nom Ac	Espèce	Activité neutralisante in vitro sur le SARS-CoV	Mécanismes - cibles	Effet in vivo	Référence
S230.15 m396 mAbs	Homme	Neutralisent souches GD03, Urbani, Tor2	Reconnaît les épitopes (résidus 408, 442, 443, 460, 475) de la protéine S1 du SRAS-CoV, interférant avec l'interaction RBD-ACE2	Protège la souris contre l'infection par les souches Urbani, rGD03 et rSZ16 du SARS Co-V	Zhu, 2007
S109.8 S227.14 S230.15 mAbs	Homme	Neutralisent souches Urbani, GZ02, CUHK-W1	Inhibe la fixation de RBD sur l'ACE2	Protège la souris contre l'infection par les souches Urbani, GZ02 et HC/SZ/61/03 du SARS Co-V	Rockx, 2008
80R scFv, mAb	Homme	Neutralisent souche Urbani	Reconnaît les épitopes sur SARS-CoV S1 (résidus 261-672), bloquant la liaison RBD-ACE2	NA	Sui, 2004
CR3022 CR3014 scFv, mAb	Homme	Neutralisent souche HKU-39849	Reconnaît les épitopes sur SRAS-CoV RBD (résidus 318-510) ; CR3022 se lie sur le RBD du SRAS-CoV-2 RBD avec une affinité élevée	CR3014 protège contre l'infection du furet par la souche HKU-39849 du SARS-CoV	Tian, 2020
33G4 35B5 30F9 mAbs	Souris	Neutralisent souches GD03, etTor2	Reconnaît les épitopes sur SARS-CoV bloquant la liaison RBD-ACE2	NA	He, 2006

Tableau 1 - Principaux anticorps neutralisants contre le SARS
(d'après Jiang S et al, *Trends in Immunology*, 2020)

Si aucun de ces anticorps n'a été utilisé dans des essais cliniques chez l'Homme, les études menées chez l'animal semblent indiquer qu'ils ont un effet protecteur. Cependant cela ne semble pas le cas avec tous les anticorps et des effets délétères ont été décrits notamment lorsqu'ils ont été générés après vaccination. Ce type d'effet a été décrit avec d'autres infections virales (dengue, infection par VIH,...) mais est également bien connu avec des infections avec d'autres coronavirus, notamment ceux infectant les animaux (*Perlmann, Nature Reviews Immunology*, 2005). Les effets délétères des anticorps peuvent s'associer à plusieurs mécanismes certains étant médiés par le fragment Fc de ces anticorps et peuvent aboutir soit à une réponse inflammatoire exagérée soit à une diffusion de l'infection via l'infection des macrophages. Ces derniers sont synthétisés dans la figure 4 montrant les mécanismes en jeu lors de l'infection par le coronavirus de la péritonite infectieuse féline dans lesquels l'infection des macrophages joue un rôle clef.

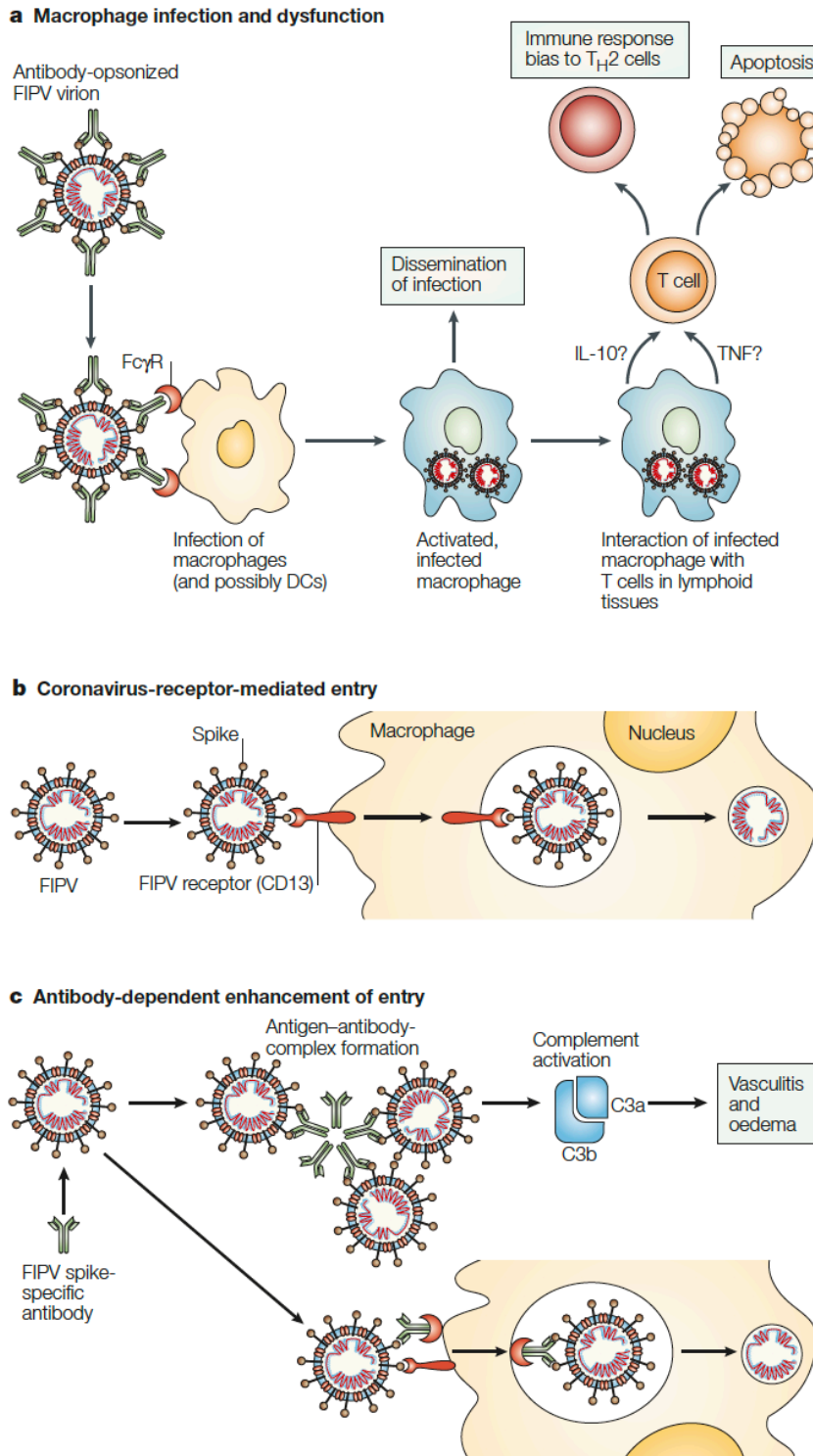


Figure 4 – Infection des macrophages et augmentation de l'entrée du virus dépendant des anticorps dans l'infection par le virus de la péritonite infectieuse féline.
(Perlman S & Dandekar AA. *Nature Reviews Immunology*, 2005,)

Plusieurs équipes ont montré qu'in vitro l'adjonction d'anticorps anti-protéine S de SARV CoV augmentait l'infection des macrophages par le virus ou des particules lentivirales pseudotypées (Jaume M, *J Virol*, 2011 - Wang SF, *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2014

- Yip MS, *Virology Journal*, 2014). Cette facilitation de l'infection ADE (*Antibody-Dependent Enhancement*) des auteurs anglo-saxons, dépend de la présence et de la capacité de signalisation des récepteurs au fragment Fc des IgG de la famille FcγRII (*Wang SF, Biochemical and Biophysical Research Communications 2014 - Yip MS, Virology Journal, 2014*). Certains auteurs ont suggéré que l'effet neutralisant des anticorps anti-S pouvait être fonction de la concentration de ceux-ci : des concentrations élevées d'anticorps seraient susceptibles de neutraliser l'infection *in vitro* cependant que des concentrations moins importantes favoriseraient l'infection et l'induction d'apoptose (*Wang SF, Biochemical and Biophysical Research Communications 2014*). Une étude menée en 2019 par Liu et al dans le modèle d'infection SARS-CoV chez le macaque a mis en évidence le rôle délétère de l'induction d'anticorps anti-S (Liu, *JCI Insight*, 2019). L'infection par le SARS-CoV des macaques chinois se caractérise souvent par un contrôle rapide de la réplication virale sans apparition des lésions pulmonaires caractéristiques de l'infection chez l'Homme. Les résultats de l'étude de Liu et al. suggèrent que cette différence réside dans un contrôle rapide de la réplication virale dans les poumons, qui a culminé entre 24 et 48 heures après l'inoculation et diminuant dans les 7 jours, bien avant la production d'anticorps. Or la vaccination préalable des singes avec un vaccin de type MVA codant la protéine S de SARS-CoV ou l'administration précoce d'anticorps neutralisants anti-S, s'ils induisent un contrôle de la réplication virale, sont à l'origine de lésions pulmonaires identiques à celles observées chez l'Homme en biaisant la réaction de résolution de l'inflammation. Les auteurs montrent que les macrophages alvéolaires subissent une polarisation fonctionnelle démontrant simultanément des propriétés pro-inflammatoires et caractéristiques de cicatrisation. Toutefois la présence d'anticorps anti-S avant la clairance du virus abolit les phénomènes de cicatrisation induit la production de MCP1 et d'IL-8 et le recrutement et l'accumulation de monocytes/macrophages pro-inflammatoires. De manière intéressante, les auteurs montrent que l'adjonction de sérums provenant de patients décédés du SARS-CoV induit des modifications des macrophages conduisant notamment - comme dans le modèle macaque sensibilité par les anticorps anti S - à la production de MCP1 et IL-8, cependant que le blocage de FcγR réduit cet effet. A noter qu'un autre groupe a également trouvé, en utilisant une approche identique, un effet inducteur de lésions pulmonaires d'anticorps anti-nucléocapside dans un modèle murin (*Yasui F, J Immunol, 2008*).

Réponses anticorps contre le SARS-CoV-2

Plusieurs équipes utilisant des techniques différentes ont pu fournir des premières données sur la réponse adaptative anti SARS-CoV-2 concernant essentiellement la réponse humorale, la réponse cellulaire restant elle largement inconnue. Une synthèse des différentes populations et des tests correspondant disponibles à partir des études publiées - ou soumise pour une d'elles, recueillant des données chez plusieurs individus - est présentée dans le tableau 2.

Il est important de comprendre que les études publiées à ce jour ont fait appel à différents types de tests. Les tests utilisés par les différentes équipes avec les protéines correspondantes détectées ont été les suivants :

- *EIA* :avec utilisation de protéines de nucléocapside et RBD (*To KKW, Lancet, 2020*)
- *ELISA* :avec utilisation de protéines de nucléocapside exprimées dans des *E Coli* (*Guo, L Clinical Infectious Diseases 2020.*) ou protéine S, RBD et protéine de nucléocapside exprimées dans HEK-293 T (*Okba, N. et al, Emerg Infect Dis 2020*) et protéine S avec kit commerciaux (EUROIMMUN Medizinische Labordiagnostika AG, <https://www.euroimmun.com> - *Okba, N. et al, Emerg Infect Dis 2020*) nucléocapside et protéine S trimériques (*Grzelak L, 2020*) protéine S et RBD et (*Amat F medRxiv 2020*) protéines S1, S2 et RBD (*Wu F, MedRxiv, 2020*)
- *High-density peptide arrays* : permet de faire l'étude épitopique de la réponse (*Dahlke C medRxiv 2020*)
- *Immunofluorescence* : elle est effectuée sur des cellules VerOB4 exprimant des protéines S de SARS-CoV-2 (*Wolfel R Nature 2020*)

- *Lateral flow immuno assays (LFIA)* : principe identique à l'ELISA avec utilisation comme protéine du RBD dans l'étude en question (cf figure 2) (*Li Z, J Med Virol, 2020*)
- *LIPS* : reconnaît divers antigènes y compris des protéines S et N par immunoprécipitation. (*Grzelak L, 2020*)
- *Neutralisation*: Les tests de neutralisation nécessitant un laboratoire de type L3 ; ce sont souvent des tests de pseudo-neutralisation qui sont effectués avec des pseudovirus exprimant la protéine d'enveloppe du SarCoV2 (*Amat F medRxiv 2020 - Grzelak L, 2020- Wu F, MedRxiv, 2020*) mais des tests de neutralisation en plaque ont également été réalisés (*Wolfel R Nature 2020 - Okba, N. et al, Emerg Infect Dis 2020 - Grzelak L, 2020*)
- *S-Flow assay* : basé sur la reconnaissance de la protéine S au niveau de la surface en cytométrie de flux, (*Grzelak L, 2020*)

Les principaux résultats ont été les suivants :

- *Amanat F et coll (Amat F medRxiv 2020)*. L'intérêt de cette petite étude est triple : elle met en évidence l'absence de cross réactivité des anticorps anti SARS CoV2 avec les coronavirus banals (229E, NL63), elle montre une bonne corrélation entre les tests ELISA et de neutralisation, enfin elle montre que la réponse IgG est de type IgG1 mais surtout IgG3 dont on connaît la plus courte demi-vie.
- *Dahlke et coll (Dahlke C medRxiv 2020)*. La réponse est essentiellement IgA et IgG. Elle est plus précoce en termes d'IgA chez le patient le moins grave et l'étendue de cette réponse baisse au cours du temps alors que c'est le contraire chez le patient le plus grave.
- *Grzelak L et coll (Grzelak L, submitted, 2020)*. Dans cette étude les résultats entre les différents tests sont concordants notamment entre tests non neutralisants et tests de pseudo-neutralisation, mais également entre les tests de pseudo-neutralisation et le test de neutralisation vraie. Les anticorps anti-N apparaissent un peu plus tôt que les anticorps anti-S. Dans les cas graves et critiques la séroconversion est détectable dès 5 à 14 jours après l'apparition des symptômes. L'ensemble des patients développent des anticorps neutralisants après 3 semaines. 209 sérums obtenus de personnes présentant peu de symptômes ont été testés. Les taux varient de 27% à 36% entre les essais, avec une moyenne de 32%. Le fait qu'un tiers seulement des personnes aient été testées positives suggère que certains d'entre eux peuvent ne pas avoir subi de séroconversion au moment du prélèvement, et/ou que d'autres virus ou les causes environnementales sont responsables des symptômes signalés ; en effet le taux de détection par PCR de ces sujets n'est pas précisé et semble faible.
- *Guo et coll (Guo, L Clinical Infectious Diseases 2020.)* a permis de montrer l'absence de cross-réactivité avec des infections à coronavirus non SARS/MERS, mais par contre une cross-réactivité avec des prélèvements de patients infectés par le SARS-CoV-2. On note que les IgM et les IgA étaient tous deux détectables à J5 (médiane ; interquartile respectivement de 3 à 6 jours). Les IgG étaient positifs dans 78% des échantillons. Le temps médian d'apparition des IgG était à J14. L'évolution du taux d'anticorps étaient les suivants : 1) Les IgA et IgM ont augmenté jusqu'à J14 mais plus au-delà ; 2) Les IGG de détection plus tardive ont augmenté jusqu'à un plateau à J21. La détection des IgM en termes de diagnostic précoce semble intéressante dans cette étude ; en effet si le taux de détection positive n'était que de 51,9 % pour un seul test PCR, elle est de 98,6 % lorsqu'un test ELISA IgM est effectué chez les patients ayant un test PCR négatif, et également pour dépister les cas asymptomatiques dans un contexte familial (2 contacts avec PCR- sans symptômes mais IgM+).
- *Li et coll (Li Z, J Med Virol, 2020)* le test développé par cette équipe met en évidence une sensibilité de 89% et une spécificité de 90%. Il n'y a pas de données sur la date de début de symptômes ; donc il n'est pas possible de dater l'apparition des anticorps. Seule la détection couplée des IgG et des IgM donne des résultats avec une bonne sensibilité ; la recherche d'un seul type d'Ig est associée à une sensibilité très médiocre.
- *Okba et coll (Okba, N. et al, Emerg Infect Dis 2020)*. Il ressort que les tests in house sont très spécifiques et très sensibles. L'utilisation de tests dépistant plusieurs protéines (S et N in house ELISA) est plus sensible que celle ne permettant que de dépister les protéines S (ELISA

commerciaux). On retrouve une bonne corrélation entre la présence d'anticorps dépistés par les ELISA in house et les anticorps neutralisants. Enfin les IgG semblent apparaître plus précocement chez les patients avec forme graves (mais peu de sujets dans l'étude) et on ne retrouve pas de réaction croisée avec les réponses contre les coronavirus banals.

- To et coll (*To KKW et al, Lancet, 2020*). Dans cette étude les taux d'anticorps IgG et IgM appariassent à J10. Les Ac anti-RBD apparaissent avant les Ac anti-N. La séroconversion est plus précoce en IgG qu'en IgM. Après J14, 94% sont séropositifs. Les IgG corrélaient mieux que les IgM avec la détection d'anticorps neutralisants. Enfin la présence de comorbidités, la sévérité de la maladie ou l'âge ne semble pas impacter la cinétique des anticorps mais les effectifs sont petits.
- Wolfel et coll (*Wolfel R, Nature, 2020*). On note une séroconversion dès J3 chez un patient, une séroconversion chez 50% des patients à J7 et chez 100% des patients à J14. Un taux d'IgG spécifique plus important que celui des IgM. Enfin la présence d'anticorps neutralisants chez tous les patients mais dont les titres ne suggèrent pas une corrélation étroite avec les évolutions virologique et clinique.
- Wu et coll (*Wu F, medRxiv, 2020*). On note dans cette étude une cross-réactivité avec du sérum de patients SARS-CoV-2 mais pas de cross-neutralisation. Les anticorps neutralisants apparaissent à J10 et ne semble pas augmenter ensuite. Plusieurs groupes de patients ont été individualisés dans cette étude en fonction du niveau d'AcN, ils représentaient respectivement : groupe 1 : 5,7% (non répondeur) ; groupe 2 (faible) : 24,3% ; groupe 3 : 17% (faible-moyen) ; groupe 4 : 39% (moyen-haut) ; groupe 5 : 14% (haut). Par ailleurs le taux d'AcN était significativement plus élevé chez les patients plus âgés (15-39 ans vs 40-59 ans vs 60-80 ans). L'ensemble des données suggère que l'on peut guérir de l'infection en l'absence d'AcN et que ceci est particulièrement vrai pour les plus jeunes. Enfin si elle existe et est statistiquement significative, la corrélation ELISA/ neutralisation est modérée (r de 0,5).

Ref	Patients nombre et genre	Stade	Test utilisé
Amanat, 2020	7 patients Genre non précisé	Non précisé	ELISA, Neutralisation
Daklke, 2020	4 patients 2 F, 2 H	1 S, 1 M, 2 B	High-density peptide arrays
Grezlak 2020	260 patients Genre non précisé	Non précisé beaucoup sans confirmation PCR	Neutralisation
Guo, 2020	208 patients (3 cohortes) Genre non précisé	<i>Cohorte 1</i> 43 C (20 S, 23 MB) 58 NC (5 sévères, 53 M/B) <i>Cohorte 2</i> 8S, 31 M/B <i>Cohorte 3 (famille)</i> 6 dont 2 PCR+ 1 TDM+	ELISA
Li 2020	397 patients Genre non précisé	Pas de détails sur stade et si infection confirmée ou non par PCR	LFIA
Okba, 2020	22 cas (2 cohortes) Genre non précisé	<i>Cohorte 1 (France)</i> 2 M/B, 1 S <i>Cohorte 2 (Allemagne)</i> 19 patients	ELISA Neutralisation
To, 2020	23 patients 10 F, 13 H	10 S, 13 M	EIA, Neutralisation
Wolfel, 2020	9 patients Genre non précisé	Formes B/M	Immunofluorescence Neutralisation
Wu, 2020	175 patients 53% de femmes	Formes B/M (tous PCR+)	ELISA Neutralisation

Tableau 2 – Principales études sérologiques au cours de l'infection par le SARS-CoV-2

(B : forme bénigne, M : forme modérée, S : forme sévère – C : forme confirmée par PCR, NC : non confirmée)

Les tableaux ci-dessous fournissent enfin les résultats non publiés obtenus par les équipes de l'APHP avec des tests commerciaux (Pr Vincent Calvez CHU Pitié-Salpêtrière et Pr Diane Descamps CHU Bichat – APHP Paris)

	BioRad	Euro Immun IgG	EuroImmune IgA	Diapro IgG
Spécificité	100,0	92,9	100,0	100,0
Globale	80,6	72,2	65,5	65,5
J0-J5	40,0	25,0	0,0	0,0
J6-J10	88,9	71,4	50,0	50,0
J11-J15	81,0	66,7	66,7	66,7
J16-J21	92,3	76,9	100,0	100,0
>J21	78,6	91,7	85,7	85,7
Personnel	69,2	56,5	61,9	61,9
Réanimation	100,0	93,8	100,0	100,0

Tableau 3 – Résultats obtenus par le laboratoire de virologie du CHU Pitié Salpêtrière

3 tests ELISA de marques différentes - 21 sérums longitudinaux de patients en réanimation, 43 sérums (personnels et patients) avec PCR positive, 14 sérums autres coronavirus

	BioRad	Euro Immun IgG	EuroImmune IgA
Spécificité	100%	85,70%	71,40%
Globale	97,5%	91,25%	97,50%
J0-J5	-	-	
J6-J10	91%	81,8 %	91%
J11-J15	98,2%	92,9 %	100%
J16-J21	100%	90 %	90 %
>J21	100%	100 %	100%
Personnel	100%	100%	100%
Réanimation	98,2%	91,2%	100%

Tableau 3 – Résultats obtenus par le laboratoire de virologie du CHU Pitié Salpêtrière

2 tests ELISA de marques différentes - 45 sérums longitudinaux de patients en réanimation, 18 sérums (personnels et patients) avec PCR positive, 5 sérums autres coronavirus et pour EuroImmune 2 sérums de palu supplémentaires

Au total

Les données actuellement disponibles laissent à penser que l'infection par le SARS-CoV-2 s'accompagne d'une réponse anticorps essentiellement de type IgA et IgG, la réponse IgM semblant moins importante sans possibilité de savoir si cette moins bonne réponse repose sur une problématique technique. Le taux de séroconversion chez les patients symptomatiques semble important avec un pic à J14. Peu de données sont disponibles chez des patients moins symptomatiques mais les données actuelles laissent à penser que le pic d'anticorps est décalé chez ces patients comme cela est le cas au cours de l'infection par le SARS-CoV. On retrouve une bonne corrélation entre le dépistage des anticorps et une activité neutralisante de ceux-ci dans toutes les études où cette corrélation a été recherchée. La spécificité des anticorps semble très bonne et aucune cross-réactivité n'a été retrouvée avec des infections par des coronavirus banals. Si certains anticorps ont été responsables d'effets délétères au cours de l'infection SARS-CoV ou à tout le moins après les essais de challenge post-vaccinaux dans les modèles animaux, ce type d'effet délétère n'a pas été retrouvé à l'heure actuelle au cours de l'infection SARS-CoV-2. Cependant le peu de recul, la proximité des deux virus et de leur physiopathologie ne permettent pas d'écarter que des anticorps délétères puissent apparaître au cours de l'infection par le SARS-

CoV-2. Enfin si des anticorps délétères ont été retrouvés au cours de l'infection SARS-CoV il est important de rappeler qu'aucun effet d'aggravation de la pathologie n'a été retrouvé dans des modèles animaux en utilisant des sérums de convalescents. Enfin l'étude de Wu F et al. laisse à penser que d'autres mécanismes que les anticorps neutralisants (Ac non neutralisants, réponse T, réponses NK ?) peuvent participer au contrôle de la maladie virale notamment chez les patients les plus jeunes.

Références

- Amanat F et al, A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans, *MedRxiv*, **2020** doi.org/10.1101/2020.03.17.20037713.
- Callow KA, et al, The time course of the immune response to experimental coronavirus infection of man, *Epidemiol Infect*, **1990** ; 105 : 435-46
- Cao WC et al, Disappearance of antibodies to SARS-associated coronavirus after recovery, *N Engl J Med* **2007**;357:1162e3.
- Dahlke C et al, Distinct early IgA profile may determine severity of COVID-19 symptoms: an immunological case series, *medRxiv*, **2020** doi: <https://doi.org/10.1101/2020.04.14.20059733>
- Grezlak L et al, SARS-CoV-2 serological analysis of COVID-19 hospitalized patients, pauci-symptomatic individuals and blood donors, *Submitted* 2020
- Guan Y, et al. Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China. *Science*, **2003**; 302:276–8.
- Guo L et al, Profiling Early Humoral Response to Diagnose Novel Coronavirus Disease (COVID-19), *Clinical Infectious Diseases*, **2020** ; doi: 10.1093/cid/ciaa310
- He Y et al, Cross-neutralization of human and palm civet severe acute respiratory syndrome coronaviruses by antibodies targeting the receptor binding domain of spike protein, *J. Immunol*, **2006** 176, 6085–6092
- Janice Oh HL et al, Understanding the T cell immune response in SARS coronavirus infection., *Emerg Microbes Infect*, **2012**; 1: e23.
- Jaume M et al, Anti-Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Spike Antibodies Trigger Infection of Human Immune Cells via a pH- and Cysteine Protease-Independent FcγR Pathway, *J Virol*, **2011**, 85 (20) : 10582-97
- Jiang S et al, Neutralizing Antibodies against SARS-CoV-2 and Other Human Coronaviruses, *Trends in Immunology*, **2020** <https://doi.org/10.1016/j.it.2020.03.007>
- Li Z et al, Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis, *J Med Virol*, **2020** doi: 10.1002/jmv.25727
- Liu L et al, Anti-spike IgG causes severe acute lung injury by skewing macrophage responses during acute SARS-CoV infection, *JCI Insight*, **2019**;4(4):e123158.
- Liu W et al, Two- Year prospective study of the humoral immune response of patients with severe acute respiratory syndrome, *J Infect Dis*, **2006**; 193:792e5.
- Macnaughton MR, Occurrence and frequency of coronavirus infections in humans as determined by enzyme-linked immunosorbent assay., *Infect Immun*, **1982**; 38: 419-23.
- Monto AS. Medical reviews: Coronaviruses. *Yale J Biol Med* **1974**; 47: 234-51
- Ng OW et al, Memory T cell responses targeting the SARS coronavirus persist up to 11 years post-infection, *Vaccine*, **2016**;34(17):2008-14.
- Okba N et al, Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2-Specific Antibody Responses in Coronavirus Disease 2019 Patients, *Emerg Infect Dis*, **2020**, 26 (7).
- Perlman S & Dandekar AA, Immunopathogenesis of coronavirus infections: implications for SARS. *Nature Reviews Immunology*, **2005**, 5(12):917-927
- Reed SE, The behaviour of recent isolates of human respiratory coronavirus in vitro and in volunteers, *J Med Virol*, **1984**; 13: 179-93.
- Rockx B et al, Structural basis for potent crossneutralizing human monoclonal antibody protection against lethal human and zoonotic severe acute respiratory syndrome coronavirus challenge, *J. Virol.*, **2008** 82, 3220–3235
- Severance EG et al, Development of a Nucleocapsid-Based Human Coronavirus Immunoassay and Estimates of Individuals Exposed to Coronavirus in a U.S. Metropolitan Population, *Clinical and Vaccine Immunology* **2008** 15 :1805-15
- Sui J et al, Potent neutralization of severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus by a human mAb to S1 protein that blocks receptor association. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2004**101, 2536–2541

- Tang F et al, Lack of peripheral memory B cell responses in recovered patients with severe acute respiratory syndrome: a six-year follow-up study, *J Immunol*, **2011**;186:7264e8.
- Tian X et al, Potent binding of 2019 novel coronavirus spike protein by a SARS coronavirus-specific human monoclonal antibody, *Emerg. Microbes Infect*, **2020** 9, 382–385
- To KKW 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*, **2020**, doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30196-1
- Wang SF et al, Antibody-dependent SARS coronavirus infection is mediated by antibodies against spike proteins, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **2014** (451) 208–214
- Watanabe Y et al, Vulnerabilities in coronavirus glycan shields despite extensive glycosylation, *bioRxiv*, **2020**
- Wolfel R et al, Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019, *Nature*, **2020**.
- Wu F et al, Neutralizing antibody responses to SARS-CoV-2 in a COVID-19 recovered patient cohort and their implications *MedRxiv*, **2020**, doi.org/10.1101/2020.03.30.20047365.
- Wu LP et al, Duration of antibody responses after severe acute respiratory syndrome. *Emerg Infect Dis* **2007**;13(10):1562e4.
- Yasui F et al, Prior Immunization with Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS)-Associated Coronavirus (SARS-CoV) Nucleocapsid Protein Causes Severe Pneumonia in Mice Infected with SARS-CoV, *J Immunol*, **2008**; 181:6337-6348;
- Yip MS et al, Antibody-dependent infection of human macrophages by severe acute respiratory syndrome coronavirus, *Virology Journal*, **2014**, 11:82
- Zhao J & Perlman S, T cell responses are required for protection from clinical disease and for virus clearance in severe acute respiratory syndrome coronavirus-infected mice, *J Virol*, **2010**; 84: 9318–9325.
- Zhiang L et al, Antibody Responses Against SARS Coronavirus Are Correlated With Disease Outcome of Infected Individuals, *J. Med. Virol*, **2006**.78:1–8,
- Zhu Z et al, Potent cross-reactive neutralization of SARS coronavirus isolates by human monoclonal antibodies, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A*, **2007** 104, 12123–12128

Annexe 5 : critères de gravité (tableaux 1 à 3)

Tableau 1 : critères de gravité essai CORIMUNO

Critères CORIMUNO

1. Cas présentant une forme modérée

Cas présentant l'ensemble des critères ci-dessous :

- Fièvre et des symptômes respiratoires avec des signes radiologiques de pneumonie.
- Nécessitant entre 3L/min et 5L/min d'oxygène pour maintenir une SpO₂ >97%

2. Cas graves

Cases présentant au moins un des critères ci-dessous.

- Dyspnée (≥ 30 cycles/ min);
- Saturation O₂ $\leq 93\%$ au repos en air ambiant; or saturation O₂ $\leq 97\%$ sous 5L/min.
- PaO₂/FiO₂ ≤ 300 mmHg

Tableau 2

Echelle de classement du Covid-19 (OMS)

OMS Progression scale	Descriptor	Score
Uninfected	Uninfected; non viral RNA detected	0
Ambulatory	Asymptomatic; viral RNA detected	1
Ambulatory	Symptomatic; Independent	2
Ambulatory	Symptomatic; Assistance needed	3
Hospitalized : mild disease	Hospitalized; No oxygen therapy	4
Hospitalized : mild disease	Hospitalized; oxygen by mask or nasal prongs	5
Hospitalized : severe disease	Hospitalized; oxygen by NIV or High flow	6
Hospitalized : severe disease	Intubation and Mechanical ventilation, $pO_2/FIO_2 \geq 150$ OR $SpO_2/FIO_2 \geq 200$	7
Hospitalized : severe disease	Mechanical ventilation, ($pO_2/FIO_2 < 150$ OR $pO_2/FIO_2 < 200$) OR vasopressors (norepinephrine > 0.3 microg/kg/min)	8
Hospitalized : severe disease	Mechanical ventilation, $pO_2/FIO_2 < 150$ AND vasopressors (norepinephrine > 0.3 microg/kg/min), OR Dialysis OR ECMO	9
Death	Dead	10

Tableau 3 :

Critères de gravité du Covid-19 figurant dans l'avis HCSP du 23 mars 2020

1. Les signes suivants sont des indications d'hospitalisation :

- Polypnée (fréquence respiratoire > 24 cycles/min au repos).
- Oxymétrie de pouls (SpO₂) < 95% en air ambiant.
- Pression artérielle < 100 mm Hg.
- Troubles de la vigilance.
- Altération brutale de l'état général ou de la vigilance chez le sujet âgé.

2. Critères d'alerte en hospitalisation :

- Température > 40°C.
- Fréquence respiratoire supérieur à 24 cycles/min.
- SpO₂ < 90% en air ambiant ou oxygénorequérance > 3L/mn*
- PaO₂ < 70 mm Hg sur gaz du sang artériel.
- PA systolique < 100 mm Hg.
- Troubles de la vigilance.
- Lactates artériels > 2 mmol/L.
- Anomalies bilatérales à la radiographie ou au scanner thoracique.

Le 27 avril 2020

Haut Conseil de la santé publique

14 avenue Duquesne

75350 Paris 07 SP

www.hcsp.fr