

Les marqueurs du sepsis

Sepsis markers

© SRLF et Springer-Verlag France 2011

SO073

L'hypoalbuminémie est un facteur pronostic indépendant dans le choc septique

J. Charpentier, J.-P. Mira

Service de réanimation médicale,
groupe hospitalier Cochin-Broca-Hôtel-Dieu, Paris, France

Introduction : L'hypoalbuminémie est un facteur pronostic dans de nombreuses situations cliniques, (cirrhose, insuffisance cardiaque chronique, insuffisance rénale chronique et aiguë...). En réanimation, dans des populations non sélectionnées, elle a été associée à un mauvais pronostic et à un risque accru de survenue de complications. Bien que l'hypoalbuminémie soit constante et profonde lors du choc septique, sa valeur pronostique n'a jamais été étudiée dans une étude prospective, ayant inclus spécifiquement ce type de patients.

Patients et méthodes : Une cohorte prospective de patients en choc septique a été analysée. Ces patients constituent le groupe contrôle de l'étude EARSS qui avait évalué l'effet de l'administration d'albumine concentrée sur la mortalité des patients en choc septique. Les patients ayant un poids > 120 kg, une insuffisance cardiaque chronique sévère, une neutropénie induite par une chimiothérapie ainsi que les patients porteurs d'une cirrhose décompensée étaient exclus de l'étude. Tous les patients du bras contrôle ont été inclus dans cette analyse. L'albuminémie a été mesurée à l'inclusion dans l'étude. L'influence de l'albuminémie sur la mortalité a été étudiée en utilisant un modèle de régression logistique.

Résultats : Entre juillet 2006 et mars 2010, 393 patients ont été inclus dans le bras contrôle de l'étude EARSS : âge médian : 66 ans [IQR : 55 ; 76], 67 % d'hommes, hospitalisés pour une pathologie essentiellement médicale (75 %). IGS2 : 51 [IQR : 40-65], SOFA j1 : 10 [IQR : 8-12], lactatémie : $3,5 \pm 3,7$ mmol/l. L'infection à l'origine du choc était principalement pulmonaire (45 %). La mortalité à j28 était de 26,3 %. À l'inclusion, la quasi-totalité des patients avaient une hypoalbuminémie sévère (moy : $18,10 \pm 5,47$ g/l). Les patients non survivants à j28 présentaient à l'inclusion une albuminémie moyenne plus basse que les

patients survivants $17,25 \pm 5,56$ vs $18,57 \pm 5,38$ g/l respectivement ; $p = 0,02$. En analyse multivariée, l'hypoalbuminémie à l'inclusion est un facteur de risque de décès indépendant après ajustement pour le score SOFA et l'âge avec OR : 0,952 ; IC : [0,911-0,994] ; $p = 0,025$. L'impact pronostic de l'hypoalbuminémie à l'inclusion n'est pas indépendante de l'IGS2, OR : 0,960 ; IC : [0,920-1,001] ; $p = 0,057$.

Discussion : Il s'agit de la première étude prospective ayant analysé l'impact pronostic de l'hypoalbuminémie dans le choc septique. Dans cette population, l'hypoalbuminémie est constamment inférieure aux limites admises pour envisager sa correction. L'hypoalbuminémie est donc un bon marqueur du risque de décès y compris dans une population homogène où les valeurs sont très basses.

Conclusion : Cette étude confirme que l'albuminémie est un excellent biomarqueur dans le choc septique.

SO074

Biomarqueurs et choc septique : place de l'Endocan

A. Palud¹, E. Parmentier-Decrucq¹, N. de Freitas Caire², R. Favory¹, P. Lassalle³, D. Mathieu¹

¹Service de réanimation médicale et de médecine hyperbare,
CHRU de Lille, hôpital Calmette, Lille, France

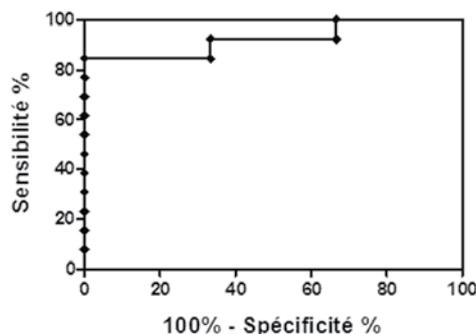
²Lunginnov, institut Pasteur, Lille, France

³U1019, institut Pasteur, Lille, France

Rationnel : L'activation disproportionnée des polynucléaires neutrophiles (PNN) et de l'endothélium est impliquée dans l'évolution péjorative lors du sepsis. Pour caractériser leur utilité diagnostique et pronostique, nous avons dosé des marqueurs spécifiques de l'activation endothéliale et de celle des PNN sur une population présentant un sepsis grave.

Patients et méthodes : Endocan, angiopoïétine 2 (Ang-2), E-sélectine, élastase et myéloperoxydase (MPO) sériques ont été dosés à l'admission en réanimation et chez neuf volontaires sains. Les caractéristiques cliniques et biologiques ont été recueillies à l'inclusion, h24, h48 et h72.

Courbe ROC de l'Endocan
pour la survenue d'une défaillance respiratoire à H48



Courbe ROC			
Aire sous la courbe	0,923	IC _{95%} [0,786 - 1,061]	p = 0,027
Seuil Endocan	< 3,55 ng/ml	Se = 85%	IC _{95%} [55-98]
		Spe = 100%	IC _{95%} [30-100]

Résultats : 19 patients présentant un choc septique (CS) ont été inclus prospectivement. Les taux des biomarqueurs sont plus élevés dans le sepsis grave par rapport aux témoins. Ang-2, E-sélectine, élastase et MPO sont corrélées à la CRP et/ou la PCT. Un taux d'Ang-2 élevé est relié à la mortalité à j28 ($p = 0,001$) et au score IGS2 ($r^2 = 0,531$; $p = 0,019$). La sévérité hémodynamique et les atteintes rénale, hépatique, métabolique sont liées à un taux d'Ang-2 élevé. Un taux d'Endocan bas < 3,55 ng/ml lors d'un CS est prédictif de la survenue d'une défaillance respiratoire à h48 avec une sensibilité de 85 % (IC 95 % : [55–98]) et une spécificité de 100 % (IC 95 % : [30–100]).

Conclusion : Parmi les biomarqueurs testés, deux semblent plus pertinents chez des patients septiques. En effet, l'Ang-2 est corrélée à la gravité et l'évolution défavorable alors que l'Endocan pourrait permettre de prévoir la survenue d'une défaillance respiratoire. Si cela se confirme sur une population plus vaste, le dosage de l'Endocan pourrait permettre d'initier des traitements plus précoces voire préventifs.

SO075

Valeur clinique de suPAR chez les patients critiques

K. Donadello¹, S. Scolletta¹, L. Khattar¹, C. Covajes¹, F.-S. Taccone¹, C. Santonocito¹, S. Brimiouille¹, M. Beumier¹, L. Gottin², J.-L. Vincent¹
¹Service de réanimation médicochirurgicale, hôpital universitaire Erasme, Bruxelles, Belgique
²Service de soins intensifs, Policlinico Gb Rossi, Università Degli Studi Di Verona, Verone, Italie

Introduction : Le sepsis représente la première cause de mortalité chez les patients critiques. La protéine C-reative (*C-reactive protein* — CRP) et la procalcitonine (PCT) sont les marqueurs biologiques plus utilisés dans la pratique clinique. La forme soluble du récepteur du plasminogène type-urokinase (soluble urokinase type *plasminogen receptor* — suPAR) est un nouveau biomarqueur, présent dans les liquides humains et participant à différents moments de la réponse immunitaire. Des taux sériques élevés de suPAR ont été associés à une mortalité accrue chez différentes populations de patients non critiques. Son utilité chez les patients critiques n'a pas encore été définie. Le but de cette étude était d'évaluer le rôle diagnostique et pronostique de suPAR aux Soins Intensifs (SI).

Patients et méthodes : Nous avons étudié tous les patients adultes admis dans notre service de Décembre 2010 à Mai 2011 (6 mois), excepté les patients mineurs (moins de 18 ans), ceux supposés rester aux SI moins de 24 h, les entrants du week-end (pour raisons pratiques) et ceux qui ont refusé leur participation. Nous avons défini le sepsis, le sepsis sévère et le choc septique selon les critères standards. Les concentrations de suPAR ont été mesurées à l'admission et ensuite quotidiennement pendant le séjour aux SI (pour un maximum de 15 jours) utilisant un kit Elisa (ViroGates A/S Copenhagen, Danemark).

Résultats : Nous avons étudié 31 volontaires sains et 258 patients (161 hommes). Les patients avaient un âge moyen de 58 ± 17 ans, un score APACHE II et un score SOFA à l'admission de 17 (9–23) et 6 (3–9), respectivement. L'admission aux SI était due à des raisons médicales ($n = 133$, dont 87 avec sepsis), traumatisme ($n = 23$), chirurgie programmée ($n = 78$) et chirurgie d'urgence ($n = 24$, dont 7 avec sepsis). Le sepsis était présent à l'admission chez 94 patients (36,4 %) ; dont 23 sepsis sévères (24,5 % des septiques) et 49 chocs septiques (52,1 % des septiques). La mortalité globale était de 13,6 %, et chez les septiques de 18,1 %. Les concentrations de suPAR à l'admission étaient supérieures à celles des volontaires sains et étaient corrélées à la CRP ($r = 0,254$), au score APACHE II ($r = 0,363$) et au score SOFA ($r = 0,457$). Les patients septiques avaient des taux de suPAR plus élevés que les patients non septiques (8,9 [5,9–12,7] vs

3,7 [2,7–5,4] ng/ml) ; cette différence était significative tant pour le sous-groupe médical (8,7 [6,3–13] vs 5,3 [3,5–8,2] ng/ml) que pour le sous-groupe chirurgical (9,3 [3,7–12,7] vs 3,5 [2,4–4,9] ng/ml). Une valeur de suPAR supérieure à 5,55 ng/ml présentait une sensibilité de 79 % et une spécificité de 77 % dans le diagnostic du sepsis (ROC AUC of 0.804; 95% CI: [0.746–0.862]). La ROC AUC pour la mortalité globale était de 0,726 (95% CI: [0.645–0.808]), plus élevée que celle de la CRP (0,622), mais inférieure à celles des scores APACHE II et SOFA (0,847 et 0,826). La ROC AUC de suPAR pour la mortalité des patients septiques était 0,723.

Conclusion : Les concentrations sériques de suPAR sont augmentées chez les patients admis aux SI. Elles sont plus un marqueur de sévérité qu'un marqueur de sepsis. Leur évolution dans le temps pourrait être intéressante pour apprécier la réponse au traitement.

SO076

Production d'interféron-gamma par les cellules natural killer et réactivation du cytomégalovirus en réanimation

G. Thomas¹, L. Chiche¹, J.-M. Forel¹, C. Farnarier², C. Cogne³, C. Guervilly¹, A. Roch¹, F. Vély³, C. Zandotti⁴, E. Vivier³, L. Papazian¹
¹Service de réanimation détresses respiratoires et infections sévères, Urmite CNRS-UMR 6236, université de la Méditerranée Marseille, Assistance publique-Hôpitaux de Marseille, Marseille, France
²Service d'immunologie, Assistance publique-Hôpitaux de Marseille, Marseille, France
³Université de la Méditerranée, UM 631, Inserm UMR-S 631, CNRS-UMR 6102, centre d'immunologie Marseille-Luminy, Marseille, France
⁴Service de virologie, Urmite CNRS-UMR 6236, université de la Méditerranée Marseille, Assistance publique-Hôpitaux de Marseille, Marseille, France

Rationnel : La survenue d'une réactivation du cytomégalovirus (CMV) concerne 15 à 30 % des patients non immunodéprimés admis en réanimation et est associée à une morbi-mortalité importante [1]. Les mécanismes immunologiques impliqués dans cette réactivation sont encore largement méconnus [2]. Nous avons évalué le rôle des cellules *natural killer* (NK) dans la réactivation du cytomégalovirus chez ces patients.

Patients et méthodes : Étude de cohorte prospective, menée dans un service de réanimation médicale. Après consentement (clinicaltrials.gov NCT00699868), les patients admis et ne présentant aucune immunodépression préalable ont bénéficié, à l'admission puis de façon hebdomadaire, de prélèvements sanguins cryoconservés. L'antigénémie pp65 du CMV était réalisée de manière hebdomadaire. Les patients ayant présentés une réactivation CMV (antigénémie pp65 ≥ 1 cellule, « cas ») ont été appariés (1/1) à des patients contrôles selon l'âge (± 10 ans), le sexe, le score de gravité IGSII à l'admission (± 15 points) et la durée de séjour (± 7 jours). La numération lymphocytaire, l'immunophénotypage et les fonctions des cellules NK (dégranulation, synthèse d'interféron-gamma et cytotoxicité en condition ADCC et K562) étaient analysées par cytométrie en flux. Les cytokines pro- et anti-inflammatoires étaient dosées par technique Elisa. Ces analyses concernaient les prélèvements réalisés à l'admission et dans les 7 jours précédant la réactivation CMV.

Résultats : Sur 100 patients inclus, 82 étaient séropositifs en IgG pour CMV à l'admission. 15 patients ont réactivé le CMV durant leur séjour. Aucune différence quantitative, phénotypique et fonctionnelle des cellules NK n'a été observée à l'admission entre les cas et les contrôles. Avant la réactivation CMV, il existait une diminution

significative de la synthèse d'interféron- γ par les cellules NK en condition ADCC (14 [9,9–23,5] vs 24,2 [20,2–33,2] % ; $p = 0,029$) et en K562 (3,1 [1,9–5,2] vs 6,2 [4,5–13,2] % ; $p = 0,029$) comparée aux contrôles. Aucune différence quantitative et phénotypique des cellules NK n'a été observée avant la réactivation CMV. Les taux d'interleukine IL-10 et IL-15 étaient significativement plus élevés avant la réactivation CMV (IL-10 : 8,9 [7,4–11,9] vs 5,3 [3,3–8,7] pg/ml ; $p = 0,031$ et IL-15 : 3,85 [3,2–5,2] vs 2 [2–4,2] pg/ml ; $p = 0,021$; « cas » vs « contrôles » respectivement).

Conclusion : Une altération de la fonction des cellules *natural killer*, avec diminution de la production d'interféron-gamma, précède la survenue d'une réactivation du cytomégalovirus chez les patients de réanimation non immunodéprimés préalablement.

Références

1. Chiche L, Forel JM, Roch A, et al (2009) Active cytomegalovirus infection is common in mechanically ventilated medical intensive care unit patients. *Crit Care Med* 37:1850–7
2. Cook CH, Trgovcich J (2011) Cytomegalovirus reactivation in critically ill immunocompetent hosts: a decade of progress and remaining challenges. *Antiviral Res* 90:151–9

SO077

Cinétique du CD64, comme marqueur d'activation leucocytaire, au cours de la circulation extracorporelle

S. Djebara¹, E. Fosse², M. Piagnerelli³, A. Daper⁴, M. Joris⁵, P. Cauchie⁶, P. Biston¹

¹Soins intensifs médicochirurgicaux, CHU de Charleroi, Charleroi, Belgique

²Laboratoire d'hématologie et d'immunologie, CHU Vésale, Charleroi, Belgique

³Department of Intensive Care & Lt, Br&Gt, Experimental Medicine Laboratory, CHU de Charleroi, Charleroi, Belgium

⁴Service d'anesthésie, CHU de Charleroi, Charleroi, Belgique

⁵Service de chirurgie cardiaque, CHU de Charleroi, Charleroi, Belgique

⁶Laboratoire d'hématologie, CHU Vésale, Charleroi, Belgique

Introduction : Le CD64 est un récepteur membranaire leucocytaire à haute affinité pour la portion Fc des IgG (1). Comme son expression sur les polynucléaires neutrophiles (PMNs) augmente spécifiquement après stimulation bactérienne, il pourrait être proposé pour différencier les maladies inflammatoires des infections bactériennes [1]. La circulation extra corporelle (CEC) utilisée au cours de la chirurgie cardiaque, est associée à des modifications hémodynamiques, microcirculatoires et inflammatoires, rendant difficile le diagnostic d'infection [2].

Objectif : Comparer l'évolution de l'expression du CD64 sur les neutrophiles chez des patients bénéficiant d'une CEC pour chirurgie cardiaque et des patients en sepsis sévère et/ou choc septique.

Patients et méthodes : Étude prospective réalisée dans la réanimation polyvalente du CHU de Charleroi. Après un consentement éclairé, les patients âgés de plus de 18 ans bénéficiant d'une chirurgie cardiaque programmée avec CEC (coronaire, valvulaire ou mixte) [groupe CEC] et tous patients présentant un sepsis sévère et/ou choc septique (groupe sepsis) étaient inclus. Les critères d'exclusion étaient : maladie hématologique hormis neutropénie liée au sepsis, traitement par corticoïdes, chirurgie non programmée, chirurgie de la crosse aortique, un état infectieux dans les 7 jours préalable à la chirurgie pour le groupe CEC. L'expression du CD64 sur les neutrophiles a été quantifiée par le Cell-dyn Sapphire® (Abott ; États-Unis) au temps 0 (pré CEC), temps 1 (post CEC), temps 2 (j1) et temps 3 (j5) pour le groupe CEC et au

temps 0,1 et 3 pour le groupe sepsis. Une valeur $< 1,5$ est discriminatoire d'une infection bactérienne. Pour chaque temps, les paramètres inflammatoires ont été collectés : les concentrations de C-réactive protéine (CRP), de globules blancs (GB), de PMNs, des plaquettes et du lactate. Nous avons aussi collecté les données démographiques, le score Apache 2 et la mortalité en réanimation. Les valeurs sont exprimées en médiane (percentiles 25–75 %) et comparés par test de Mann-Whitney. La cinétique est étudiée par test d'Anova et les corrélations par le test de Spearman. La valeur diagnostique de l'infection est déterminée par l'aire sous la courbe (AUC ROC). Une valeur de $p < 0,05$ est considérée comme significative.

Résultats : 51 patients ont été inclus dont 40 dans le groupe CEC (10 valves, 20 pontages, et 10 valves et pontages). Comme attendu, les paramètres inflammatoires étaient augmentés de manière significative chez les patients septiques par rapport au groupe CEC hormis au temps 3. L'expression du CD64 est augmentée de manière significative dans le groupe sepsis pour tous les temps hormis au temps 3. Aucune corrélation statistiquement significative n'a pu être mise en évidence entre le CD64 et les autres paramètres étudiés (CRP, GB, PMNs). C'est le CD64 au temps 2 qui présente la meilleure spécificité pour l'infection comme marqueur inflammatoire (ROC: 0.92).

Conclusion : La CEC modifie les paramètres inflammatoires, y compris l'expression du CD64 sur les neutrophiles mais celle-ci présente la meilleure spécificité pour diagnostiquer une infection. La mesure de l'expression de CD64 pourrait donc apparaître comme un marqueur prometteur dans le diagnostic précoce de l'infection.

Références

1. Ioan-Facsinay A, de Kimpe SJ, Hellwig SM, et al (2002) Fc-gammaRI (CD64) contributes substantially to severity of arthritis, hypersensitivity responses, and protection from bacterial infection. *Immunity* 16:391–402
2. Baufreton C, Corbeau JJ, Pinaud F (2006) Inflammatory response and haematological disorders in cardiac surgery: toward a more physiological cardiopulmonary bypass. *Ann Fr Anesth Reanim* 25:510–20

SO078

Caractérisation par spectrométrie de masse des isoformes circulantes des protéines S100A8 et S100A9 au cours du choc septique

B.-G. Chousterman¹, A.-C. Lukaszewicz¹, D. Touboul², V. Faivre¹, J.-P. Le Caër², A. Brunelle², O. Laprêvotte², D. Payen de la Garanderie¹

¹Département d'anesthésie et de réanimation, CHU Lariboisière, Paris, France

²ICSN, Upr2301, centre de recherche de Gif, CNRS, Gif-sur-Yvette, France

Introduction : Les « Damage Associated Molecular Patterns » (DAMPs) ou « alarmines » sont des molécules endogènes libérées lors des agressions tissulaires et sont des médiateurs aspécifiques pro-inflammatoires. Les protéines S100A8 et S100A9 sont des DAMPs impliquées dans la physiopathologie du choc septique [1] et sont de potentiels « biomarqueurs » pronostiques du choc septique [2]. Ces protéines peuvent subir plusieurs modifications post-traductionnelles (MPT) qui pourraient moduler leurs effets sur l'inflammation. Nous avons utilisé la spectrométrie de masse pour rechercher des isoformes circulantes des protéines S100A8/A9 au cours du choc septique.

Matériels et méthodes : Les plasmas d'une banque de patients en choc septique (PHRC AOR2006) ont été utilisés. Les niveaux plasmatiques des protéines S100A8/S100A9 ont été déterminés par Elisa. La

stratégie d'analyse en spectrométrie de masse (MS) a été : élution des plaques Elisa ou digestion trypsique intrapuit ; précipitation au sulfate d'ammonium 70 % (SA70) suivie d'une chromatographie par échange d'anions ; immunodéplétion des 20 protéines les plus abondantes du plasma (ProteoPrep 20s) ; immunocaptures sur billes magnétiques « coatées » avec des anticorps anti-A8-A9-complexe A8/A9 (Ademtech, Invitrogen). Les analyses en MS simple (MS) ou en tandem (MS/MS) ont été effectuées sur un MALDI-TOF (MALDI-TOF/TOF 4800 Series) et sur un spectromètre de type ESI-Orbitrap (LTQ Orbitrap XL, Thermo Scientific), précédées ou non d'une chromatographie en phase inverse (RP-LC). Les analyses des fragments peptidiques ont été effectuées à l'aide de la base de données MASCOT.

Résultats : Les éluions des plaques Elisa et les digestions trypsiques intrapuits, comme la précipitation du plasma au SA70 n'ont pas permis de retrouver les protéines d'intérêt. Après immunodéplétion et immunocapture, des pics correspondants aux calgranulines sont retrouvées à 10835 Da (S100A8), 10849 Da (S100A8 oxydée), 10864 Da (S100A8 doublement oxydée), 12688 Da (S100A9*, forme tronquée

de S100A9), 13109 Da (S100A9) et 13125 Da (S100A9 oxydée). Après collection au temps d'élution des protéines S100A8 et S100A9 et digestion trypsique, l'analyse en MS/MS confirme les identités des protéines.

Conclusion : Les formes retrouvées dans les plasmas des patients en choc septique sont les formes natives des protéines S100A8 et S100A9, ainsi que la forme tronquée de S100A9 (S100A9*). Aucune autre MPT décrite dans la littérature n'a été retrouvée (phosphorylation, nitrosylation...). Ces données doivent être complétées par des immunocaptures avec d'autres anticorps.

Références

1. Vogl T, Tenbrock K, Ludwig S, et al (2007) Mrp8 and Mrp14 are endogenous activators of toll-like receptor 4, promoting lethal, endotoxin-induced shock. *Nat Med* 13:1042–9
2. Payen D, Lukaszewicz AC, Belikova I, et al (2008) Gene profiling in human blood leucocytes during recovery from septic shock. *Intensive Care Med* 34:1371–6