

[COVID Information Commons \(CIC\) Research Lightning Talk](#)

Transcript of a Presentation by Ellen Foxman (Yale University), April 24, 2023



Title: [Host response-based screening for unexpected or emerging respiratory viruses](#)

[Ellen Foxman CIC Database Profile](#)

NIH Award #: [5R21AI156208-02](#)

[YouTube Recording with Slides](#)

[Spring 2023 CIC Webinar Information](#)

Transcript Editor: Julie Meunier

---

Transcript

*Slide 1*

Très bien, merci beaucoup. J'espère - puis-je - c'est bon ? Est-ce que tout le monde peut voir l'écran ? Ok, très bien, très bien. Merci beaucoup de nous avoir reçus. C'est fantastique - j'ai vu ces courriels du CIC et j'ai regardé les autres personnes présenter, mais c'est vraiment un plaisir d'avoir l'occasion de présenter au CIC et d'être impliqué et d'atteindre cette communauté. Aujourd'hui, j'aimerais partager quelques travaux récents de notre groupe sur le dépistage des virus respiratoires basé sur la réponse de l'hôte.

*Slide 2*

Je commencerai par le plus important, à savoir remercier toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce projet, y compris les fonds provenant des NIH et d'autres sources. Je tiens également à remercier Reddy Cheemarla et Amelia Hanron, qui ont réalisé les écrans dont je vais parler aujourd'hui, ainsi que de nombreux collègues de l'école de médecine et de l'école de santé publique de Yale, qui ont tous travaillé ensemble pour permettre à ce projet de voir le jour.

*Slide 3*

L'objectif de ce projet était donc d'aborder la question de la surveillance du SARS-CoV-2 - en fait, la surveillance des nouveaux virus respiratoires émergents. Il y a un nouvel impératif et une grande priorité à cet égard en raison de la pandémie de COVID. Comme vous le savez tous, de nombreuses stratégies sont déjà en place pour détecter les nouveaux virus respiratoires et c'est très important parce que si nous pouvons trouver un virus rapidement, nous pouvons développer des tests de diagnostic, des antiviraux et, en fin de compte, des vaccins et, espérons-le, réduire l'impact des futurs virus pour qu'ils n'aient pas autant d'impact que la pandémie de ces dernières années.

Cette diapositive présente quelques-unes des stratégies actuelles. L'une d'entre elles consiste à étudier les infections zoonotiques pour déterminer s'il existe des virus susceptibles de passer à l'homme. Il s'agit là d'un travail très important, de même que les projets de surveillance des épidémies de pneumonie, comme le projet de surveillance qui a conduit à la découverte du SRAS-CoV-2 en Chine. Ce projet a permis de constater l'existence d'un groupe de cas de pneumonie sans diagnostic virologique. Ces stratégies sont donc très utiles, mais ce dont je vais parler aujourd'hui, c'est d'une autre stratégie complémentaire qui exploite des ressources inexploitées pour la surveillance des virus émergents.

#### *Slide 4*

Il s'agit donc d'utiliser les échantillons cliniques de routine que nous recevons dans le cadre des soins prodigués aux patients pour effectuer une surveillance virale. De nombreux hôpitaux de soins tertiaires, comme notre hôpital Yale New Haven Healthcare, disposent d'un panel PCR multiplex qu'ils utilisent pour le diagnostic des patients. Il s'agit d'un panel de tests PCR pour de nombreux virus respiratoires différents, comme les 10 ou 15 virus respiratoires les plus courants. Ce n'est pas ce qu'on vous fera si vous vous rendez aux urgences et que vous avez probablement la grippe ou le COVID. On vous fera probablement un test RAPID ou un test PCR rapide pour ce seul virus. Ce test est réellement déployé pour les cas plus compliqués où l'on ne sait pas exactement ce qui se passe. Par exemple, une personne qui a de la fièvre, qui tousse, qui est essouffée et qui présente des symptômes non spécifiques. Souvent, on n'est pas sûr du tableau clinique. Même au plus fort de la saison respiratoire, lorsque des personnes de ce type subissent ce test dans notre système de santé, seul un tiers d'entre elles se révèlent positives pour les virus. Environ deux tiers d'entre eux ne le sont pas. Et pour la majorité de ces deux tiers, il ne s'agit probablement pas d'une infection virale - il y a probablement une autre cause à leur essoufflement, à leur fièvre, etc. Parmi les personnes chez qui aucun virus n'a été détecté, se cachent probablement quelques cas de personnes porteuses d'un virus, mais d'un virus que nous ne pouvons pas tester sur notre panel PCR parce que le virus n'y figure pas. Les réactifs nécessaires à la détection du virus n'existent pas. Il serait formidable de pouvoir trouver ces virus, car certains d'entre eux représentent clairement des virus auxquels nous ne pensons pas vraiment comme étant à l'origine de maladies chez nos patients ou des virus que nous ne connaissons même pas encore parce qu'ils sont en train d'émerger. L'analyse de tous ces échantillons négatifs à la recherche de virus non diagnostiqués prendrait beaucoup de temps, serait coûteuse et vraiment prohibitive, car nous en recevons des centaines par semaine. Ce ne serait tout simplement pas pratique. Ce que nous avons vu ici, c'est un moyen de trier ces échantillons pour enrichir ceux qui sont les plus susceptibles de contenir un virus non diagnostiqué. Vous pouvez en quelque sorte chercher l'aiguille dans la botte de foin en vous concentrant sur les échantillons les plus importants.

#### *Slide 5*

Pour ce faire, nous avons choisi de tirer parti de la réponse de l'organisme à l'infection. Lorsque le tissu des voies respiratoires est infecté par un virus, il déclenche immédiatement une réponse antivirale qui implique la sécrétion de certaines protéines antivirales. Dans des travaux antérieurs de notre groupe, nous avons montré que certaines de ces protéines, par exemple, je parlerai beaucoup de CXCL10 aujourd'hui, également connue sous le nom de IP10 ou protéine 10 induite par l'interféron. Cette protéine est essentiellement l'une des principales protéines sécrétées par les cellules épithéliales nasales lorsqu'elles sont exposées à un virus. Nous avons montré précédemment que les niveaux de cette protéine - cette protéine élevée est en corrélation étroite avec une charge virale significative dans le nez

de l'un des nombreux virus différents, comme vous le voyez ici. Nous avons cherché à utiliser cette protéine comme un écran et à dire, d'accord, nous avons toutes ces personnes sans virus détecté, mais parmi ces personnes, lesquelles ont en fait une réponse immunitaire antivirale dans leurs voies respiratoires. La façon dont nous détectons cela est d'utiliser CSCL10 comme biomarqueur de la défense antivirale dans les voies respiratoires supérieures. Si nous parvenons à dépister ce biomarqueur, nous pensons que les personnes qui en sont porteuses constitueront les échantillons à haut rendement, car ce sont celles qui sont susceptibles d'avoir une infection non diagnostiquée.

#### *Slide 6*

Nous avons donc effectué deux analyses différentes. Tout d'abord, je vais vous parler du dépistage qu'Amelia a effectué en janvier sur des échantillons provenant d'une seule semaine de janvier 2017. Il s'agit d'une semaine où beaucoup de virus circulent. Cette semaine-là, nous avons testé 359 échantillons sur le panel respiratoire et la majorité d'entre eux, comme je l'ai mentionné, sont négatifs pour tous les virus du panel, qui à l'époque ne comptait que 10 virus maintenant, nous en avons plus. Nous les avons ensuite soumis à un test de dépistage du biomarqueur CXCL10, ce qui n'a donné que - sur ces 251 échantillons - 60 échantillons pour lesquels la réponse antivirale a été activée au niveau du nez. Nous nous sommes concentrés sur ces échantillons. Mais avant de procéder à la découverte de virus, nous nous sommes dit que nous n'avions que 10 virus sur le panel et qu'il en manquait d'autres importants, comme les virus respiratoires saisonniers. Et si nous les testions ? C'est ce que nous avons fait et nous avons constaté que la moitié de ces 60 échantillons étaient positifs pour les coronavirus saisonniers, ce qui a constitué une belle preuve de concept de la stratégie et nous a également aidés à nous concentrer sur les véritables inconnus, qui représentaient 32 échantillons. Nous avons pu réduire tous ces tests négatifs à seulement 32 échantillons qui présentaient le plus grand intérêt.

#### *Slide 7*

Ensuite, nous avons choisi de procéder à un séquençage métagénomique afin d'examiner tous les acides nucléiques présents dans les échantillons et de nous demander s'ils contenaient des séquences virales. En fait, nous ne nous sommes concentrés que sur les 10 premiers par niveau de biomarqueur, car nous avons montré précédemment que le niveau de biomarqueur - s'il est plus élevé - est plus susceptible d'être associé à un virus. Nous avons donc procédé au séquençage de l'ARN et nous avons constaté que l'un des échantillons - l'échantillon A - comportait des dizaines de milliers de lectures dans l'ARN, dans cet échantillon, qui provenaient du virus de la grippe C. Nous avons estimé que c'était une bonne indication de la présence d'un virus. Nous avons estimé qu'il s'agissait là d'une très bonne preuve de principe, car le virus de la grippe C est un pathogène viral connu, mais il n'est pas très répandu et nous ne le recherchons pas habituellement. Il ne fait pas partie de notre panel, mais nous avons pu le détecter grâce à cette stratégie. Pour prouver la présence de ce virus dans l'échantillon, nous avons inoculé des cellules épithéliales nasales humaines primaires avec l'échantillon du patient et nous avons pu observer l'effet cytopathique du virus, la formation de syncytia, ainsi que la présence de ce virus dans les sécrétions de ces cellules épithéliales nasales sept jours plus tard. Ainsi, notre premier essai de cette stratégie a plutôt bien fonctionné en identifiant un échantillon qui contenait un virus non diagnostiqué cliniquement significatif.

### *Slide 8*

L'analyse suivante dont je vais vous parler - nous étions en train de conclure ce projet lorsque COVID est arrivé et nous nous sommes demandé si nous pouvions utiliser cette même stratégie pour trouver des cas non diagnostiqués de SRAS-CoV-2 depuis le début de la pandémie. Si vous regardez ce graphique, le gris représente le nombre de cas aux États-Unis en mars 2020 et le bleu représente l'État de New York, qui est assez proche de notre hôpital. Le vert représente le Connecticut et le rouge notre hôpital. La parenthèse ici montre le temps écoulé entre l'arrivée de tous ces virus dans la région de New York et le moment où notre test PCR a commencé à fonctionner pour le SARS-CoV-2. Au cours de ces deux semaines, nous avons testé 375 échantillons sur notre panel respiratoire, qui se sont tous révélés négatifs. En fait, environ la moitié ou soixante pour cent des échantillons de cette période ont été testés négatifs.

Nous nous sommes alors demandé si ce biomarqueur permettrait de détecter des cas non diagnostiqués de SRAS-CoV-2. Nous avons procédé à un dépistage à l'aide du biomarqueur et, parallèlement, à un dépistage à l'aide de la RQ-PCR, le test PCR typique pour le COVID.

### *Slide 9*

Ce que nous avons finalement découvert, c'est qu'il y avait quatre cas non diagnostiqués de COVID que nous avons découverts par PCR, comme le montrent ces points rouges ici. Ce graphique représente le niveau du biomarqueur. Ce que vous pouvez voir, c'est que pour la majorité des échantillons, soit 92 % des échantillons, le biomarqueur était inférieur à notre seuil. Pour un petit pourcentage, environ 8 % des échantillons, le biomarqueur était supérieur à ce seuil. Tous les échantillons COVID positifs se trouvaient dans ce groupe. Donc, si nous avions simplement - si nous avions voulu - nous aurions pu effectuer le dépistage du biomarqueur en premier et ne tester qu'un dixième des échantillons par PCR et trouver quand même tous les cas non diagnostiqués. C'était un très bon moyen d'avoir une vue d'ensemble de la manière dont cette stratégie pouvait fonctionner. En outre, l'avantage d'utiliser ces échantillons nasaux pour le dépistage est que nous avons pu directement, avec nos collègues du laboratoire Grubaugh, obtenir la séquence de ces virus et faire de l'épidémiologie moléculaire, ce qui est leur spécialité au laboratoire Grubaugh. Ce qu'ils ont découvert, c'est que, de manière intéressante, ces quatre isolats datant du début de la pandémie étaient tous génétiquement distincts. Cela signifie que le SRAS-CoV-2 est entré dans notre système de soins de santé et dans le Connecticut par de multiples lignes de transmission différentes à ce moment-là. Tout ne provenait pas d'une seule source. Cela montre que la transmission était beaucoup plus répandue qu'on ne le pensait à l'époque.

### *Slide 10*

Enfin - je n'ai pas le temps d'en parler vraiment aujourd'hui - mais je voulais juste vous indiquer l'article si vous êtes intéressé et vous faire savoir que nous avons effectué une caractérisation beaucoup plus approfondie de ces échantillons inconnus et que nous les avons comparés à des cas connus de patients positifs et négatifs au virus. Nous avons examiné la réponse de l'hôte nasal à l'infection en utilisant le séquençage de l'ARN et le profilage des cytokines. Il est possible de voir des schémas plus subtils. Aujourd'hui, j'ai surtout parlé de l'élévation d'un biomarqueur - CXCL10 - mais il existe en fait de nombreux modèles que l'on peut distinguer et qui pourraient être utiles à l'avenir pour développer des écrans de réponse de l'hôte plus sophistiqués et en apprendre davantage sur les infections non diagnostiquées dans la population de patients.

*Slide 11*

Pour résumer, les principales conclusions de cette étude sont que nous avons utilisé un biomarqueur unique de la réponse de la muqueuse nasale aux virus pour enrichir les échantillons contenant des virus non diagnostiqués. Nous utilisons ces échantillons de patients testés négatifs pour le virus et nous utilisons le biomarqueur pour mettre en évidence les échantillons que nous devrions poursuivre. Ces analyses ont permis de diagnostiquer un cas non diagnostiqué de grippe C ainsi que quatre cas non diagnostiqués de SRAS-CoV-2 qui étaient importants d'un point de vue épidémiologique. Ce que nous faisons maintenant, c'est que nous aimerions développer ce dépistage en automatisant davantage les flux de travail, ce que nous expliquons dans l'article. Nous souhaitons également collaborer avec des personnes qui disposent d'échantillons provenant de différentes régions géographiques, car il est évident que des virus non diagnostiqués différents circulent dans les différentes régions. Nous souhaitons également utiliser l'immunophénotypage nasal pour mieux cerner les infections non diagnostiquées qui circulent dans nos populations de patients.

*Slide 12*

Sur ce, je vais conclure et je serai heureux de répondre à toute question supplémentaire à la fin de cet exposé - à la fin de l'exposé de chacun. Je vous remercie donc de votre attention.