



**HAL**  
open science

# Les auto-anticorps anti-phospholipides dans la COVID-19 : marqueurs d'auto-immunité et de gravité de la COVID-19 ?

Samuel Weber

## ► To cite this version:

Samuel Weber. Les auto-anticorps anti-phospholipides dans la COVID-19 : marqueurs d'auto-immunité et de gravité de la COVID-19 ?. Sciences du Vivant [q-bio]. 2021. dumas-03368165

**HAL Id: dumas-03368165**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03368165>**

Submitted on 6 Oct 2021

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**Les auto-anticorps anti-phospholipides dans la COVID-19 : marqueurs  
d'auto-immunité et de gravité de la COVID-19 ?**

**T H E S E**

**Présentée et publiquement soutenue devant**

**LA FACULTÉ DES SCIENCES MEDICALES ET PARAMEDICALES  
DE MARSEILLE**

**Le 30 Septembre 2021**

**Par Monsieur Samuel WEBER**

**Né le 17 novembre 1992 à Aix-En-Provence (13)**

**Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine**

**D.E.S. de BIOLOGIE MÉDICALE**

**Membres du Jury de la Thèse :**

**Monsieur le Professeur MEGE Jean-Louis**

**Président**

**Madame le Professeur BARDIN Nathalie**

**Directeur**

**Monsieur le Docteur (MCU-PH) SUCHON Pierre**

**Assesseur**

## FACULTÉ DES SCIENCES MÉDICALES & PARAMÉDICALES

<b>Doyen</b>	:	<b>Pr. Georges LEONETTI</b>
Vice-Doyen aux affaires générales	:	Pr. Patrick DESSI
Vice-Doyen aux professions paramédicales	:	Pr. Philippe BERBIS
Conseiller	:	Pr. Patrick VILLANI

### **Assesseurs :**

➤ aux études	:	Pr. Kathia CHAUMOITRE
➤ à la recherche	:	Pr. Jean-Louis MEGE
➤ à l'unité mixte de formation continue en santé	:	Pr. Justin MICHEL
➤ pour le secteur NORD	:	Pr. Stéphane BERDAH
➤ Groupements Hospitaliers de territoire	:	Pr. Jean-Noël ARGENSON
➤ aux masters	:	Pr. Pascal ADALIAN

### **Chargés de mission :**

➤ sciences humaines et sociales	:	Pr. Pierre LE COZ
➤ relations internationales	:	Pr. Stéphane RANQUE
➤ DU/DIU	:	Pr. Véronique VITTON
➤ DPC, disciplines médicales & biologiques	:	Pr. Frédéric CASTINETTI
➤ DPC, disciplines chirurgicales	:	Dr. Thomas GRAILLON

## ÉCOLE DE MEDECINE

<b>Directeur</b>	:	<b>Pr. Jean-Michel VITON</b>
------------------	---	------------------------------

### **Chargés de mission**

▪ PACES – Post-PACES	:	Pr. Régis GUIEU
▪ DFGSM	:	Pr. Anne-Laure PELISSIER
▪ DFASM	:	Pr. Marie-Aleth RICHARD
▪ DFASM	:	Pr. Marc BARTHET
▪ Préparation aux ECN	:	Dr Aurélie DAUMAS
▪ DES spécialités	:	Pr. Pierre-Edouard FOURNIER
▪ DES stages hospitaliers	:	Pr. Benjamin BLONDEL
▪ DES MG	:	Pr. Christophe BARTOLI
▪ Démographie médicale	:	Dr. Noémie RESSEGUIER
▪ Etudiant	:	Elise DOMINJON

## ÉCOLE DE DE MAIEUTIQUE

**Directrice** : **Madame Carole ZAKARIAN**

**Chargés de mission**

- 1<sup>er</sup> cycle : Madame Estelle BOISSIER
- 2<sup>ème</sup> cycle : Madame Cécile NINA

## ÉCOLE DES SCIENCES DE LA RÉADAPTATION

**Directeur** : **Monsieur Philippe SAUVAGEON**

**Chargés de mission**

- Masso- kinésithérapie 1<sup>er</sup> cycle : Madame Béatrice CAORS
- Masso-kinésithérapie 2<sup>ème</sup> cycle : Madame Joannie HENRY
- Mutualisation des enseignements : Madame Géraldine DEPRES

## ÉCOLE DES SCIENCES INFIRMIERES

**Directeur** : **Monsieur Sébastien COLSON**

**Chargés de mission**

- Chargée de mission : Madame Sandrine MAYEN RODRIGUES
- Chargé de mission : Monsieur Christophe ROMAN

## PROFESSEURS HONORAIRES

MM	AGOSTINI Serge	MM	DEVRED Philippe
	ALDIGHERI René		DJIANE Pierre
	ALESSANDRINI Pierre		DONNET Vincent
	ALLIEZ Bernard		DUCASSOU Jacques
	AQUARON Robert		DUFOUR Michel
	ARGEME Maxime		DUMON Henri
	ASSADOURIAN Robert		ENJALBERT Alain
	AUFFRAY Jean-Pierre		FAUGERE Gérard
	AUTILLO-TOUATI Amapola		FAVRE Roger
	AZORIN Jean-Michel		FIECHI Marius
	BAILLE Yves		FARNARIER Georges
	BARDOT Jacques		FIGARELLA Jacques
	BARDOT André		FONTES Michel
	BERARD Pierre		FRANCES Yves
	BERGOIN Maurice		FRANCOIS Georges
	BERLAND Yvon		FUENTES Pierre
	BERNARD Dominique		GABRIEL Bernard
	BERNARD Jean-Louis		GALINIER Louis
	BERNARD Jean-Paul		GALLAIS Hervé
	BERNARD Pierre-Marie		GAMERRE Marc
	BERTRAND Edmond		GARCIN Michel
	BISSET Jean-Pierre		GARNIER Jean-Marc
	BLANC Bernard		GAUTHIER André
	BLANC Jean-Louis		GERARD Raymond
	BOLLINI Gérard		GEROLAMI-SANTANDREA André
	BONGRAND Pierre		GIUDICELLI Sébastien
	BONNEAU Henri		GOUDARD Alain
	BONNOIT Jean		GOUIN François
	BORY Michel		GRILLO Jean-Marie
	BOTTA Alain		GRIMAUD Jean-Charles
	BOTTA-FRIDLUND Danielle		GRISOLI François
	BOURGEADE Augustin		GROULIER Pierre
	BOUVENOT Gilles		HADIDA/SAYAG Jacqueline
	BOUYALA Jean-Marie		HASSOUN Jacques
	BREMOND Georges		HEIM Marc
	BRICOT René		HOUEL Jean
	BRUNET Christian		HUGUET Jean-François
	BUREAU Henri		JAQUET Philippe
	CAMBOULIVES Jean		JAMMES Yves
	CANNONI Maurice		JOUVE Paulette
	CARTOUZOU Guy		JUHAN Claude
	CAU Pierre		JUIN Pierre
	CHABOT Jean-Michel		KAPHAN Gérard
	CHAMLIAN Albert		KASBARIAN Michel
	CHARPIN Denis		KLEISBAUER Jean-Pierre
	CHARREL Michel		LACHARD Jean

CHAUVEL Patrick  
CHOUX Maurice  
CIANFARANI François  
CLAVERIE Jean-Michel  
CLEMENT Robert  
COMBALBERT André  
CONTE-DEVOLX Bernard  
CORRIOL Jacques  
COULANGE Christian  
CURVALE Georges  
DALMAS Henri  
DE MICO Philippe  
DELPERO Jean-Robert  
DESSEIN Alain  
DELARQUE Alain  
DEVIN Robert

LAFFARGUE Pierre  
LAUGIER René  
LE TREUT Yves  
LEVY Samuel  
LOUCHET Edmond  
LOUIS René  
LUCIANI Jean-Marie  
MAGALON Guy  
MAGNAN Jacques  
MALLAN- MANCINI Josette  
MALMEJAC Claude  
MARANINCHI Dominique  
MARTIN Claude  
MATTEI Jean François  
MERCIER Claude  
METGE Paul

MM MICHOTÉY Georges  
MIRANDA François  
MONFORT Gérard  
MONGES André  
MONGIN Maurice  
MUNDLER Olivier  
NAZARIAN Serge  
NICOLI René  
NOIRCLERC Michel  
OLMER Michel  
OREHEK Jean  
PAPY Jean-Jacques  
PAULIN Raymond  
PELOUX Yves  
PENAUD Antony  
PENE Pierre  
PIANA Lucien  
PICAUD Robert  
PIGNOL Fernand  
POGGI Louis  
POITOUT Dominique  
PONCET Michel  
POUGET Jean  
PRIVAT Yvan  
QUILICHINI Francis  
RANQUE Jacques  
RANQUE Philippe  
RICHAUD Christian  
RIDINGS Bernard  
ROCHAT Hervé  
ROHNER Jean-Jacques  
ROUX Hubert

VANUXEM Paul  
VERVLOET Daniel  
VIALETTES Bernard  
WEILLER Pierre-Jean

ROUX Michel  
RUFO Marcel  
SAHEL José  
SALAMON Georges  
SALDUCCI Jacques  
SAMBUC Roland  
SAN MARCO Jean-Louis  
SANKALE Marc  
SARACCO Jacques  
SARLES Jacques  
SARLES - PHILIP Nicole  
SASTRE Bernard  
SCHIANO Alain  
SCOTTO Jean-Claude  
SEBAHOUN Gérard  
SEITZ Jean-François  
SERMENT Gérard  
SOULAYROL René  
STAHL André  
TAMALET Jacques  
TARANGER-CHARPIN Colette  
THIRION Xavier  
THOMASSIN Jean-Marc  
UNAL Daniel  
VAGUE Philippe  
VAGUE/JUHAN Irène

## EMERITAT

### 2008

M. le Professeur	LEVY Samuel	31/08/2011
Mme le Professeur	JUHAN-VAGUE Irène	31/08/2011
M. le Professeur	PONCET Michel	31/08/2011
M. le Professeur	KASBARIAN Michel	31/08/2011
M. le Professeur	ROBERTOUX Pierre	31/08/2011

### 2009

M. le Professeur	DJIANE Pierre	31/08/2011
M. le Professeur	VERVLOET Daniel	31/08/2012

### 2010

M. le Professeur	MAGNAN Jacques	31/12/2014
------------------	----------------	------------

### 2011

M. le Professeur	DI MARINO Vincent	31/08/2015
M. le Professeur	MARTIN Pierre	31/08/2015
M. le Professeur	METRAS Dominique	31/08/2015

### 2012

M. le Professeur	AUBANIAC Jean-Manuel	31/08/2015
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2015
M. le Professeur	CAMBOULIVES Jean	31/08/2015
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2015
M. le Professeur	MATTEI Jean-François	31/08/2015
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2015
M. le Professeur	VERVLOET Daniel	31/08/2015

### 2013

M. le Professeur	BRANCHEREAU Alain	31/08/2016
M. le Professeur	CARAYON Pierre	31/08/2016
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2016
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2016
M. le Professeur	HENRY Jean-François	31/08/2016
M. le Professeur	LE GUICHAOUA Marie-Roberte	31/08/2016
M. le Professeur	RUFO Marcel	31/08/2016
M. le Professeur	SEBAHOUN Gérard	31/08/2016

### 2014

M. le Professeur	FUENTES Pierre	31/08/2017
M. le Professeur	GAMERRE Marc	31/08/2017
M. le Professeur	MAGALON Guy	31/08/2017
M. le Professeur	PERAGUT Jean-Claude	31/08/2017
M. le Professeur	WEILLER Pierre-Jean	31/08/2017

**2015**

M. le Professeur	COULANGE Christian	31/08/2018
M. le Professeur	COURAND François	31/08/2018
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2016
M. le Professeur	MATTEI Jean-François	31/08/2016
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2016
M. le Professeur	VERVLOET Daniel	31/08/2016

**2016**

M. le Professeur	BONGRAND Pierre	31/08/2019
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2017
M. le Professeur	BRUNET Christian	31/08/2019
M. le Professeur	CAU Pierre	31/08/2019
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2017
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2017
M. le Professeur	FONTES Michel	31/08/2019
M. le Professeur	JAMMES Yves	31/08/2019
M. le Professeur	NAZARIAN Serge	31/08/2019
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2017
M. le Professeur	POITOUT Dominique	31/08/2019
M. le Professeur	SEBAHOUN Gérard	31/08/2017
M. le Professeur	VIALETTES Bernard	31/08/2019

**2017**

M. le Professeur	ALESSANDRINI Pierre	31/08/2020
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2018
M. le Professeur	CHAUVEL Patrick	31/08/2020
M. le Professeur	COZZONE Pierre	31/08/2018
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2018
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2018
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2018
M. le Professeur	SEBBAHOUN Gérard	31/08/2018

**2018**

M. le Professeur	MARANINCHI Dominique	31/08/2021
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2019
M. le Professeur	COZZONE Pierre	31/08/2019
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2019
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2019
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2019

**2019**

M. le Professeur	BERLAND Yvon	31/08/2022
M. le Professeur	CHARPIN Denis	31/08/2022
M. le Professeur	CLAVERIE Jean-Michel	31/08/2022
M. le Professeur	FRANCES Yves	31/08/2022
M. le Professeur	CAU Pierre	31/08/2020
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2020
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2020

M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2020
M. le Professeur	FONTES Michel	31/08/2020
M. le Professeur	MAGALON Guy	31/08/2020
M. le Professeur	NAZARIAN Serge	31/08/2020
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2020
M. le Professeur	WEILLER Pierre-Jean	31/08/2020

2020

M. le Professeur	DELPERO Jean-Robert	31/08/2023
M. le Professeur	GRIMAUD Jean-Charles	31/08/2023
M. le Professeur	SAMBUC Roland	31/08/2023
M. le Professeur	SEITZ Jean-François	31/08/2023
M. le Professeur	BERLAND Yvon	31/08/2022
M. le Professeur	CHARPIN Denis	31/08/2022
M. le Professeur	CLAVERIE Jean-Michel	31/08/2022
M. le Professeur	FRANCES Yves	31/08/2022
M. le Professeur	BONGRAND Pierre	31/08/2021
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2021
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2021
M. le Professeur	FONTES Michel	31/08/2021
M. le Professeur	NAZARIAN Serge	31/08/2021

## Honoris causa

<b>1967</b>	
MM. les Professeurs	DADI (Italie) CID DOS SANTOS (Portugal)
<b>1974</b>	
MM. les Professeurs	MAC ILWAIN (Grande-Bretagne) T.A. LAMBO (Suisse)
<b>1975</b>	
MM. les Professeurs	O. SWENSON (U.S.A.) Lord J.WALTON of DETCHANT (Grande-Bretagne)
<b>1976</b>	
MM. les Professeurs	P. FRANCHIMONT (Belgique) Z.J. BOWERS (U.S.A.)
<b>1977</b>	
MM. les Professeurs	C. GAJDUSEK-Prix Nobel (U.S.A.) C.GIBBS (U.S.A.) J. DACIE (Grande-Bretagne)
<b>1978</b>	
M. le Président	F. HOUPHOUET-BOIGNY (Côte d'Ivoire)
<b>1980</b>	
MM. les Professeurs	A. MARGULIS (U.S.A.) R.D. ADAMS (U.S.A.)
<b>1981</b>	
MM. les Professeurs	H. RAPPAPORT (U.S.A.) M. SCHOU (Danemark) M. AMENT (U.S.A.) Sir A. HUXLEY (Grande-Bretagne) S. REFSUM (Norvège)
<b>1982</b>	
M. le Professeur	W.H. HENDREN (U.S.A.)
<b>1985</b>	
MM. les Professeurs	S. MASSRY (U.S.A.) KLINSMANN (R.D.A.)
<b>1986</b>	
MM. les Professeurs	E. MIHICH (U.S.A.) T. MUNSAT (U.S.A.) LIANA BOLIS (Suisse) L.P. ROWLAND (U.S.A.)

<b>1987</b>	
M. le Professeur	P.J. DYCK (U.S.A.)
<b>1988</b>	
MM. les Professeurs	R. BERGUER (U.S.A.) W.K. ENGEL (U.S.A.) V. ASKANAS (U.S.A.) J. WEHSTER KIRKLIN (U.S.A.) A. DAVIGNON (Canada) A. BETTARELLO (Brésil)
<b>1989</b>	
M. le Professeur	P. MUSTACCHI (U.S.A.)
<b>1990</b>	
MM. les Professeurs	J.G. MC LEOD (Australie) J. PORTER (U.S.A.)
<b>1991</b>	
MM. les Professeurs	J. Edward MC DADE (U.S.A.) W. BURGDORFER (U.S.A.)
<b>1992</b>	
MM. les Professeurs	H.G. SCHWARZACHER (Autriche) D. CARSON (U.S.A.) T. YAMAMURO (Japon)
<b>1994</b>	
MM. les Professeurs	G. KARPATI (Canada) W.J. KOLFF (U.S.A.)
<b>1995</b>	
MM. les Professeurs	D. WALKER (U.S.A.) M. MULLER (Suisse) V. BONOMINI (Italie)
<b>1997</b>	
MM. les Professeurs	C. DINARELLO (U.S.A.) D. STULBERG (U.S.A.) A. MEIKLE DAVISON (Grande-Bretagne) P.I. BRANEMARK (Suède)
<b>1998</b>	
MM. les Professeurs	O. JARDETSKY (U.S.A.)
<b>1999</b>	
MM. les Professeurs	J. BOTELLA LLUSIA (Espagne)

D. COLLEN (Belgique)  
S. DIMAURO (U. S. A.)

**2000**

MM. les Professeurs

D. SPIEGEL (U. S. A.)  
C. R. CONTI (U.S.A.)

**2001**

MM. les Professeurs

P-B. BENNET (U. S. A.)  
G. HUGUES (Grande Bretagne)  
J-J. O'CONNOR (Grande Bretagne)

**2002**

MM. les Professeurs

M. ABEDI (Canada)  
K. DAI (Chine)

**2003**

M. le Professeur  
Sir

T. MARRIE (Canada)  
G.K. RADDI (Grande Bretagne)

**2004**

M. le Professeur

M. DAKE (U.S.A.)

**2005**

M. le Professeur

L. CAVALLI-SFORZA (U.S.A.)

**2006**

M. le Professeur

A. R. CASTANEDA (U.S.A.)

**2007**

M. le Professeur

S. KAUFMANN (Allemagne)

PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

AGOSTINI FERRANDES Aubert	CHOSSEGROS Cyrille
ALBANESE Jacques	COLLART Frédéric
ALIMI Yves	COSTELLO Régis
AMABILE Philippe	COURBIERE Blandine
AMBROSI Pierre	COWEN Didier
ANDRE Nicolas	CRAVELLO Ludovic
ARGENSON Jean-Noël	CUISSET Thomas
ASTOUL Philippe	DA FONSECA David
ATTARIAN Shahram	DAHAN-ALCARAZ Laetitia
AUDOUIN Bertrand	DANIEL Laurent
AUQUIER Pascal	DARMON Patrice
AVIERINOS Jean-François	DAVID Thierry
AZULAY Jean-Philippe	D'ERCOLE Claude
BAILLY Daniel	D'JOURNO Xavier
BARLESI Fabrice	DEHARO Jean-Claude
BARLIER-SETTI Anne	DELAPORTE Emmanuel
BARLOGIS Vincent	DENIS Danièle
BARTHET Marc	DISDIER Patrick
BARTOLI Christophe	DODDOLI Christophe
BARTOLI Jean-Michel	DRANCOURT Michel
BARTOLI Michel	DUBUS Jean-Christophe
BARTOLOMEI Fabrice	DUFFAUD Florence
BASTIDE Cyrille	DUFOUR Henry
BENSOUSSAN Laurent	DURAND Jean-Marc
BERBIS Philippe	DUSSOL Bertrand
BERBIS Julie	EBBO Mikael
BERDAH Stéphane	EUSEBIO Alexandre
BEROUD Christophe	FABRE Alexandre
BERTUCCI François	FAKHRY Nicolas
BLAISE Didier	FELICIAN Olivier
BLIN Olivier	FENOLLAR Florence
BLONDEL Benjamin	FIGARELLA/BRANGER Dominique
BONIN/GUILLAUME Sylvie	FLECHER Xavier
BONELLO Laurent	FOUILLOUX Virginie
BONNET Jean-Louis	FOURNIER Pierre-Edouard
<i>BOUBLI Léon Surnombre</i>	FRANCESCHI Frédéric
BOUFI Mourad	FUENTES Stéphane
BOYER Laurent	GABERT Jean
BREGEON Fabienne	GABORIT Bénédicte
BRETELLE Florence	GAINNIER Marc
BROUQUI Philippe	GARCIA Stéphane
BRUDER Nicolas	GARIBOLDI Vlad
BRUE Thierry	GAUDART Jean
BRUNET Philippe	GAUDY-MARQUESTE Caroline
BURTEY Stéphane	GENTILE Stéphanie
CARCOPINO-TUSOLI Xavier	GERBEAUX Patrick
CASANOVA Dominique	GEROLAMI/SANTANDREA René
CASTINETTI Frédéric	GILBERT/ALESSI Marie-Christine
CECCALDI Mathieu	GIORGI Roch
CHAGNAUD Christophe	GIOVANNI Antoine
CHAMBOST Hervé	GIRARD Nadine
CHAMPSAUR Pierre	GIRAUD/CHABROL Brigitte
CHANEZ Pascal	GONCALVES Anthony
CHARAFFE-JAUFFRET Emmanuelle	GRANEL/REY Brigitte
CHARREL Rémi	GRANVAL Philippe
CHAUMOITRE Kathia	GREILLIER Laurent
CHIARONI Jacques	GROB Jean-Jacques
CHINOT Olivier	GUEDJ Eric

# PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

PAGANELLI Franck	ROCHE Pierre-Hugues
<i>PANUEL Michel Surnombre</i>	ROCH Antoine
PAPAZIAN Laurent	ROCHWERGER Richard
PAROLA Philippe	ROLL Patrice
<i>PARRATTE Sébastien Disponibilité</i>	ROSSI Dominique
PELLISSIER-ALICOT Anne-Laure	ROSSI Pascal
PELLETIER Jean	ROUDIER Jean
PERRIN Jeanne	SALAS Sébastien
PETIT Philippe	SARLON-BARTOLI Gabrielle
PHAM Thao	SCAVARDA Didier
PIERCECCHI/MARTI Marie-Dominique	SCHLEINITZ Nicolas
PIQUET Philippe	SEBAG Frédéric
PIRRO Nicolas	SIELEZNEFF Igor
POINSON François	SIMON Nicolas
RACCAH Denis	STEIN Andréas
RANQUE Stéphane	TAIEB David
<i>RAOULT Didier Surnombre</i>	THOMAS Pascal
REGIS Jean	THUNY Franck
REYNAUD/GAUBERT Martine	TREBUCHON-DA FONSECA Agnès
REYNAUD Rachel	TRIGLIA Jean-Michel
RICHARD/LALLEMAND Marie-Aleth	TROPIANO Patrick
RICHERI Raphaëlle	TSIMARATOS Michel

## PROFESSEUR DES UNIVERSITES

ADALIAN Pascal  
AGHABABIAN Valérie  
BELIN Pascal  
CHABANNON Christian  
CHABRIERE Eric  
FERON François  
LE COZ Pierre  
LEVASSEUR Anthony  
RANJEVA Jean-Philippe  
SOBOL Hagay

## PROFESSEUR CERTIFIE

*BRANDENBURGER Chantal retraite mars 2021*  
FRAISSE-MANGIALOMINI Jeanne

## PROFESSEUR DES UNIVERSITES ASSOCIE à MI

REVIS Joana

## PROFESSEUR DES UNIVERSITES MEDECINE GEN

GENTILE Gaëtan

## PROFESSEUR ASSOCIE DE MEDECINE GENERALE

GUIDA Pierre

## PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

GUIEU Régis  
GUIS Sandrine  
GUYE Maxime  
GUYOT Laurent  
*GUYS Jean-Michel Surnombre*  
HABIB Gilbert  
HARDWIGSEN Jean  
HARLE Jean-Robert  
HOUVENAEGHEL Gilles  
JACQUIER Alexis  
JOURDE-CHICHE Noémie  
JOUVE Jean-Luc  
KAPLANSKI Gilles  
KARSENTY Gilles  
*KERBAUL François détachement*  
KRAHN Martin  
LAFFORGUE Pierre  
LAGIER Jean-Christophe  
LAMBAUDIE Eric  
LANCON Christophe  
LA SCOLA Bernard  
LAUNAY Franck  
LAVIEILLE Jean-Pierre  
LE CORROLLER Thomas  
LECHEVALLIER Eric  
LEGRE Régis  
LEHUCHER-MICHEL Marie-Pascale  
LEONE Marc  
LEONETTI Georges  
LEPIDI Hubert  
LEVY Nicolas  
MACE Loïc  
MAGNAN Pierre-Edouard  
MANCINI Julien  
MEGE Jean-Louis  
MERROT Thierry  
METZLER/GUILLEMAIN Catherine  
MEYER/DUTOUR Anne  
MICCALEF/ROLL Joëlle  
MICHEL Fabrice  
MICHEL Gérard  
MICHEL Justin  
MICHELET Pierre  
MILH Mathieu  
MILLION Matthieu  
MOAL Valérie  
MORANGE Pierre-Emmanuel  
MOULIN Guy  
MOUTARDIER Vincent  
NAUDIN Jean  
NICOLAS DE LAMBALLERIE Xavier  
NICOLLAS Richard  
NGUYEN Karine  
OLIVE Daniel  
OLLIVIER Matthieu  
OUAFIK L'Houcine  
OVAERT-REGGIO Caroline  
PADOVANI Laetitia

## PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

TURRINI Olivier

VALERO René

VAROQUAUX Arthur Damien

VELLY Lionel

VEY Norbert

VIDAL Vincent

VIENS Patrice

VILLANI Patrick

VITON Jean-Michel

VITTON Véronique

*VIEHWEGER Heide Elke détachement*

VIVIER Eric

XERRI Luc

AHERFI Sarah	ELDIN Carole	PAULMYER/LACROIX Odile
ANGELAKIS Emmanouil ( <i>disponibilité</i> )	FAURE Alice	PESENTI Sébastien
ATLAN Catherine ( <i>disponibilité</i> )	FOLETTI Jean- Marc	RADULESCO Thomas
BEGE Thierry	FRANKEL Diane	RESSEGUIER Noémie
BELIARD Sophie	FROMNOT Julien	ROBERT Philippe
BENYAMINE Audrey	GASTALDI Marguerite	ROBERT Thomas
BERTRAND Baptiste	GELSI/BOYER Véronique	ROMANET Pauline
BEYER-BERJOT Laura	GIUSIANO Bernard	SABATIER Renaud
BIRNBAUM David	GIUSIANO COURCAMBECK Sophie	SARI-MINODIER Irène
BONINI Francesca	GONZALEZ Jean-Michel	SAVEANU Alexandru
BOUCRAUT Joseph	GOURIET Frédérique	SECQ Véronique ( <i>disponibilité</i> )
BOULAMERY Audrey	GRAILLON Thomas	STELLMANN Jan-Patrick
BOULLU/CIOCCA Sandrine	GUERIN Carole	SUCHON Pierre
BOUSSEN Salah Michel	GUENOUN MEYSSIGNAC Daphné	TABOURET Emeline
BUFFAT Christophe	GUIDON Catherine	TOGA Caroline
CAMILLERI Serge	GUIVARCH Jokthan	TOGA Isabelle
CARRON Romain	HAUTIER/KRAHN Aurélie	TOMASINI Pascale
CASSAGNE Carole	HRAIECH Sami	TOSELLO Barthélémy
CERMOLACCE Michel	KASPI-PEZZOLI Elise	TROUSSE Delphine
CHAUDET Hervé	L'OLLIVIER Coralie	TUCHTAN-TORRENTS Lucile
CHRETIEN Anne-Sophie	LABIT-BOUVIER Corinne	VELY Frédéric
COZE Carole	LAFAGE/POCHITALOFF-HUVALE Marina	VION-DURY Jean
CUNY Thomas	LAGARDE Stanislas	ZATTARA/CANNONI Héléne
DADOUN Frédéric ( <i>disponibilité</i> )	LAGIER Aude ( <i>disponibilité</i> )	
DALES Jean-Philippe	LAGOUANELLE/SIMEONI Marie-Claude	
DARIEL Anne	LEVY/MOZZICONACCI Annie	
DAUMAS Aurélie	LOOSVELD Marie	
DEGEORGES/VITTE Joëlle	MAAROUF Adil	
DELLIAUX Stéphane	MACAGNO Nicolas	
DESPLAT/JEGO Sophie	MAUES DE PAULA André	
DEVILLIER Raynier	MEGE Diane	
DUBOURG Grégory	MOTTOLA GHIGO Giovanna	
DUCONSEIL Pauline	NINOVE Laetitia	
DUFOUR Jean-Charles	NOUGAIREDE Antoine	

## MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

(mono-appartenants)

ABU ZAINEH Mohammad	DESNUES Benoît	RUEL Jérôme
BARBACARU/PERLES T. A.	MARANINCHI Marie	THOLLON Lionel
BERLAND Caroline	MERHEJ/CHAUVEAU Vicky	THIRION Sylvie
BOYER Sylvie	MINVIELLE/DEVICTOR Bénédicte	VERNA Emeline
COLSON Sébastien	POGGI Marjorie	
DEGIOANNI/SALLE Anna	POUGET Benoît	

## MAITRE DE CONFERENCES DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

CASANOVA Ludovic

## MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES DE MEDECINE GENERALE à MI-TEMPS

BARGIER Jacques  
 CALVET-MONTREDON Céline  
 FORTE Jenny  
 JANCZEWSKI Aurélie  
 NUSSLI Nicolas  
 ROUSSEAU-DURAND Raphaëlle

THERY Didier

**MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE à MI-TEMPS**

BOURRIQUEN Maryline

EVANS-VIALLAT Catherine

LAZZAROTTO Sébastien

LUCAS Guillaume

MATHIEU Marion

MAYENS-RODRIGUES Sandrine

MELLINAS Marie

ROMAN Christophe

TRINQUET Laure

**ESSEURS DES UNIVERSITES et MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS  
PROFESSEURS ASSOCIES, MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES mono-appartenants**

**ANATOMIE 4201**

CHAMPSAUR Pierre (PU-PH)  
LE CORROLLER Thomas (PU-PH)  
PIRRO Nicolas (PU-PH)

GUENOUN-MEYSSIGNAC Daphné (MCU-PH)  
LAGIER Aude (MCU-PH) *disponibilité*

THOLLON Lionel (MCF) (60ème section)

**ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES 4203**

CHARAFE/JAUFFRET Emmanuelle (PU-PH)  
DANIEL Laurent (PU-PH)  
FIGARELLA/BRANGER Dominique (PU-PH)  
GARCIA Stéphane (PU-PH)  
XERRI Luc (PU-PH)

DALES Jean-Philippe (MCU-PH)  
GIUSIANO COURCAMBECK Sophie (MCU PH)  
LABIT/BOUVIER Corinne (MCU-PH)  
MACAGNO Nicolas (MCU-PH)  
MAUES DE PAULA André (MCU-PH)  
SECQ Véronique (MCU-PH) *disponibilité*

**ANESTHESIOLOGIE ET REANIMATION CHIRURGICALE ;  
MEDECINE URGENCE 4801**

ALBANESE Jacques (PU-PH)  
BRUDER Nicolas (PU-PH)  
LEONE Marc (PU-PH)  
MICHEL Fabrice (PU-PH)  
VELLY Lionel (PU-PH)

BOUSSEN Salah Michel (MCU-PH)  
GUIDON Catherine (MCU-PH)

**ANTHROPOLOGIE 20**

ADALIAN Pascal (PR)

DEGIOANNI/SALLE Anna (MCF)  
POUGET Benoît (MCF)  
VERNA Emeline (MCF)

**BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE ; HYGIENE HOSPITALIERE 4501**

CHARREL Rémi (PU PH)  
DRANCOURT Michel (PU-PH)  
FENOLLAR Florence (PU-PH)  
FOURNIER Pierre-Edouard (PU-PH)  
NICOLAS DE LAMBALLERIE Xavier (PU-PH)  
LA SCOLA Bernard (PU-PH)  
RAOULT Didier (PU-PH) *Surnombre*

AHERFI Sarah (MCU-PH)  
ANGELAKIS Emmanouil (MCU-PH) *disponibilité*  
DUBOURG Grégory (MCU-PH)  
GOURIET Frédérique (MCU-PH)  
NOUGAIREDE Antoine (MCU-PH)  
NINOVE Laetitia (MCU-PH)

CHABRIERE Eric (PR) (64ème section)

LEVASSEUR Anthony (PR) (64ème section)  
DESNUES Benoit (MCF) ( 65ème section )  
MERHEJ/CHAUVEAU Vicky (MCF) (87ème section)

**BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE 4401**

BARLIER/SETTI Anne (PU-PH)  
GABERT Jean (PU-PH)  
GUIEU Régis (PU-PH)  
OUAFIK L'Houcine (PU-PH)

BUFFAT Christophe (MCU-PH)  
FROMNOT Julien (MCU-PH)  
MOTTOLA GHIGO Giovanna (MCU-PH)  
ROMANET Pauline (MCU-PH)  
SAVEANU Alexandru (MCU-PH)

**ANGLAIS 11**

BRANDENBURGER Chantal (PRCE) *retraite mars 2021*  
FRAISSE-MANGIALOMINI Jeanne (PRCE)

**BIOLOGIE CELLULAIRE 4403**

ROLL Patrice (PU-PH)

FRANKEL Diane (MCU-PH)  
GASTALDI Marguerite (MCU-PH)  
KASPI-PEZZOLI Elise (MCU-PH)  
LEVY-MOZZICONNACCI Annie (MCU-PH)

**BIOLOGIE ET MEDECINE DU DEVELOPPEMENT  
ET DE LA REPRODUCTION ; GYNECOLOGIE MEDICALE 5405**

METZLER/GUILLEMAIN Catherine (PU-PH)  
PERRIN Jeanne (PU-PH)

**BIOPHYSIQUE ET MEDECINE NUCLEAIRE 4301**

GUEDJ Eric (PU-PH)

**CARDIOLOGIE 5102**

AVIERINOS Jean-François (PU-PH)

GUYE Maxime (PU-PH)  
TAIEB David (PU-PH)

BELIN Pascal (PR) (69ème section)  
RANJEVA Jean-Philippe (PR) (69ème section)

CAMMILLERI Serge (MCU-PH)  
VION-DURY Jean (MCU-PH)

BARBACARU/PERLES Téodora Adriana (MCF) (69ème section)

**BIostatistiques, Informatique Médicale  
ET TECHNOLOGIES DE COMMUNICATION 4604**

GAUDART Jean (PU-PH)  
GIORGI Roch (PU-PH)  
MANCINI Julien (PU-PH)

CHAUDET Hervé (MCU-PH)  
DUFOUR Jean-Charles (MCU-PH)  
GIUSIANO Bernard (MCU-PH)

ABU ZAINEH Mohammad (MCF) (5ème section)  
BOYER Sylvie (MCF) (5ème section)

**CHIRURGIE ORTHOPÉDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE 5002**

ARGENSON Jean-Noël (PU-PH)  
BLONDEL Benjamin (PU-PH)  
FLECHER Xavier (PU-PH)  
OLLIVIER Matthieu (PU-PH)  
PARRATTE Sébastien (PU-PH) *Disponibilité*  
ROCHWERGER Richard (PU-PH)  
TROPANO Patrick (PU-PH)

**ROLOGIE ; RADIOTHERAPIE 4702 CANCÉROLOGIE ; RADIOTHERAPIE**

BERTUCCI François (PU-PH)  
CHINOT Olivier (PU-PH)  
COWEN Didier (PU-PH)  
DUFFAUD Florence (PU-PH)  
GONCALVES Anthony (PU-PH)  
HOUVENAEGHEL Gilles (PU-PH)  
LAMBAUDIE Eric (PU-PH)  
PADOVANI Laetitia (PH-PH)  
SALAS Sébastien (PU-PH)  
VIENS Patrice (PU-PH)

SABATIER Renaud (MCU-PH)  
TABOURET Emeline (MCU-PH)

BONELLO Laurent (PU-PH)  
BONNET Jean-Louis (PU-PH)  
CUISSSET Thomas (PU-PH)  
DEHARO Jean-Claude (PU-PH)  
FRANCESCHI Frédéric (PU-PH)  
HABIB Gilbert (PU-PH)  
PAGANELLI Franck (PU-PH)  
THUNY Franck (PU-PH)

**CHIRURGIE VISCÉRALE ET DIGESTIVE 5202**

BERDAH Stéphane (PU-PH)  
HARDWIGSEN Jean (PU-PH)  
MOUTARDIER Vincent (PU-PH)  
SEBAG Frédéric (PU-PH)  
SIELEZNEFF Igor (PU-PH)  
TURRINI Olivier (PU-PH)

BEGE Thierry (MCU-PH)  
BEYER-BERJOT Laura (MCU-PH)  
BIRNBAUM David (MCU-PH)  
DUCONSEIL Pauline (MCU-PH)  
GUERIN Carole (MCU-PH)  
MEGE Diane (MCU-PH)

**CHIRURGIE INFANTILE 5402 CHIRURGIE INFANTILE 5402**

*GUYS Jean-Michel (PU-PH) Surnombre*  
JOUVE Jean-Luc (PU-PH)  
LAUNAY Franck (PU-PH)  
MERRROT Thierry (PU-PH)  
*VIEHWEGER Heide Elke (PU-PH) détachement*  
DARIEL Anne (MCU-PH)  
FAURE Alice (MCU-PH)  
PESENTI Sébastien (MCU-PH)

**FACIALE ET STOMATOLOGIE 5503 CHIRURGIE MAXILLO-FACIALE**

CHOSSEGROS Cyrille (PU-PH)  
GUYOT Laurent (PU-PH)  
  
FOLETTI Jean-Marc (MCU-PH)

**CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIOVASCULAIRE 5103**

COLLART Frédéric (PU-PH)  
 D'JOURNO Xavier (PU-PH)  
 DODDOLI Christophe (PU-PH)  
 FOUILLOUX Virginie (PU-PH)  
 GARIBOLDI Vlad (PU-PH)  
 MACE Loïc (PU-PH)  
 THOMAS Pascal (PU-PH)  
 TROUSSE Delphine (MCU-PH)

**CHIRURGIE PLASTIQUE, RECONSTRUCTRICE ET ESTHETIQUE ; BRÛLOGIE 5004**

CASANOVA Dominique (PU-PH)  
 LEGRE Régis (PU-PH)

BERTRAND Baptiste (MCU-PH)  
 HAUTIER/KRAHN Aurélie (MCU-PH)

**CHIRURGIE VASCULAIRE ; MEDECINE VASCULAIRE 5104**

ALIMI Yves (PU-PH)  
 AMABILE Philippe (PU-PH)  
 BARTOLI Michel (PU-PH)  
 BOUFI Mourad (PU-PH)  
 MAGNAN Pierre-Edouard (PU-PH)  
 PIQUET Philippe (PU-PH)  
 SARLON-BARTOLI Gabrielle (PU PH)

**GASTROENTEROLOGIE ; HEPATOLOGIE ; ADDICTOLOGIE 5201**

BARTHET Marc (PU-PH)  
 DAHAN-ALCARAZ Laetitia (PU-PH)  
 GEROLAMI-SANTANDREA René (PU-PH)  
 GRANDVAL Philippe (PU-PH)  
 VITTON Véronique (PU-PH)

**HISTOLOGIE, EMBRYOLOGIE ET CYTOGENETIQUE 4202**

LEPIDI Hubert (PU-PH)

PAULMYER/LACROIX Odile (MCU-PH)

GONZALEZ Jean-Michel (MCU-PH)

**DERMATOLOGIE - VENEREOLOGIE 5003**

BERBIS Philippe (PU-PH)  
 DELAPORTE Emmanuel (PU-PH)  
 GAUDY/MARQUESTE Caroline (PU-PH)  
 GROB Jean-Jacques (PU-PH)  
 RICHARD/LALLEMAND Marie-Aleth (PU-PH)

**GENETIQUE 4704**

BEROUD Christophe (PU-PH)  
 KRAHN Martin (PU-PH)  
 LEVY Nicolas (PU-PH)  
 NGYUEN Karine (PU-PH)

**DUSI**

COLSON Sébastien (MCF)

BOURRIQUEN Maryline (MAST)  
 EVANS-VIALLAT Catherine (MAST)  
 LUCAS Guillaume (MAST)  
 MAYEN-RODRIGUES Sandrine (MAST)  
 MELLINAS Marie (MAST)  
 ROMAN Christophe (MAST)  
 TRINQUET Laure (MAST)

TOGA Caroline (MCU-PH)  
 ZATTARA/CANNONI Hélène (MCU-PH)

**GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE ; GYNECOLOGIE MEDICALE 5403**

AGOSTINI Aubert (PU-PH)  
*BOUBLI Léon (PU-PH) Surnombre*  
 BRETELLE Florence (PU-PH)  
 CARCOPINO-TUSOLI Xavier (PU-PH)  
 COURBIERE Blandine (PU-PH)  
 CRAVELLO Ludovic (PU-PH)  
 D'ERCOLE Claude (PU-PH)

**ENDOCRINOLOGIE ,DIABETE ET MALADIES METABOLIQUES ; GYNECOLOGIE MEDICALE 5404**

BRUE Thierry (PU-PH)  
 CASTINETTI Frédéric (PU-PH)  
 CUNY Thomas (MCU PH)

AUQUIER Pascal (PU-PH)  
 BERBIS Julie (PU-PH)  
 BOYER Laurent (PU-PH)  
 GENTILE Stéphanie (PU-PH)

BLAISE Didier (PU-PH)  
 COSTELLO Régis (PU-PH)  
 CHIARONI Jacques (PU-PH)  
 GILBERT/ALESSI Marie-Christine (PU-PH)  
 MORANGE Pierre-Emmanuel (PU-PH)  
 VEY Norbert (PU-PH)

LAGOUANELLE/SIMEONI Marie-Claude (MCU-PH)  
 RESSEGUIER Noémie (MCU-PH)

DEVILLIER Raynier (MCU PH)  
 GELSI/BOYER Véronique (MCU-PH)  
 LAFAGE/POCHITALOFF-HUVALE Marina (MCU-PH)  
 LOOSVELD Marie (MCU-PH)  
 SUCHON Pierre (MCU-PH)

MINVIELLE/DEVICTOR Bénédicte (MCF)(06ème section)

POGGI Marjorie (MCF) (64ème section)

**IMMUNOLOGIE 4703**

**MEDECINE LEGALE ET DROIT DE LA SANTE 4603**

KAPLANSKI Gilles (PU-PH)  
 MEGE Jean-Louis (PU-PH)  
 OLIVE Daniel (PU-PH)  
 VIVIER Eric (PU-PH)

BARTOLI Christophe (PU-PH)  
 LEONETTI Georges (PU-PH)  
 PELISSIER-ALICOT Anne-Laure (PU-PH)  
 PIERCECCHI-MARTI Marie-Dominique (PU-PH)

FERON François (PR) (69ème section)

TUCHTAN-TORRENTS Lucile (MCU-PH)

BOUCRAUT Joseph (MCU-PH)  
 CHRETIEN Anne-Sophie (MCU PH)  
 DEGEORGES/VITTE Joëlle (MCU-PH)  
 DESPLAT/JEGO Sophie (MCU-PH)  
 ROBERT Philippe (MCU-PH)  
 VELY Frédéric (MCU-PH)

BERLAND Caroline (MCF) (1ère section)

**MEDECINE PHYSIQUE ET DE READAPTATION 4905**

**MALADIES INFECTIEUSES ; MALADIES TROPICALES 4503**

BROUQUI Philippe (PU-PH)  
 LAGIER Jean-Christophe (PU-PH)  
 MILLION Matthieu (PU-PH)  
 PAROLA Philippe (PU-PH)  
 STEIN Andréas (PU-PH)

BENSOUSSAN Laurent (PU-PH)  
 VITON Jean-Michel (PU-PH)

**MEDECINE ET SANTE AU TRAVAIL 4602**

ELDIN Carole (MCU-PH)

LEHUCHER/MICHEL Marie-Pascale (PU-PH)

**MEDECINE D'URGENCE 4805**

SARI/MINODIER Irène (MCU-PH)

KERBAUL François (PU-PH) *détachement*  
 MICHELET Pierre (PU-PH)

**MEDECINE INTERNE ; GERIATRIE ET BIOLOGIE DU  
 VIEILLISSEMENT ; ADDICTOLOGIE 5301**

BONIN/GUILLAUME Sylvie (PU-PH)  
 DISDIER Patrick (PU-PH)  
 DURAND Jean-Marc (PU-PH)  
 EBBO Mikael (PU-PH)  
 GRANEL/REY Brigitte (PU-PH)  
 HARLE Jean-Robert (PU-PH)  
 ROSSI Pascal (PU-PH)  
 SCHLEINITZ Nicolas (PU-PH)

BENYAMINE Audrey (MCU-PH)

GENTILE Gaëtan (PR Méd. Gén. Temps plein)

CASANOVA Ludovic (MCF Méd. Gén. Temps plein)

GUIDA Pierre (PR associé Méd. Gén. à mi-temps) retraite au 25/09/2(MOAL Valérie (PU-PH)

BARGIER Jacques (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)

CALVET-MONTREDON Céline (MCF associé Méd. Gén. à temps plein)

FORTE Jenny (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)

JANCZEWSKI Aurélie (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)

NUSSLI Nicolas (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)

ROUSSEAU-DURAND Raphaëlle (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps) DUFOUR Henry (PU-PH)

THERY Didier (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps) (nomination au 1, FUENTES Stéphane (PU-PH)

**NUTRITION 4404**

DARMON Patrice (PU-PH)

RACCAH Denis (PU-PH)

VALERO René (PU-PH)

ATLAN Catherine (MCU-PH) disponibilité

BELIARD Sophie (MCU-PH)

MARANINCHI Marie (MCF) (66ème section)

**ONCOLOGIE 65 (BIOLOGIE CELLULAIRE)**

CHABANNON Christian (PR) (66ème section)

SOBOL Hagay (PR) (65ème section)

**OPHTALMOLOGIE 5502**

DAVID Thierry (PU-PH)

DENIS Danièle (PU-PH)

**OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE 5501**

DESSI Patrick (PU-PH)

FAKHRY Nicolas (PU-PH)

GIOVANNI Antoine (PU-PH)

LAVIEILLE Jean-Pierre (PU-PH)

MICHEL Justin (PU-PH)

NICOLLAS Richard (PU-PH)

TRIGLIA Jean-Michel (PU-PH)

RADULESCO Thomas (MCU-PH)

REVIS Joana (PAST) (Orthophonie) (7ème Section)

BRUNET Philippe (PU-PH)

BURTEY Stéphanne (PU-PH)

DUSSOL Bertrand (PU-PH)

JOURDE CHICHE Noémie (PU PH)

MOAL Valérie (PU-PH)

ROBERT Thomas (MCU-PH)

**NEUROCHIRURGIE 4902**

DUFOUR Henry (PU-PH)

FUENTES Stéphane (PU-PH)

REGIS Jean (PU-PH)

ROCHE Pierre-Hugues (PU-PH)

SCAVARDA Didier (PU-PH)

CARRON Romain (MCU PH)

GRAILLON Thomas (MCU PH)

**NEUROLOGIE 4901**

ATTARIAN Sharham (PU PH)

AUDOIN Bertrand (PU-PH)

AZULAY Jean-Philippe (PU-PH)

CECCALDI Mathieu (PU-PH)

EUSEBIO Alexandre (PU-PH)

FELICIAN Olivier (PU-PH)

PELLETIER Jean (PU-PH)

MAAROUF Adil (MCU-PH)

**PEDOPSYCHIATRIE; ADDICTOLOGIE 4904**

DA FONSECA David (PU-PH)

POINSO François (PU-PH)

GUIVARCH Jokthan (MCU-PH)

**PHARMACOLOGIE FONDAMENTALE -  
PHARMACOLOGIE CLINIQUE; ADDICTOLOGIE 4803**

BLIN Olivier (PU-PH)

MICALLEF/ROLL Joëlle (PU-PH)

SIMON Nicolas (PU-PH)

BOULAMERY Audrey (MCU-PH)

RANQUE Stéphane (PU-PH)

LE COZ Pierre (PR) (17ème section)

CASSAGNE Carole (MCU-PH)

MATHIEU Marion (MAST)

L'OLLIVIER Coralie (MCU-PH)

TOGA Isabelle (MCU-PH)

**PHYSIOLOGIE 4402**

**PEDIATRIE 5401**

ANDRE Nicolas (PU-PH)

BARLOGIS Vincent (PU-PH)

CHAMBOST Hervé (PU-PH)

DUBUS Jean-Christophe (PU-PH)

FABRE Alexandre (PU-PH)

GIRAUD/CHABROL Brigitte (PU-PH)

MICHEL Gérard (PU-PH)

MILH Mathieu (PU-PH)

OVAERT-REGGIO Caroline (PU-PH)

REYNAUD Rachel (PU-PH)

TSIMARATOS Michel (PU-PH)

TOSELLO Barthélémy (MCU-PH)

BARTOLOMEI Fabrice (PU-PH)

BREGEON Fabienne (PU-PH)

GABORIT Bénédicte (PU-PH)

MEYER/DUTOUR Anne (PU-PH)

TREBUCHON/DA FONSECA Agnès (PU-PH)

BONINI Francesca (MCU-PH)

BOULLU/CIOCCA Sandrine (MCU-PH)

*DADOUN Frédéric (MCU-PH) (disponibilité)*

DELLIAUX Stéphane (MCU-PH)

LAGARDE Stanislas (MCU-PH)

RUEL Jérôme (MCF) (69ème section)

THIRION Sylvie (MCF) (66ème section)

**PSYCHIATRIE D'ADULTES ; ADDICTOLOGIE 4903**

BAILLY Daniel (PU-PH)

LANCON Christophe (PU-PH)

NAUDIN Jean (PU-PH)

RICHIERI Raphaëlle (PU-PH)

CERMOLACCE Michel (MCU-PH)

**PNEUMOLOGIE; ADDICTOLOGIE 5101**

ASTOUL Philippe (PU-PH)

BARLES Fabrice (PU-PH)

CHANEZ Pascal (PU-PH)

GREILLIER Laurent (PU PH)

REYNAUD/GAUBERT Martine (PU-PH)

**CHOLOGIE - PSYCHOLOGIE CLINIQUE, PSYCHOLOGIE SOCIALE 16**

AGHABABIAN Valérie (PR)

LAZZAROTTO Sébastien (MAST)

TOMASINI Pascale (MCU-PH)

**RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE 4302**

**RHUMATOLOGIE 5001**

BARTOLI Jean-Michel (PU-PH)

CHAGNAUD Christophe (PU-PH)

CHAUMOITRE Kathia (PU-PH)

GIRARD Nadine (PU-PH)

JACQUIER Alexis (PU-PH)

MOULIN Guy (PU-PH)

*PANUEL Michel (PU-PH) surnombre*

PETIT Philippe (PU-PH)

VAROQUAUX Arthur Damien (PU-PH)

VIDAL Vincent (PU-PH)

STELLMANN Jan-Patrick (MCU-PH)

GUIS Sandrine (PU-PH)

LAFFORGUE Pierre (PU-PH)

PHAM Thao (PU-PH)

ROUDIER Jean (PU-PH)

**HERAPEUTIQUE; MEDECINE D'URGENCE; ADDICTOLOGIE 4801**

AMBROSI Pierre (PU-PH)

VILLANI Patrick (PU-PH)

DAUMAS Aurélie (MCU-PH)

GAINNIER Marc (PU-PH)  
GERBEAUX Patrick (PU-PH)  
PAPAZIAN Laurent (PU-PH)  
ROCH Antoine (PU-PH)  
  
HRAIECH Sami (MCU-PH)

BASTIDE Cyrille (PU-PH)  
KARSENTY Gilles (PU-PH)  
LECHEVALLIER Eric (PU-PH)  
ROSSI Dominique (PU-PH)

## REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier le Pr. MEGE de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury de thèse. Veuillez trouver, à travers ce travail, l'expression de ma sincère gratitude et de mon profond respect. L'année passée au sein de votre laboratoire d'immunologie de l'Hôpital de la Conception aura été très instructive et enrichissante.

Je remercie chaleureusement le Pr. BARDIN d'avoir accepté de diriger ce travail de thèse. Je suis ravi d'avoir travaillé en sa compagnie car, outre son expertise et son enseignement du travail de biologiste, elle a toujours été là pour me soutenir et me conseiller dans l'élaboration de cette thèse.

Je tiens à remercier le Dr. SUCHON pour avoir accepté de participer au jugement de ce travail de thèse. Merci pour ton dévouement, ta présence le jour de ma soutenance. Soit assuré de ma profonde reconnaissance.

A mes parents, qui ont toujours été là pour moi. Je tiens à vous remercier pour m'avoir permis d'arriver jusque-là. Merci maman pour toujours en faire trop. Merci papa pour tempérer tout ça.

A ma sœur Elsa, qui a toujours été là pour moi (mais pas trop tôt le matin, plutôt 14 heures 😊). Je pense que je ne pourrais jamais te remercier suffisamment pour tout ce que tu as fait pour moi. Grosses pensées pour ma nièce Mia et David mon beau-frère.

A mon frère Antoine, devenu un vrai parisien, je tiens à te remercier pour m'avoir toujours soutenu dans les études et cela depuis le plus jeune âge. Ton intelligence m'a toujours fasciné.

A la bande de mecs sympas (Romain, Hugo, William, Thibaut, Cook), je tiens à vous remercier pour m'avoir changé les idées et m'avoir permis de tenir le cap pendant toutes ces années. Vous qui n'y voyez jamais la fin, eh bien oui, j'arrive bientôt au bout du chemin.

A Damien, mon frerot, pour toutes ses évasions nocturnes, soirées, qu'on a passé ensemble. Pour notre goût partagé dans l'art de la musique (AltEk la belle époque).

A Samy, mon collègue depuis toujours, merci d'avoir été aussi fou que moi pour m'avoir suivi dans ces études et aux précieux conseils que tu m'as apporté pendant tout le cursus.

Aux fils (Marceau, Rémi, Marc, Erwan, Maëlia, Sara, Camille, Simon), de très belles rencontres en ce début d'internat. Merci pour les soirées, fous rires, conversations, et pour la bonne ambiance que vous avez pu apporter pendant l'internat.

A Benjamin, l'italien et roi de l'immunologie, merci pour tous ces fous rires au laboratoire d'immunologie, l'ambiance a été au RDV. « Oh l'italien, tu travailles jamais ! ». Faible voix : « Non, négatif ».

A Robin, la machine, ce semestre en ta compagnie aura été très enrichissant bien que tu ailles beaucoup trop vite pour moi. Tes conseils dans l'élaboration de cette thèse ont été très utiles.

Merci à l'équipe du midi sur le toit-terrasse de l'Hôpital de la Conception (Camille, Sara, Simon, Robin, Lora, Yahya, Cécilia, Jimmy Tan Vinh, J-B, Maëlys, Nathalie) pour tous ses repas « délicieux » partagés. On se souviendra des paniers repas et de leurs barquettes !

A tous mes co-internes oubliés avec lesquels on a partagé de bons moments, même pendant cette période difficile du COVID-19.

A Louise, mon externe, car elle a suivi mes galères dans l'élaboration de cette thèse pendant un semestre.

A Hugo Latchav, le barbezilien, merci pour les évasions virtuelles et les fous rires sur la console. T'es vraiment trop nul !

A tous les techniciens et techniciennes avec qui j'ai pu travailler pendant l'internat. Mentions spéciales pour l'équipe d'auto-immunité du laboratoire d'immunologie de la Conception (Laurence, Christine, Stéphanie, Claude, Betty, Audrey, Dominique) pour leur accueil ainsi qu'à l'équipe de nuit Hémato-Bioch Timone (Lionel, Mickael, Bernard, Jean-Phi, Éric) avec qui les nuits sont passées vite. Spéciales dédicaces à Lio, ce grand enfant, et Mika, le blagueur au franc parler. Sans oublier l'équipe d'hématologie Timone (Céline, Sabrina, Kinza, Solène, Alya) même si vous me faisiez ouvrir des sachets à 6h du mat'. Et l'équipe du PTRR Nord !

Enfin, je tiens à remercier toutes les personnes que j'ai oubliées (et il y en a, c'est sûr) qui ont pu m'aider et me soutenir pour mener mes études et cette thèse à leur terme.

## Table des matières

<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>3</b>
<b>LA COVID-19 .....</b>	<b>5</b>
I. PRINCIPALES CARACTERISTIQUES DE LA COVID-19.....	5
1. Le SARS-CoV-2 .....	5
2. Origine.....	5
3. Épidémiologie.....	6
4. Physiopathologie .....	6
i. Transmission.....	6
ii. Pénétration du virus dans la cellule cible .....	7
iii. Réplication virale.....	7
iv. Réponse immunitaire .....	9
5. Clinique .....	10
i. Phase aiguë .....	10
ii. Complications.....	11
iii. Population pédiatrique.....	11
iv. Phase chronique : le syndrome post-COVID-19 .....	12
6. Diagnostic.....	13
i. Biologie moléculaire .....	13
ii. Sérologie SARS-CoV-2 .....	14
iii. Biologie .....	15
iv. Imagerie .....	15
7. Facteurs de risque / gravité .....	15
8. Traitements .....	16
II. LA COVID-19 ET AUTO-IMMUNITE .....	16
1. Hypothèses sur la rupture de la tolérance du « soi » dans la COVID-19.....	17
2. Maladies auto-immunes rencontrées dans la COVID-19.....	18
<b>LES AUTO-ANTICORPS ANTI-PHOSPHOLIPIDES.....</b>	<b>19</b>
I. LES AUTO-ANTICORPS ANTI-PHOSPHOLIPIDES DANS LE SYNDROME DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES .....	19
1. Le syndrome des anti-phospholipides .....	19
2. Les auto-anticorps anti-phospholipides .....	20
i. Détection des marqueurs conventionnels .....	21
ii. Recherche du lupus anticoagulant .....	21
iii. Recherche des auto-anticorps anti-phospholipides.....	23

iv. Particularités de l'exploration des auto-anticorps anti-phospholipides au laboratoire d'immunologie de la Conception .....	24
3. Physiopathologie du syndrome des anti-phospholipides .....	25
II. LES AUTO-ANTICORPS ANTI-PHOSPHOLIPIDES DANS LA COVID-19 .....	29
1. Revue de la littérature .....	30
i. Prévalence des auto-anticorps anti-phospholipides .....	39
ii. Association auto-anticorps anti-phospholipides avec thromboses .....	39
iii. Association auto-anticorps anti-phospholipides avec formes sévères et hospitalisation en réanimation .....	39
iv. Association auto-anticorps anti-phospholipides avec le décès.....	40
v. Méta-analyse.....	40
2. Recherches menées au laboratoire d'immunologie de l'Hôpital de la Conception du Pr. MEGE.....	40
i. Études sur les auto-anticorps anti-phospholipides dans la COVID-19 (ANNEXE2) .....	40
ii. Case report d'un syndrome post-COVID-19 (ANNEXE 3).....	44
<b>DISCUSSION / CONCLUSION .....</b>	<b>46</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>51</b>
<b>ANNEXE 1 : ANTICARDIOLIPIN IGG AUTOANTIBODY LEVEL IS AN INDEPENDENT RISK FACTOR FOR COVID-19 SEVERITY.....</b>	<b>63</b>
<b>ANNEXE 2 : ANTI-CARDIOLIPIN IGG AUTOANTIBODIES ARE ASSOCIATED WITH CIRCULATING MARKERS OF NEUTROPHIL EXTRACELLULAR TRAPS (NETS) IN PATIENTS WITH SEVERE COVID-19 .....</b>	<b>65</b>
<b>ANNEXE 3 : PERSISTENT IGG ANTI-CARDIOLIPIN AUTOANTIBODIES ARE ASSOCIATED WITH A POST-COVID SYNDROME .....</b>	<b>77</b>
<b>ABRÉVIATIONS .....</b>	<b>82</b>

## INTRODUCTION

L'infection par le SARS-CoV-2, nommée CoronaVirus Disease 2019 (COVID-19), a émergé en Chine à Wuhan en décembre 2019 et s'est répandue dans le monde causant une pandémie virale responsable d'une crise sanitaire et économique mondiale sans précédent. Cette infection se décline sous différentes formes en fonction de la gravité clinique, pouvant aller d'une simple infection virale asymptomatique à un véritable syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA) avec défaillance multiviscérale nécessitant une prise en charge en réanimation. Chez les personnes symptomatiques, la maladie est caractérisée par de la fièvre, une toux sèche, une dyspnée, des myalgies ainsi qu'une asthénie et, dans 15-20% des cas, par de sévères atteintes pulmonaires et vasculaires, qui peuvent entraîner un SDRA et le décès (1).

Une bonne compréhension de la physiopathologie de cette maladie est essentielle pour le diagnostic, la recherche et la découverte de traitements efficaces, avec une priorité pour la recherche de facteurs associés à la sévérité de la maladie voir prédictifs du passage d'une forme modérée à sévère

La clef de la physiopathologie de la maladie semble liée à une réaction immunitaire exagérée et inadaptée à l'origine de ce que l'on appelle une « tempête cytokinique » (2). Cette réaction immunitaire excessive, conduisant à une inflammation non contrôlée pourrait induire l'initiation d'une auto-immunité.

Récemment, un processus auto-immun a été décrit dans la COVID-19 mais son implication fonctionnelle dans la maladie reste à ce jour non défini et mérite des études afin d'élucider sa fonction. De plus, nous avons décrits la présence d'auto-anticorps antiphospholipides (aPLs) chez des patients atteints de la COVID-19. Nous avons également montré une association significative entre les patients porteurs d'une forme sévère de la COVID-19 et la présence d'anticorps anticardiolipine (aCL) d'isotype IgG (3) (ANNEXE1).

Cependant, l'existence de ce processus auto-immun et la présence de ces marqueurs (aPLs) dans la COVID-19 n'ont pas suffisamment été étudiés et leurs rôles restent à définir dans la physiopathologie de la maladie.

Le but de ce travail de thèse est de définir l'intérêt et l'apport de la détection des aPLs dans la prise en charge des patients atteints de la COVID-19. Il sera suivi par un travail de mémoire portant sur le suivi clinique et biologique de patients atteints de la COVID-19 positifs en aCL IgG.

Dans ce travail de thèse, après des rappels sur les principales caractéristiques de la COVID-19, nous présenterons les aPLs et réaliserons une revue de la littérature des travaux publiés sur les aPLs dans la COVID-19. Enfin, nous discuterons sur le rôle potentiel de ces aPLs et de l'auto-immunité dans la COVID-19.

## LA COVID-19

Dans cette première partie, nous présenterons les différents aspects caractéristiques de la COVID-19 et nous finirons sur l'auto-immunité rencontrée dans la COVID-19 comme transition afin d'amener la deuxième partie.

### I. Principales caractéristiques de la COVID-19

#### 1. Le SARS-CoV-2

Le SARS-CoV-2 est un virus à ARN simple brin composé de 29 903 nucléotides appartenant à la famille des *Coronaviridae* du genre *Betacoronavirus*. Son diamètre est compris entre 60 et 140 nanomètres (4). La majorité du génome code pour un gène réplicase (*ORF1a* et *ORF1b*) qui aboutira à la traduction de seize protéines non structurales indispensables à la réplication virale. Le reste du génome code essentiellement pour les protéines de structure du virus : la protéine de capsid (N) la protéine Spike (S), les protéines de membrane (M) et d'enveloppe (E) (5). Les glycoprotéines membranaires (S, M, E) ancrées dans une enveloppe phospholipidique permettent la protection de la nucléocapside composée du complexe ARN viral – protéine de capsid (N). La protéine S, formée des sous-unités S1 et S2, est la protéine permettant l'entrée du virus dans la cellule cible avec S1 qui se lie au récepteur cellulaire ACE2 et S2 qui participe à l'endocytose du virus (6) (Figure 1).

#### 2. Origine

Le SARS-CoV-2 est un virus apparenté au SARS-CoV dont le réservoir est la chauve-souris. L'analyse de la phylogénétique montre que les virus les plus proches du SARS-CoV-2 en homologie de séquences sont des coronavirus de la chauve-souris, notamment le RaTG13-CoV (96%) (7). Le SARS-CoV-2 possède 79% d'homologie de séquences avec le SARS-CoV-1 et 52% avec le MERS-CoV (5,8) (Figure 1).

Comparativement au modèle du SARS-CoV-1 et du MERS-CoV, le passage du SARS-CoV-2 d'une espèce à l'autre a probablement nécessité un hôte intermédiaire étant

donné le peu de contact et d'interaction entre les humains et les chauves-souris. Cependant, les données et les recherches actuelles ne sont pas suffisantes pour fournir des informations complètes sur l'identification de l'hôte naturel ou l'hôte intermédiaire du SARS-CoV-2.

### 3. Épidémiologie

L'épidémie du nouveau coronavirus, le SARS-CoV-2, qui a débuté en Chine à Wuhan, en décembre 2019, s'est propagée dans le monde entier et a constitué une grave menace pour la santé de la population. Selon le dernier rapport de l'OMS publié le 24 août 2021, des cas de patients atteints du variant Alpha de la COVID-19 ont été rapportés dans 192 pays et dans 141 pays pour le variant Beta. Des cas du variant Gamma ont été rapportés dans 86 pays et dans 163 pays pour le variant delta. A l'échelle mondiale, plus de 211 millions de cas de COVID-19 et plus de 4,4 millions de décès ont été recensés (9). D'après Santé Publique France, au 24 août 2021, 71,1 % de la population française avait reçu au moins une dose de vaccin et 62.7% était complètement vaccinée.

Outre la crise sanitaire, la pandémie de COVID-19 a imposé plusieurs autres défis à l'économie, à la liberté individuelle et à la vie sociale. Pour combattre la pandémie, plusieurs pays ont mis en place des mesures de confinement à l'échelle nationale ou étatique. Aujourd'hui encore, plusieurs pays et États sont sous le coup d'une mesure de confinement ou d'un couvre-feu. Le confinement mondial a imposé différents types de défis psychologiques aux gens et a également affecté les moyens de subsistance de millions de personnes.

Les hommes sont légèrement plus sensibles à l'infection par le SARS-CoV-2 que les femmes (1,10,11). Et des données stratifiées par sexe sur la mortalité et la vulnérabilité à la maladie suggèrent que la mortalité masculine est supérieure à celle des femmes (12).

### 4. Physiopathologie

#### i. Transmission

La transmission du SARS-CoV-2 se fait principalement par l'émission de gouttelettes respiratoires chargées en particules virales, soit par contact direct avec une muqueuse (transmission directe) soit par contact avec une surface infectée au préalable (transmission indirecte). Le virus pourrait survivre plusieurs jours sur les surfaces inertes. Après aérosolisation expérimentale, le virus peut survivre au moins trois heures. Une transmission par aérosols du SARS-CoV-2 n'a pas été montrée ce jour, bien qu'une distinction stricte entre transmission d'aérosols et de gouttelettes ne soient pas vraiment possible en pratique courante (13). L'ARN viral du SARS-CoV-2 a été détecté dans d'autres prélèvements comme le sang et les selles chez des patients infectés. Cependant, l'existence d'une transmission féco-orale n'a pas été prouvée (14).

#### ii. Pénétration du virus dans la cellule cible

Pour rentrer dans la cellule cible, le SARS-CoV-2 utilise sa protéine S pour se fixer sur le récepteur ACE2. La fixation de S1 à ACE2 permet une modification conformationnelle de la protéine S, libérant S2 et entraînant la fusion membranaire puis l'endocytose du virus dans la cellule cible. Cette fusion nécessite deux étapes de clivage protéolytique : un premier clive la protéine S en S1 et S2 et un deuxième au niveau de S2. La particularité du SARS-CoV-2 est que sa protéine S possède un site de clivage furine (protéase abondante dans le plasma) permettant de faciliter le clivage S1 et S2 et donc sa transmission (15).

#### iii. Réplication virale

Une fois entré dans la cellule, le virus va pouvoir utiliser la machinerie cellulaire pour traduire le gène de la réplicase en deux polyprotéines *pp1a* et *pp1ab*. Celles-ci seront à leur tour clivées en plusieurs protéines s'assemblant pour former un complexe de transcription et de réplication indispensables au fonctionnement du cycle viral. Ce complexe va permettre la reproduction de l'ARN viral et la production de protéines de structure des nouveaux virions. La combinaison des nouveaux brins d'ARN synthétisés avec la protéine N va former de nouvelles nucléocapsides. Enfin, une

étape d'assemblage avec les glycoprotéines membranaires va permettre l'exocytose des nouvelles particules virales (16) (Figure 1).

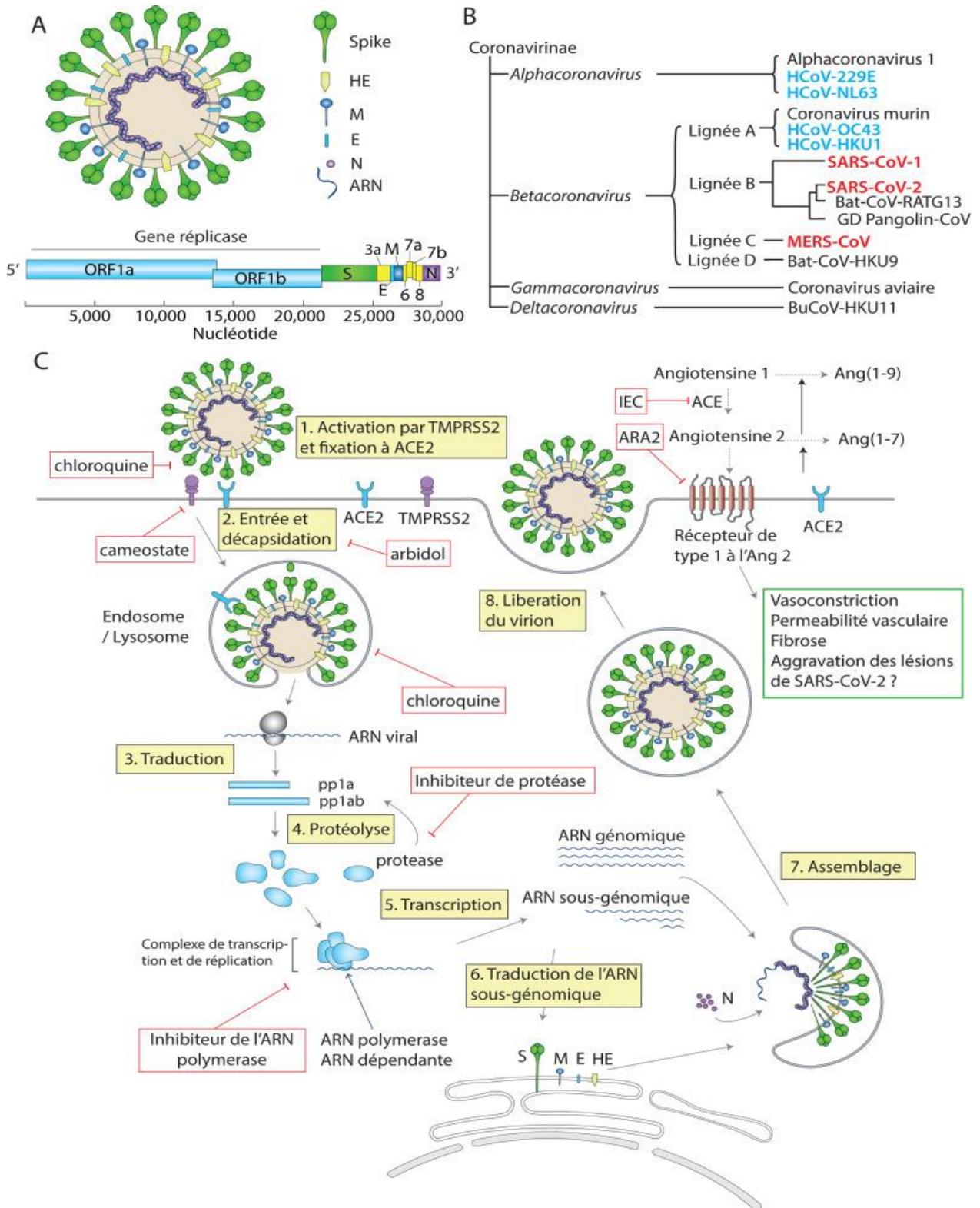


Figure 1. Structure, phylogénie et cycle de réplication du SARS-CoV-2 (17)

#### iv. Réponse immunitaire

De manière semblable aux autres virus respiratoires, l'immunité innée va induire la reconnaissance de l'ARN viral du SARS-CoV-2 par les récepteurs PRR de cellules sentinelles comme les macrophages et les cellules dendritiques. L'activation de facteurs de transcription va entraîner la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6), de chimiokines et d'interférons de type I. Les interférons de type I stimulent l'expression des gènes ISG (interferon-stimulated gene) entraînant une atmosphère antivirale qui permet l'inhibition de la réplication virale, la protection des cellules non infectées et la stimulation de l'immunité lymphocytaire (lymphocytes T CD8, NK). Pour activer l'immunité adaptative, les antigènes viraux sont présentés par les cellules présentatrices d'antigène aux lymphocytes T et B via les complexes majeurs d'histocompatibilité de type 1 et 2 (18).

Il a été observé dans certaines formes de la COVID-19, notamment dans les formes sévères, une certaine inefficacité de la réponse immunitaire innée pouvant entraîner dans un second temps, une amplification de la réponse inflammatoire. Cette stimulation exagérée de la réponse immunitaire sera à l'origine de ce que l'on appelle un « orage cytokinique » causant des dégâts au niveau tissulaire qui à terme, seront responsables de l'apparition d'un syndrome de détresse respiratoire aiguë et d'une défaillance multi-viscérale nécessitant une prise en charge en réanimation (18). En effet, Il a été rapporté des taux élevés de cytokines pro-inflammatoires (IL-6, TNF- $\alpha$ ) chez les patients atteints de formes sévères de la COVID-19 (1) (Figure 2).

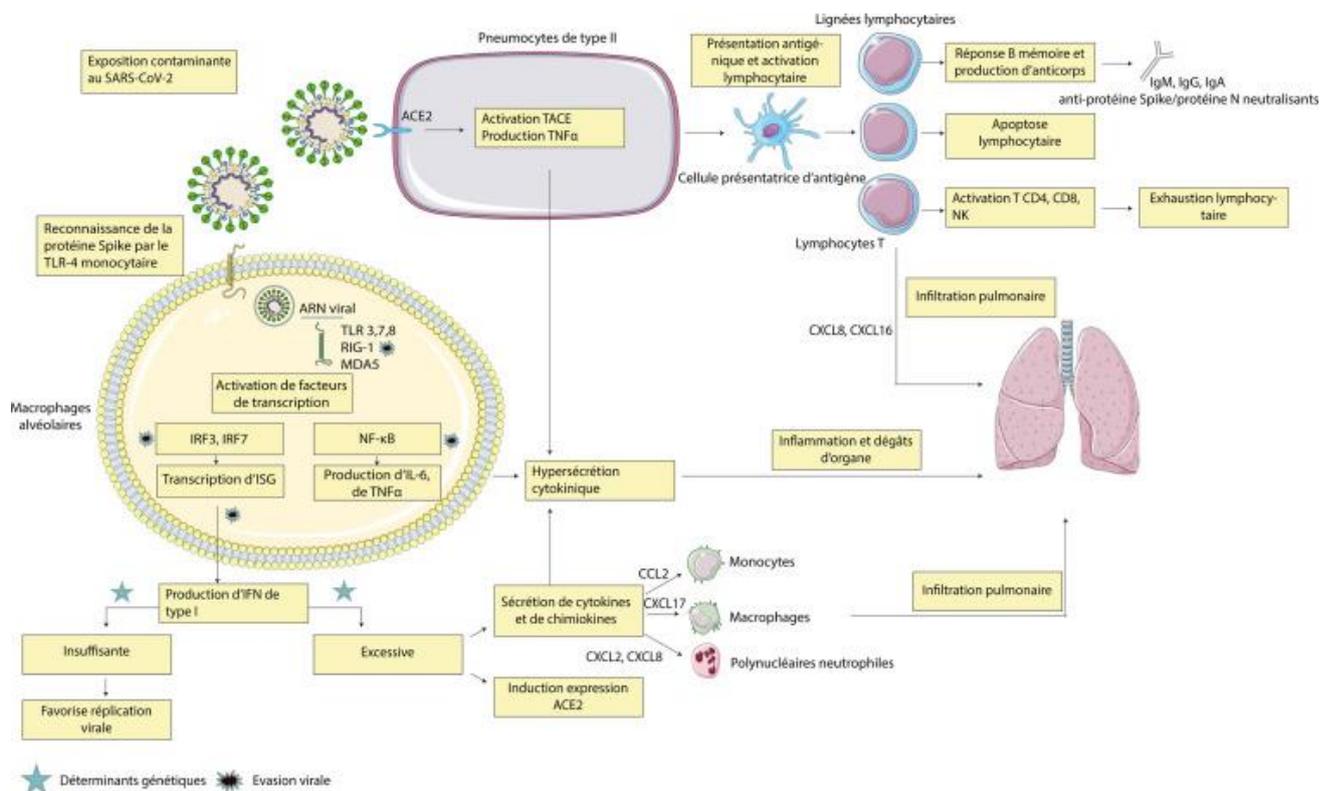


Figure 2. Mécanismes incriminés de la réaction immunitaire dans l'infection par le SARS-CoV-2 (17)

## 5. Clinique

### i. Phase aiguë

La période d'incubation de la COVID-19, qui est le délai entre l'exposition au virus et l'apparition des symptômes, est de 5 à 6 jours, mais peut aller jusqu'à 14 jours. Pendant cette période, également appelée période "pré-symptomatique", les personnes infectées peuvent être contagieuses et transmettre le virus à des individus sains dans la population. Les patients atteints de la COVID-19 appartiennent principalement à la tranche d'âge 50-70 ans, et présentent le plus souvent de la fièvre, des myalgies, une toux sèche, un essoufflement, des nausées, des vomissements et des malaises, bien que les patients puissent présenter une maladie asymptomatique, légère (81%), modérée ou sévère (19%) (Tableau 1). Certains patients peuvent également présenter des symptômes gastro-intestinaux tels que des douleurs abdominales, des vomissements et des selles molles. Des dysfonctionnements olfactifs et/ou gustatifs comme l'anosmie et/ou l'agueusie ont été rapportés. L'anosmie

ou l'agueusie peut être le seul symptôme et a constitué un bon signe quasi-pathognomonique de la maladie en période épidémique (19,20).

Sévérité de la maladie	Clinique, imagerie et biologie
Asymptomatique	Pas de symptôme clinique Écouvillon positif au SARS-CoV-2 par RT-PCR Imagerie thoracique normale
Légère	Fièvre, toux, myalgies, malaise Nausées, vomissements, douleurs abdominales
Modérée	Signes de pneumonie sans hypoxémie (toux fébrile persistante) Lésions significatives à l'imagerie thoracique
Sévère	Pneumonie avec hypoxémie (SpO <sub>2</sub> < 92%)
Critique	SDRA, défaillance multiviscérale, état de choc

Tableau 1. Manifestations clinico-biologiques et imagerie selon la sévérité de la COVID-19 (19)

## ii. Complications

Les complications observées chez les patients atteints d'une infection par la COVID-19 sont principalement dues à « l'orage cytokinique ». Elles comprennent principalement une altération de la fonction respiratoire avec le SDRA, ainsi que d'une altération du système de la coagulation favorisant l'apparition de thromboses artérielles et veineuses. Des événements thromboemboliques veineux et artériels surviennent chez environ 20 % (21) des patients hospitalisés atteints de la COVID-19 et peut monter jusqu'à 50 % (22) chez les patients hospitalisés en unité de soins intensifs continus (USC). Environ 30 % des patients hospitalisés atteints de la COVID-19 sont traités dans une USC, le plus souvent en raison d'une insuffisance respiratoire hypoxémique. Parmi ces patients, les 3 quarts ont besoin d'une ventilation mécanique invasive (19).

## iii. Population pédiatrique

Les enfants atteints de la COVID-19 présentent des symptômes plus légers, principalement limités aux voies aériennes respiratoires supérieures, et nécessitent rarement une hospitalisation. Bien que la plupart des cas pédiatriques soient bénins, un petit pourcentage (<7 %) d'enfants admis à l'hôpital pour la COVID-19 développent une maladie grave nécessitant une ventilation mécanique. Un syndrome inflammatoire multisystémique rare, semblable à la maladie de Kawasaki, a récemment été décrit chez des enfants d'Europe et d'Amérique du Nord atteints d'une infection par le SARS-CoV-2. Ce syndrome inflammatoire multisystémique chez les enfants est peu fréquent (2 sur 100 000 personnes âgées de <21 ans) (20).

#### iv. Phase chronique : le syndrome post-COVID-19

Des preuves croissantes montrent qu'un nombre significatif de patients atteints de la COVID-19 présentent des symptômes prolongés, connus sous le nom de « COVID-Long » ou de « Syndrome Post-COVID-19 » (SPC). En se basant sur la chronicité des symptômes après l'infection par le COVID-19, Nalbandian et al. ont classifié le syndrome qui suit la phase aiguë de la COVID-19 en deux catégories : le syndrome subaigu ou persistant de l'infection à la COVID-19 (les symptômes sont présents jusqu'à 12 semaines après l'épisode aigu initial) et le syndrome chronique ou SPC (les symptômes sont toujours présents au-delà de 12 semaines). Cependant, il ne doit pas être attribuable à un autre diagnostic (23). Une étude portant sur 3672 participants a retrouvé une persistance de symptômes chez au moins 30% des patients. Les symptômes les plus fréquents signalés après le sixième mois étaient la fatigue, le malaise post-effort et le dysfonctionnement cognitif (24) (Figure 3). Une deuxième étude portant sur 177 participants confortent ces données en retrouvant une prévalence de 30% de SPC à 6 mois de suivi (25).

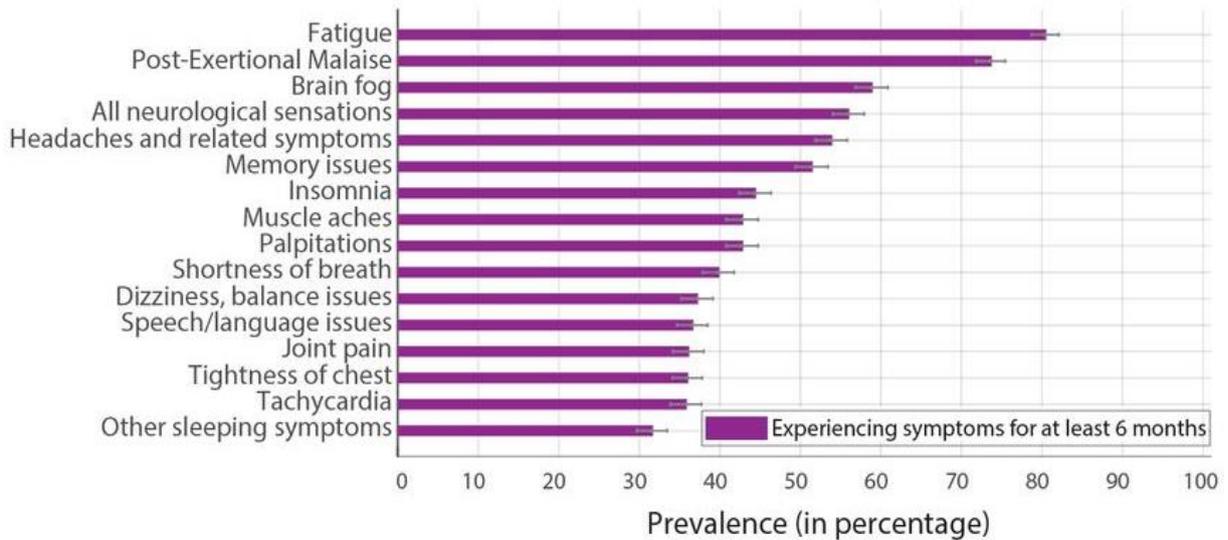


Figure 3. Principaux symptômes persistants après 6 mois (24)

## 6. Diagnostic

Le diagnostic de la COVID-19 est généralement posé à l'aide d'un test d'amplification en chaîne par une polymérase (RT-PCR) effectué sur un écouvillon nasal. Cependant, en raison des taux de résultats faussement négatifs des tests RT-PCR du SARS-CoV-2 sur écouvillon nasal, la symptomatologie clinique, les résultats de laboratoire et d'imagerie peuvent également être utilisés pour établir un diagnostic présumé.

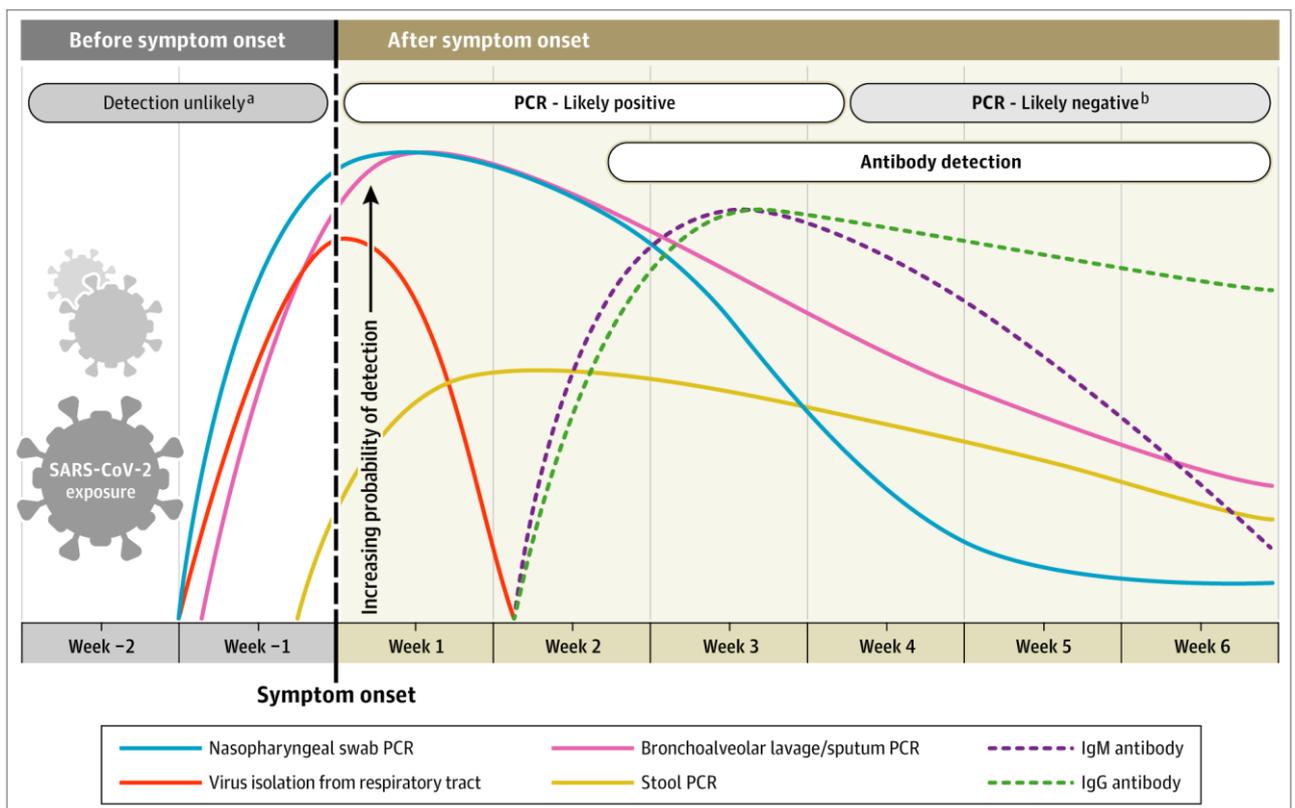
### i. Biologie moléculaire

La détection de l'ARN du SARS-CoV-2 à partir d'échantillons respiratoires par RT-PCR est la norme pour le diagnostic. Cependant, la sensibilité du test varie en fonction du moment où il est effectué par rapport à l'exposition. Les facteurs contribuant aux résultats faussement négatifs du test comprennent la qualité et nature du prélèvement ainsi que le temps écoulé depuis l'exposition (26). Les échantillons des voies respiratoires inférieures, tels que les liquides de lavage broncho-alvéolaire, sont plus sensibles que les échantillons des voies respiratoires supérieures. Parmi les 1070 échantillons prélevés chez 205 patients atteints de la COVID-19 en Chine, les échantillons de liquide de lavage broncho-alvéolaire présentaient les taux les plus élevés de résultats positifs aux tests RT-PCR du SARS-CoV-2 (93 %), suivis des

expectorations (72 %), des écouvillons nasaux (63 %) et des écouvillons pharyngés (32 %) (27).

## ii. Sérologie SARS-CoV-2

Plusieurs tests sérologiques peuvent également aider le diagnostic. Cependant, la présence d'anticorps ne confère pas nécessairement une immunité, car les anticorps produits en réponse à l'infection ne sont pas tous neutralisants. Les anticorps IgM peuvent être détectés dans la première semaine suivant l'infection mais leurs taux sont relativement plus élevés au cours de la deuxième et troisième semaine de la maladie. Une réponse IgG est observée environ 14 jours après l'apparition des symptômes (28,29) (Figure 4).



### iii. Biologie

Une méta-analyse de 19 études portant sur 2 874 patients, a fait état de la gamme typique d'anomalies de laboratoire observées dans la COVID-19, notamment une élévation de la protéine C-réactive sérique (CRP), de la lactate déshydrogénase (LDH), de l'alanine aminotransférase et de l'aspartate aminotransférase (30). La lymphopénie est l'anomalie hématologique la plus fréquente et représente jusqu'à 83 % des patients hospitalisés pour la COVID-19. Une légère thrombopénie ainsi que des anomalies des tests de coagulation comme un allongement du temps de prothrombine et des valeurs élevés de D-dimères sont courants (10). Cependant, la plupart de ces caractéristiques de laboratoire ne sont pas spécifiques et sont retrouvés dans les cas d'autres pneumonies virales ou bactériennes.

### iv. Imagerie

Les anomalies caractéristiques de l'imagerie scanographique thoracique pour la COVID-19 sont des opacités en verre dépoli diffuses et périphériques. Les opacités en verre dépoli peuvent avoir des marges mal définies, des bronchogrammes aériens, un épaississement interlobulaire ou septal lisse ou irrégulier, et un épaississement de la plèvre adjacente. Les résultats de l'imagerie tomodensitométrique thoracique ne sont pas spécifiques et se chevauchent avec d'autres infections, de sorte que la valeur diagnostique de l'imagerie tomographique thoracique pour la COVID-19 est limitée. Certains patients admis à l'hôpital avec une infection par le SARS-CoV-2 confirmée par RT-PCR présentent des résultats d'imagerie tomographique normaux, tandis que des résultats anormaux d'imagerie tomographique thoracique compatibles avec la COVID-19 sont retrouvés quelques jours avant la détection de l'ARN du SARS-CoV-2 chez d'autres patients (31).

## 7. Facteurs de risque / gravité

Il a été montré que la mortalité était plus importante chez les personnes âgées ainsi que chez les personnes présentant des facteurs de risques cardiovasculaires comme

l'hypertension artérielle, le diabète, l'obésité (32). De plus, de nombreux marqueurs biologiques associés à la sévérité de la maladie ont été mis en évidence comme une élévation importante de la CRP et de cytokines pro-inflammatoires (IL-6 par exemple), une lymphopénie, un ratio polynucléaires neutrophiles (PNN) sur lymphocytes élevés (NLR), un ratio PNN sur plaquettes élevés (33), une éosinopénie, une hyperferritinémie, une hyper LDHémie, une augmentation des D-dimères (34–36).

## 8. Traitements

Depuis le début de la pandémie, la recherche de traitements efficaces contre le SARS-CoV-2 a donné lieu à de nombreuses études. Dans la littérature, les deux médicaments qui ont montré leur efficacité de façon claire et reproductible sont la dexaméthasone et le tocilizumab. Ces deux médicaments seraient indiqués chez les patients présentant une forme sévère voire critique de la COVID-19 sur la base d'une réduction de la mortalité et du risque de nécessiter une ventilation mécanique invasive (37,38). De plus, un cocktail d'anticorps monoclonaux constitué du casirivimab et du imdevimab a montré une efficacité sur la diminution de la mortalité et de la charge virale du SARS-CoV-2 chez des patients non hospitalisés, plus particulièrement chez les patients qui ne présentaient pas de séroconversion au SARS-CoV-2 ou qui présentaient une charge virale élevée (39,40). Chez des patients ambulatoires considérés à risque de développer une forme sévère de la COVID-19, un second cocktail composé du bamlanivimab et de l'etesevimab a montré son efficacité en réduisant le taux d'hospitalisation, le taux de décès ainsi que la décroissance plus rapide de la charge virale (41). Le cocktail bamlanivimab – etesevimab serait moins efficace que le cocktail casirivimab – imdevimab sur le variant brésilien du SARS-CoV-2 (42). D'autres médicaments sont en cours de développement clinique comme certains antiviraux (lopinavir, ritonavir).

## II. La COVID-19 et auto-immunité

L'auto-immunité chez un individu peut se traduire par une anomalie du système immunitaire entraînant celui-ci à s'attaquer aux éléments du « soi ». Le « soi »

correspond aux antigènes physiologiquement présents chez un individu. L'induction d'une auto-immunité résulte de multiples facteurs notamment génétiques et environnementaux. Chez ces individus génétiquement prédisposés, le système immunitaire ne sera plus capable de distinguer certains éléments du « soi » et aboutira à la production de cellules immunitaires auto-réactives qui causeront des dégâts tissulaires (Figure 5).

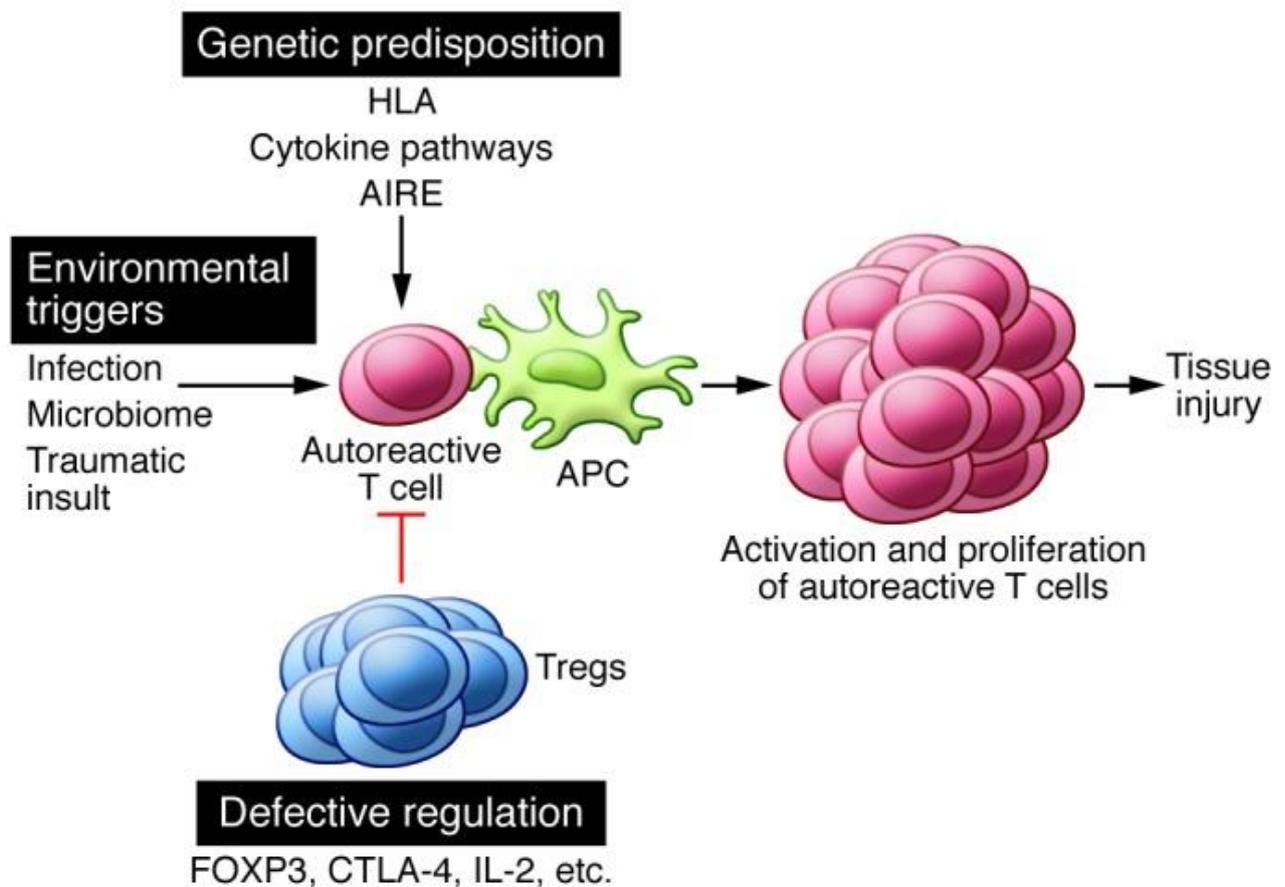


Figure 5. Mécanismes de l'initiation d'une auto-immunité (43)

### 1. Hypothèses sur la rupture de la tolérance du « soi » dans la COVID-19

De plus en plus de preuves confirment que le SARS-CoV-2 induit une auto-immunité chez les patients atteints de la COVID-19. L'exposition à des épitopes viraux est une cause identifiée d'auto-immunité, précédemment avancée dans les maladies

infectieuses par les coronavirus (44,45). Le mimétisme moléculaire entre la protéine du SARS-CoV-2 et des protéines du « soi » a été proposé comme un facteur déclenchant auto-immun chez les patients génétiquement prédisposés (46–48). En effet, la réponse immunitaire contre le SARS-CoV-2 pourrait réagir de manière croisée avec des protéines humaines qui partageraient des homologies de séquences avec le virus. L'Ankyrine-1, une protéine membranaire érythrocytaire présentant des similitudes structurelles avec la protéine Spike, pourrait être un auto-antigène impliqué dans l'apparition d'anémie hémolytique auto-immune dans la COVID-19 (49). L'effet cytolytique du virus ainsi que sa réplication massive (50), contribuent à une induction importante de cellules apoptotiques, qui sont connues pour déclencher une réaction auto-immune et la production d'auto-anticorps tels que les auto-anticorps antinucléaires (AN) (51). Les cellules infectées par le SARS-CoV-2 peuvent échapper à la réponse IFN I, ce qui entraîne une réplication virale incontrôlée, et l'afflux de polynucléaires neutrophiles (PNN) et de monocytes/macrophages conduit à une production accrue de cytokines pro-inflammatoires, qui jouent un rôle majeur dans la pathogenèse des maladies auto-immunes (52).

## 2. Maladies auto-immunes rencontrées dans la COVID-19

De nombreuses maladies auto-immunes ont été signalées chez des patients atteints de la COVID-19, même en l'absence de maladies inflammatoires et auto-immunes préexistantes (53,54).

Sur le plan hématologique, ce sont surtout des anémies hémolytiques auto-immunes (AHA) ainsi que des purpuras thrombopéniques idiopathiques (PTI) qui ont été décrits. Les AHA sont connus pour être associées avec les maladies auto-immunes, les cancers, les médicaments et dans de rares cas avec des infections.

Des syndromes de Guillain-Barré (SGB) ont également été retrouvés chez des patients atteints de la COVID-19. Une infection virale ou bactérienne est souvent à l'origine d'un SGB.

De plus, de véritables MAI systémiques telles que des lupus érythémateux disséminés ou des vascularites à ANCA ont été diagnostiquées de novo chez des patients atteints de la COVID-19.

Des maladies inflammatoires comme des maladies semblables à la maladie de Kawasaki ont été décrits, plus particulièrement dans la population pédiatrique.

Des arthrites inflammatoires ont également été retrouvées chez les patients atteints de la COVID-19.

Des études portant sur des patients préalablement porteurs de MAI ont montré que cette population ne serait pas plus à risque d'être infecté par le SARS-CoV-2 que la population générale et ne développerait pas plus de formes sévères de la COVID-19. En effet, cette population est considérée comme étant à risque de développer plus d'infections et notamment plus sévères que la population générale à cause de l'utilisation de traitements immunosuppresseurs comme traitement de fond de la MAI.

Enfin, devant la coagulopathie et l'incidence importante d'évènements thrombotiques dans la COVID-19 mimant un syndrome des anti-phospholipides (SAPL), des études ont retrouvés la présence d'aPLs dans la COVID-19.

## **LES AUTO-ANTICORPS ANTI-PHOSPHOLIPIDES**

Dans cette seconde partie, nous ferons des rappels sur les aPLs ainsi que sur le SAPL dans un premier temps puis nous présenterons les aPLs dans la COVID-19 avec une revue de la littérature dans un deuxième temps.

### **I. Les auto-anticorps anti-phospholipides dans le syndrome des anti-phospholipides**

#### **1. Le syndrome des anti-phospholipides**

Le SAPL est une MAI non spécifique d'organe qui se présente par l'association de manifestations thrombotiques et/ou obstétricales et la présence durable d'anticorps dirigés contre les phospholipides membranaires appelés auto-anticorps anti-phospholipides (aPLs).

On distingue le SAPL primaire, qui sera rencontré en dehors de tout cadre pathologique auto-immun défini, du SAPL secondaire qui sera donc associé à une autre MAI non spécifique d'organe, principalement le lupus érythémateux systémique (LES).

Il affecte le plus souvent les jeunes femmes adultes.

La prévalence estimée du SAPL primaire serait de 1/2000 dans la population générale. Au cours d'un LES, la prévalence de développer un SAPL secondaire serait de l'ordre de 7 à 15 % (55).

D'un point de vue physiopathologie, les aPLs interagissent avec les phospholipides (PL) membranaires des plaquettes et des cellules endothéliales et activeraient la coagulation entraînant un état pro-thrombotique.

Son diagnostic repose sur des faisceaux d'arguments clinico-biologiques. En effet, les critères diagnostics du SAPL sont remplis si au moins un critère clinique et un critère biologique sont présents parmi les suivants : thrombose vasculaire et/ou morbidité obstétricale et présence durable (confirmé à 12 semaines du premier dosage) des aPLs.

Parmi les critères biologiques, on notera la présence de marqueurs biologiques appelés marqueurs conventionnels du SAPL qui sont les marqueurs de définition du SAPL et d'autres marqueurs appelés marqueurs non conventionnels, recherchés lorsque les autres sont négatifs.

## 2. Les auto-anticorps anti-phospholipides

Les aPLs représentent une famille hétérogène d'auto-anticorps dirigés contre les PL. Les PL sont organisés en bicouches et classés selon leur charge afin de constituer les membranes cellulaires biologiques. Les aPLs se fixent sur les PL anioniques ou neutres mais peuvent également se lier à des complexes composés de cofacteurs (protéines plasmatiques ou endothéliales) associés aux PL. Les aPLs sont détectés chez 1 à 5% de la population générale (56).

Parmi les aPLs, nous retrouvons les marqueurs conventionnels du SAPL qui sont les suivants : l'anticoagulant circulant lupique ou lupus anticoagulant (LA), les auto-

anticorps anticardiolipines (aCL) IgG et/ou IgM, et les auto-anticorps anti-bêta-2-glycoprotéine-1 (aB2GP1) IgG et/ou IgM.

Et les non-conventionnels du SAPL : les aCL IgA, les aB2GP1 IgA, les anticorps anti-phosphatidyléthanolamine (aPE) IgG, IgM et/ou IgA, les anticorps anti-prothrombine (aPT) IgG et/ou IgM, les anticorps anti-annexine V (aANV) IgG et/ou IgM. Ces marqueurs n'entrent pas dans le cadre des critères biologiques du SAPL et ne permettent donc pas de poser un diagnostic de SAPL à eux seuls.

#### i. Détection des marqueurs conventionnels

Pour le dosage des marqueurs conventionnels du SAPL, on utilisera deux techniques différentes : le LA sera recherché par des tests de coagulation et les aPLs seront recherchés par une technique immunologique : le test ELISA.

#### ii. Recherche du lupus anticoagulant

D'un point de vue pré-analytique, la recherche du LA s'effectue sur un tube citraté après double centrifugation pour obtenir du plasma pauvre en plaquettes. Il n'est pas recommandé de rechercher un LA à la phase aiguë d'un évènement thrombotique ou pendant la grossesse. Afin d'éviter les interférences analytiques, il est recommandé d'effectuer les tests de coagulation à distance d'un traitement anticoagulant (héparine non fractionnée (HNF), anticoagulants oraux directs (AOD), antivitamine K (AVK) et fondaparinux.

Selon les recommandations de l' International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH) (57), la recherche d'un LA doit se faire en plusieurs étapes : le dépistage du LA, la mise en évidence d'un inhibiteur de la coagulation, la confirmation de la dépendance en PL

##### 1) Dépistage du LA

Le dépistage du LA repose sur la mise en évidence d'un allongement du temps d'un test de coagulation PL-dépendant. Afin d'augmenter la sensibilité aux aPLs, le test doit être réalisé en présence d'une faible concentration en PL.

Il est recommandé d'effectuer au moins deux tests basés sur des principes différents afin d'explorer les deux voies de la cascade de coagulation.

L'ISTH recommande d'utiliser le temps de venin de vipère Russell dilué (dRVVT) en première intention. Le deuxième test préconisé est le temps de céphaline avec activateur (TCA).

Si au moins un des deux tests présente un allongement du temps de coagulation, le dépistage du LA est considéré comme positif.

## 2) Mise en évidence d'un inhibiteur de la coagulation

Pour cette étape, une épreuve de correction est réalisée. Elle consiste à répéter le test de dépistage initialement allongé en mélangeant, à volume égal, le plasma du patient avec un pool de plasma normal. L'absence de correction de l'allongement des temps de coagulation après mélange est en faveur de la présence d'un inhibiteur de la coagulation, appelé également anticoagulant circulant. Au contraire, si le temps de coagulation est corrigé après test du mélange, cela orientera plutôt vers un déficit en facteur de la coagulation.

Le résultat est exprimé en indice de Rosner (IR) correspondant à :

$$IR = ((\text{Temps mélange} - \text{Temps témoin}) / \text{Temps patient}) \times 100$$

La mise en évidence de l'anticoagulant circulant est négative si l'IR est < 12% et positive s'il est  $\geq$  15% avec une zone d'incertitude entre 12 et 15%.

## 3) Confirmation de la dépendance en PL

Le but de cette étape est de montrer que l'inhibiteur de la coagulation est PL-dépendant.

Cette étape consiste à réaliser le test de dépistage initialement allongé, en présence d'un excès de PL. Ainsi, en présence d'un LA, la saturation des aPLs par l'excès de PL entraîne la correction de l'allongement du temps de coagulation.

Après l'étape de confirmation, si au moins un des deux tests de coagulation est positif, la présence d'un LA est affirmée.

### iii. Recherche des auto-anticorps anti-phospholipides

La recherche des aPLs conventionnels et non conventionnels sont recherchés par technique ELISA, Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay. C'est une technique immuno-enzymatique qui va permettre d'analyser la réaction entre antigènes et anticorps grâce à la mesure de la densité optique (DO) par spectrophotométrie de la coloration obtenue par l'action d'une enzyme sur un substrat à la fin de la réaction. Il existe plusieurs variantes de la technique ELISA. La variante utilisée pour la détection des aPLs est la « variante indirecte ». Cette technique se décline en plusieurs étapes :

#### 1) « Coating » de l'antigène (AG)

Cette étape permet la fixation de l'AG, dont on recherche l'anticorps (AC) correspondant, au fond des puits de la plaque. Après incubation, les puits sont lavés pour éliminer le surplus d'AG.

#### 2) Étape de saturation

Cette étape permet la saturation des puits avec des protéines inertes comme l'albumine de sérum bovin (BSA) afin d'empêcher une fixation non spécifique sur la surface des bords libres des puits.

#### 3) Incubation de l'AC à doser

Cette étape consiste à incuber la solution d'AC (sérum du patient) que l'on souhaite doser dans les puits de la plaque. Si le sérum du patient contient l'AC recherché, celui-ci se fixe sur l'antigène « coaté » au fond du puits, formant ainsi un complexe AG/AC. Ensuite une étape de lavage intervient pour éliminer le surplus d'AC.

#### 4) Incubation de l'AC conjugué

Dans cette étape, l'incubation d'une solution d'AC couplés à une enzyme va se fixer sur l'AC que l'on souhaite doser. L'enzyme, en présence de son substrat, permettra

l'apparition d'une solution colorée mesurable en spectrophotométrie. Encore une fois, une étape de lavage sera réalisée afin d'éliminer l'excès d'AC conjugué.

#### 5) Étape de révélation

Pour cette étape, on va incuber une solution contenant le substrat de l'enzyme. L'apparition d'une coloration au sein de la solution indique la présence de l'AC recherché. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration de l'AC que l'on souhaite doser. La coloration sera ensuite analysée par spectrophotométrie afin d'obtenir une variation de densité optique qui permettra d'obtenir la quantité d'AC dans le sérum.

#### iv. Particularités de l'exploration des auto-anticorps anti-phospholipides au laboratoire d'immunologie de la Conception

##### Marqueurs conventionnels

Au laboratoire d'immunologie de l'Hôpital de la Conception du Pr. MEGE, les concentrations d'aPLs conventionnels sont mesurées à l'aide de tests ELISA disponibles dans le commerce. Les aCL (IgG et IgM) et les aB2GPI (IgG et IgM) sont mesurés respectivement avec CardiolisaTheradiag® (Marne la Vallée, France) et OrgentecDiagnostica® (Mainz, Allemagne). Selon les recommandations des fabricants et la validation sur site, les seuils de positivité sont de 15 U/mL pour l'aCL et de 8 U/mL pour l'aB2GPI. Pour éviter les problèmes de liaison non spécifique et augmenter la spécificité, chaque échantillon positif est contrôlé en double et la DO mesurée du « BLANC » du sérum du patient du puits « non-coaté » en antigène a été soustraite de la DO mesurée du puits « coaté » en antigène.

##### Marqueurs non conventionnels

Pour la détection des marqueurs non conventionnels, le laboratoire utilise un test ELISA « maison ». Le laboratoire effectue la détection des aCL IgA, des aB2GP1 IgA,

des aPE IgG, IgM et IgA, des aPT IgG et IgM, des aANV IgG et IgM. De même que les marqueurs conventionnels, la densité optique spécifique ( $\Delta DO$ ) pour chaque échantillon est calculée en soustrayant la DO du puits « coaté » en antigène de la DO obtenue avec le puits « non coaté ».

### 3. Physiopathologie du syndrome des anti-phospholipides

La physiopathologie de SAPL n'est pas encore totalement élucidée à ce jour cependant, un modèle pathogénique a été retenu pour l'expliquer. Le rôle des aPLs dans le SAPL serait expliqué par différents mécanismes physiopathologiques. Les aPLs activeraient des cellules participant à la coagulation et perturberaient donc le système de la coagulation. Les aPLs seraient également considérés comme des facteurs de risque cardiovasculaires (58).

Les antécédents génétiques peuvent prédisposer au développement du SAPL et les variations épigénétiques peuvent contribuer à l'hétérogénéité clinique. Des associations entre les aPLs et de multiples antigènes leucocytaires humains HLA-DR ou HLA-DQ sont rapportées ainsi qu'un polymorphisme valine (247)/leucine sur la  $\beta 2GP1$  qui pourrait représenter un risque génétique pour la production d'  $a\beta 2GP1$  et le développement d'un SAPL (59).

Des preuves issues d'études cliniques et expérimentales, *in vitro et in vivo*, confirment que certains aPLs sont pathogènes, et pas seulement des marqueurs diagnostiques pour le SAPL. Les aPLs sont dirigés contre les protéines de liaison des phospholipides. Les  $a\beta 2GP1$  semblent jouer un rôle particulièrement important (60). Un processus pathogène clé d'initiation est l'exposition du phospholipide de la surface endothéliale chargé négativement. La  $\beta 2GP1$  exogène et circulante peut alors se lier à cette surface phospholipidique et modifier sa conformation, exposant un épitope cryptique Arg39-Arg43 dans le domaine I qui est reconnu par les aPLs pathologiques. Le complexe aPL- $\beta 2GP1$  peut se lier aux cellules endothéliales, aux plaquettes et aux monocytes et les activer (61,62). Les aPLs interagissent avec les cellules endothéliales, principalement par la liaison de la  $\beta 2GPI$  à la surface des cellules, et induisent un phénotype endothélial pro-coagulant et pro-inflammatoire. Les aPLs régulent à la hausse l'expression du facteur tissulaire sur les cellules endothéliales et les monocytes sanguins, et favorisent l'adhésion des leucocytes endothéliaux, la sécrétion de

cytokines et la synthèse de PGE2. Les aPLs reconnaissent les protéines de liaison aux phospholipides exprimées sur les plaquettes. La liaison des aPLs sur ces protéines potentialise l'agrégation plaquettaire. Les aPLs interfèrent avec les composants plasmatiques de la cascade de coagulation, en inhibant les inhibiteurs de la coagulation (protéine C activée, antithrombine, protéine S) et en affectant la fibrinolyse (PAI-1) (63,64) (Figure 6 et 7).

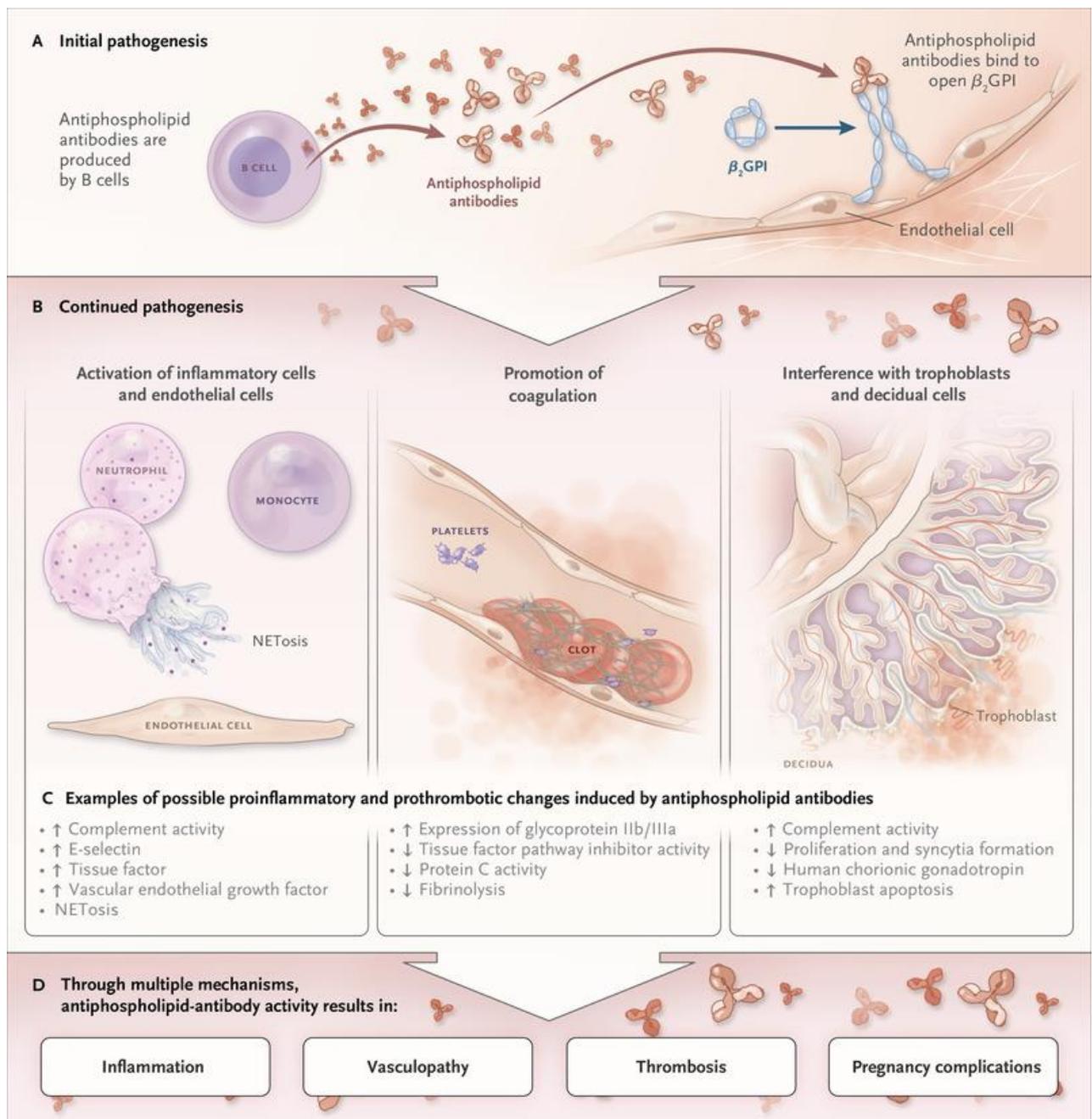


Figure 6. Physiopathologie du SAPL (58)

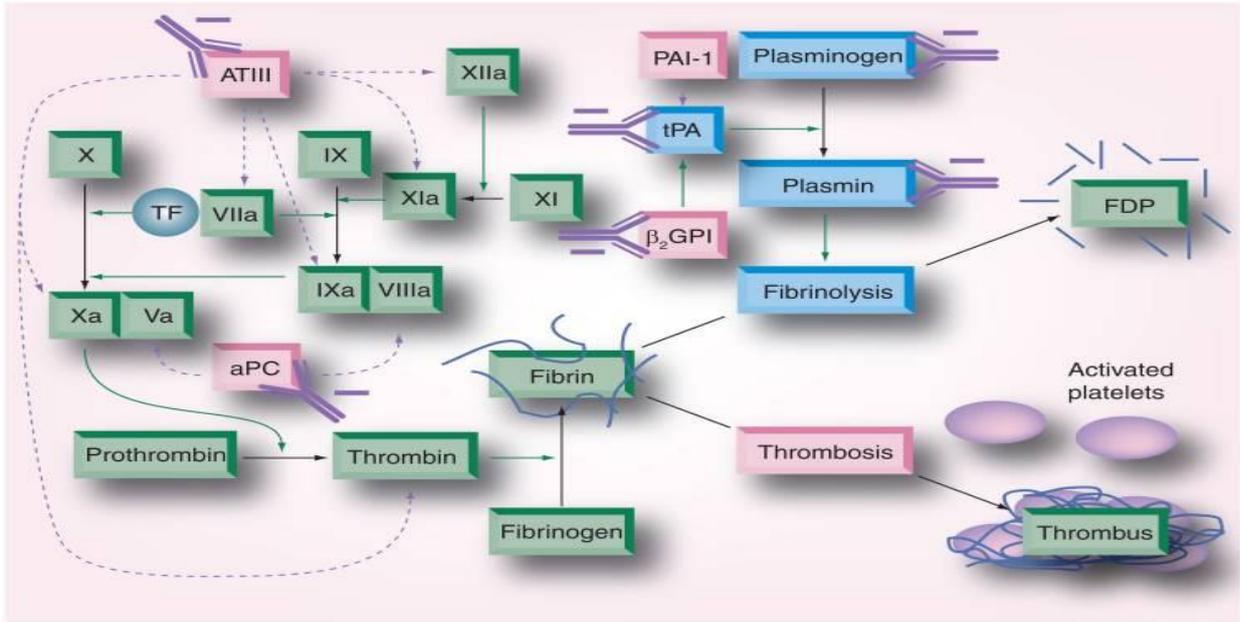


Figure 7. Perturbation du système de la coagulation dans le SAPL (64)

Ces mécanismes contribuent tous à un état pro-coagulant qui est nécessaire mais pas suffisant pour expliquer la formation de thrombose. La théorie du « double-hit » est actuellement le modèle pathogénique retenu afin d'expliquer la physiopathologie du SAPL. La formation du caillot semble nécessiter deux étapes : la présence d'aPLs fournit le « premier hit », qui active la coagulation lorsqu'il est accompagné d'un autre état pro-coagulant, le « second hit ». Le « second hit » peut être une infection ou un état inflammatoire. L'activation du complément semble être nécessaire à la formation du caillot in vivo (61) (Figure 8).

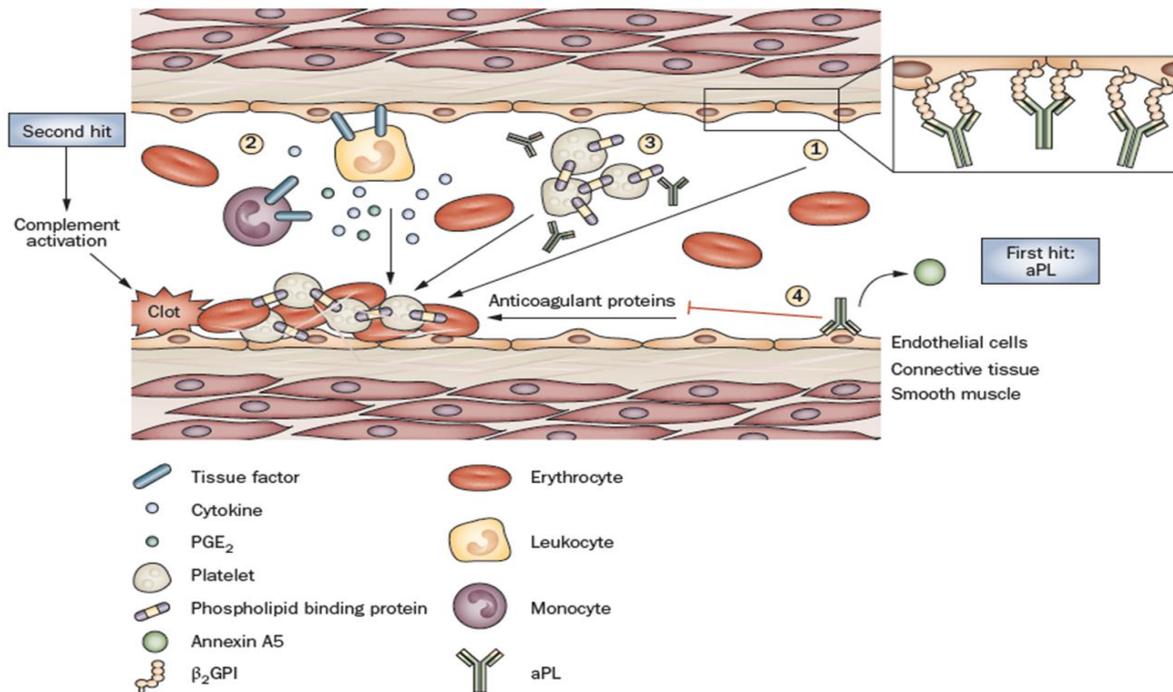


Figure 8. Mécanismes physiopathologiques de la coagulation médiés par les aPLs et théorie du « double hit » (61)

De plus, les PNN contribuent et jouent un rôle dans la thrombose artérielle et veineuse par la libération extracellulaire de matériel, principalement de l'ADN et des histones, connu sous le nom de Neutrophil Extracellular Traps (NETs). Il a été montré que l'injection de fractions purifiées d'IgG d'aPLs chez des souris potentialisent le développement de thrombi riches en NETs (65).

Récemment, il a été découvert que le récepteur endothélial de la protéine C (EPCR) sert de récepteur à la surface des cellules pour les aPLs et qu'il médiatise l'internalisation des aPLs dans les monocytes. En effet, la liaison de l'aPL à l'acide lysobisphosphatidique (LPBA) qui recouvre l'EPCR perturbe le complexe inhibiteur du FT et induit ainsi une activation de la coagulation. Dans un modèle animal de souris muté sur le résidu cystéine intracellulaire de l'EPCR (Souris ProcrC/S), il a été observé un blocage du trafic endosomal des aPLs et de la voie de signalisation pro-inflammatoire IFN dans les cellules immunitaires innées. Ces souris mutantes présentent également un défaut dans la capacité à échanger la phosphatidylcholine structurellement liée à l'EPCR avec un lipide endosomal tardif, le LBPA. Les souris mutantes ProcrC/S ou les souris traitées avec un anticorps spécifique bloquant la

fonction de l'EPCR-LBPA sont protégées contre la thrombose et la perte fœtale induites par les aPLs. Notamment, l'activation de l'EPCR-LBPA ne favorise pas seulement les conséquences pathologiques néfastes des aPLs, mais stimule également la production d'IFN- $\alpha$  des cellules dendritiques pour l'expansion des cellules B1a productrices d'aPLs. Dans un modèle expérimental de SAPL, les souris Tlr7<sup>-/-</sup> et ProcrC/S ne peuvent pas développer les cellules B1a responsables de la production d'aPLs réactifs aux lipides. Le blocage de la signalisation EPCR-LBPA est suffisant pour prévenir le développement des aPLs chez les souris présentant un syndrome de type lupus érythémateux systémique dépendant de TLR7 (66) (Figure 9).

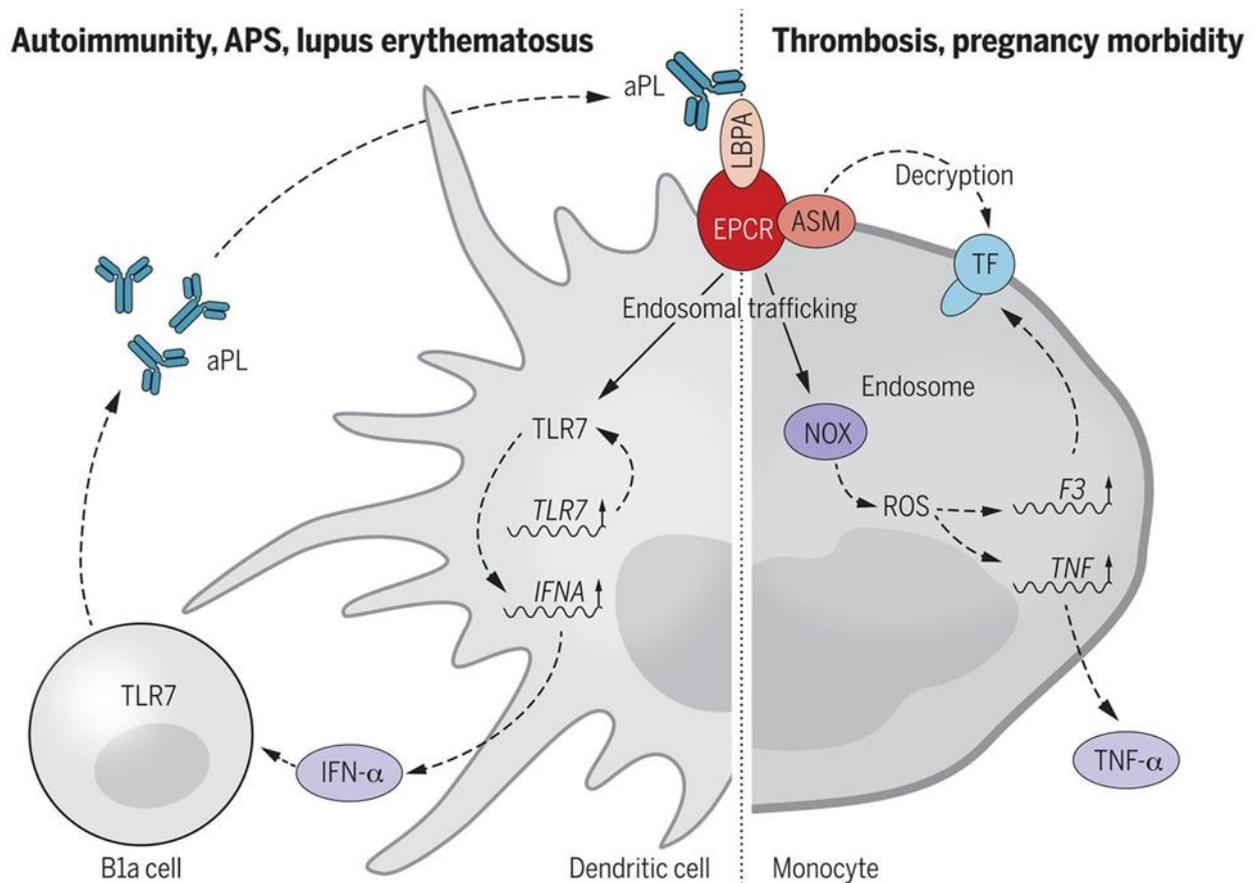


Figure 9. La reconnaissance de EPCR-LPBA par les aPLs induit une auto-immunité (66)

## II. Les auto-anticorps anti-phospholipides dans la COVID-19

L'hypercoagulabilité est une caractéristique frappante du COVID-19. En effet, dans une étude récente de grande envergure, le risque de développer un évènement thrombotique artériel et/ou veineux chez les patients atteints de la COVID-19 était de 16 % (67). Cette incidence peut monter jusqu'à 50% chez les patients atteints de forme sévère de la COVID-19 nécessitant une hospitalisation en réanimation (21,22). De plus, plusieurs études autopsiques de patients atteints de la COVID-19 ont révélé une microangiopathie avec présence de micro-thrombi dans divers organes, notamment les poumons, les reins, le cœur, la peau et la prostate (68). La pathogenèse de l'hypercoagulabilité dans la COVID-19 n'est pas entièrement comprise.

Dans l'hypothèse qu'une réponse auto-immune est induite par le SARS-CoV-2, l'identification d'un profil d'auto-anticorps discriminant entre forme modérée et forme sévère pourrait présenter un réel avantage pour le management et la gestion de la pandémie notamment sur l'orientation des patients vers les structures de soins adaptées.

Devant l'évolution clinique souvent fatale des personnes présentant des comorbidités, notamment cardiovasculaires (HTA, obésité, diabète), il serait intéressant de guider la recherche vers des auto-anticorps connus pour être associés à des maladies cardiovasculaires. La présence d'aPLs a été décrite au début de la pandémie chez des patients présentant des facteurs de risques cardiovasculaires et atteints de formes sévères de la COVID-19, qui ont développé des infarctus cérébraux (69). Les aPLs ont une place centrale dans le diagnostic du SAPL et sont aussi considérés comme facteurs de risque cardiovasculaire (58).

Afin d'identifier les causes possibles de la macroangiopathie et de la microangiopathie dans cette maladie, de nombreuses études ont évalué la présence et le rôle potentiel des aPLs dans la COVID-19.

## 1. Revue de la littérature

Plusieurs études ont montré la présence d'aPLs dans la COVID-19, mais des résultats controversés ont été trouvés concernant la prévalence, le type et la pertinence clinique des aPLs.

Initialement, des « cases report » ont été recensés dans la littérature. Ils présentaient essentiellement des cas descriptifs de patients atteints de la COVID-19 avec découverte de thromboses artérielles et/ou veineuses et positifs pour les aPLs de type aCL IgG, IgM et/ou IgA dans la majorité des cas. (69–76).

Ce n'est qu'ensuite que de nombreuses études sont parues dans la littérature afin d'étudier le potentiel rôle des aPLs dans la coagulopathie de la COVID-19 et sa physiopathologie.

Nous avons consulté la base de données MEDLINE (National Library of Medicine) en combinant les mots-clés suivants : « antiphospholipid antibodies », « anticardiolipine », « anti-beta-2-glycoprotein-1 », « lupus anticoagulant », « covid 19 », « coronavirus » and « sars cov 2 ».

Dans un second temps, nous avons sélectionné les études pertinentes qui se concentraient sur la prévalence et la pertinence clinique des aPLs dans la COVID-19. Les études sélectionnées sont résumées dans le tableau suivant.

Nombres de patients testés pour aPLs et sévérité de la maladie	Méthodologie	Nombres de patients avec aPLs +	Prévalence et type d'aPLs	Conclusions / Évènements thrombotiques	Études
57 (Sévère (S))	LA : DRVVT + PTTLA aCL : NR	50/57 (87.7%)	LA 50/57 (80.7%) aCL IgM 1/57 (1.8%)	Étude prospective multicentrique SDRA COVID-19 vs SDRA non-COVID-19 64 Thromboses : EP +++ (Cohorte COVID-19)	Helms et al. (77)
34 (Sévérité NR)	LA : DRVVT + PTTLA	31/34 (91.2%)	LA 31/34 (91.2%)	1 EP Plus de LA dans la COVID-19 (par rapport à une cohorte historique non-COVID-19)	Bowles et al. (78)
25 (S)	LA : DRVVT aPLs : NR	24/25 (96%)	aCL IgG 13/25 (52%) aCL IgM 5/25 (20%) aCL IgA 7/25 (28%) aB2GP1 IgG 1/25 (4%) aB2GP1 IgM 0/25 (0%) aB2GP1 IgA 3/25 (12%) LA 23/25 (92%)	6 EP, tous aPLs +	Pineton de Chambrun et al. (79)
79 (66 S et 13 Non Sévère (NS))	LA : DRVVT aCL et aB2GP1 (IgG,IgM,IgA) et aB2GP1- D1 : CIA aPS/PT (IgG, IgM) : ELISA commercial	31/66 (47%) 0/13 (0%)	aCL IgG 4/79 (5.1%) aCL IgM 2/79 (2.5%) aCL IgA 17/79 (21.5%) aB2GP1 IgG 12/79 (12.5%) aB2GP1 IgM 1/79 (1.3%) aB2GP1 IgA 19/79 (24.1%) LA 2/79 (2.5%)	5 AVC 1 SCA Isotypes IgA +++ Association significative multiple aPLs (incluant IgA) positifs avec AVC	Xiao et al. (80)

35 (post-mortem)	aCL et aB2GP1 (IgG,IgM,IgA) : CIA aPS/PT (IgG, IgM) : ELISA commercial	6/35 (17.1%)	aCL IgG 1/35 (2.9%) aCL IgM 2/35 (5.7%) aPS/PT IgG 1/35 (2.9%) aPS/PT IgM 2/35 (5.7%)	35 micro-thrombis à l'autopsie 10 thromboses dont 4 EP et 2 AVC	Previtali et al. (81)
68 (Sévérité NR)	LA : DRVVT +/- PTTLA aPLs : NR	30/68 (44.1%)	aCL IgG 0/62 (0%) aCL IgM 1/62 (1.6%) aB2GP1 IgG 0/62 (0%) aB2GP1 IgM 1/60 (1.7%) LA 30/68 (44.1%)	19 thromboses (LA +) Association significative entre LA positif et survenue thrombose.	Reyes Gil et al. (82)
121 pour aCL et aB2GP1 IgA 72 pour LA 112 pour aCL et aB2GP1 (IgG, IgM) (Sévérité NR)	LA : DRVVT + PTTLA aCL et aB2GP1 (IgG, IgM) : ELISA maison aCL et aB2GP1 IgA : ELISA commercial	NR	aCL IgG 15/112 (13.4%) aCL IgM 3/112 (2.7%) aCL IgA 2/121 (1.7%) aB2GP1 IgG 7/112 (6.3%) aB2GP1 IgM 8/112 (7.1%) aB2GP1 IgA 4/121 (3.3%) LA 16/72 (22.2%)	Étude multicentrique COVID-19 vs SAPL vs autres MAI 18 thromboses Différence significative COVID-19 vs SAPL ou autres MAI : moins d'aPLs dans la COVID-19 que dans SAPL et moins d'aCL IgM et d'aB2GP1 IgG dans COVID-19	Gatto et al. (83)
31 (S)	LA : DRVVT + PTTLA aCL et aB2GP1 (IgG,IgM,IgA) : CIA	23/31 (74.2%)	aCL IgG 6/31 (19.4%) aCL IgM 1/31 (3.2%) aCL IgA 3/31 (9.7%) aB2GP1 IgG 3/31 (9.7%) aB2GP1 IgM 1/31 (3.2%) aB2GP1 IgA 3/31 (9.7%) LA 21/31 (67.7%)	10 thromboses dont 1 AVC et thromboses de circuits de cathéter, dialyse, ECMO Suivi à 1 mois : LA : 1/10 aCL 0/4 aB2GP1 : 1/2	Devreese et al. (84)

	aPS/PT (IgG, IgM) : ELISA commercial		aPS/PT 7/31 (22.6%)		
74 (S)	LA : DRVVT + PTTLA aCL IgG, IgM et aB2GP1 IgG : CIA	65/74 (87.8%)	aCL (IgG, IgM) ou aB2GP1 IgG 9/74 (12.2%) LA 63/74 (85.1%)	26 TVP, 4 EP, 1 AVC Prévalence LA élevée	Siguret et al. (85)
21 (S)	NR	12/21 (57.1%)	aCL IgG 2/21 (9.5%) aCL IgM 3/21 (14.3%) aB2GP1 IgG 1/21 (4.8%) aB2GP1 IgM 0/21 (0%) LA 21/31 (67.7%) aPT IgG 0/21 (0%) aPT IgM 1/21 (4.8%) aPS IgG 2/21 (9.5%) aPS IgM 3/21 (14.3%) aANV IgG 1/21 (4.8%) aANV IgM 4/21 (19%)	2 EP	Amezcu-Guerra et al. (86)
27 (6 S et 21 NS)	LA : DRVVT + PTTLA aCL IgG, IgM et aB2GP1 IgG, IgM, IgA : ELISA	7/27 (25.9%)	aB2GP1 IgA 1/27 (3.7%) LA 6/27 (22.2%) aCL IgG ou IgM 0/27 (0%) aB2GP1 IgG ou IgM 1/27 (3.7%)	15 thromboses Dont 3 APL+	Gutiérrez et al. (87)
32 S	aCL et aB2GP1 (IgG, IgM, IgA) : CIA	12/32 (37.5%)	aCL IgG 1/4 (25%) aCL IgM 2/4 (50%) aB2GP1 2/4 (50%) LA 6/12 (50%)	6 AVC dont 5 avec aPLs + Association significative aPLs - AVC	Fan et al. (88)

43 (19 S et 24 NS)	LA : DRVVT + PTTLA aCL et aB2GP1 (IgG, IgM) : ELISA commercial	16/43 (37.2%)	LA 16/43 (37.2%) aCL IgG ou IgM ou aB2GP1 IgG ou IgM 0/43 (0%)	3 thromboses	Tvito et al. (89)
89 (31 S et 58 NS)	LA : DRVVT + PTTLA aCL et aB2GP1 (IgG, IgM) : CIA	64/89 (71.9%)	aCL IgG ou IgM 7/89 (7.9%) aB2GP1 IgG ou IgM 6/89 (6.7%) LA 59/89 (66.3%)	14 thromboses dont 7 EP	Ferrari et al. (90)
56 (29 S et 27 NS)	aCL et aB2GP1 (IgG, IgM) : ELISA commercial	24/56 (42.9%)	aCL IgG 16/56 (28.6%) aCL IgM 3/56 (5.4%) aB2GP1 IgG 1/56 (1.8%) aB2GP1 IgM 4/56 (7.1%)	aCL IgG associé formes sévères COVID-19	Bertin et al. (3)
56 (Sévérité NR)	LA : DRVVT + PTTLA	27/56 (48.2%)	LA 25/56 (44.6%) aCL ou aB2GP1 (IgG,IgM) 5/56 (8.9%)		Harzallah et al. (91)
24 (Sévérite NR)	aCL et aB2GP1 (IgG, IgM) : ELISA commercial	2/24 (8.3%)	aCL IgG 0/24 (0%) aCL IgM 2/24 (8.3%) aB2GP1 IgG 0/24 (0%) aB2GP1 IgM 2/24 (8.3%)	24 thromboses	Galeano-Valle et al. (92)
104 pour aCL et aB2GP1 53 pour LA (NS)	LA : DRVVT + PTTLA aCL et aB2GP1 (IgG,IgM,IgA) :	35/104 (33.7%)	aCL IgG 8/104 (7.7%) aCL IgM 8/104 (7.7%) aCL IgA 31/104 (29.8%) aB2GP1 IgG 5/104 (4.8%) aB2GP1 IgM 3/104 (2.9%) aβ2GP1 IgA 6/104 (5.8%)	11 thromboses dont 9 EP Association significative entre aCL et aB2GP1 et thromboses	Le Joncour et al. (93)

	CIA + ELISA commercial		LA 21/53 (39.6%)		
31 pour aCL et aB2GP1 26 pour LA (S)	LA : DRVVT + PTTLA aCL et aB2GP1 (IgG, IgM) et aB2GP1 IgA : ELISA commercial	8/31 (25.8%)	aCL IgG 0/31 (0%) aCL IgM 2/31 (6.5%) aB2GP1 IgG ou IgM 0/31 (0%) aB2GP1 IgA 2/31 (6.5%) LA 6/26 (23.1%)	Prévalence LA plus importante dans COVID-19 que cohorte non-COVID-19	Karahan et al. (94)
122 (S)	aCL et aB2GP1 (IgG, IgM, IgA) : ELISA maison + CIA aPS/PT (IgG, IgM) : ELISA commercial	NR	aCL IgG 7/122 (5.7%) aCL IgM 8/122 (6.6%) aB2GP1 IgG 19/122 (15.6%) aB2GP1 IgM 11/122 (9%) aB2GP1 IgA 8/122 (6.6%)	16 thromboses aPLs de la COVID-19 différents de ceux retrouvés dans le SAPL	Borghi et al. (95)
22 (S)	aCL et aB2GP1 et aPS/PT (IgG, IgM) : ELISA commercial	NR	aCL IgG 13/22 (59.1%) aCL IgM 7/22 (31.8%) aB2GP1 IgG et IgM : 0/22 (0%) aPS/PT IgG 0/22 (0%) aPS/PT IgM 1/22 (4.5%)	Tendance à une association entre la présence d'aCL et la sévérité de la COVID-19	Trahtenberg et al. (96)
172 (Sévérité NR)	NR	89/172 (52%)	aCL IgG 8/172 (4.7%) aCL IgM 39/172 (23%) aCL IgA 6/172 (3.5%) aB2GP1 IgG 5/172 (2.9%) aB2GP1 IgM 9/172 (5.2%) aB2GP1 IgA 7/172 (4.1%)	aPLs IgG favorisent le relargage de NETs chez des PNN d'individus sains et favorisent l'extension de la thrombose chez un modèle animal Association significative entre NETs et aCL IgG, IgM, aB2GP1 IgG et aPS/PT IgM	Zuo et al. (97)

			aPS/PT IgG 42/172 (24%) aPS/PT IgM 31/172 (18%)		
92 44 Infection récente 48 infection ancienne (NS)	aCL et aB2GP1 (IgG, IgM) : CIA aPT et aANV (IgG, IgM) : ELISA commercial	NR	Infection récente aCL IgG 3/92 (3.3%) aCL IgM 1/92 (1.1%) aB2GP1 IgG 0/92 (0%) aB2GP1 IgM 2/92 (2.2%) aPT IgG 2/92 (2.2%) aPT IgM 3/92 (3.3%) aANV IgG 4/92 (4.3%) aANV IgM 3/92 (3.3%)	Prévalence faible d'aPLs dans la COVID-19	Cristiano et al. (98)
19 (S)	LA : DRVVT aCL et aB2GP1 (IgG, IgM, IgA) : CIA	10/19 (52.6%)	aCL IgG 2/19 (10.5%) aCL IgM 1/19 (5.3%) aCL IgA 6/19 (31.6%) aB2GP1 IgG 6/19 (31.6%) aB2GP1 IgM 0/19 (0%) aB2GP1 IgA 7/19 (36.8%) LA 1/19 (5.3%)	5 thromboses 7 micro thrombis Isotypes IgA le plus retrouvé	Zhang et al. (99)
60 (S)	LA : DRVVT aCL et aB2GP1 (IgG, IgM) : CIA	22/60 (36.7%)	aCL IgG et/ou IgM 0/60 (0%) aB2GP1 IgG 1/60 (1.7%) aB2GP1 IgM 1/60 (1.7%) LA 21/60 (35%)	3 thromboses	Najim et al. (100)
45 (Sévérité NR)	NR	NR	aCL IgG 1/45 (2.2%) aCL IgM 1/45 (2.2%) aB2GP1 IgG 2/45 (4.4%) aB2GP1 IgM 3/45 (6.6%) LA 21/45 (46.6%)	Prévalence forte LA dans la COVID-19	Gazzaruso et al. (101)

<p>474 (157 S et 317 NS)</p>	<p>aCL et aB2GP1 (IgG, IgM) : CIA aB2GP1 IgA et aPS/PT (IgG, IgM) : ELISA commercial</p>	<p>112/474 (23.6%)</p>	<p>aCL et/ou aB2GP1 IgG, IgM 28/474 (5.9%) aB2GP1 IgA 71/474 (15%) aPS/PT IgG ou IgM 22 (4.6%)</p>	<p>Étude multicentrique prospective COVID-19 vs non-COVID-19 9 thromboses Prévalence plus importante de aB2GP1 IgA dans la COVID-19 par rapport à cohortes non-COVID-19</p>	<p>Serrano et al. (102)</p>
<p>115 pour LA 97 pour aCL IgA 98 pour aB2GP1 IgA 109 pour aPT 148 pour aCL, aB2GP1 et aPS/PT (IgG, IgM) (88 S et 66 NS)</p>	<p>LA : DRVVT + PTLLA aCL et aB2GP1 (IgG, IgM, IgA) : CIA aPS/PT et aPT (IgG, IgM) : ELISA commercial</p>	<p>NR</p>	<p>aCL IgG 9/148 (6.1%) aCL IgM 2/148 (4.2%) aCL IgA 3/97 (3.1%) aB2GP1 IgG 5/148 (3.4%) aB2GP1 IgM 3/148 (2.1%) aB2GP1 IgA 2/98 (2%) aPT IgG 11/109 (10.1%) aPT IgM 10/109 (9.2%) aPS/PT IgG 0/148 (0%) aPS/PT IgM 7/148 (4.5%) LA 70/115 (60.9%)</p>	<p>Étude multicentrique prospective COVID-19 vs non-COVID-19 Seulement pour LA + 19 thromboses veineuses 15 EP 6 TVP</p>	<p>Gendron et al. (103)</p>

### i. Prévalence des auto-anticorps anti-phospholipides

De nombreuses études ont étudié la prévalence des aPLs conventionnels dans la COVID-19. Les résultats étaient très hétérogènes allant d'une prévalence faible (80,92,98,101,103) à importante (77,78,85,90,93,97) jusqu'à plus de 50%.

Pour le LA, la prévalence variait entre 5 et 92%. Une forte proportion de LA était retrouvée dans les études qui ciblaient une population nécessitant une hospitalisation en USC.

Pour les aCL IgG, la prévalence variait entre 0 et 59% et entre 0 et 32% pour les aCL IgM et les aB2GP1 IgG. Pour les aB2GP1 IgM, la prévalence variait entre 0 et 9%.

Parmi les études incluant la recherche des marqueurs non conventionnels également, la prévalence des aCL IgA variait entre 2 et 32% et entre 2 et 37% pour les aB2GP1 IgA. Les aANV ont été retrouvés dans 3 à 19% des patients et dans 0 à 24% pour les aPS/PT.

### ii. Association auto-anticorps anti-phospholipides avec thromboses

En ce qui concerne l'association entre la présence d'aPLs et la survenue d'évènements thrombotiques, les résultats étaient partagés. Plusieurs études ont trouvé une association significative entre la présence d'aPLs et l'apparition d'évènements thrombotiques dans la COVID-19 (77,82,93) tandis que d'autres études n'ont pas trouvé de telle association (85,103).

Cependant, devant la forte incidence d'évènements thrombotiques au début de la pandémie, l'utilisation quasi-systématique d'anticoagulants de manière préventive ou curative a largement contribué à la baisse des thromboses observées dans la COVID-19, ce qui rend cette association difficile à analyser statistiquement.

### iii. Association auto-anticorps anti-phospholipides avec formes sévères et hospitalisation en réanimation

En ce qui concerne l'association entre la présence d'aPLs et la sévérité de la COVID-19, les résultats étaient très hétérogènes également. La différence des résultats

retrouvés dans la prévalence des aPLs pourrait être due à la différence dans la sévérité des populations étudiées. Xiao et al. ont trouvé des aPLs dans une cohorte de patients avec formes sévères de la COVID-19 mais aucun dans une cohorte de patients avec formes légères (80). Les aCLs et les aB2GP1 seraient plus retrouvés chez les patients atteints de formes sévères de la COVID-19 nécessitant une hospitalisation en réanimation que chez les patients présentant une forme légère ou modérée de la COVID-19 (3,96,104). Bien que d'autres études ne retrouvassent pas ces résultats. En effet, une étude ne retrouvait pas de différence en terme de prévalence d'aPLs en comparant une cohorte de patients présentant des formes sévères de la COVID-19 avec une cohorte de patients atteints de formes légères de la COVID-19 (90).

#### iv. Association auto-anticorps anti-phospholipides avec le décès

Sur ce point, l'ensemble des études s'accordaient sur le fait qu'il n'existait pas d'association entre la positivité des aPLs et la survenue de décès.

#### v. Méta-analyse

Une méta-analyse de Taha et al. étudiant les aPLs dans la COVID-19 a été réalisée. Cette méta-analyse incluait 1159 patients. La prévalence retrouvée était de 46,8%. L'aPL le plus fréquemment retrouvé était le LA (50,7%) suivi des aCLs IgG ou IgM (13,9%) puis des aB2GP1 IgG ou IgM (6,7%). Une association significative a été obtenue entre la présence d'aCLs et/ou aB2GP1 et les patients atteints de forme sévère de la COVID-19 nécessitant une hospitalisation en réanimation. Cependant, aucune association n'a été retrouvée entre la présence d'aPLs et la mortalité, la nécessité d'une intubation invasive et la survenue d'évènement thrombotique (104).

## 2. Recherches menées au laboratoire d'immunologie de l'Hôpital de la Conception du Pr. MEGE

### i. Études sur les auto-anticorps anti-phospholipides dans la COVID-19 (ANNEXE2)

Dans une première étude, le laboratoire d'immunologie de l'Hôpital de la Conception du Pr. MEGE a étudié les aPLs dans la COVID-19. En effet, la recherche d'aPLs conventionnels a été réalisée sur un échantillon de 56 patients atteints de la COVID-19. Parmi eux, 27 présentaient une forme modérée de la COVID-19 et 29 présentaient une forme sévère. L'analyse statistique a montré que les aCL IgG étaient associés de manière significative avec la sévérité de la maladie (3).

Souhaitant pousser les recherches, une deuxième étude a été réalisée sur un effectif de patients plus important ainsi que sur un panel d'aPLs élargi comprenant les marqueurs non conventionnels en plus des marqueurs conventionnels.

Dans la deuxième étude du laboratoire, la détection d'aPLs conventionnels et non conventionnels a été réalisée sur des échantillons de sérum collectés auprès de 157 patients atteints de la COVID-19 admis dans les Hôpitaux Universitaires de Marseille (France) et référés consécutivement au laboratoire de l'hôpital pour une exploration immunologique. Tous les patients ont été confirmés infectés par le SARS-CoV-2 par RT-PCR en temps réel.

Pour chaque patient, les données cliniques à l'échantillonnage telles que la durée des symptômes, la présentation clinique (légère ou sévère), les antécédents de thrombose, les antécédents d'accident vasculaire cérébral, de maladie coronarienne, d'hypertension, de diabète, d'insuffisance cardiaque et de maladie respiratoire chronique ont été recueillies à partir des dossiers cliniques des patients informatisés.

Selon la présentation clinique au moment du prélèvement, cette cohorte a été divisée en deux groupes : un groupe de patients modérés (n= 59) et un groupe de patients sévères (n=98).

La gravité de la maladie a été définie sur la base d'au moins un des critères suivants : fréquence respiratoire >30/min, saturation en oxygène  $\leq 93\%$ ,  $PaO_2/FiO_2 \leq 300$  mmHg, état de choc ou insuffisance respiratoire nécessitant l'admission dans une USC.

Aucune différence dans la présence d'événements thrombotiques pendant la phase active du COVID-19 n'a été observée. L'évolution fatale était significativement associée au groupe de patients sévères ( $p=0,007$ ).

En ce qui concerne les paramètres biologiques, l'élévation du nombre de PNN ( $p < 0,001$ ), du ratio NLR ( $p < 0,001$ ) et de l'éosinopénie ( $p = 0,002$ ) étaient, comme décrit dans la littérature, significativement associés à la forme sévère de la maladie.

Les données ont montré la présence d'anticorps antinucléaires (AN), marqueur fort de l'auto-immunité, chez 30% des patients atteints de la COVID-19, mais sans spécificité particulière ni association avec la gravité de la maladie.

Nous avons trouvé une prévalence totale d'aPLs de 55%. La moitié étant des aCL IgG. Nous avons montré également que dans un panel étendu d'aPLs, les aCL IgG étaient associés à des formes sévères de la maladie (Figure 10). Ce résultat a confirmé nos données précédentes réalisées sur 56 patients atteints de la COVID-19 pour lesquels la recherche des marqueurs non conventionnels n'avait pas été réalisée, seulement celle des marqueurs conventionnels (3). La recherche du LA était difficile à interpréter car les patients atteints de la COVID-19 recevaient un traitement anticoagulant. En raison de l'interprétation difficile de la positivité des aCL, nous avons systématiquement contrôlé les échantillons positifs en double et, pour aborder la spécificité, l'absorbance des puits « non coatés » traités dans les mêmes conditions a été soustraite afin d'éviter toute liaison non spécifique. De plus, dans cette étude, la positivité des aCL a été confirmée en utilisant un autre test ELISA et a montré que la majorité des aCL IgG étaient dépendants du cofacteur de la B2GP1, comme décrit pour les aPLs pathogènes retrouvés dans le SAPL (105). De plus, afin de vérifier si les aPLs pouvaient être générés par le SDRA ou le choc septique, une cohorte de contrôle de 122 patients hospitalisés en réanimation a montré que la positivité des aPLs, principalement des aCL, était significativement associée à la COVID-19 et non au non-COVID-19 lié au SDRA ou au choc septique.

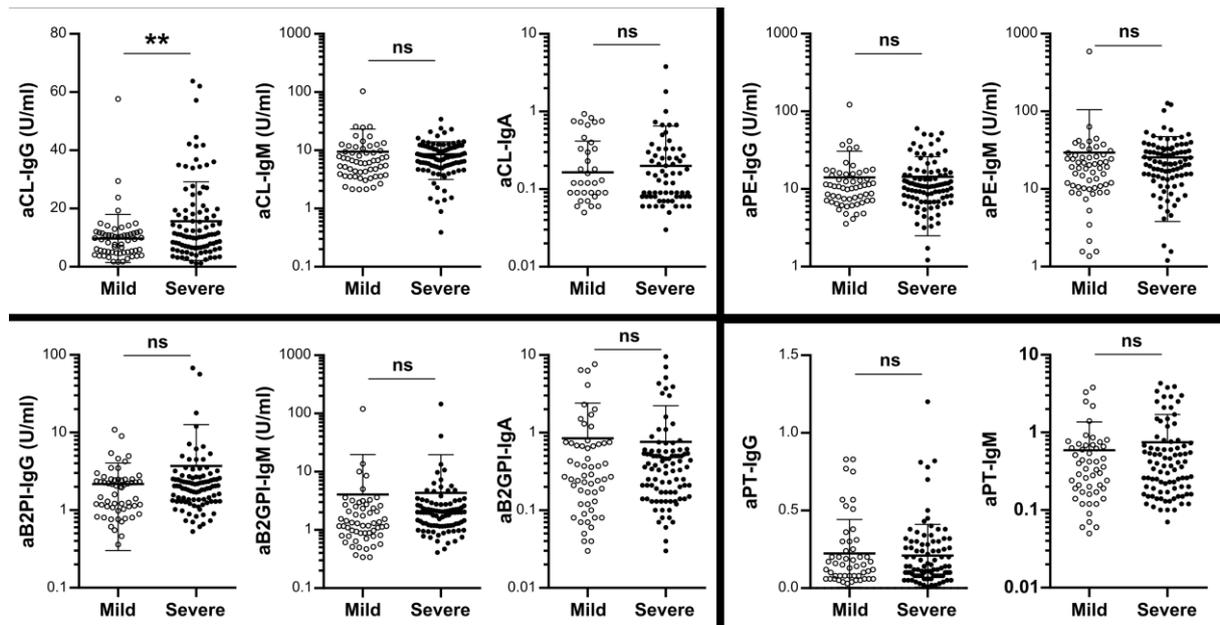


Figure 10. Association significative entre les aCLs IgG et la sévérité de la COVID-19

Pour approfondir l'analyse de l'association des aCL IgG avec la forme sévère de la COVID-19, nous avons analysé l'association des aCL IgG avec les caractéristiques cliniques et les marqueurs biologiques. En plus de la gravité de la maladie, une association significative de la positivité des aCL IgG a été trouvée avec la durée des symptômes ( $p < 0,001$ ), et le transfert en unité de soins intensifs continus ( $p < 0,001$ ). Aucune association n'a été trouvée avec le décès des patients, ni avec l'histoire clinique des patients ou avec les événements thrombotiques survenant pendant la phase active de la maladie. Concernant les paramètres biologiques, nous avons observé une association significative de la positivité des aCL IgG avec une numération élevée des PN ( $p=0,007$ ), mais pas avec la numération lymphocytaire, le NLR ou l'éosinopénie.

Comme les aPLs sont connus pour favoriser la libération de NETs chez les patients avec un SAPL (106) et que des NETs ont été retrouvés chez des patients atteints de forme sévères de la COVID-19 (107), nous avons étudié une association potentielle entre les aCL et les niveaux d'ADN extracellulaire. Sur les 72 patients testés, nous avons trouvé une différence significative dans la détection des NETs en fonction de la positivité des aCL IgG (Figure 11). En effet, un niveau significativement plus élevé de NETs a été trouvé chez les patients aCL IgG positifs par rapport aux patients négatifs.

Aucune association significative n'a été trouvée avec la sévérité de la maladie en prenant en compte l'ensemble de la population de patients. De manière intéressante, chez les patients présentant une forme sévère de la COVID-19, une association significative a été trouvée avec les patients positifs aux aCL IgG.

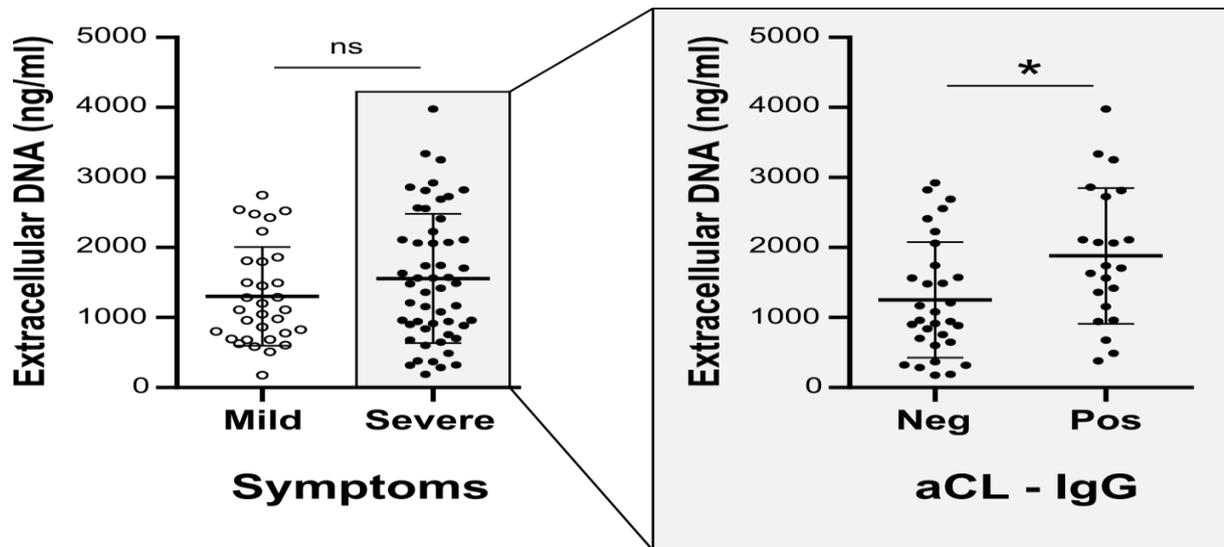


Figure 11. Association significative entre les aCL IgG et les NETs

ii. Case report d'un syndrome post-COVID-19 (ANNEXE 3)

Alors que des marqueurs associés à la sévérité du COVID-19 tels que l'IL6, les aCLs IgG, l'éosinopénie, les ratios dérivés de l'hémogramme, ont été décrits dans la phase aiguë de la maladie (3,32,108), aucun marqueur biologique n'a encore été proposé pour prédire le SPC. Avec un suivi d'un an, nous rapportons le cas d'une femme de 58 ans qui, bien que se remettant du COVID-19, présente des symptômes nouveaux et persistants tels que des complications neurologiques. La COVID-19 a été diagnostiquée en mars 2020, sur la base d'une RT-PCR positive au SARS-CoV-2, suivie en juin 2020 d'une sérologie anti-SARS-CoV-2 positive. Elle présentait dans ses antécédents médicaux de l'asthme, une hypertension artérielle, un diabète insulino-dépendant et un surpoids. Durant la phase aiguë, la patiente a présenté une pneumopathie fébrile hypoxémiante avec dyspnée et toux, qui a nécessité une hospitalisation en USC sans intubation et a été traitée par azithromycine, hydroxychloroquine puis ceftriaxone pendant une semaine. Un an après, elle se plaint

toujours d'asthénie, de céphalées, de troubles de la mémoire avec probable syndrome dysexécutif, de dyspnée d'effort, de douleurs thoraciques et de troubles digestifs à types de diarrhée intermittente, de ballonnements et d'éructions.

L'examen cardiologique a montré une hypertrophie ventriculaire gauche minime avec une fraction d'éjection préservée. Les données de laboratoire pertinentes à l'admission et au cours du suivi de la patiente ont montré un syndrome biologique inflammatoire persistant avec une CRP et un fibrinogène élevés, mais pas d'IL6. Il est intéressant de noter que, parmi les aPLs testés, seul l'aCL IgG était positif et persistant un an plus tard. Une éosinopénie légère mais persistante a également été observée. Les autres données biologiques étaient normales.

En raison d'une plainte neurologique persistante, une analyse du liquide céphalo-rachidien (LCR) a été effectuée et a montré une protéinorachie normale, sans bande oligoclonale ni pléiocytose. L'IRM cérébrale a montré un accident lacunaire temporal isolé d'apparence ancienne. Le TEP scanner cérébrale au 18F-FDG a montré un hypométabolisme modéré de l'amygdale, et un hypométabolisme léger du lobe fronto-mésial, de l'insula, du tronc cérébral et du cervelet, comme cela a déjà été décrit chez des patients présentant un SCP (109). Le TEP scanner du corps entier au 18F-FDG n'a pas montré d'hypermétabolisme pathologique systémique.

Dans ce cas, nous avons mis en évidence des troubles neurologiques, non expliqués par une autre cause que le SPC. En plus d'un processus inflammatoire de bas grade, nous avons mis en évidence la persistance de la positivité des aCL IgG et de l'éosinopénie, un an après l'infection aiguë par la COVID-19, et tous deux définis précédemment comme des facteurs indépendants associés à la sévérité de la maladie. Ils pourraient être des prédictors biologiques potentiels de la survenue d'un SPC. Le mécanisme physiopathologique du SPC n'est pas connu, mais on suggère la possibilité d'une persistance du virus, en particulier dans le système nerveux, ou d'une réaction inflammatoire ou auto-immune post-infectieuse, ou d'une implication microgliale (110). L'aCL pourrait être associé aux infections virales et avoir dans ce contexte des effets pro-inflammatoires persistants, comme cela a été récemment décrit (66).

## DISCUSSION / CONCLUSION

La présence d'aPLs dans les infections virales est un phénomène bien décrit dans la littérature, en particulier les infections causées par le virus de l'hépatite C, le virus de l'immunodéficience humaine, le cytomégalovirus, le varicelle-zona virus et l'Epstein-Barr virus. Ces aPLs induits par les infections virales sont connus pour être le plus souvent transitoires et non pathogéniques (111). Toutefois dans certaines situations, ils peuvent être à l'origine de l'induction d'un processus auto-immun et sont potentiellement des facteurs de risque cardiovasculaires.

Plusieurs études ont montré la présence d'aPLs dans la COVID-19, mais des résultats controversés ont été trouvés concernant la prévalence, le type et la pertinence clinique des aPLs, et de rares études ont analysé leur rôle pathogène.

Les études révèlent une grande hétérogénéité dans la prévalence des aPLs dans la COVID-19, de 0 à 92 %, selon le type et l'isotype des aPLs. Dans notre dernière étude, nous avons trouvé une prévalence totale d'aPLs de 54,8 %. Près de la moitié était des aCL IgG et nous avons montré que dans un panel étendu d'aPLs, les aCL IgG étaient significativement associés aux formes sévères de la maladie. Devreese et al. ont trouvé 23% (7/31) des patients positifs pour l'aCL et ou l'aB2GPI et plus de 50% des patients pour le LA (84), alors que Cristiano et al. ont décrit un pourcentage de positivité plus faible d'environ 5% et 2% pour l'aCL et/ou l'aB2GPI et le LA respectivement (98). En accord avec nos données, Zuo et al. ont trouvé une prévalence totale de plus de 50% de l'ensemble de la cohorte de 172 patients avec COVID-19, avec une prédominance d'aCL (97). Trahtemberg et al. ont également conforté nos données en montrant que les aCL IgG sont prédominants et associés à la sévérité de la maladie (96).

L'hétérogénéité des résultats observée entre les études pourrait être liée à la méthodologie utilisée et/ou à la population étudiée. Dans le cas de la COVID-19, les études relatent une forte prévalence de LA. Cependant, la recherche du LA n'est pas recommandée en phase aiguë afin d'éviter des erreurs dans l'interprétation des résultats. L'inflammation peut interférer avec le dosage du LA et ainsi fausser son résultat. A côté, la présence de traitements anticoagulants peut également impacter le dosage du LA (57). Dans la COVID-19, des valeurs élevées de CRP relatant une

inflammation importante ont été retrouvées en particulier dans les formes sévères de la maladie et l'utilisation de traitements anticoagulants étaient quasi-systématique. Enfin, il est connu une plus grande prévalence d'aPLs chez les personnes âgées avec des comorbidités (112) et chez les patients nécessitant une hospitalisation en USC. Ainsi, une plus grande proportion d'aPLs a été observée chez les patients nécessitant une hospitalisation en USC.

Plusieurs études ont émis l'hypothèse d'une association entre la présence d'aPLs et la survenue d'évènements thrombotiques bien que d'autres études réfutent celle-ci. Dans notre dernière étude, la majorité des patients sont sous traitement anticoagulant et nous n'avons pas de prélèvement avant l'infection. Il est donc difficile de discuter du lien entre les aCL et la thrombose. Ainsi, la présence d'aCL est plutôt associée à une inflammation qu'à une thrombose. Néanmoins, il serait important de proposer un suivi des patients aCL positifs, d'autant plus que la persistance de divers symptômes chez les patients ayant récupéré du COVID-19, a été récemment définie comme un long COVID ou syndrome post-COVID-19 (SPC). Dans le SPC, des symptômes neurologiques persistants ont été décrits, et on peut noter que des troubles neurologiques sont également décrits dans le SAPL (113). Dans la définition du SAPL, la présence des aPLs doit être persistante sur au moins 12 semaines. Concernant la persistance dans le temps des aPLs dans la COVID-19, une étude de suivi à 6 mois de 42 patients a montré l'absence de persistance du LA mais une persistance d'autres aPLs et une association entre la thrombose et l'aCL IgM [115]. Cependant, rares sont les études qui proposent un suivi biologique assez long de ces patients afin d'étudier précisément la persistance des aPLs dans la COVID-19. D'autres études de suivi sont aujourd'hui nécessaires.

Dans ce but, nous projetons de réaliser une étude de suivi de patients atteints de la COVID-19 et positifs pour les aCLIgG qui sera l'objet de mon travail de mémoire.

Enfin une méta-analyse a conclu sur une prévalence d'aPLs à 46.8%, avec une prédominance du LA et des aCL, et une association entre les aCL et/ou aB2GP1 et les formes sévères de la COVID-19. Toutefois, elle ne montre pas d'association avec la mortalité ou la survenue de thrombose.

Aujourd'hui, d'autres études sont nécessaires pour identifier le rôle pathogène des aPLs dans la COVID-19. Le rôle potentiellement pathogénique des aPLs a d'abord été

rapporté par Zhang et al. avec 3 cas de patients victimes d'AVC avec des aPLs d'isotype IgA positifs (69). Ces données ont été confortées par Hasan Ali et al. qui ont montré que les aPLs d'isotype IgA étaient fortement et indépendamment associés à la sévérité de la COVID-19 (114). Ensuite, des données ont été rapportées par d'autres études sur un lien entre les aPLs et la survenue de thromboses. En accord, la pathogénicité des aPLs provenant de patients atteints de COVID-19 a également été révélée par le fait que l'injection d'IgG purifiée a accéléré les événements thrombotiques dans des modèles animaux in vitro (97).

Nous avons récemment mis en évidence un lien entre les aPLs et les marqueurs circulants des NETs chez les patients atteints d'une forme sévère de la COVID-19, suggérant que les aPLs pourraient être un facteur favorisant la NETose exacerbant l'état thrombo-inflammatoire lié à la sévérité de la maladie.

Dans ce contexte, les PNN peuvent produire des « Neutrophils Extracellular Traps » (NETs) en libérant de l'ADN chromosomique décondensé afin de piéger le SARS-CoV-2. Un excès de production de NETs a été signalé chez les patients atteints de forme sévère de la COVID-19, et très récemment la détection de marqueurs extracellulaires des NETs, tels que l'ADN extracellulaire, a été proposée comme marqueur pronostic de l'évolution de la maladie (115). Il est important de noter que les NETs peuvent contribuer à un état pro-thrombotique et inflammatoire, comme on l'observe dans le syndrome de détresse respiratoire aiguë, ou dans le cancer (116). Divers stimuli tels que des virus, des cytokines mais aussi des auto-anticorps peuvent être à l'origine de la formation de NETs.

L'ensemble des études nous permet de poser l'hypothèse que les aCL exacerberaient la sévérité de la maladie en provoquant une production excessive de NETs. En accord, la pathogénicité des aPLs provenant de patients atteints de COVID-19 a également été révélée précédemment par le fait que l'injection d'IgG purifiée a accéléré les événements thrombotiques dans des modèles animaux et a surtout favorisé la libération de NETs chez l'homme (97). Les NETs sont impliqués dans la pathogenèse des maladies inflammatoires et auto-immunes, telles que le SAPL (106). Récemment, dans le cas du COVID-19, on a montré que les NETs étaient en corrélation avec les marqueurs de l'inflammation et on les a proposés comme pronostic de l'évolution de la maladie (115). Nous pouvons donc faire l'hypothèse que l'auto-immunité renforcera

l'effet délétère de la réponse inflammatoire, qui est au cœur de la pathogenèse du COVID-19, en particulier par l'induction d'aCL et de NETs. Comme la formation de NETs dans le SAPL a été associée à une augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), nous pouvons spéculer que la formation de ROS pourrait être associée à des dommages sévères dans la COVID-19. En accord avec cette hypothèse, Wenzhong et al ont proposé, en utilisant des méthodes bioinformatiques, que le SARS-CoV-2 génère des ROS en capturant du fer et endommage ainsi le système immunitaire humain (117). L'implication préférentielle des auto-anticorps contre la cardiolipine dans la gravité de la maladie peut être liée à un nouveau mécanisme décrit précédemment montrant que les aCL reconnaissent un complexe de surface cellulaire composé d'acide lysobiphosphatidique (LBPA) et du récepteur de la protéine C endothéliale (EPCR) (66). L'endocytose ultérieure active les récepteurs Toll 7 et 8 (TLR 7 et TLR8) et la signalisation de l'IFN de type I, ce qui entraîne une synthèse supplémentaire d'auto-anticorps, une inflammation et une thrombose. Comme les signaux TLR7 et IFN de type I sont impliqués dans la COVID-19, nous pouvons supposer que l'aCL généré pendant l'infection pourrait être signalé par la voie récemment décrite de l'EPCR-LBPA impliquée dans l'inflammation et la thrombose. Un mécanisme putatif du rôle de l'aCL dans la forme sévère de la COVID-19 a été proposé dans la Figure 12.

**En conclusion,** l'ensemble de nos résultats nous permet de proposer que la forme sévère de la COVID-19 engage un mécanisme auto-immun via la production d'aPLs (et en particulier d'aCL) qui exacerbe la voie inflammatoire par un excès de production de NETs. Nos résultats amènent deux applications majeures dans la prise en charge de la COVID-19. D'une part dans le suivi des patients, la détection des aCL permettrait d'identifier les formes sévères et potentiellement les formes longues de COVID-19. D'autre part, une stratégie thérapeutique originale pourrait être proposée en ciblant la NETose.

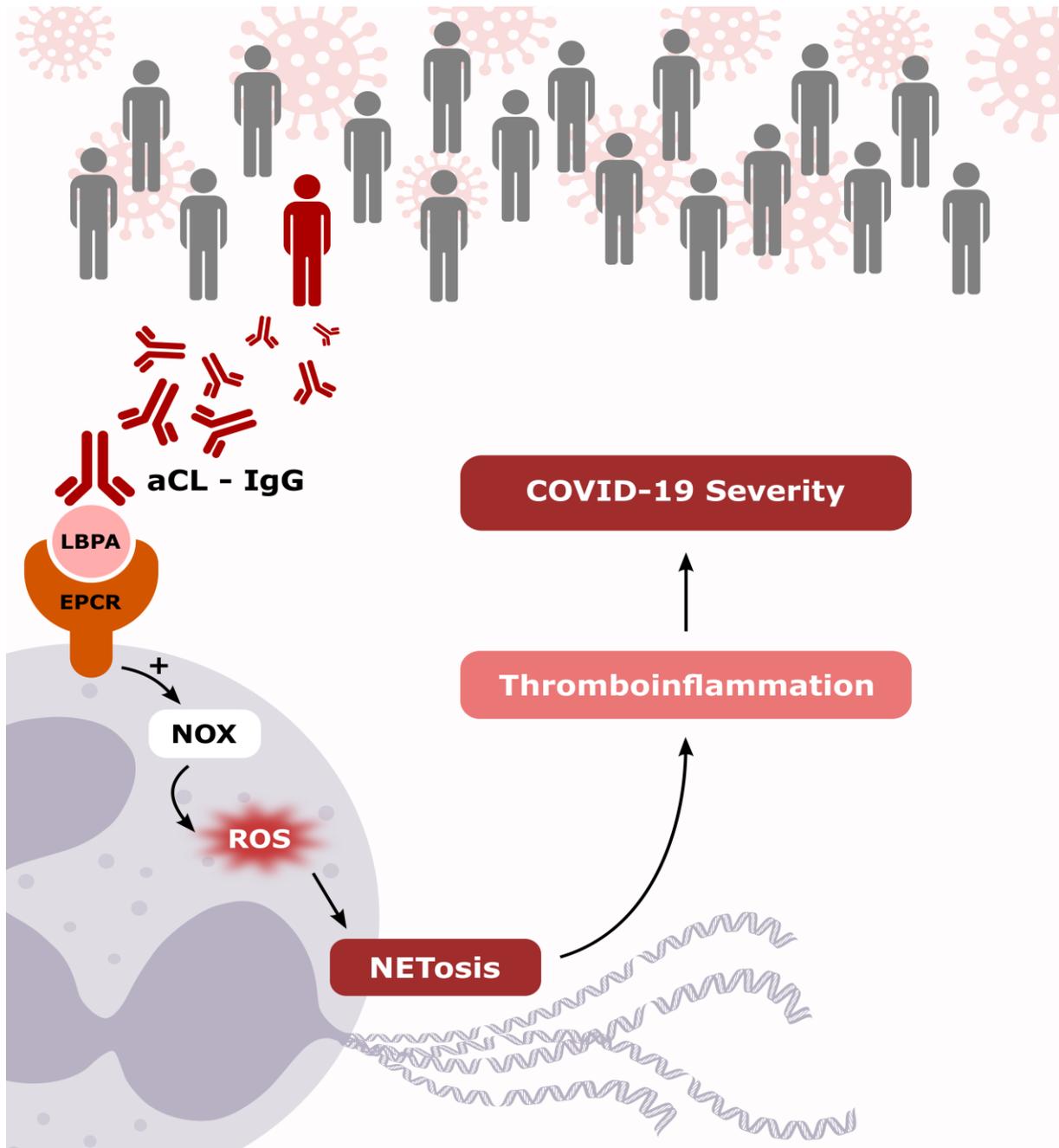


Figure 12. Mécanisme physiopathologique incriminé dans la sévérite de la COVID-19 causée par les aCL IgG

## BIBLIOGRAPHIE

1. 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*. 15 févr 2020;395(10223):497- 506.
2. Qin C, Zhou L, Hu Z, Zhang S, Yang S, Tao Y, et al. Dysregulation of Immune Response in Patients With Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 28 juill 2020;71(15):762- 8.
3. Bertin D, Brodovitch A, Beziane A, Hug S, Bouamri A, Mege JL, et al. Anticardiolipin IgG Autoantibody Level Is an Independent Risk Factor for COVID-19 Severity. *Arthritis Rheumatol*. nov 2020;72(11):1953- 5.
4. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*. 20 févr 2020;382(8):727- 33.
5. 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.
6. Wrapp D, Wang N, Corbett KS, Goldsmith JA, Hsieh C-L, Abiona O, et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science*. 13 mars 2020;367(6483):1260- 3.
7. 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*. mars 2020;579(7798):270- 3.
8. Ren L-L, Wang Y-M, Wu Z-Q, Xiang Z-C, Guo L, Xu T, et al. Identification of a novel coronavirus causing severe pneumonia in human: a descriptive study. *Chin Med J (Engl)*. 5 mai 2020;133(9):1015- 24.
9. World Health Organisation. Weekly epidemiological update on COVID-19 - 24 August 2021 [Internet]. [cité 31 août 2021]. Disponible sur: <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19--24-august-2021>

10. 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*. 30 avr 2020;382(18):1708- 20.
11. Wang D, Hu B, Hu C, Zhu F, Liu X, Zhang J, et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus–Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*. 17 mars 2020;323(11):1061 - 9.
12. The Novel Coronavirus Pneumonia Emergency Response Epidemiology Team TNCPERE. The Epidemiological Characteristics of an Outbreak of 2019 Novel Coronavirus Diseases (COVID-19) — China, 2020. *China CDC Wkly*. 1 févr 2020;2(8):113- 22.
13. 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*. 17 mars 2020;NEJMc2004973.
14. Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange S, Müller MA, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*. mai 2020;581(7809):465- 9.
15. Walls AC, Park Y-J, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Velesler D. Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell*. 16 avr 2020;181(2):281-292.e6.
16. de Wit E, van Doremalen N, Falzarano D, Munster VJ. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nat Rev Microbiol*. 2016;14(8):523- 34.
17. Bonny V, Maillard A, Mousseaux C, Plaçais L, Richier Q. COVID-19 : physiopathologie d'une maladie à plusieurs visages. *Rev Med Interne*. juin 2020;41(6):375- 89.
18. Vabret N, Britton GJ, Gruber C, Hegde S, Kim J, Kuksin M, et al. Immunology of COVID-19: Current State of the Science. *Immunity*. 16 juin 2020;52(6):910- 41.
19. Parasher A. COVID-19: Current understanding of its Pathophysiology, Clinical presentation and Treatment. *Postgrad Med J*. 1 mai 2021;97(1147):312- 20.

20. Wiersinga WJ, Rhodes A, Cheng AC, Peacock SJ, Prescott HC. Pathophysiology, Transmission, Diagnosis, and Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. *JAMA*. 25 août 2020;324(8):782.
21. Klok FA, Kruip MJHA, van der Meer NJM, Arbous MS, Gommers D a. MPJ, Kant KM, et al. Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. *Thromb Res*. juill 2020;191:145- 7.
22. Klok FA, Kaptein FHJ, van Paassen J, Stals MAM, Huisman MV, Endeman H. Confirmation of the high cumulative incidence of thrombotic complications T in critically ill ICU patients with COVID-19: An updated analysis. *Thromb Res*. 2020;4.
23. Nalbandian A, Sehgal K, Gupta A, Madhavan MV, McGroder C, Stevens JS, et al. Post-acute COVID-19 syndrome. *Nat Med*. avr 2021;27(4):601- 15.
24. Davis HE, Assaf GS, McCorkell L, Wei H, Low RJ, Re'em Y, et al. Characterizing Long COVID in an International Cohort: 7 Months of Symptoms and Their Impact [Internet]. 2021 avr [cité 29 août 2021] p. 2020.12.24.20248802. Disponible sur: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.12.24.20248802v3>
25. Logue JK, Franko NM, McCulloch DJ, McDonald D, Magedson A, Wolf CR, et al. Sequelae in Adults at 6 Months After COVID-19 Infection. *JAMA Netw Open*. 19 févr 2021;4(2):e210830.
26. Kucirka LM, Lauer SA, Laeyendecker O, Boon D, Lessler J. Variation in False-Negative Rate of Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction–Based SARS-CoV-2 Tests by Time Since Exposure. *Ann Intern Med*. 13 mai 2020;M20-1495.
27. Wang W, Xu Y, Gao R, Lu R, Han K, Wu G, et al. Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. *JAMA*. 12 mai 2020;323(18):1843- 4.
28. 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*. 19 nov 2020;71(16):2027- 34.
29. Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *JAMA*. 9 juin 2020;323(22):2249- 51.
30. Rodriguez-Morales AJ, Cardona-Ospina JA, Gutiérrez-Ocampo E, Villamizar-Peña R, Holguin-Rivera Y, Escalera-Antezana JP, et al. Clinical, laboratory and

imaging features of COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Travel Med Infect Dis.* avr 2020;34:101623.

31. Shi H, Han X, Jiang N, Cao Y, Alwalid O, Gu J, et al. Radiological findings from 81 patients with COVID-19 pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet Infect Dis.* avr 2020;20(4):425- 34.

32. Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet Lond Engl.* 28 mars 2020;395(10229):1054- 62.

33. López-Escobar A, Madurga R, Castellano JM, Ruiz de Aguiar S, Velázquez S, Bucar M, et al. Hemogram as marker of in-hospital mortality in COVID-19. *J Investig Med.* juin 2021;69(5):962- 9.

34. Ortiz-Prado E, Simbaña-Rivera K, Gómez- Barreno L, Rubio-Neira M, Guaman LP, Kyriakidis NC, et al. Clinical, molecular, and epidemiological characterization of the SARS-CoV-2 virus and the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19), a comprehensive literature review. *Diagn Microbiol Infect Dis.* sept 2020;98(1):115094.

35. Tian W, Jiang W, Yao J, Nicholson CJ, Li RH, Sigurslid HH, et al. Predictors of mortality in hospitalized COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis. *J Med Virol.* 22 mai 2020;10.1002/jmv.26050.

36. Huang H, Song B, Xu Z, Jiao Y, Huang L, Zhao P, et al. Predictors of Coronavirus Disease 2019 Severity: A Retrospective Study of 64 Cases. *Jpn J Infect Dis.* 22 janv 2021;74(1):54- 60.

37. Tleyjeh IM, Kashour Z, Riaz M, Hassett L, Veiga VC, Kashour T. Efficacy and safety of tocilizumab in COVID-19 patients: a living systematic review and meta-analysis, first update. *Clin Microbiol Infect.* août 2021;27(8):1076- 82.

38. van Paassen J, Vos JS, Hoekstra EM, Neumann KMI, Boot PC, Arbous SM. Corticosteroid use in COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis on clinical outcomes. *Crit Care Lond Engl.* 14 déc 2020;24(1):696.

39. 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.* 17 déc 2020;NEJMoa2035002.

40. RECOVERY Collaborative Group, Mafham M, Peto L, Campbell M, Pessoa-Amorim G, Spata E, et al. Casirivimab and imdevimab in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): a randomised, controlled, open-label, platform trial [Internet]. 2021 juin [cité 31 août 2021] p. 2021.06.15.21258542. Disponible sur: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2021.06.15.21258542v1>
41. 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*. 14 juill 2021;NEJMoa2102685.
42. Falcone M, Tiseo G, Valoriani B, Barbieri C, Occhineri S, Mazzetti P, et al. Efficacy of Bamlanivimab/Etesevimab and Casirivimab/Imdevimab in Preventing Progression to Severe COVID-19 and Role of Variants of Concern. *Infect Dis Ther*. 25 août 2021;1- 10.
43. Rosenblum MD, Remedios KA, Abbas AK. Mechanisms of human autoimmunity. *J Clin Invest*. 1 juin 2015;125(6):2228- 33.
44. Lin YS, Lin CF, Fang YT, Kuo YM, Liao PC, Yeh TM, et al. Antibody to severe acute respiratory syndrome (SARS)-associated coronavirus spike protein domain 2 cross-reacts with lung epithelial cells and causes cytotoxicity. *Clin Exp Immunol*. sept 2005;141(3):500- 8.
45. Yang Y, Huang Y, Chuang Y, Peng C, Wang L, Lin Y, et al. Autoantibodies against human epithelial cells and endothelial cells after severe acute respiratory syndrome (SARS)-associated coronavirus infection. *J Med Virol*. sept 2005;77(1):1- 7.
46. Mohkhedkar M, Venigalla SSK, Janakiraman V. Untangling COVID-19 and autoimmunity: Identification of plausible targets suggests multi organ involvement. *Mol Immunol*. sept 2021;137:105- 13.
47. Angileri F, Legare S, Marino Gammazza A, Conway de Macario E, JL Macario A, Cappello F. Molecular mimicry may explain multi-organ damage in COVID-19. *Autoimmun Rev*. août 2020;19(8):102591.
48. Beaudoin CA, Jamasb AR, Alsulami AF, Copoiu L, van Tonder AJ, Hala S, et al. Predicted structural mimicry of spike receptor-binding motifs from highly pathogenic human coronaviruses. *Comput Struct Biotechnol J*. 2 juill 2021;19:3938- 53.

49. Angileri F, Légaré S, Marino Gammazza A, Conway de Macario E, Macario AJL, Cappello F. Is molecular mimicry the culprit in the autoimmune haemolytic anaemia affecting patients with COVID-19? *Br J Haematol.* 8 juin 2020;10.1111/bjh.16883.
50. V'kovski P, Kratzel A, Steiner S, Stalder H, Thiel V. Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. *Nat Rev Microbiol.* 28 oct 2020;1 - 16.
51. Wickman G, Julian L, Olson MF. How apoptotic cells aid in the removal of their own cold dead bodies. *Cell Death Differ.* mai 2012;19(5):735- 42.
52. Moudgil KD, Choubey D. Cytokines in Autoimmunity: Role in Induction, Regulation, and Treatment. *J Interferon Cytokine Res.* oct 2011;31(10):695- 703.
53. Novelli L, Motta F, De Santis M, Ansari AA, Gershwin ME, Selmi C. The JANUS of chronic inflammatory and autoimmune diseases onset during COVID-19 – A systematic review of the literature. *J Autoimmun.* févr 2021;117:102592.
54. Ehrenfeld M, Tincani A, Andreoli L, Cattalini M, Greenbaum A, Kanduc D, et al. Covid-19 and autoimmunity. *Autoimmun Rev.* août 2020;19(8):102597.
55. Duarte-García A, Pham MM, Crowson CS, Amin S, Moder KG, Pruthi RK, et al. The Epidemiology of Antiphospholipid Syndrome. A Population-Based Study. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ.* sept 2019;71(9):1545- 52.
56. Levine JS, Branch DW, Rauch J. The antiphospholipid syndrome. *N Engl J Med.* 7 mars 2002;346(10):752- 63.
57. Pengo V, Tripodi A, Reber G, Rand JH, Ortel TL, Galli M, et al. Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. *J Thromb Haemost.* 2009;7(10):1737- 40.
58. Garcia D, Erkan D. Diagnosis and Management of the Antiphospholipid Syndrome. *N Engl J Med.* 24 mai 2018;378(21):2010- 21.
59. Castro-Marrero J, Balada E, Vilardell-Tarrés M, Ordi-Ros J. Genetic risk factors of thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *Br J Haematol.* nov 2009;147(3):289- 96.
60. McDonnell T, Wincup C, Buchholz I, Pericleous C, Giles I, Ripoll V, et al. The role of beta-2-glycoprotein I in health and disease associating structure with function: More than just APS. *Blood Rev.* janv 2020;39:100610.

61. Meroni PL, Borghi MO, Raschi E, Tedesco F. Pathogenesis of antiphospholipid syndrome: understanding the antibodies. *Nat Rev Rheumatol*. juin 2011;7(6):330- 9.
62. Giannakopoulos B, Krilis SA. The pathogenesis of the antiphospholipid syndrome. *N Engl J Med*. 14 mars 2013;368(11):1033- 44.
63. Sayar Z, Moll R, Isenberg D, Cohen H. Thrombotic antiphospholipid syndrome: A practical guide to diagnosis and management. *Thromb Res*. févr 2021;198:213- 21.
64. Harper BE, Wills R, Pierangeli SS. Pathophysiological mechanisms in antiphospholipid syndrome. *Int J Clin Rheumatol*. 1 avr 2011;6(2):157- 71.
65. Meng H, Yalavarthi S, Kanthi Y, Mazza LF, Elflin MA, Luke CE, et al. In vivo role of neutrophil extracellular traps in antiphospholipid antibody-mediated venous thrombosis. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ*. mars 2017;69(3):655- 67.
66. Müller-Calleja N, Hollerbach A, Royce J, Ritter S, Pedrosa D, Madhusudhan T, et al. Lipid presentation by the protein C receptor links coagulation with autoimmunity. *Science*. 12 mars 2021;371(6534):eabc0956.
67. Bilaloglu S, Aphinyanaphongs Y, Jones S, Iturrate E, Hochman J, Berger JS. Thrombosis in Hospitalized Patients With COVID-19 in a New York City Health System. *JAMA*. 25 août 2020;324(8):799- 801.
68. Maiese A, Manetti AC, La Russa R, Di Paolo M, Turillazzi E, Frati P, et al. Autopsy findings in COVID-19-related deaths: a literature review. *Forensic Sci Med Pathol*. juin 2021;17(2):279- 96.
69. Zhang Y, Xiao M, Zhang S, Xia P, Cao W, Jiang W, et al. Coagulopathy and Antiphospholipid Antibodies in Patients with Covid-19. *N Engl J Med*. 23 avr 2020;382(17):e38.
70. Jizzini M, Shah M, Zhou K. SARS-CoV-2 and Anti-Cardiolipin Antibodies. *Clin Med Insights Case Rep*. janv 2020;13:117954762098038.
71. Hossri S, Shadi M, Hamarsha Z, Schneider R, El-Sayegh D. Clinically significant anticardiolipin antibodies associated with COVID-19. *J Crit Care*. oct 2020;59:32- 4.
72. Valencia Manrique J, Ghosh K, Boma N. Anticardiolipin antibodies and COVID-19—A case report from America. *J Med Virol*. janv 2021;93(1):76- 7.

73. Escher R, Breakey N, Lämmle B. Severe COVID-19 infection associated with endothelial activation. *Thromb Res.* juin 2020;190:62.
74. Zayet S, Klopfenstein T, Kovács R, Stancescu S, Hagenkötter B. Acute Cerebral Stroke with Multiple Infarctions and COVID-19, France, 2020. *Emerg Infect Dis.* sept 2020;26(9):2258- 60.
75. Gemcioglu E, Erden A, Davutoglu M, Karabuga B, Kucuksahin O. Acute Ischemic Stroke in a Lupus Anticoagulant–Positive Woman With COVID-19. *J Clin Rheumatol.* 17 juill 2020;10.1097/RHU.0000000000001565.
76. Ghafouri S, Rettig M, Kahlon KS. An 89-Year-Old Man with COVID-19-Associated Coagulopathy Presenting with a Prolonged Partial Thromboplastin Time, Lupus Anticoagulant, and a High Titer of Factor VIII Inhibitor. *Am J Case Rep.* 30 oct 2020;21:e926728.
77. Helms J, Tacquard C, Severac F, Leonard-Lorant I, Ohana M, Delabranche X, et al. High risk of thrombosis in patients with severe SARS-CoV-2 infection: a multicenter prospective cohort study. *Intensive Care Med.* 4 mai 2020;1- 10.
78. Bowles L, Platton S, Yartey N, Dave M, Lee K, Hart DP, et al. Lupus Anticoagulant and Abnormal Coagulation Tests in Patients with Covid-19. *N Engl J Med.* 5 mai 2020;NEJMc2013656.
79. Pineton de Chambrun M, Frere C, Miyara M, Amoura Z, Martin-Toutain I, Mathian A, et al. High frequency of antiphospholipid antibodies in critically ill COVID-19 patients: a link with hypercoagulability? *J Intern Med.* mars 2021;289(3):422- 4.
80. Xiao M, Zhang Y, Zhang S, Qin X, Xia P, Cao W, et al. Brief Report: Anti-phospholipid antibodies in critically ill patients with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Arthritis Rheumatol Hoboken Nj.* 30 juin 2020;10.1002/art.41425.
81. Previtali G, Seghezzi M, Moioli V, Sonzogni A, Cerutti L, Marozzi R, et al. The pathogenesis of thromboembolic disease in covid-19 patients: Could be a catastrophic antiphospholipid syndrome? *Thromb Res.* oct 2020;194:192- 4.
82. Reyes Gil M, Barouqa M, Szymanski J, Gonzalez-Lugo JD, Rahman S, Billett HH. Assessment of Lupus Anticoagulant Positivity in Patients With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *JAMA Netw Open.* 3 août 2020;3(8):e2017539.

83. Gatto M, Perricone C, Tonello M, Bistoni O, Cattelan AM, Bursi R, et al. Frequency and clinical correlates of antiphospholipid antibodies arising in patients with SARS-CoV-2 infection: findings from a multicentre study on 122 cases. *Clin Exp Rheumatol.* août 2020;38(4):754- 9.
84. Devreese KMJ, Linskens EA, Benoit D, Peperstraete H. Antiphospholipid antibodies in patients with COVID-19: A relevant observation? *J Thromb Haemost.* sept 2020;18(9):2191- 201.
85. Siguret V, Voicu S, Neuwirth M, Delrue M, Gayat E, Stépanian A, et al. Are antiphospholipid antibodies associated with thrombotic complications in critically ill COVID-19 patients? *Thromb Res.* nov 2020;195:74- 6.
86. Amezcua-Guerra LM, Rojas-Velasco G, Brianza-Padilla M, Vázquez-Rangel A, Márquez-Velasco R, Baranda-Tovar F, et al. Presence of antiphospholipid antibodies in COVID-19: a case series study. *Ann Rheum Dis.* mai 2021;80(5):e73.
87. Gutiérrez López de Ocariz X, Castro Quismondo N, Vera Guerrero E, Rodríguez Rodríguez M, Ayala Díaz R, Martínez López J. Thrombosis and antiphospholipid antibodies in patients with SARS-COV-2 infection (COVID-19). *Int J Lab Hematol* [Internet]. déc 2020 [cité 29 août 2021];42(6). Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ijlh.13320>
88. Fan S, Xiao M, Han F, Xia P, Bai X, Chen H, et al. Neurological Manifestations in Critically Ill Patients With COVID-19: A Retrospective Study. *Front Neurol.* 10 juill 2020;11:806.
89. Tivito A, Ben-Chetrit E, Zimmerman FS, Asher E, Helviz Y. Lupus anticoagulant in patients with COVID-19. *Int J Lab Hematol.* 2021;43(1):e17- 8.
90. Ferrari E, Sartre B, Squara F, Contenti J, Ocelli C, Lemoel F, et al. High Prevalence of Acquired Thrombophilia Without Prognosis Value in Patients With Coronavirus Disease 2019. *J Am Heart Assoc Cardiovasc Cerebrovasc Dis.* 26 oct 2020;9(21):e017773.
91. Harzallah I, Deblquis A, Drénou B. Lupus anticoagulant is frequent in patients with Covid-19. *J Thromb Haemost.* 11 mai 2020;10.1111/jth.14867.

92. Galeano-Valle F, Oblitas CM, Ferreiro-Mazón MM, Alonso-Muñoz J, del Toro-Cervera J, di Natale M, et al. Antiphospholipid antibodies are not elevated in patients with severe COVID-19 pneumonia and venous thromboembolism. *Thromb Res.* août 2020;192:113- 5.
93. Le Joncour A, Frere C, Martin-Toutain I, Gougis P, Ghillani-Dalbin P, Maalouf G, et al. Antiphospholipid antibodies and thrombotic events in COVID-19 patients hospitalized in medicine ward. *Autoimmun Rev.* févr 2021;20(2):102729.
94. Karahan S, Erol K, Yuksel RC, Artan C, Celik I. Antiphospholipid antibodies in COVID-19-associated pneumonia patients in intensive care unit. *Mod Rheumatol.* 1 mars 2021;1- 10.
95. Borghi MO, Beltagy A, Garrafa E, Curreli D, Cecchini G, Bodio C, et al. Anti-Phospholipid Antibodies in COVID-19 Are Different From Those Detectable in the Anti-Phospholipid Syndrome. *Front Immunol.* 15 oct 2020;11:584241.
96. Trahtemberg U, Rottapel R, Dos Santos CC, Slutsky AS, Baker A, Fritzler MJ. Anticardiolipin and other antiphospholipid antibodies in critically ill COVID-19 positive and negative patients. *Ann Rheum Dis.* avr 2021;annrheumdis-2021-220206.
97. Zuo Y, Estes SK, Ali RA, Gandhi AA, Yalavarthi S, Shi H, et al. Prothrombotic autoantibodies in serum from patients hospitalized with COVID-19. *Sci Transl Med.* 18 nov 2020;12(570):eabd3876.
98. Cristiano A, Fortunati V, Cherubini F, Bernardini S, Nuccetelli M. Anti-phospholipids antibodies and immune complexes in COVID-19 patients: a putative role in disease course for anti-annexin-V antibodies. *Clin Rheumatol.* 2021;40(7):2939- 45.
99. Zhang Y, Cao W, Jiang W, Xiao M, Li Y, Tang N, et al. Profile of natural anticoagulant, coagulant factor and anti-phospholipid antibody in critically ill COVID-19 patients. *J Thromb Thrombolysis.* 9 juill 2020;1- 7.
100. Najim M, Rahhal A, Khir F, Aljundi AH, Abu Yousef S, Ibrahim F, et al. Prevalence and clinical significance of antiphospholipid antibodies in patients with coronavirus disease 2019 admitted to intensive care units: a prospective observational study. *Rheumatol Int.* 2021;41(7):1243- 52.

101. Gazzaruso C, Carlo Stella N, Mariani G, Nai C, Coppola A, Naldani D, et al. High prevalence of antinuclear antibodies and lupus anticoagulant in patients hospitalized for SARS-CoV2 pneumonia. *Clin Rheumatol*. 27 mai 2020;1 - 3.
102. Serrano M, Espinosa G, Lalueza A, Bravo-Gallego LY, Diaz-Simón R, Garcinuño S, et al. Beta-2-Glycoprotein-I Deficiency Could Precipitate an Antiphospholipid Syndrome-like Prothrombotic Situation in Patients With Coronavirus Disease 2019. *ACR Open Rheumatol*. 19 mars 2021;3(4):267 - 76.
103. Gendron N, Dragon-Durey M, Chocron R, Darnige L, Jourdi G, Philippe A, et al. Lupus anticoagulant single positivity at acute phase is not associated with venous thromboembolism or in-hospital mortality in COVID-19. *Arthritis Rheumatol Hoboken Nj*. 21 avr 2021;10.1002/art.41777.
104. Taha M, Samavati L. Antiphospholipid antibodies in COVID-19: a meta-analysis and systematic review. *RMD Open*. 5 mai 2021;7(2):e001580.
105. Zachou K, Liaskos C, Christodoulou DK, Kardasi M, Papadamou G, Gatselis N, et al. Anti-cardiolipin antibodies in patients with chronic viral hepatitis are independent of beta2-glycoprotein I cofactor or features of antiphospholipid syndrome. *Eur J Clin Invest*. févr 2003;33(2):161 - 8.
106. Yalavarthi S, Gould TJ, Rao AN, Mazza LF, Morris AE, Núñez-Álvarez C, et al. Antiphospholipid Antibodies Promote the Release of Neutrophil Extracellular Traps: A New Mechanism of Thrombosis in the Antiphospholipid Syndrome. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ*. nov 2015;67(11):2990 - 3003.
107. Zuo Y, Yalavarthi S, Shi H, Gockman K, Zuo M, Madison JA, et al. Neutrophil extracellular traps in COVID-19. *JCI Insight [Internet]*. 4 juin 2020 [cité 27 août 2021];5(11). Disponible sur: <https://insight.jci.org/articles/view/138999>
108. Liang W, Liang H, Ou L, Chen B, Chen A, Li C, et al. Development and Validation of a Clinical Risk Score to Predict the Occurrence of Critical Illness in Hospitalized Patients With COVID-19. *JAMA Intern Med*. 1 août 2020;180(8):1081 - 9.
109. Guedj E, Million M, Dudouet P, Tissot-Dupont H, Bregeon F, Cammilleri S, et al. 18F-FDG brain PET hypometabolism in post-SARS-CoV-2 infection: substrate for persistent/delayed disorders? *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 30 juill 2020;1 - 4.

110. Matschke J, Lütgehetmann M, Hagel C, Sperhake JP, Schröder AS, Edler C, et al. Neuropathology of patients with COVID-19 in Germany: a post-mortem case series. *Lancet Neurol.* nov 2020;19(11):919- 29.
111. Uthman IW, Gharavi AE. Viral infections and antiphospholipid antibodies. *Semin Arthritis Rheum.* févr 2002;31(4):256- 63.
112. Selmi C, De Santis M, Battezzati PM, Generali E, Lari SA, Ceribelli A, et al. Anti-phospholipid antibody prevalence and association with subclinical atherosclerosis and atherothrombosis in the general population. *Int J Cardiol.* 1 févr 2020;300:209- 13.
113. Leal Rato M, Bandeira M, Romão VC, Aguiar de Sousa D. Neurologic Manifestations of the Antiphospholipid Syndrome — an Update. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2021;21(8):41.
114. Hasan Ali O, Bomze D, Risch L, Brugger SD, Paprotny M, Weber M, et al. Severe COVID-19 is associated with elevated serum IgA and antiphospholipid IgA-antibodies. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 30 sept 2020;ciaa1496.
115. Ng H, Havervall S, Rosell A, Aguilera K, Parv K, von Meijenföldt FA, et al. Circulating Markers of Neutrophil Extracellular Traps Are of Prognostic Value in Patients With COVID-19. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* févr 2021;41(2):988- 94.
116. Thålin C, Hisada Y, Lundström S, Mackman N, Wallén H. Neutrophil extracellular traps – villains and targets in arterial, venous and cancer-associated thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* sept 2019;39(9):1724- 38.
117. Wenzhong L, Hualan L. COVID-19: captures iron and generates reactive oxygen species to damage the human immune system. *Autoimmunity.* :1- 12.

## **ANNEXE 1 : Anticardiolipin IgG Autoantibody Level Is an Independent Risk Factor for COVID-19 Severity.**

Daniel Bertin, PharmD, MSc AP-HM, Hôpital de la Conception Aix-Marseille Université and CNRS UMR 7051  
Alexandre Brodovitch, PhD Abdou Beziene, PhD Sylvia Hug, MD Afaf Bouamri, PharmD AP-HM, Hôpital de la Conception  
Jean Louis Mege, MD, PhD AP-HM, Hôpital de la Conception IRD and Méditerranée Infection  
Xavier Heim, PharmD, MSc Nathalie Bardin, PharmD, PhD AP-HM, Hôpital de la Conception Aix Marseille Université  
Center for CardioVascular and Nutrition Research and INSERM UMRS 1263 Marseille, France

To the Editor:

A growing body of evidence indicates that patients with cardiovascular complications are at a higher risk for developing severe manifestations of coronavirus disease 2019 (COVID-19) (1). In addition, the high incidence of thromboembolic events suggests that COVID-19–induced coagulopathy plays an important role in disease severity (2). Antiphospholipid autoantibodies (aPLs), which are essential markers of antiphospholipid syndrome, are also considered to be cardiovascular risk factors. The presence of aPLs has recently been described in 3 patients presenting with severe manifestations of COVID-19 (3). Such factors related to the severity of the disease may be relevant in the management of the COVID-19 pandemic, particularly as they pertain to the decision as to whether to keep a newly infected patient in the hospital.

To this end, levels of IgG and IgM anticardiolipin antibodies (aCLs) and anti- $\beta$ 2-glycoprotein I (anti- $\beta$ 2GPI) autoantibodies were measured using real-time polymerase chain reaction in serum samples from 56 COVID-19 patients with severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS–CoV-2). The cohort was divided into a moderate ( $n = 27$ ) and a severe group of patients ( $n = 29$ ) according to clinical presentation at sampling. A disease manifestation was defined as severe if at least one of the following criteria was met: respiratory rate  $>30$  breaths/minute, oxygen saturation  $\leq 93\%$ , Pao<sub>2</sub>/Fio<sub>2</sub> ratio  $\leq 300$  mm Hg, or cardiogenic shock or respiratory failure requiring admission to an intensive care unit (4). All samples were obtained from a declared biobank (DC 2020-4028) in compliance with ethics directives. Enzyme-linked immunosorbent assay kits were used to determine aCL and anti- $\beta$ 2GPI antibodies. The association between disease severity and the clinical and biologic features of the disease was analyzed by univariate and multivariate logistic regression analyses (generalized linear model function; R software version 4.0).

A summary of our results is provided in Table 1. Additional information regarding materials, methods, and aPL levels are available online (Supplementary Materials and Methods, Supplementary Table 1, and Supplementary Figure 1, available on the Arthritis&Rheumatology website at <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/art.41409/> abstract). No differences in terms of age, sex, duration of symptoms, history of thrombosis, history of stroke, cardiovascular complications, diabetes, and chronic respiratory disease were observed between the 2 groups of patients. Differences in the aPL profile between the 2 groups were observed only for IgG aCL antibodies. Univariate analyses showed that the levels of IgG aCL were significantly associated with severe COVID-19 manifestations (odds ratio [OR] = 6.50;  $P = 0.009$ ) with further confirmation by multivariate analysis (OR = 8.71;  $P = 0.017$ ). These findings show, for the first time, that IgG aCL antibody levels are highly and independently associated with disease severity. Except for 1 patient who presented with a history of stroke, no other IgG aCL–positive patient with a severe manifestation of COVID-19 presented with a history of thrombosis, which suggests that positivity for aCL could be attributed to infection with SARS–CoV-2. Indeed, viral infections are known to induce aPL, especially aCL that may increase the risk of thrombosis and clot formation in the presence of another thrombophilic condition (5).

Since patients with COVID-19 develop profound hypercoagulation (6), IgG aCL–positive patients are at a higher risk for developing thrombosis, and therefore further follow-up with clinical evaluations and biologic testing is recommended. Recent autopsy data on subjects who died of COVID-19 showed that ~50% of venous thromboembolic events were not recognized prior to death (2), suggesting that some patients may need anticoagulation therapy. While awaiting further investigation, aCL detection could

serve as a simple strategy to help stratify COVID-19 patients according to disease severity and thereby help the therapeutic decision-making process.

**Table 1.** Association between clinical and biologic features and disease severity analyzed in 56 COVID-19 patients using univariate and multivariate logistic regression analyses\*

	Moderate disease	Severe disease†	Univariate OR (95% CI) (P)	Multivariate OR (95% CI) (P)
Age, mean ± SD years	66.7 ± 19.9	66.6 ± 15.8	1.00 (0.97–1.03) (0.986)	–
Sex				
Female	13 (56.5)	10 (43.5)	Referent	Referent
Male	14 (42.4)	19 (57.6)	1.76 (0.61–5.28) (0.301)	2.56 (0.67–10.40) (0.174)
Duration of symptoms, mean ± SD days	11.5 ± 5.8	14.5 ± 7.1	1.08 (0.99–1.19) (0.094)	1.04 (0.94–1.17) (0.439)
Real-time PCR cycle threshold at diagnosis, mean ± SD	27.9 ± 4.2	27.5 ± 5.2	0.98 (0.88–1.10) (0.764)	–
IgG aCL				
<15 units/ml	24 (60.0)	16 (40.0)	Referent	Referent
≥15 units/ml	3 (18.8)	13 (81.2)	6.50 (1.76–31.77) (0.009)	8.71 (1.76–73.91) (0.017)
IgM aCL				
<15 units/ml	24 (45.3)	29 (54.7)	Referent	–
≥15 units/ml	3 (100.0)	0	0.00 (NA–13 × 10 <sup>7</sup> ) (0.990)	–
Anti-β <sub>2</sub> GPI IgG				
<8 units/ml	26 (47.3)	29 (52.7)	Referent	–
≥8 units/ml	1 (100.0)	0	0.00 (NA–95.10 <sup>12</sup> ) (0.991)	–
Anti-β <sub>2</sub> GPI IgM				
<8 units/ml	25 (48.1)	27 (51.9)	Referent	–
≥8 units/ml	2 (50.0)	2 (50.0)	0.93 (0.10–8.19) (0.941)	–
History of thrombosis				
No	22 (46.8)	25 (53.2)	Referent	–
Yes	5 (55.6)	4 (44.4)	0.70 (0.16–2.98) (0.631)	–
History of stroke				
No	27 (50.0)	27 (50.0)	Referent	–
Yes	0	2 (100.0)	15.10 <sup>6</sup> (0.00–NA) (0.992)	–
Coronary heart disease				
No	24 (46.2)	28 (53.8)	Referent	Referent
Yes	3 (75.0)	1 (25.0)	0.29 (0.01–2.40) (0.292)	0.23 (0.01–3.45) (0.316)
High blood pressure				
No	12 (42.9)	16 (57.1)	Referent	Referent
Yes	15 (53.6)	13 (46.4)	0.65 (0.22–1.86) (0.423)	0.89 (0.23–3.41) (0.868)
Heart failure				
No	26 (49.1)	27 (50.9)	Referent	–
Yes	1 (33.3)	2 (66.7)	1.93 (0.17–42.93) (0.602)	–
Diabetes				
No	20 (43.5)	26 (56.5)	Referent	Referent
Yes	7 (70.0)	3 (30.0)	0.33 (0.06–1.35) (0.140)	0.21 (0.02–1.85) (0.175)
Chronic respiratory disease				
No	23 (46.0)	27 (54.0)	Referent	Referent
Yes	4 (66.7)	2 (33.3)	0.43 (0.06–2.39) (0.349)	0.80 (0.08–6.49) (0.835)

\* Variables with a *P* value of <0.5 in univariate analysis were used for the multivariate analysis. Association is expressed as the odds ratio (OR) with 95% confidence interval (95% CI). *P* values less than 0.05 were considered significant. Except where indicated otherwise, values are the number (%). PCR = polymerase chain reaction; aCL = anticardiolipin antibodies; NA = not applicable; anti-β<sub>2</sub>GPI = anti-β<sub>2</sub>-glycoprotein I.

† Coronavirus disease 2019 (COVID-19) manifestation was defined as severe based on whether at least one of the following criteria was met: respiratory rate >30 breaths/minute, oxygen saturation ≤93%, PaO<sub>2</sub>/Fio<sub>2</sub> ratio ≤300 mm Hg, or cardiogenic shock or respiratory failure requiring admission to an intensive care unit.

1. Li B, Yang J, Zhao F, Zhi L, Wang X, Liu L, et al. Prevalence and impact of cardiovascular metabolic diseases on COVID-19 in China [review]. *Clin Res Cardiol* 2020;109:531–8.
2. Wichmann D, Sperhake JP, Lütgehetmann M, Steurer S, Edler C, Heinemann A, et al. Autopsy findings and venous thromboembolism in patients with COVID-19. *Ann Intern Med* 2020;173: 268–77.
3. Zhang Y, Xiao M, Zhang S, Xia P, Cao W, Jiang W, et al. Coagulopathy and antiphospholipid antibodies in patients with Covid-19. *N Engl J Med* 2020;382:e38.
4. Pan A, Liu L, Wang C, Guo H, Hao X, Wang Q, et al. Association of public health interventions with the epidemiology of the COVID-19 outbreak in Wuhan, China. *JAMA* 2020;323: 1915–23.
5. Wang D, Lv W, Zhang S, Zhang J. Advances in the research on anticardiolipin antibody [review]. *J Immunol Res* 2019; 2019:8380214.
6. Bowles L, Platton S, Yartey N, Dave M, Lee K, Hart DP, et al. Lupus anticoagulant and abnormal coagulation tests in patients with Covid-19. *N Engl J Med* 2020;383:288–90.

## **ANNEXE 2 : Anti-cardiolipin IgG autoantibodies are associated with circulating markers of neutrophil extracellular traps (NETs) in patients with severe COVID-19**

Daniel Bertin<sup>1\*</sup>, PharmD, MSc; Alexandre Brodovitch<sup>1\*</sup>, PhD; Alexandre Lopez<sup>2</sup>, MD, MSc; Robin Arcani<sup>3,4</sup>, MD, MSc; Grace M Thomas<sup>4</sup>, PhD; Abdou Beziane<sup>1</sup>, PhD; Samuel Weber<sup>1</sup>, MD; Benjamin Babacci<sup>1</sup>, PharmD; Xavier Heim<sup>1,4</sup>, PharmD, Louise Rey<sup>1</sup>, PharmD, MSc; Marc Leone<sup>2</sup>, MD, PhD; Jean Louis Mege<sup>1,5</sup>, MD, PhD; Nathalie Bardin<sup>1,4</sup>, PharmD, PhD

### **ABSTRACT**

#### **Objectives**

While the detection of antiphospholipid autoantibodies (aPL) in COVID-19 is of increasing interest, their role is still unclear in this context. We analyzed a large aPL panel in 157 patients with COVID-19 according to the disease severity and further investigated their pathological role by studying a potential correlation with circulating markers of neutrophil extracellular traps (NETs).

#### **Methods**

A total of 157 sera of patients infected by SARS-CoV-2 were collected. A large aPL panel including conventional (Lupus anticoagulant, IgG and IgM anti-cardiolipin, IgG and IgM anti-beta-2 glycoprotein I autoantibodies) and non-conventional aPL (IgA anti-cardiolipin or anti-beta-2 glycoprotein I, IgA anti-phosphatidylethanolamine, IgG and IgM anti-prothombin autoantibodies) were retrospectively analyzed according to the disease severity. Circulating extracellular DNA levels in blood were also analyzed.

#### **Results**

We found a total aPL prevalence of 54.8% almost half of which represented by IgG anti-cardiolipin (aCL) and showed that, within an extended panel of aPL, only IgG aCL were associated with severe form of the disease. We also found 30% of positive anti-nuclear autoantibodies in COVID-19, but without association with disease severity. Interestingly, we highlighted a significant association between the levels of IgG aCL and extracellular DNA only in aCL positive patients with severe disease.

#### **Conclusion**

We showed for the first time a significant link between aPL, namely aCL, and circulating markers of neutrophil extracellular traps in patients with severe form of COVID-19, suggesting that aPL could be an enhancing factor of NETosis in COVID-19 exacerbating the thrombo-inflammatory state related to disease severity.

## INTRODUCTION

Autoimmune diseases such as immune thrombocytopenia, autoimmune hemolytic anemia, antiphospholipid syndrome or Kawasaki-like disease, have been reported in Coronavirus disease (COVID)-19 even in the absence of preexisting immune-mediated inflammatory diseases (1). Evidence supports that SARS-CoV-2 induces autoimmunity in patients with COVID-19. Exposure to viral epitopes is an identified cause of autoimmunity, previously advanced in infectious diseases with other coronaviruses (2,3). Molecular mimicry between SARS-CoV-2 protein and self-antigen has been proposed as an autoimmune trigger in patients genetically prone (4–6).

The cytolytic effect of the virus and its massive replication (7) contribute to the induction of apoptotic cells, which trigger an autoimmune reaction and produce autoantibodies such as antinuclear autoantibodies (AN) (8). Cells infected with SARS-CoV-2 can escape type I interferon (IFN) response, leading to uncontrolled viral replication. The influx of neutrophils and monocytes / macrophages leads to an increased production of pro-inflammatory cytokines that play a major role in the pathogenesis of autoimmune disease (9). In this context, neutrophils can produce neutrophil extracellular traps (NETs) by releasing decondensed chromatin to trap SARS-CoV-2. An excess of NETs production has been reported in severe forms of COVID-19, and the detection of extracellular markers of NETs, including circulating extracellular DNA, has been proposed as a marker of disease evolution (10). Importantly NETs can contribute to a thrombo-inflammatory state, as observed in acute respiratory distress syndrome, or in cancer (11).

As 5-15% of patients, particularly in the elderly and people with preexisting cardiovascular diseases, developed severe pneumonia and coagulopathy disorders (12,13), we hypothesized that an autoimmune mechanism would exacerbate the inflammatory response and contribute to the excessive NET production. In line with this, we recently described the presence of antiphospholipid autoantibodies (aPL) in COVID-19, by showing that IgG anti-cardiolipin autoantibodies (aCL) are highly and independently associated with COVID-19 severity (14). Antiphospholipid autoantibodies represent a large family of autoantibodies that are central for the diagnosis of antiphospholipid syndrome (APS), an autoimmune-associated coagulopathy, and are also considered as vascular risk factors (15). In APS, thrombotic effects have been mainly associated with aPL-activated cells such as endothelial cells or platelets. Moreover, aPL can stimulate neutrophils to produce NETs in patients with APS (16). Similarly, purified IgG fraction isolated from COVID-19 patients with positive aPL promotes NETs release from neutrophils of healthy subjects (17). Several studies reported the presence of aPL in COVID-19, but conclusions should be clarified about their frequency, type and clinical function. To this end, we retrospectively assessed a large aPL panel including lupus anticoagulant (LA), IgG/IgM/IgA anti-cardiolipin (aCL), IgG/IgM/IgA anti-beta-2 glycoprotein I (aB2GPI), IgG/ IgM anti-phosphatidylethanolamine (aPE), and IgG/IgM anti-prothombin (aPT) autoantibodies, in 157 patients with COVID-19 and analyzed results according to the disease severity. To further investigate the pathological role of aPL in COVID-19, we investigated circulating markers of NETs and analyzed them according to aPL detection and disease severity.

## MATERIAL AND METHODS

### Patients

All patients with COVID-19 were confirmed to be infected by SARS-CoV-2 through real-time reverse transcriptase PCR (RT-PCR) testing or by a positive IgG anti-SARS CoV-2 serology.

Detection of aPL was performed on serum samples collected from 157 COVID-19 patients admitted between March 2020 and July 2021 in the University Hospital of Marseilles (France) and consecutively referred to hospital laboratory for immunological exploration.

Clinical data were collected from the day of sampling. They included co-morbidities (history of thrombosis, history of stroke, coronary heart disease, hypertension, diabetes, heart failure and chronic respiratory disease), clinical presentation (mild or severe), and duration of symptoms.

Definitions - Severe clinical presentation was defined based on at least one of the following criteria: respiratory rate > 30 cycles/min, oxygen saturation  $\leq$  93%, PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> ratio  $\leq$  300 mmHg, shock (defined by the need of vasopressors) or respiratory failure requiring the admission to intensive care units (ICUs) (18). Thrombosis was defined as the formation of a thrombus within a blood vessel (artery or vein) confirmed by ultrasound, magnetic resonance imaging (MRI) or X-ray Computed Tomography (CT).

Chronic respiratory disease included chronic obstructive pulmonary disease, asthma, or lung cancer. Heart failure included class III or class IV stages according to NYHA classification. Acute respiratory distress syndrome was defined according to Berlin definition (19).

ICU control group - To assess the specificity of aPL in COVID-19, patients admitted to ICU with a negative SARS-CoV-2 RT-PCR and/or IgG anti-SARS CoV-2, and screened for aPL in ICU during the study period, were analyzed according to their etiology of ICU hospitalization.

Ethics - All serum samples collected from patients infected by SARS-CoV-2 were part of a declared Biobank (DC 2020-80) in compliance with ethical directives. For ICU non-COVID-19 patients, samples were part of a declared Biobank (DC 2012-1704) in compliance with ethical directives. This study was approved and registered by the institution and fulfilled local requirements in terms of data collection, patients' consent, and protection of data (RGPD/APHM 2020-80). This study was conducted according to the Declaration of Helsinki.

### **Biological tests**

Concentrations of anti-phospholipid antibodies were measured with commercially available ELISA. aCL and aB2GPI levels were measured with Cardiolisa Theradiag<sup>®</sup> (Marne la Vallée, France) and Orgentec Diagnostica<sup>®</sup> (Mainz, Germany), respectively. According to manufacturers' recommendations and on-site validation, positive cut-off were 15 U/mL and 8 U/mL, respectively. To avoid non-specific binding issues, each positive sample was duplicated and serum non-specific background of uncoated well was subtracted from the measured optical density (OD) of coated well. To assess cofactor dependence of IgG aCL, all positive sera were tested with another ELISA assay (AIDA, Bad Kreuznach, Germany) with manufacturers' cut-off equal to 15 U/mL.

For the detection of aPT, we used an in-house ELISA previously described (20).  $\Delta OD$  for each sample was calculated by subtracting OD of coated well from OD obtained with non-coated well. The aPT levels were reported as a ratio of  $\Delta OD$  of patient/ $\Delta OD$  of a selected control serum with a  $\Delta OD$  at the cut-off value. The result is positive when the ratio is above 1.

For the detection of aPE, we used an in-house ELISA previously described (21). The optical density (OD) of each well was measured at 405 nm and  $\Delta OD$  for each sample was obtained by subtracting OD of non-coated well from that with antigen. These cut-off values were 0.47 and 0.68  $\Delta OD$ , corresponding to the following arbitrary units: 18 and 59 U/mL for IgG-aPE and IgM-aPE, respectively.

Antinuclear autoantibodies (ANA) in patients' sera were detected by an indirect immunofluorescence (IIF) assay (Kallestad HEp-2 Cell Line Substrate, Bio-Rad, Hercules, CA). Anti-double stranded DNA (ds-DNA) and anti-extractable nuclear antigen (ENA) antibody levels were measured in sera with fluorescence-enzyme immunoassay (EliA dsDNA; Phadia, Uppsala, Sweden).

Quantification of serum extracellular DNA levels was performed according to manufacturer's instructions using the Quant-iT PicoGreen DNA assay kit (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific Waltham, Massachusetts, USA) as previously published (22).

### **Statistical analysis**

Analysis was performed using R version 3.03 (R Development Core Team) and GraphPad Prism V6.05 (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA). Data are described as Mean  $\pm$  standard deviation in the tables. Shapiro-Wilk test was used to test for data normality and two-tailed student t-test was used to test variable differences between groups. Pearson's Chi-squared test was used to test difference in frequencies between groups for categorical variables.

Correlations between markers were evaluated using Pearson correlation analysis. Significance levels are indicated on graphs (\*:  $p < 0.05$ ; \*\*:  $p < 0.01$ ; \*\*\*:  $p < 0.001$ ; \*\*\*\*:  $p < 0.0001$ ).

The study was conducted in accordance to the STROBE statement.

## RESULTS

### 1/Characteristics of patients with COVID-19

A total of 157 patients infected by SARS-CoV-2 were included in this study (Table 1), of which 53 were hospitalized in ICU. The mean age of patients was  $68 \pm 16$  years and 57% of them were male. According to the clinical presentation at sampling time, this cohort was divided into two groups: mild (n=59) and severe (n=98), as defined above.

No difference in terms of age, gender, and co-morbidities was observed between the two groups. In contrast, the duration of symptoms was longer in the severe group than in the mild group ( $p < 0.001$ ). The patients in the severe group were more often anticoagulated than those in the mild group ( $p = 0.001$ ). Fatal evolution was significantly associated with severity ( $p = 0.007$ ).

Regarding biological variables, elevated neutrophil count, neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR), and eosinopenia were significantly associated with the severe form of the disease ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ,  $p = 0.002$ , respectively).

### 2/Antinuclear autoantibodies

ANA detection by IIF was performed in 105 patients of our cohort. Among them, 74 (70.5%) were negative. Of the 31 COVID-19 patients with positive ANA, 15 were in the mild group and 16 in the severe group ( $p = 0.459$ ) (Table 2). Among these 31 patients, 29 (93.5%) had a speckled fluorescence pattern and 13/29 had a titer  $> 320$ . Autoantibodies against dsDNA or ENA were negative, except for one patient with positive anti-CENPB autoantibody, in agreement with the fluorescence pattern.

### 3/ Antiphospholipid auto-antibodies analysis

As most of our patients were treated with anticoagulants, results of lupus anticoagulant (LA) was interpretable in 21 patients only. Among them, 14 were negative and 7 were positive, 3 of them with a mild and 4 with a severe form of the disease.

For all patients, a large panel of aPL autoantibodies was investigated including lupus anticoagulant (LA), IgG/IgM/IgA aCL, IgG/IgM/IgA aB2GPI, IgG/ IgM aPE, and IgG/IgM aPT (Table 2). The total aPL prevalence rate was equal to 54.8% (86/157) and the one of IgG aCL positivity was equal to 26.1% (41/157). Interestingly, only IgG aCL had a statistically significant ( $p < 0.001$ ) higher prevalence in the severe group (37.8%, 37/98) than in the mild group (6.8%, 4/59). The levels of aCL IgG were significantly higher in the severe group (Figure 1, Mild:  $9.74 \pm 8.20$  U/ml; Severe:  $15.80 \pm 13.34$  U/ml;  $p = 0.002$ ). A prevalence above 10% was found for IgA aB2GPI (14.5%, 22/157), IgA aPE (16%, 25/157) and IgM aPT (15.8%, 22/157). However, no association was identified with disease severity.

We aimed to investigate whether aPL positivity was associated with COVID-19 independently of severe conditions such as ARDS and/or septic shock. To this purpose, we conducted a subgroup analysis on COVID-19 patients admitted to ICUs, and compared them with patients admitted to ICUs with a negative SARS-CoV-2 RT-PCR and/or IgG anti-SARS CoV-2 serology. Out of 122 ICU patients screened for aPL antibodies during the study period, 29 (23.8%) of them were positive for at least one conventional aPL (IgG or IgM aCL, IgG or IgM aB2GPI). Of them, 20 patients (69%) developed COVID-19-associated ARDS (17 (85%) had IgG aCL), 2 patients (6.9%) suffered from a non-COVID-19-related ARDS and 4 patients (13.8%) with a non COVID-19 related-septic shock. In 93 patients negative for aPL, 28 patients (30.1%) were treated for COVID-19-related ARDS, 12 patients (12.9%) for non-COVID-19 related-ARDS and 22 patients (23.7%) for non-COVID-19 related-septic shock. Consequently, COVID-19-related ARDS was significantly associated with aPL positivity (69.0% vs. 30.1%,  $p < 0.001$ ). There was no correlation between non-COVID-19-related ARDS and aPL positivity nor between septic shock and aPL positivity (6.9% vs. 12.9%,  $p = 0.38$  and 13.8% vs. 23.7%,  $p = 0.26$ , respectively). Finally, aPL positivity was more frequent in COVID-19-related-ARDS than in COVID-19 related-septic shock (69% vs. 13.8%,  $p < 0.0001$ ).

### 4/ IgG anti-cardiolipin characterization and clinical association

Taking into account the methodological issues on ELISA assays and the lack of agreement between methods, we confirmed aCL positivity with another ELISA using beta-2 glycoprotein I as a sole cofactor source (assay 2) on 29 positive patients. We found that 62% of positive aCL patients were also positive by using assay 2.

To further analyze IgG aCL association with the severe form of COVID-19, we also analyzed IgG aCL with clinical characteristics and biomarkers (Table 3). In addition to the disease severity, a significant association of IgG aCL positivity was found with symptom durations ( $p < 0.001$ ), and transfer to ICU ( $p < 0.001$ ). No association was found with in-hospital mortality, clinical history of patients or thrombotic events occurring during the active phase of the disease. For the biomarkers, we observed one significant association between aCL and elevated polymorphonuclear neutrophils (PMN) counts ( $p = 0.007$ ).

### **5/ IgG anti-cardiolipin and NETs association**

Since aPL are known to promote NETs release from patients with COVID-19, we investigated a potential association between aCL and circulating extracellular DNA levels in serum. From 72 patients tested, we found a significant association between NETs detection and IgG aCL positivity (Table 3). Indeed, circulating extracellular DNA levels were significantly higher in IgG aCL positive patients than in IgG aCL negative ones (Table 3). No significant association was found between disease severity and circulating extracellular DNA levels considering the whole population of patients (Figure 2). However, among patients with severe COVID-19, extracellular DNA levels were significantly higher in IgG aCL positive patients than in IgG aCL negative ones (Figure 2).

## **DISCUSSION**

Our study showed for the first time an association between aPL and circulating markers of NETs in patients with severe form of COVID-19, suggesting that aPL could be an enhancing factor of NETosis exacerbating the thrombo-inflammatory state associated with the disease severity.

Several studies reported the presence of aPL in COVID-19, but controversial results have been found regarding the prevalence, type and clinical relevance of aPL. In our study, we found a total aPL prevalence of 55% with almost half of positive IgG aCL and showed that, within an extended panel of aPL, aCL IgG were associated with severe forms of the disease. This result confirmed our previous data performed on 56 patients with COVID-19 for which only conventional aPL had been sought (14). The search for LA was difficult to interpret because the patients affected by COVID-19 received anticoagulant therapy. Devreese et al found 23% of patients positive for aCL and/or aB2GPI and more than 50% of patients positive for LA (23), whereas Cristiano et al described a lower percentage of positivity of around 5% and 2% for aCL and/or aB2GPI and LA, respectively (24). In accordance with our data, Zuo et al found a total prevalence of more than 50% in their cohort of 172 patients with COVID-19, with a predominance of aCL (17). Trahtemberg et al also comforted our data by showing that IgG aCL are predominant and associated with disease severity (25). This heterogeneity of results could be interrelated to the methodology used and/or population studied. Due to the difficult interpretation of aPL positivity, we systematically controlled positive samples in duplicate, and, to address the specificity, the absorbance of uncoated wells treated in the same conditions was systematically subtracted in order to avoid nonspecific binding. Moreover, in this study, aCL positivity was confirmed by using another ELISA assay and showed that majority of IgG aCL were beta-2-glycoprotein I cofactor dependent, as described for pathogenic aPL in the antiphospholipid syndrome (26). In addition, to test whether aPL could be generated by ARDS or septic shock, a control cohort of 122 ICU patients, showing that aPL positivity, mostly aCL, was significantly associated with COVID-19 and not with non-COVID-19 related-ARDS or related-septic shock.

In our study, the presence of aCL was rather associated with inflammation than thrombosis. Indeed, most of patients were on anticoagulant medication, and we did not have controls before the infection. It is therefore difficult to discuss about the association between aCL and thrombosis. Nevertheless, this finding invites to propose a follow-up of patient's aCL positivity, especially since the persistence of various symptoms in patients who recovered from COVID-19 was recently defined as long COVID or post-covid syndrome (PCS) (27). In PCS, persistent neurological symptoms have been described, and we can note that neurological disorders are also described in APS (28).

In contrast to autoantibodies directed against cardiolipin, no association between ANA and disease severity was established. We showed the presence of ANA in COVID-19, without identifying any particular antibody specificity. ANA are useful biomarkers for the diagnosis and the monitoring of autoimmune rheumatic diseases. Since it has been reported that ANA could precede by several years a symptomatic autoimmune disease (29), a follow-up of patients could also be advocated.

A major point of our study was to highlight a significant association between the levels of IgG aCL and circulating extracellular DNA only in patients in the severe group, which leads to propose a potential role of aPL in COVID-19: aCL would exacerbate the severity of the disease by causing excessive production of NETs. In agreement, the pathogenicity of aPL from patients with COVID-19 has also been previously revealed by the fact that injection of purified IgG accelerated thrombotic events in animal models and importantly promoted NETs release in human (17). NETs are involved in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases, such as APS (16). In COVID-19, NETs have been showed to correlate with inflammatory markers and proposed as a biomarker for the patient outcomes (10). We can thus hypothesize that autoimmunity enhances the deleterious effect of the inflammatory response, through aCL and NETs induction. As NETs formation in APS has been associated with an increase of production of reactive oxygen species (ROS), we can speculate that ROS formation could be associated with severe damage in COVID-19. In agreement, Wenzhong et al by employing bioinformatics methods proposed that SARS-CoV-2 generates ROS by iron capture and therefore damages the human immune system (30). The preferential involvement of autoantibodies against cardiolipin in the severity of the disease may be related to a new described mechanism showing that aCL recognize a cell surface complex composed of lysobiphosphatidic acid (LBPA) and endothelial protein C receptor (EPCR) (31). Subsequent endocytosis activates Toll like receptor 7 and 8 (TLR 7 and TLR8) and type I IFN signaling, leading to further synthesis of autoantibodies, inflammation and thrombosis. As TLR7 and type I IFN signaling are involved in COVID-19, we can hypothesize that aCL generated during the infection could signal through the recently described EPCR-LBPA pathway involved in inflammation and thrombosis. A putative mechanism of aCL role in severe forms of COVID-19 is proposed in Figure 3.

In conclusion, we propose that severe forms of COVID-19 engage an autoimmune mechanism that exacerbates inflammatory pathways through an excess of NETs production. Our results have two major applications in the management of COVID-19: the follow-up of patients by the detection of aCL and a proposal of an original therapeutic strategy targeting NETosis.

## References

1. Novelli L, Motta F, De Santis M, Ansari AA, Gershwin ME, Selmi C. The JANUS of chronic inflammatory and autoimmune diseases onset during COVID-19 - A systematic review of the literature. *J Autoimmun.* 2021 Feb;117:102592.
2. Lin YS, Lin CF, Fang YT, Kuo YM, Liao PC, Yeh TM, et al. Antibody to severe acute respiratory syndrome (SARS)-associated coronavirus spike protein domain 2 cross-reacts with lung epithelial cells and causes cytotoxicity. *Clin Exp Immunol.* 2005 Sep;141(3):500–8.
3. Yang Y-H, Huang Y-H, Chuang Y-H, Peng C-M, Wang L-C, Lin Y-T, et al. Autoantibodies against human epithelial cells and endothelial cells after severe acute respiratory syndrome (SARS)-associated coronavirus infection. *J Med Virol.* 2005 Sep;77(1):1–7.
4. Angileri F, Legare S, Marino Gammazza A, Conway de Macario E, JI Macario A, Cappello F. Molecular mimicry may explain multi-organ damage in COVID-19. *Autoimmun Rev.* 2020 Aug;19(8):102591.
5. Beaudoin CA, Jamasb AR, Alsulami AF, Copoiu L, van Tonder AJ, Hala S, et al. Predicted structural mimicry of spike receptor-binding motifs from highly pathogenic human coronaviruses. *Comput Struct Biotechnol J.* 2021 Jul 2;
6. Mohkhedkar M, Venigalla SSK, Janakiraman V. Untangling COVID-19 and autoimmunity: Identification of plausible targets suggests multi organ involvement. *Mol Immunol.* 2021 Jun 30;137:105–13.

7. V'kovski P, Kratzel A, Steiner S, Stalder H, Thiel V. Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. *Nat Rev Microbiol.* 2021 Mar;19(3):155–70.
8. Wickman G, Julian L, Olson MF. How apoptotic cells aid in the removal of their own cold dead bodies. *Cell Death Differ.* 2012 May;19(5):735–42.
9. Moudgil KD, Choubey D. Cytokines in autoimmunity: role in induction, regulation, and treatment. *J Interferon Cytokine Res.* 2011 Oct;31(10):695–703.
10. Ng H, Havervall S, Rosell A, Aguilera K, Parv K, von Meijenfheldt FA, et al. Circulating Markers of Neutrophil Extracellular Traps Are of Prognostic Value in Patients With COVID-19. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2021 Feb;41(2):988–94.
11. Thålin C, Hisada Y, Lundström S, Mackman N, Wallén H. Neutrophil Extracellular Traps: Villains and Targets in Arterial, Venous, and Cancer-Associated Thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2019 Sep;39(9):1724–38.
12. Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet.* 2020 Mar 28;395(10229):1054–62.
13. Wang T, Du Z, Zhu F, Cao Z, An Y, Gao Y, et al. Comorbidities and multi-organ injuries in the treatment of COVID-19. *Lancet.* 2020 Mar 21;395(10228):e52.
14. Bertin D, Brodovitch A, Beziane A, Hug S, Bouamri A, Mege JL, et al. Anticardiolipin IgG Autoantibody Level Is an Independent Risk Factor for COVID-19 Severity. *Arthritis Rheumatol.* 2020 Nov;72(11):1953–5.
15. Garcia D, Erkan D. Diagnosis and Management of the Antiphospholipid Syndrome. *N Engl J Med.* 2018 May 24;378(21):2010–21.
16. Yalavarthi S, Gould TJ, Rao AN, Mazza LF, Morris AE, Núñez-Álvarez C, et al. Release of neutrophil extracellular traps by neutrophils stimulated with antiphospholipid antibodies: a newly identified mechanism of thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheumatol.* 2015 Nov;67(11):2990–3003.
17. Zuo Y, Estes SK, Ali RA, Gandhi AA, Yalavarthi S, Shi H, et al. Prothrombotic autoantibodies in serum from patients hospitalized with COVID-19. *Sci Transl Med.* 2020 Nov 18;12(570):eabd3876.
18. Pan A, Liu L, Wang C, Guo H, Hao X, Wang Q, et al. Association of Public Health Interventions With the Epidemiology of the COVID-19 Outbreak in Wuhan, China. *JAMA.* 2020 May 19;323(19):1915–23.
19. Bernard GR, Artigas A, Brigham KL, Carlet J, Falke K, Hudson L, et al. The American-European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.* 1994 Mar;149(3):818–24.
20. Bardin N, Alessi MC, Dignat-George F, Vague IJ, Sampol J, Harlé JR, et al. Does the anti-prothrombin antibodies measurement provide additional information in patients with thrombosis? *Immunobiology.* 2007 Sep 5;212(7):557–65.
21. Sanmarco M. ELISA for antiphosphatidylethanolamine antibody detection: High impact of assay buffer on results. *Journal of Immunological Methods.* 2010 Jun;358(1–2):9–16.
22. Thomas GM, Carbo C, Curtis BR, Martinod K, Mazo IB, Schatzberg D, et al. Extracellular DNA traps are associated with the pathogenesis of TRALI in humans and mice. *Blood.* 2012 Jun 28;119(26):6335–43.
23. Devreese KMJ, Linskens EA, Benoit D, Peperstraete H. Antiphospholipid antibodies in patients with COVID-19: A relevant observation? *J Thromb Haemost.* 2020 Sep;18(9):2191–201.

24. Cristiano A, Fortunati V, Cherubini F, Bernardini S, Nuccetelli M. Anti-phospholipids antibodies and immune complexes in COVID-19 patients: a putative role in disease course for anti-annexin-V antibodies. *Clin Rheumatol*. 2021 Jul;40(7):2939–45.
25. Trahtenberg U, Rottapel R, Dos Santos CC, Slutsky AS, Baker A, Fritzler MJ. Anticardiolipin and other antiphospholipid antibodies in critically ill COVID-19 positive and negative patients. *Ann Rheum Dis*. 2021 Apr 26;annrheumdis-2021-220206.
26. Devreese KMJ, Ortel TL, Pengo V, de Laat B, Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibodies. Laboratory criteria for antiphospholipid syndrome: communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost*. 2018 Apr;16(4):809–13.
27. Tenforde MW, Kim SS, Lindsell CJ, Billig Rose E, Shapiro NI, Files DC, et al. Symptom Duration and Risk Factors for Delayed Return to Usual Health Among Outpatients with COVID-19 in a Multistate Health Care Systems Network - United States, March-June 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2020 Jul 31;69(30):993–8.
28. Leal Rato M, Bandeira M, Romão VC, Aguiar de Sousa D. Neurologic Manifestations of the Antiphospholipid Syndrome - an Update. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2021 Jun 14;21(8):41.
29. Ma W-T, Chang C, Gershwin ME, Lian Z-X. Development of autoantibodies precedes clinical manifestations of autoimmune diseases: A comprehensive review. *Journal of Autoimmunity*. 2017 Sep;83:95–112.
30. Wenzhong L, Hualan L. COVID-19: captures iron and generates reactive oxygen species to damage the human immune system. *Autoimmunity*. 2021 Jun;54(4):213–24.
31. Müller-Calleja N, Hollerbach A, Royce J, Ritter S, Pedrosa D, Madhusudhan T, et al. Lipid presentation by the protein C receptor links coagulation with autoimmunity. *Science*. 2021 Mar 12;371(6534).

**Table 1:** Patients with COVID-19 characteristics

	Mild (n=59)	Severe (n=98)	Total (n=157)	p value
<b>Age - years</b>				0.445 <sup>1</sup>
Mean (SD)	66.441 (18.554)	68.490 (14.686)	67.720 (16.220)	
Range	20.000 - 92.000	35.000 - 96.000	20.000 - 96.000	
<b>Female - n (%)</b>	26 (44.1%)	42 (42.9%)	68 (43.3%)	0.882 <sup>2</sup>
<b>Duration of Symptoms - days</b>				< 0.001 <sup>1</sup>
Mean (SD)	11.138 (6.033)	16.825 (10.182)	14.697 (9.258)	
Range	1.000 - 32.000	2.000 - 47.000	1.000 - 47.000	
Missing Values	1	1	2	
<b>Medical History - n (%)</b>				
Thrombosis	9 (15.3%)	8 (8.2%)	17 (10.8%)	0.166 <sup>2</sup>
Heart failure	2 (3.4%)	6 (6.1%)	8 (5.1%)	0.451 <sup>2</sup>
Stroke	5 (8.5%)	7 (7.1%)	12 (7.6%)	0.761 <sup>2</sup>

Coronary heart disease	7 (11.9%)	6 (6.1%)	13 (8.3%)	0.206 <sup>2</sup>
Diabetes	14 (23.7%)	19 (19.4%)	33 (21.0%)	0.518 <sup>2</sup>
High Blood Pressure	31 (52.5%)	45 (45.9%)	76 (48.4%)	0.421 <sup>2</sup>
Chronic renal failure	6 (10.2%)	6 (6.1%)	12 (7.6%)	0.355 <sup>2</sup>
Chronic respiratory disease	7 (11.9%)	8 (8.2%)	15 (9.6%)	0.445 <sup>2</sup>
Cancer	9 (15.3%)	17 (17.3%)	26 (16.6%)	0.733 <sup>2</sup>
<b>Anticoag. Treatment – n (%)</b>	31 (53.4%)	77 (78.6%)	108 (69.2%)	<b>0.001<sup>2</sup></b>
Missing Values	1	0	1	
<b>Thrombotic events – n (%)</b>	1 (2.6%)	7 (8.3%)	8 (6.6%)	0.239 <sup>2</sup>
Missing Values	21	14	35	
<b>PMN (G/L)</b>				<b>&lt; 0.001<sup>1</sup></b>
Mean (SD)	3.943 (1.718)	6.816 (3.985)	5.748 (3.601)	
Range	1.200 - 11.000	1.010 - 20.000	1.010 - 20.000	
Missing Values	1	0	1	
<b>Lymphocytes (G/L)</b>				0.861 <sup>1</sup>
Mean (SD)	1.325 (0.541)	1.304 (0.792)	1.312 (0.707)	
Range	0.350 - 3.000	0.090 - 3.920	0.090 - 3.920	
Missing Values	1	0	1	
<b>NLR</b>				<b>&lt; 0.001<sup>1</sup></b>
Mean (SD)	3.565 (2.308)	8.015 (8.821)	6.360 (7.437)	
Range	0.700 - 11.160	0.880 - 60.000	0.700 - 60.000	
Missing Values	1	0	1	
<b>Eosinopenia – n (%)</b>	25 (43.1%)	67 (68.4%)	92 (59.0%)	<b>0.002<sup>2</sup></b>
Missing Values	1	0	1	
<b>Death – n (%)</b>	1 (2.6%)	18 (21.7%)	19 (15.7%)	<b>0.007<sup>2</sup></b>
Missing Values	21	15	36	

**Table 1 legends:** PMN: Polymorphonuclear neutrophils, NLR: Neutrophil-Lymphocyte Ratio, <sup>1</sup> Student's t-test, <sup>2</sup> Pearson's Chi-squared test

**Table 2:** Antinuclear and antiphospholipid autoantibodies in patients with COVID-19

	Mild (n=59)	Severe (n=98)	Total (n=157)	p value
<b>ANA positivity – n (%)</b>	15 (33.3%)	16 (26.7%)	31 (29.5%)	0.459
Missing Values	14	38	52	
<b>aPL Positive – n (%)</b>	26 (44.1%)	60 (61.2%)	86 (54.8%)	<b>0.036</b>
aCL IgG	4 (6.8%)	37 (37.8%)	41 (26.1%)	<b>&lt; 0.001</b>
aCL IgM	6 (10.2%)	7 (7.1%)	13 (8.3%)	0.505
aCL IgG IgA	0 (0.0%)	2 (2.1%)	2 (1.3%)	0.263
Missing Values	1	4	5	
aB2GPI IgG	2 (3.4%)	4 (4.1%)	6 (3.8%)	0.827
aB2GPI IgM	4 (6.8%)	6 (6.1%)	10 (6.4%)	0.870
aB2GPI IgA	10 (17.2%)	12 (12.8%)	22 (14.5%)	0.446
Missing Values	1	4	5	
aPE IgG	7 (11.9%)	18 (19.1%)	25 (16.3%)	0.236
Missing Values	0	4	4	
aPE IgM	2 (3.4%)	4 (4.3%)	6 (3.9%)	0.788
Missing Values	0	4	4	
aPE IgA	1 (7.7%)	0 (0.0%)	1 (2.3%)	0.124
Missing Values	46	68	114	
aPT IgG	0 (0.0%)	1 (1.1%)	1 (0.7%)	0.445
Missing Values	8	10	18	
aPT IgM	5 (9.8%)	17 (19.3%)	22 (15.8%)	0.139
Missing Values	8	10	18	

**Table 2 legends:** aPL: antiphospholipid, aCL: anti-cardiolipin, aB2GPI: anti-beta-2 glycoprotein I (aB2GPI), aPE: anti-phosphatidylethanolamine, aPT: anti-prothombin autoantibodies, ANA: antinuclear autoantibodies

**Table 3:** Anti-cardiolipin autoantibodies in patients with COVID-19

	aCL IgG Neg (N=116)	aCL IgG Pos	Total (N=157)	p value
<b>Age - years</b>				0.668 <sup>1</sup>
Mean (SD)	68.052 (16.186)	66.780 (16.480)	67.720 (16.220)	
Range	20.000 - 96.000	30.000 - 94.000	20.000 - 96.000	
<b>Female – n (%)</b>	55 (47.4%)	13 (31.7%)	68 (43.3%)	0.081 <sup>2</sup>
<b>Duration of Symptoms - days</b>				< 0.001 <sup>1</sup>
Mean (SD)	13.026 (8.128)	19.500 (10.653)	14.697 (9.258)	
Range	1.000 - 47.000	3.000 - 47.000	1.000 - 47.000	
Missing Values	1	1	2	
<b>Severe Symptoms – n (%)</b>	61 (52.6%)	37 (90.2%)	98 (62.4%)	< 0.001 <sup>2</sup>
<b>Intensive Care - n (%)</b>	27 (23.3%)	26 (63.4%)	53 (33.8%)	< 0.001 <sup>2</sup>
<b>Medical History - n (%)</b>				
Thrombosis	13 (11.2%)	4 (9.8%)	17 (10.8%)	0.797 <sup>2</sup>
Heart failure	6 (5.2%)	2 (4.9%)	8 (5.1%)	0.941 <sup>2</sup>
Stroke	9 (7.8%)	3 (7.3%)	12 (7.6%)	0.927 <sup>2</sup>
Coronary heart disease	9 (7.8%)	4 (9.8%)	13 (8.3%)	0.690 <sup>2</sup>
Diabetes	23 (19.8%)	10 (24.4%)	33 (21.0%)	0.538 <sup>2</sup>
High Blood Pressure	59 (50.9%)	17 (41.5%)	76 (48.4%)	0.301 <sup>2</sup>
Chronic renal failure	11 (9.5%)	1 (2.4%)	12 (7.6%)	0.145 <sup>2</sup>
Chronic respiratory disease	9 (7.8%)	6 (14.6%)	15 (9.6%)	0.198 <sup>2</sup>
Cancer	20 (17.2%)	6 (14.6%)	26 (16.6%)	0.699 <sup>2</sup>
<b>Anticoag. Treatment – n (%)</b>	74 (64.3%)	34 (82.9%)	108 (69.2%)	0.027 <sup>2</sup>
Missing Values	1	0	1	
<b>Thrombotic events – n (%)</b>	5 (5.6%)	3 (9.4%)	8 (6.6%)	0.453 <sup>2</sup>
Missing Values	26	9	35	
<b>PMN (G/L)</b>				0.007 <sup>1</sup>
Mean (SD)	5.286 (3.511)	7.044 (3.573)	5.748 (3.601)	
Range	1.010 - 20.000	1.550 - 15.000	1.010 - 20.000	
Missing Values	1	0	1	
<b>Lymphocytes (G/L)</b>				0.316 <sup>1</sup>
Mean (SD)	1.278 (0.712)	1.407 (0.693)	1.312 (0.707)	
Range	0.090 - 3.920	0.240 - 3.100	0.090 - 3.920	
Missing Values	1	0	1	

<b>NLR</b>				0.588 <sup>1</sup>
Mean (SD)	6.167 (7.691)	6.903 (6.732)	6.360 (7.437)	
Range	0.700 - 60.000	1.240 - 37.920	0.700 - 60.000	
Missing Values	1	0	1	
<b>Eosinopenia</b>	66 (57.4%)	26 (63.4%)	92 (59.0%)	0.501 <sup>2</sup>
Missing Values	1	0	1	
<b>Death – n (%)</b>	15 (16.7%)	4 (12.9%)	19 (15.7%)	0.619 <sup>2</sup>
Missing Values	26	10	36	
<b>Extracellular DNA (ng/ml)</b>				<b>0.031<sup>1</sup></b>
Mean (SD)	1337.288 (765.478)	1777.724 (988.742)	1461.646 (852.053)	
Range	176.200 - 2921.988	381.700 - 3977.057	176.200 - 3977.057	
Missing Values	55	17	72	

**Table 3 legends:** PMN: Polymorphonuclear neutrophils, NLR: Neutrophil-Lymphocyte Ratio, <sup>1</sup> Student's t-test, <sup>2</sup> Pearson's Chi-squared test

## **ANNEXE 3 : Persistent IgG anti-cardiolipin autoantibodies are associated with a post-covid syndrome**

Daniel Bertin <sup>1</sup>; Elsa Kaphan <sup>2</sup>; Samuel Weber <sup>1</sup>; Benjamin Babacci <sup>1</sup>; Robin Arcani <sup>3,7</sup>; Benoit Faucher<sup>4</sup>; Amélie Ménard <sup>5</sup>; Alexandre Brodovitch <sup>1</sup>; Jean Louis Mege <sup>1,6</sup>; Nathalie Bardin <sup>1,7</sup>

### **Introduction**

Growing data show the persistence of various symptoms in patients who recovered from COVID-19, recently defined as long COVID or post-COVID syndrome (PCS) [1]. While markers associated to COVID-19 severity such as IL6, IgG anticardiolipin autoantibodies (aCL), eosinopenia, hemogram-derived ratios, have been described in the acute phase of the disease [2–5], no biological marker has been yet proposed to predict PCS.

### **Case presentation**

With a one-year follow-up, we report a case of a 58-year-old woman who, although recovering from COVID-19, has novel and persistent symptoms such as neurological complications. COVID-19 was diagnosed in March 2020, on the basis of positive SARS-CoV-2 RT-PCR, followed in June 2020 by positive anti- SARS-CoV-2 serology (Table 1). She had asthma, arterial hypertension, insulin-dependent diabetes and overweight in her medical history (BMI =35.3kg/m<sup>2</sup>). During the acute phase, the patient presented febrile hypoxemic pneumonia with dyspnea and cough, which required hospitalization in intensive care unit without intubation and was treated by azithromycine, hydroxychloroquine and then ceftriaxone for one week. One year later, she still complains of asthenia, weekly sleepless headaches, memory problems related to dysexecutive syndrome, exertional dyspnea (stage 2 according to MMRC scale), chest pain and digestive disorders such as intermittent diarrhea, bloating, and belching. Cardiological examination showed minimal left ventricular hypertrophy with preserved ejection fraction. Pertinent laboratory data on admission and in the follow-up of the patient summarized in Table 1, showed persistent inflammatory biological syndrome with elevated CRP and fibrinogen, but not IL6. Interestingly, among antiphospholipid autoantibodies tested, only aCL IgG was positive and persistent one year later. A light but persistent eosinopenia was also observed. Other biological data were normal.

Because of persistent neurological complaint, cerebrospinal fluid (CSF) analysis was performed and showed normal CSF-protein, without oligoclonal band nor pleiocytois. Cerebral MRI showed isolated temporal lacunar stroke of old appearance. Cerebral <sup>18</sup>F-FDG-PET scan showed moderate hypometabolism of amygdala, and mild hypometabolism of fronto-mesial lobe, insula, brainstem and cerebellum, as it has already been described in patients with long COVID [6]. Whole body <sup>18</sup>F-FDG-PET scan did not show any systemic pathological hypermetabolism.

### **Discussion**

Until now, most of the clinical studies of COVID-19 have focused on symptoms during the acute phase of the disease. Mainly, patients present fever ( $\geq 38$  °C), cough, chest pain, dyspnea, diarrhea and fatigue or myalgia, and in about 15% of case, they may develop acute respiratory distress syndrome (ARDS) or end-organ failure. More recently, a “post-covid syndrome” (PCS) has been described in patients who exhibit at least one persistent symptom, 12 weeks after disease onset, which cannot be explained by another cause [1]. This syndrome seems to be frequent after COVID-19 acute infection, and not only after a severe form of the disease. The most common signs of this clinical picture are persistent fatigue, dyspnea, and anosmia or memory complaint. In this case, we evidenced neurological disorders, not explained by another cause apart from PCS. In addition to a low grade inflammatory process, we evidenced the persistence of IgG aCL positivity and eosinopenia, one year after the COVID-19 acute infection, and both previously defined as independent factors associated with disease severity. They could be potential biological predictors of the PCS. The pathophysiological mechanism of PCS is not known, but are suggested the possibility of 1- persistence of the virus, especially in the nervous system,

2- a post-infectious inflammatory or autoimmune reaction, or 3- microglial involvement [7]. The aCL could be associated with viral infections and may have in this context persistent pro-inflammatory effects, as recently described [8].

## References

1. Tenforde MW, Kim SS, Lindsell CJ, Billig Rose E, Shapiro NI, Files DC, et al. Symptom Duration and Risk Factors for Delayed Return to Usual Health Among Outpatients with COVID-19 in a Multistate Health Care Systems Network - United States, March-June 2020. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 2020;69:993–8.
2. Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet Lond. Engl.* 2020;395:1054–62.
3. Lindsley AW, Schwartz JT, Rothenberg ME. Eosinophil responses during COVID-19 infections and coronavirus vaccination. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2020;146:1–7.
4. Bertin D, Brodovitch A, Beziane A, Hug S, Bouamri A, Mege JL, et al. Anticardiolipin IgG Autoantibody Level Is an Independent Risk Factor for COVID-19 Severity. *Arthritis Rheumatol.* Hoboken NJ 2020;72:1953–5.
5. Liang W, Liang H, Ou L, Chen B, Chen A, Li C, et al. Development and Validation of a Clinical Risk Score to Predict the Occurrence of Critical Illness in Hospitalized Patients With COVID-19. *JAMA Intern. Med.* 2020;180:1081–9.
6. Guedj E, Million M, Dudouet P, Tissot-Dupont H, Bregeon F, Cammilleri S, et al. 18F-FDG brain PET hypometabolism in post-SARS-CoV-2 infection: substrate for persistent/delayed disorders? *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* 2021; 48:592–5.
7. Matschke J, Lütgehetmann M, Hagel C, Spherhake JP, Schröder AS, Edler C, et al. Neuropathology of patients with COVID-19 in Germany: a post-mortem case series. *Lancet Neurol.* 2020;19:919–29.
8. Müller-Calleja N, Hollerbach A, Royce J, Ritter S, Pedrosa D, Madhusudhan T, et al. Lipid presentation by the protein C receptor links coagulation with autoimmunity. *Science* 2021;371.

**Table 1: Longitudinal follow-up of biological markers**

		<i>Normal Values</i>	<i>Date</i>					
			<i>2020/03/26</i>	<i>2020/06/17</i>	<i>2021/01/13</i>	<i>2021/02/17</i>	<i>2021/03/29</i>	<i>2021/04/07</i>
<b><i>COVID-19</i></b>	PCR SARS-CoV2		Positive Ct = 28	N.A	N.A	Negative	N.A	Negative
	Serology SARS-CoV2		N.A	N.A	N.A	Positive	Positive	Positive
	Hemocultures		Sterile	N.A	N.A	N.A	N.A	N.A
<b><i>Hemogram</i></b>	Red Blood Cells (T/L)	(4 - 5)	4,28	4,61	N.A	4,86	4,72	4,7
	Hemoglobin (g/dL)	(12 - 15)	11,3	12,2	N.A	12,4	12,4	12
	Platelets (G/L)	(150 - 400)	229	377	N.A	398	377	408
	WBC (G/L)	(4 - 10)	4,4	6,1	N.A	6,1	6,5	5,9
	Neutrophils (G/L)	(2 - 7,5)	2,8	2,6	N.A	2,3	3,1	2,9
	Eosinophils (G/L)	(0,1 - 0,5)	0	0,07	N.A	0,1	0,08	0,06
	Basophils (G/L)	(0 - 0,2)	0,01	0,02	N.A	0,02	0,02	0,01
	Lymphocytes (G/L)	(1 - 4)	1,4	3	N.A	3,3	3	2,6
	Monocytes (G/L)	(0,2 - 1)	0,17	0,42	N.A	0,39	0,36	0,29
	Neutrophil-to-lymphocyte ratio	(< 6,63)	2	0,87	N.A	0,7	1,03	1,12
	Platelet-to-lymphocyte ratio	(< 2,98)	1,64	1,26	N.A	1,21	1,26	1,57
	Neutrophil-to-platelet ratio	(< 2,98)	1,22	0,69	N.A	0,58	0,82	0,71
	Systemic immune-inflammation index (SII)	(< 13,87)	4,58	3,27	N.A	2,77	3,9	4,55
<b><i>Haemostasis</i></b>	Prothrombin Time (%)	(> 70)	110	122	112	110	122	106
	aPTT ratio	(< 1,2)	1,1	0,9	0,9	0,9	0,9	1
	D-Dimers (µg/ml)	(0 - 0,5)	N.A	0,39	0,41	0,62	N.A	0,53
	Fibrinogen (g/L)	(1,8 - 4)	6,95	5,36	5,49	5,85	N.A	5,34
<b><i>Inflammatory markers</i></b>	CRP (mg/L)	(0 - 5)	130	7,8	7,9	12,1	14,1	15,9
	Ferritin (µg/L)	(30 - 280)	N.A	N.A	N.A	N.A	N.A	N.A
	IL-6 (pg/mL)	(< 55)	N.A	N.A	7,76	14,82	20,63	9,82
<b><i>Blood ionogram</i></b>	Na (mmol/L)	(136 - 145)	136	140	139	138	138	139
	Cl (mmol/L)	(98 - 107)	99	103	101	102	99	102
	K (mmol/L)	(3,4 - 4,5)	4,16	4,72	5,24	4,64	4,13	4,73
	Ca (mmol/L)	(2,15 - 2,50)	2,17	N.A	N.A	N.A	2,49	N.A
<b><i>Renal function</i></b>	Creatinine (µmol/mL)	(45 - 84)	62,9	61,6	64,6	89	71	79
	GFR (CKD-EPI) (mL/min/1,74m <sup>2</sup> )	(> 90)	95	97	92	62	82	72
<b><i>Liver markers</i></b>	AST (UI/L)	(0 - 35)	31	N.A	N.A	21	20	18

	ALT (UI/L)	(0 - 35)	25	N.A	N.A	28	28	24
	GGT (UI/L)	(0 - 40)	71	N.A	66	58	60	52
	Total Bilirubin ( $\mu\text{mol/L}$ )	(0 - 21)	4	N.A	5	5	6	7
	Alkaline Phosphatase (UI/L)	(35 - 105)	74	N.A	N.A	97	106	91
<b><i>Tissue damage markers</i></b>	Lactate dehydrogenase (UI/L)	(135 - 214)	303	N.A	192	N.A	194	N.A
	Creatine Kinase (UI/L)	(0 - 170)	87	N.A	N.A	N.A	120	N.A
<b><i>Immunology : Conventional Antiphospholipid Antibodies</i></b>	Antinuclear antibodies	(< 160)	N.A	N.A	Negative	Negative	Negative	Negative
	Anti-cardiolipin IgG (U/mL)	(< 15)	N.A	53,28	21,19	N.A	20,41	24,4
	Anti-cardiolipin IgM (U/mL)	(< 15)	N.A	0,77	0,46	N.A	2,06	1,75
	Anti-B2GP1 IgG (U/mL)	(< 8)	N.A	1,17	1,42	N.A	0	0,68
	Anti-B2GP1 IgG (U/mL)	(< 8)	N.A	1,17	1,42	N.A	0	0,68
	Anti-B2GP1 IgM (U/mL)	(< 8)	N.A	2,3	0,57	N.A	0,23	1
	Lupus Anticoagulant		N.A	Negative	Negative	Negative	N.A	Negative

N.A: non-available data



## **ABRÉVIATIONS**

**aANV** : auto-anticorps anti-annexine V

**aB2GP1** : auto-anticorps anti-béta-2-glycoprotéine-1

**AC** : anticorps

**aCL** : auto-anticorps anticardiolipine

**AG** : antigène

**AHAI** : anémie hémolytique auto-immune

**AN** : auto-anticorps anti-nucléaires

**ANCA** : auto-anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles

**aPE** : auto-anticorps anti-phosphatidyléthanolamine

**aPLs** : auto-anticorps anti-phospholipides

**aPT** : auto-anticorps anti-prothrombine

**CIA** : chemiluminescence immunoassay

**COVID-19** : coronavirus disease 2019

**CRP** : protéine C-réactive

**DO** : densité optique

**ELISA** : enzyme-linked immunosorbent assay

**EPCR** : récepteur endothélial de la protéine C

**ISTH** : International Society on Thrombosis and Haemostasis

**LA** : lupus anticoagulant ou anticoagulant circulant lupique

**LDH** : lactate déshydrogénase

**LPBA** : acide lysobisphosphatidique

**MAI** : maladies auto-immunes

**NETs** : neutrophils extracellular traps

**NLR** : rapport polynucléaires neutrophiles sur lymphocytes

**PL** : phospholipides

**PNN** : polynucléaires neutrophiles

**PTI** : purpura thrombopénique idiopathique

**ROS** : espèces réactives de l'oxygène

**RT-PCR** : reverse transcriptase polymerase chain reaction

**SAPL** : syndrome des anticorps anti-phospholipides

**SARS-CoV-2** : severe acute respiratory syndrome coronavirus 2

**SDRA** : syndrome de détresse respiratoire aiguë

**SGB** : syndrome de Guillain-Barré

**SPC** : syndrome post-COVID-19

**USC** : Unité de Soins Intensifs Continus

# SERMENT D'HIPPOCRATE

Au moment d'être admis(e) à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences.

Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis(e) dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu(e) à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré(e) et méprisé(e) si j'y manque.

## RÉSUMÉ

La COVID-19 est une pandémie mondiale qui cause dans 15 à 20% des cas, de sévères atteintes pulmonaires et vasculaires, qui peuvent entraîner un SDRA et le décès.

La clef de la physiopathologie de la maladie semble liée à une réaction immunitaire exagérée et inadaptée à l'origine de ce que l'on appelle une « tempête cytokinique ». Cette réaction immunitaire excessive, conduisant à une inflammation non contrôlée pourrait induire l'initiation d'une auto-immunité.

Dans l'hypothèse qu'une réponse auto-immune est induite par le SARS-CoV-2 et compte-tenu de l'état pro-inflammatoire et pro-coagulant retrouvé dans la COVID-19, les études se sont orientées vers la recherche d'aPLs, qui sont des marqueurs de définition du SAPL responsables de thromboses veineuses et/ou artérielles.

Le but de ce travail de thèse est de définir l'intérêt et l'apport de la détection des aPLs dans la prise en charge des patients atteints de la COVID-19.

La revue de la littérature a montré la présence d'aPLs dans la COVID-19, mais des résultats controversés ont été trouvés concernant la prévalence, le type et la pertinence clinique des aPLs. Dans une méta-analyse, la prévalence retrouvée était de 46,8%. L'aPL le plus fréquemment retrouvé était le LA (50,7%) suivi des aCLs IgG ou IgM (13,9%) puis des aB2GP1 IgG ou IgM (6,7%). Une association significative a été obtenue entre la présence d'aCLs et/ou aB2GP1 et les patients atteints de forme sévère de la COVID-19. Cependant, aucune association n'a été retrouvée entre la présence d'aPLs et la mortalité, la nécessité d'une intubation invasive et la survenue d'évènement thrombotique. Dans notre dernière étude, nous avons trouvé une prévalence totale d'aPLs de 54,8 %.

Nous avons récemment mis en évidence un lien entre les aPLs et les marqueurs circulants des NETs chez les patients atteints d'une forme sévère de la COVID-19, suggérant que les aPLs pourraient être un facteur favorisant la NETose exacerbant l'état thrombo-inflammatoire lié à la sévérité de la maladie.

En conclusion, l'ensemble de nos résultats nous permet de proposer que la forme sévère de la COVID-19 engage un mécanisme auto-immun via la production d'aPLs (et en particulier d'aCL) qui exacerbe la voie inflammatoire par un excès de production de NETs. Nos résultats amènent deux applications majeures dans la prise en charge de la COVID-19 : 1/ dans le suivi des patients, la détection des aCL permettrait d'identifier les formes sévères et potentiellement les formes longues de COVID-19. 2/ dans la prise en charge thérapeutique, pour laquelle une stratégie originale pourrait être proposée en ciblant la NETose.

Ainsi l'ensemble de ce travail montre l'intérêt de réaliser une étude de suivi clinique et biologique des patients atteints de la COVID-19 positifs en aCL. Ce projet fera l'objet de mon travail de mémoire.