

# Quels marqueurs pour le diagnostic précoce des infections néonatales bactériennes ?

## Introduction

La recherche sur les marqueurs biochimiques pour un diagnostic précoce de l'infection néonatale a généré de nombreuses publications. Ainsi, l'identification des alpha défensines humaines (HD  $\alpha$ )<sup>1,2</sup> et des protéines S100A12 et S100A8 du liquide amniotique par l'analyse protéomique signe la réponse du fœtus contre une agression bactérienne [1]. Il est aussi établi que la présepsine peut moduler les réponses immunitaires cellulaires et humorales en interagissant directement avec les cellules T et B [2]. Elle augmente de manière précoce pendant la septicémie ou d'autres infections bactériennes [3]. Notre objectif est d'évaluer les protéines S100A8, A9, A12, les HD  $\alpha$ <sup>1,2,3</sup> et la présepsine en tant que marqueurs de diagnostic précoce sur des prélèvements sanguins de nouveau-nés suspects d'infection néonatale bactérienne.

## Résultats

Sur les 99 nouveau-nés, six avaient une infection bactérienne confirmée par une hémoculture positive (tableau 1). Selon le résultat d'hémoculture et de la Protéine-C-Réactive (CRP) à l'entrée, les malades sont répartis en trois groupes :

- Groupe 1 (G1) : Infection négative ; lorsque CRP < 20 mg/L et hémoculture négative.
- Groupe 2 (G2) : Infection probable définie par une CRP  $\geq$  20 mg/L et une hémoculture négative.
- Groupe 3 (G3) : Infection certaine pour les nouveau-nés avec une CRP  $\geq$  20 mg/L et une hémoculture positive.

Les variations des marqueurs sont effectuées entre les groupes (tableau 2) mais aussi entre les nouveau-nés décédés ou ceux présentant une complication (tableau 3). L'AUC de la présepsine et de la CRP ont été comparés avec les autres marqueurs (tableau 4).

**Table 2 : Comparaison des marqueurs biologique entre les groupes**

	G1 non infecté	G2 Infection Probable	G3 Infecté	p(3grps)	G4 infecté et probable Infection	p G1 vs G4
<b>Nombre de patients (n)</b>	73	20	6		26	
<b>CRP (mg/l)</b>	2 [0 ; 3]	46 [23 ; 6a9]	52 [25 ; 192]	<b>0.0001</b>	48 [25 ; 75]	<b>0.0001</b>
<b>Presepsin (pg/ml)</b>	717.5 [480 ; 1075]	1975.5 [603 ; 2310]	1079 [1422 ; 1484]	<b>0.016</b>	1745 [603 ; 2310]	<b>0.0042</b>
<b>S100A8 (ng/ml)</b>	59.7 [30.4 ; 82]	70.8 [41.3 ; 111.59]	74.65 [49.2 ; 89.4]	0.194	73.4 [43.2 ; 100]	0.072
<b>S100A9 (ng/ml)</b>	5.025 [1.19 ; 9.62]	3.03 [0.039 ; 6.41]	0.859 [0.039 ; 2.39]	<b>0.022</b>	2.01 [0.039 ; 5]	<b>0.02</b>
<b>S100A12 (ng/ml)</b>	1000 [821.3 ; 1000]	1000 [611.31 ; 1000]	975.07 [496.61 ; 1000]	0.608	1000 [581.91 ; 1000]	0.336
<b>HNP-1 (ng/ml)</b>	0.8 [0.31 ; 3.38]	2.905 [0.31 ; 6.47]	22.77 [15.04 ; 31.73]	<b>0.011</b>	4.14 [0.31 ; 22.77]	<b>0.028</b>
<b>HNP-2 (pg/ml)</b>	129.46 [69.55 ; 186.08]	116.68 [84.1 ; 194.49]	126.4 [39.53 ; 156.82]	0.918	118.82 [83.02 ; 193.6]	0.938
<b>HNP-3 (ng/ml)</b>	2.065 [0.23 ; 5.57]	2.92 [0.23 ; 12.4]	75.95 [75.95 ; 75.95]	0.235	3 [0.23 ; 13.09]	0.269

**Table 4 : Comparaison des AUC**

Marqueurs	Nombre de patients	AUC	p-value
Présepsine/S100A8	57	0.75/0.58	<b>0.036</b>
Présepsine/S100A12	52	0.75/0.43	<b>0.0023</b>
Présepsine/ HNP-1	44	0.74/0.70	0.74
Présepsine/ HNP-2	53	0.72/0.53	<b>0.13</b>
Présepsine/ HNP-3	32	0.73/0.65	0.59
Présepsine/CRP	57	0.75/0.94	<b>0.008</b>
CRP/S100A8	95	0.96/0.62	<b>&lt;0.001</b>
CRP/S100A12	85	0.96/0.43	<b>&lt;0.001</b>
CRP/HNP-1	67	0.96/0.67	<b>&lt;0.001</b>
CRP/HNP-2	93	0.96/0.51	<b>&lt;0.001</b>
CRP/HNP-3	53	0.95/0.60	<b>&lt;0.001</b>

## Références

1. Buhimchi I A., Christer Ret Buhimchi C S. Proteomic Biomarker Analysis of Amniotic Fluid for Identification of Intra-Amniotic Inflammation. *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 2005; 112 (2): 173-81.
2. Mussap M, Noto A, Fravega M et Fanos V. Soluble CD14 Subtype Presepsin (SCD14-ST) and Lipopolysaccharide Binding Protein (LBP) in Neonatal Sepsis: New Clinical and Analytical Perspectives for Two Old Biomarkers. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 2011; 24 Suppl 2: 12-14.
3. Memar M Y et Baghi H B. Presepsin: A Promising Biomarker for the Detection of Bacterial Infections. 2019. *Biomedicine and pharmacotherapy*, 2019, 111 ; 649-656.
4. Willers M, Ulas T, Völger L, Vogl T, Heinemann A S., Pirr S et al. S100A8 and S100A9 Are Important for Postnatal Development of Gut Microbiota and Immune System in Mice and Infants. *Gastroenterology*, 2020; 159 (6): 2130-2145.

## Matériels et Méthodes

- Étude descriptive et prospective qui s'est déroulée entre Août 2018 et Mai 2020.
- 99 nouveaux nés, admis à l'Hôpital pour Enfants de Diamniadio (Sénégal), suspects d'infection selon la symptomatologie clinique évocatrice et les critères anamnestiques ont été retenus.
- Deux prélèvements sur tube sec et avec héparinate de sodium ont été effectués sur les nouveaux nés.
- Conservation plasma et sérum à - 80°C puis transport jusqu'au laboratoire de biochimie et biologie moléculaire du CHU de Clermont Ferrand
- Présepsine a été dosée avec l'automate PATHFAST™
- Protéines S100 et  $\alpha$ -défensine sont dosés par ELISA sandwich en phase solide avec les kits de MyBioSource.com.
- Analyses statistiques réalisées avec le logiciel Stata (v version 15, StataCorp, College Station, US).

**Tableau 1 : Critères de répartition des groupes**

	G1 Pas d'infection	G2 Infection Probable	G3 Infection Certaine	p (3grps)	G4 Infection certaine et probable	p G1 vs G4
	(CRP<20 & Germe -)	(CRP>20 & Germe -)	(CRP>20 & Germe +)		(CRP>20 & Germe +ou-)	
<b>Nombre de patients (n)</b>	73	20	6		26	
<b>CRP (mg/L)</b>	0 [0 ; 2,9]	46 [23 ; 69]	52 [25 ; 192]	<b>&lt;0,001</b>	48 [25 ; 75]	<b>&lt;0,001</b>
<b>Germes pathogènes isolés n (%)</b>	2 (2%)	2 (10%)	5 (83%)	<b>&lt;0,001</b>	7 (26.9)	<b>0,001</b>

**Tableau 3 : Facteurs d'influence des décès et des complications dans la population générale**

	Décès			Complications		
	Non	Oui	p-value	Non	Oui	p-value
<b>Nombre de patients (n=88)</b>	71	17		61	28	
<b>CRP (mg/L)</b>	2 [0 ; 6]	20.8 [2.9 ; 52.8]	<b>0.002</b>	2 [0 ; 6]	14 [3 ; 52]	<b>0.0001</b>
<b>Présepsine (pg/ml)</b>	751 [505 ; 1484]	1694.5 [640 ; 3246]	0.063	697 [484 ; 1035]	1484 [605 ; 2074]	<b>0.001</b>
<b>S100A8 (ng/ml)</b>	49.8 [31.1 ; 84.7]	87.05 [59.7 ; 135.5]	<b>0.005</b>	48.6 [30.4 ; 72.8]	89.4 [49.8 ; 150]	<b>0.0002</b>
<b>S100A9 (ng/ml)</b>	4.02 [1.13 ; 8.04]	2.48 [0.039 ; 15.26]	0.692	3.75 [0.58 ; 8.67]	3.52 [0.53 ; 6.41]	0.626
<b>S100A12 (ng/ml)</b>	1000 [569.08 ; 1000]	1000 [680.03 ; 1000]	0.43	1000 [585.65 ; 1000]	1000 [934.59 ; 1000]	0.393
<b>HNP-1 (ng/ml)</b>	2.165 [0.31 ; 6.47]	2.43 [0.31 ; 9.36]	0.992	0.8 [0.31 ; 6.14]	2.90 [1.14 ; 7.74]	0.125
<b>HNP-2 (pg/ml)</b>	127.12 [68.22 ; 193.6]	118.1 [85.22 ; 170.18]	0.969	118.82 [69.88 ; 185.47]	119.76 [65.98 ; 194.49]	0.953
<b>HNP-3 (ng/ml)</b>	2.27 [0.235 ; 10.47]	1.62 [0.23 ; 4.13]	0.607	2.28 [0.23 ; 5.73]	3.64 [0.23 ; 10.93]	0.515

## Discussions et conclusion

Notre étude est la première en Afrique subsaharienne. La présepsine et la CRP présentent des concentrations significativement différentes entre les trois groupes, entre le groupe 1 et le groupe 4 (tableau 2) mais aussi chez les sujets décédés ou qui présentent une complication (p = 0.0001 et 0.001) (tableau 3). Une augmentation importante de la présepsine peut indiquer une forte activation de la réponse immunitaire innée chez le nouveau-né avec un risque de sepsis.

Il est admis que l'hétérodimère, S100A8/A9, forme la plus stable est responsable de la majorité des interactions biologiques [4]. Mais, nous avons démontrés qu'individuellement ces protéines pourraient avoir une activité biologique avec la S100 A9 significativement moins élevée chez les nouveau-nés à infection certaine (tableau 2) contrairement à la protéine S100 A8 qui s'élève et qui constitue un marqueur prédictif de la survenue des décès et des complications (tableau 3).

Les concentrations de HD  $\alpha$ 1 sont significativement plus élevées dans le groupe 3 que les autres avec un p-value égal à 0.011 (tableau 2). Il en est de même pour les HD  $\alpha$ 3. Mais, HD  $\alpha$ 1 semble avoir une activité antibactérienne plus marquée que les autres défensines étudiées.

Il reste à confirmer ces résultats avec l'utilisation de technique plus sensible comme la protéomique ciblée. Cependant, la comparaison des AUC a démontré que la CRP reste plus performante avec un AUC de 0,94 (tableau 4).