

Combinaison de biomarqueurs pour le diagnostic du sepsis en réanimation

Combining biomarkers to improve sepsis diagnosis in the intensive care unit

J. Lemarié · S. Gibot

Reçu le 3 décembre 2012 ; accepté le 19 février 2013
© SRLF et Springer-Verlag France 2013

Résumé Le sepsis est la principale cause de mortalité en réanimation. La reconnaissance précoce du sepsis est nécessaire pour une prise en charge rapide, synonyme d'amélioration du pronostic. Face à des signes cliniques peu spécifiques, il existe une demande importante des cliniciens pour des biomarqueurs permettant d'améliorer leur capacité à distinguer les patients relevant d'un traitement anti-infectieux. Plusieurs marqueurs sont universellement utilisés, comme la protéine C réactive (CRP) ou la procalcitonine ; de nombreux autres n'ont pas encore atteint le stade commercial, comme le *soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1* (sTREM-1). Analysés isolément, tous ont en commun de ne pas être suffisamment discriminants pour les patients de réanimation, chez qui les causes d'inflammation systémique d'origine non infectieuse sont nombreuses. Leur utilisation conjointe dans des combinaisons de biomarqueurs pourrait pallier leurs limites individuelles. Le développement des techniques de biologie moléculaire, notamment la protéomique, devrait rapidement permettre l'identification de nouveaux biomarqueurs, sources d'informations complémentaires à implémenter dans des « scores biologiques ». Enfin, les techniques de *polymerase chain reaction* (PCR) pourraient permettre l'identification des micro-organismes dans des délais plus compatibles avec la sévérité de certains tableaux rencontrés, que les techniques de culture microbiologique actuelles.

Mots clés Biomarqueur · Combinaison · Diagnostic · Sepsis · Syndrome de réponse inflammatoire systémique

Abstract Sepsis is the leading cause of death in the intensive care unit. Prompt diagnosis has come to be appreciated as the primary determinant of good outcome. Because clinical signs are neither sensitive nor specific enough for the diag-

nosis of sepsis, critical care practitioners are awaiting biological tools capable of improving their ability to distinguish those patients requiring antimicrobial therapies. Several biomarkers are widely used, such as C-reactive protein or procalcitonin; many others are still in the field of research, like soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (sTREM-1). Taken separately, none of these biomarkers has sufficient accuracy to differentiate sepsis from other non-infectious causes of systemic inflammatory response syndrome, especially in critical care medicine; however, the additional information contained in their joint interpretation could overcome these limitations. Development of molecular biology including proteomics could allow the development of better sepsis biomarkers, whose usefulness will be increased by their integration into biological scores. At last, unlike current microbiological culture techniques, polymerase chain reaction techniques could allow the identification of microorganisms in a timeframe compatible with the severity of this complex disease.

Keywords Biomarker · Multimarker panel · Diagnostic · Sepsis · Systemic inflammatory response syndrome

Introduction

Le sepsis est la principale cause de mortalité en réanimation [1]. Sa reconnaissance précoce ainsi que l'identification des patients les plus graves sont nécessaires pour une prise en charge rapide, synonyme d'amélioration du pronostic [2]. Son diagnostic est délicat, car ses principaux signes sont communs aux autres causes non infectieuses d'inflammation systémique. La distinction entre SIRS (*systemic inflammatory response syndrome*) et sepsis peut se faire par l'identification d'un micro-organisme, mais les techniques de cultures microbiologiques présentent de nombreuses limites. L'utilisation empirique d'antibiotiques à large spectre favorise quant à elle le développement de germes multirésistants.

J. Lemarié (✉) · S. Gibot
Service de réanimation médicale, hôpital central,
CHU de Nancy, 29, avenue de Lattre-de-Tassigny,
F-54035 Nancy cedex, France
e-mail : j.lemarie@chu-nancy.fr

Il existe donc une attente envers un outil permettant la distinction entre SIRS et sepsis. Les biomarqueurs, non invasifs et rapidement disponibles, semblent apporter une réponse attrayante, mais leur apport diagnostique doit être évalué avec précaution.

Biomarqueurs

Définition

Un biomarqueur désigne « une caractéristique mesurée objectivement et évaluée comme indicateur de processus physiologiques normaux, de processus pathologiques ou d'une réponse pharmacologique suite à une intervention thérapeutique » [3]. Les biomarqueurs représentent un domaine très vaste, tant par les formes biologiques par lesquelles ils peuvent être représentés que par leurs multiples domaines d'application, et sont actuellement utilisés universellement dans le monde médical. Le développement des nouvelles technologies de biologie moléculaire a provoqué une accélération du taux de découverte des biomarqueurs. Une revue sur les biomarqueurs du sepsis publiée en 2010 en a d'ailleurs recensé près de 180 différents, dont 34 spécifiquement étudiés pour le diagnostic du sepsis [4]. Dans la plupart de ces études, les principaux paramètres statistiques évalués sont les sensibilités et spécificités de ces marqueurs pour distinguer un patient septique d'un patient non septique, mais l'évaluation d'un biomarqueur nécessite une analyse plus approfondie. Des recommandations ont été développées pour améliorer la qualité méthodologique des études diagnostiques publiées (recommandations CONSORT et STARD) [5,6].

Bases statistiques [7]

L'analyse de la performance diagnostique d'un biomarqueur est souvent limitée à ses qualités intrinsèques, c'est-à-dire à sa sensibilité, sa spécificité, aux valeurs prédictives positives et négatives (VPP et VPN), ainsi qu'aux courbes ROC (*receiver operating characteristic*). Ces paramètres sont fixés pour une maladie donnée et sont indépendants de sa prévalence. Pour le domaine du sepsis, l'évaluation de la sensibilité ou de la spécificité d'un biomarqueur quelconque n'a que peu d'intérêt clinique : ces deux paramètres sont définis dans une population où le statut septique et non septique est déjà connu, et de ce fait ne correspondent pas à la question que se pose le clinicien dans sa démarche diagnostique.

Les courbes ROC permettent de choisir le seuil qui permettra de combiner les meilleures sensibilités et spécificités en fonction de ce que l'on veut privilégier. L'aire sous la courbe ROC (AUC) est équivalente à la probabilité pour le biomarqueur d'avoir une valeur plus élevée pour un malade que pour un non-malade et évalue donc son pouvoir discriminant. Mais les courbes ROC ne sont pas un bon reflet de la

valeur ajoutée d'un biomarqueur, surtout lorsque l'AUC du modèle de prédiction clinique est déjà élevée [8].

Les VPP et VPN, également appelées probabilités post-test, correspondent aux qualités extrinsèques d'un biomarqueur, et sont plus adaptées à la démarche diagnostique clinique. Ce sont des probabilités résultantes (post-test) de la modification de la probabilité antérieure de la maladie (pré-test) par la capacité discriminante du biomarqueur. Ce sont les performances du biomarqueur en situation réelle.

Validation d'un biomarqueur

Une réflexion scientifique sur la validité des biomarqueurs a été principalement initiée dans le domaine de la recherche en oncologie [9]. La première étape nécessaire à la validation d'un biomarqueur est la compréhension des mécanismes physiologiques ou physiopathologiques impliqués dans sa synthèse, sa libération, ainsi que sa cinétique et ses effets physiologiques propres.

La seconde étape est la connaissance des incertitudes liées à la mesure analytique. Les conditions de prélèvement et de recueil des fluides biologiques, la stabilité du prélèvement, la précision de la technique de dosage et la limite de détection sont autant de critères qui doivent être précisés.

Après avoir démontré qu'un biomarqueur est significativement modifié chez les patients, il reste plusieurs étapes importantes avant de conclure à son intérêt clinique. La validation externe d'un biomarqueur consiste en l'étude de ses qualités intrinsèques dans une cohorte différente de celle qui a permis l'observation des résultats. L'étape suivante est de démontrer que les propriétés du biomarqueur augmentent la capacité du médecin à prendre la bonne décision. Cela revient à mesurer la valeur ajoutée d'un biomarqueur. Les méthodes statistiques habituelles ne permettant pas de répondre à cette problématique, de nouveaux outils basés sur la reclassification des patients ont donc été développés : la NRI (*Net reclassification index*) et l'IDI (*Integrated discrimination improvement*) [10]. Brièvement, la reclassification consiste, dans un premier temps, à stratifier les patients à l'aide d'un modèle de prédiction clinique dans des catégories de risque prédéfinies puis, dans un second temps, à examiner les changements dans la stratification des patients induits par l'ajout du biomarqueur [11]. L'estimation du NRI traduit le gain net en reclassification apporté par le biomarqueur. L'IDI intègre toute augmentation ou diminution du risque prédit par l'ajout d'un biomarqueur, en prenant en compte l'amplitude de la modification du risque prédit, indépendamment des catégories de risque prédéfinies, et peut donc être considéré comme une version continue du NRI. L'étape ultime de validation d'un biomarqueur correspond au cadre des études interventionnelles, dont le but est de démontrer que l'utilisation du biomarqueur modifie le pronostic. Ces études sont malheureusement

inexistantes en ce qui concerne le diagnostic de sepsis en réanimation.

Principaux biomarqueurs de sepsis

Protéines de la phase aiguë de l'inflammation

Protéine C réactive

La protéine C réactive (CRP) a été décrite pour la première fois en 1930 par Tillet et Francis, après avoir constaté que le sérum de patients souffrant de pneumonie était capable de précipiter une substance dérivée du polysaccharide C de *Streptococcus pneumoniae* [12]. La CRP est synthétisée par les hépatocytes, en réponse à une stimulation par des cytokines, principalement l'interleukine-6 (IL-6). Son taux augmente dans les six heures suivant le début du processus inflammatoire pour atteindre un pic entre 24 et 48 heures. Sa demi-vie plasmatique est d'environ 19 heures. Lors d'un processus inflammatoire, la CRP possède des effets ambivalents, pro- et anti-inflammatoires. In vitro, la CRP entraîne une augmentation de la production de cytokines anti-inflammatoires et une diminution de la synthèse de nombreuses cytokines pro-inflammatoires. La CRP active également le système du complément, favorise la phagocytose, inhibe les neutrophiles activés, augmente la synthèse de monoxyde d'azote et induit l'expression de facteur tissulaire et de différentes molécules d'adhésion [13]. Des études réalisées chez des souris transgéniques surexprimant la CRP mettent en évidence son rôle bénéfique dans la réponse immunitaire face aux micro-organismes [14]. Néanmoins, les propriétés biologiques précises de la CRP restent sujettes à controverse [15].

La CRP est sans doute le biomarqueur le plus utilisé pour le diagnostic d'infection en réanimation. Ses capacités à distinguer un sepsis d'un SIRS non infectieux dans cette population sont pourtant faibles. Ugarte et al. ont retrouvé une sensibilité de 67,6 % et une spécificité de 61,3 % de la CRP, pour une valeur seuil de 79 mg/l, dans une population de 190 adultes en réanimation [16]. Luzzani et al. ont également retrouvé des faibles capacités discriminantes dans une population regroupant 800 patients hospitalisés en réanimation médico-chirurgicale : la valeur médiane de CRP chez les patients non septiques était de 79,9 vs 115,6 mg/l chez les patients infectés (infection localisée, sepsis sévère ou choc septique pour une aire sous la courbe ROC faible à 0,677) [17].

Une valeur absolue de CRP n'est généralement pas informative. Il existe en effet un chevauchement trop important des valeurs entre les patients infectés et non infectés. La cinétique d'évolution des taux de CRP peut alors sembler plus informative. Dans une étude prospective observationnelle d'une cohorte de patients de réanimation chez qui le taux de CRP

était dosé quotidiennement, Póvoa et al. ont constaté qu'une augmentation d'au moins 41 mg/l en 24 heures permettait d'identifier les patients développant une infection nosocomiale avec une sensibilité de 92,1 % et une spécificité de 71,4 % [18]. D'autres études sont moins enthousiastes en ce qui concerne les capacités de la CRP à aider au diagnostic d'infection nosocomiale. Dans une population de patients de réanimation mixte à prédominance chirurgicale, Sakr et al. ont retrouvé des taux significativement différents de CRP chez les patients non infectés, en sepsis ou en sepsis sévère, mais ces différences s'estompaient complètement avec des valeurs de CRP parfaitement superposables dans ces trois groupes de patients, à partir du troisième jour d'hospitalisation, rendant donc le diagnostic d'infection nosocomiale impossible [19]. Cela peut s'expliquer par la demi-vie relativement longue de la CRP avec persistance de taux élevés même après guérison de l'infection [20]. À l'opposé, la cinétique d'apparition de la CRP ne permet pas de différencier des patients bactériémiques, de patients non infectés ou présentant une infection non bactérienne, lorsque les symptômes évoluent depuis moins de 12 heures [21]. L'analyse des taux de CRP ne permet également pas de différencier les patients de réanimation souffrant d'infection bactérienne par rapport à ceux présentant une infection fongique [22].

Procalcitonine

La procalcitonine (PCT) est la prohormone de la calcitonine, hormone hypocalcémiant. Lors d'un sepsis, la protéolyse de la PCT en calcitonine ne se produit pas, et la PCT intacte est libérée dans la circulation sanguine. Au cours du sepsis, l'origine de la production de PCT dépend d'interactions cellulaires. La migration transendothéliale de monocytes adhérents joue un rôle majeur dans la production de PCT, puisque seules ces cellules en produisent de façon transitoire [23]. Les fonctions biologiques de la PCT ne sont pas totalement élucidées. Elle est impliquée dans l'induction de la production de cytokines, la modulation de la NO synthase inducible, et interfère avec les récepteurs d'autres hormones impliquées dans la modulation du tonus vasculaire [24]. Suite à un stimulus infectieux, la concentration plasmatique de PCT augmente rapidement dès la troisième heure, avec un pic à 24 heures. Cette cinétique est significativement plus rapide que celle de la CRP, mais moins que celle de nombreuses cytokines. Sa demi-vie est d'environ 20 à 24 heures. Initialement considérée comme spécifique d'une infection, l'élévation des concentrations de PCT a été constatée dans de nombreuses autres situations cliniques, fréquemment rencontrées en réanimation : chirurgie lourde ou polytraumatismes, postchirurgie cardiaque, brûlures sévères, choc cardiogénique, coup de chaleur, syndrome d'activation macrophagique, maladie du greffon contre l'hôte, certaines maladies auto-immunes, et également durant les premiers jours après la naissance.

Plus de 600 études se sont intéressées à l'apport de la PCT dans le diagnostic de sepsis [25]. Les études réalisées dans le champ de la réanimation sont également nombreuses et ont fait l'objet de plusieurs méta-analyses. En 2006, Uzzan et al. ont réalisé une méta-analyse regroupant 25 études statistiquement exploitables, représentant 1 428 patients septiques dont 372 chocs septiques [26]. Leurs conclusions étaient que la PCT représentait un bon marqueur diagnostique d'infection en réanimation, avec un odds ratio à 15,7. Plusieurs limitations méthodologiques ont été formulées face à ces conclusions [27], notamment le fait que l'odds ratio ne soit pas un paramètre adapté pour caractériser la capacité discriminante d'un marqueur. Une valeur inférieure à 25 est de plus considérée comme de faible utilité par certains auteurs [28]. En 2007, Tang et al. ont réalisé une autre méta-analyse sur l'apport diagnostique de la PCT en réanimation et sont arrivés à des résultats opposés : après analyse conjointe de 18 études, la PCT ne permettait pas de différencier efficacement SIRS et sepsis chez ces patients sévèrement atteints [29]. Si l'analyse d'une valeur isolée de PCT ne semble pas pouvoir aider de façon appropriée le clinicien dans sa démarche diagnostique, le rôle théranostique de la PCT, c'est-à-dire sa capacité à modifier la prise en charge thérapeutique, semble plus significatif. La gestion d'un traitement antibiotique basée sur la cinétique de la PCT a été étudiée dans de nombreuses populations. Des résultats encourageants ont ainsi été obtenus dans le cadre des infections respiratoires basses, Li et al. ayant mis en évidence une diminution de la durée du traitement antibiotique sans impact négatif sur le devenir dans une méta-analyse regroupant huit essais contrôlés randomisés [30]. Pour les patients hospitalisés en réanimation, les résultats sont plus discutés [31] : il existait en effet une tendance à une surmortalité dans le bras « antibiothérapie guidée par PCT » pour la sous-population de patients de réanimation dans l'étude PRORATA [32] ; un essai randomisé contrôlé récent, évaluant l'effet d'un algorithme d'escalade de l'antibiothérapie basée sur la cinétique de la PCT chez 1 200 patients de réanimation, a mis en évidence une augmentation de la durée du traitement antibiotique de deux jours, ainsi qu'un allongement de la durée de séjour et du taux de recours à une ventilation mécanique [33]. Pour essayer de répondre définitivement à la question de l'intérêt de la PCT pour l'adaptation de l'antibiothérapie, de nombreuses études sont actuellement en cours.

Autres protéines inflammatoires

La LBP (*lipopolysaccharide-binding protein*) se lie au lipopolysaccharide (LPS) des bactéries Gram négatif et forme un complexe qui active des voies de signalisation aboutissant à la production de cytokines. Chez 194 patients dont 14 % en sepsis sévère ou en choc septique, Gaïni et al. ont retrouvé une AUC à 0,864 pour la distinction entre SIRS et sepsis par

la LBP [34]. Ces résultats n'ont pas été confirmés par Sakr et al. dans une population plus sévère en réanimation chirurgicale, les taux de LBP n'étant pas différents entre les patients présentant un sepsis sans dysfonction d'organe et les patients avec SIRS [19].

L'E-sélectine est une protéine de l'activation endothéliale impliquée dans l'adhésion leucocytaire. Chez 118 patients de réanimation médicale, Cummings et al. ont retrouvé une différence significative des taux d'E-sélectine entre les patients atteints de SIRS et ceux en sepsis [35]. Malgré les résultats statistiquement attractifs, le chevauchement important des valeurs constatées dans les groupes SIRS vs sepsis rendait illusoire son utilisation comme biomarqueur spécifique d'infection.

Cytokines

La mise en évidence de l'implication majeure des cytokines dans la réponse immunitaire innée est à l'origine de travaux de recherche extensifs dans le cadre du sepsis. La plupart des études revêtent un caractère descriptif en rapportant des concentrations de cytokines variées plus élevées chez les patients décédés que chez les survivants. Rares sont les études qui se sont focalisées sur l'apport de ces biomarqueurs dans le diagnostic du sepsis en réanimation. Kennon et al. ont constaté une augmentation significative des concentrations en G-CSF (*granulocyte colony-stimulating factor*) chez des nouveau-nés septiques en comparaison à des nouveau-nés non infectés hospitalisés en réanimation [36]. Sur un faible effectif de 27 patients, Marchant et al. ont rapporté des concentrations d'IL-10 significativement plus élevées chez les patients en choc septique par rapport aux patients en choc cardiogénique [37]. Dans une unité de réanimation néonatale, la réalisation de dosage d'IL-10 et d'IL-12 dès la suspicion clinique d'infection a retrouvé des VPN élevées, à 99 et 98 % respectivement [38]. L'IL-12 n'a pas été évaluée en réanimation adulte. Les concentrations d'IL-18 ont été comparées entre des patients en sepsis sévère ou choc septique et des patients polytraumatisés. Celles-ci étaient significativement plus élevées chez les patients infectés [39].

En résumé, les cytokines pro- et anti-inflammatoires ont probablement un intérêt dans l'évaluation de la réponse inflammatoire, mais ne permettent pas de faire la distinction entre une inflammation d'origine infectieuse ou non infectieuse [31], malgré quelques études rapportant des résultats prometteurs, mais n'ayant jamais été confirmés dans d'autres cohortes.

Récepteurs solubles

Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1

TREM-1 (*triggering receptor expressed on myeloid cells-1*) est un récepteur appartenant à une famille de récepteurs de

type immunoglobuline, dont l'activation conduit à une amplification de la réponse inflammatoire [40]. Un fragment soluble de TREM-1 (sTREM-1) est libéré par clivage du domaine extracellulaire [41]. Cette forme soluble agit comme un leurre pour le ligand naturel de TREM-1 et s'oppose ainsi à son activation.

De nombreux travaux de recherche ont évalué l'intérêt diagnostique du dosage de sTREM-1 lors du sepsis. Dès 2004, Gibot et al. ont mis en avant l'apport diagnostique du dosage de sTREM-1 dans deux situations cliniques fréquentes en réanimation. La première concernait la distinction précoce des patients septiques (sepsis ou sepsis sévère ou choc septique) et des patients présentant un SIRS d'origine non infectieuse : sTREM-1 permettait cette distinction avec une sensibilité de 96 % une spécificité de 89 % [42]. La seconde s'intéressait à 148 patients placés sous ventilation mécanique avec suspicion clinique initiale d'infection pulmonaire : sTREM-1 mesuré dans le liquide de lavage bronchoalvéolaire permettait de distinguer les pneumopathies infectieuses des causes non infectieuses, avec des qualités statistiques intrinsèques attrayantes (sensibilité à 98 %, spécificité à 90 %, odds ratio à 41,5) [43]. Une méta-analyse regroupant 13 études (représentant 980 patients dont 671 en réanimation) a évalué la valeur diagnostique de sTREM-1 comme biomarqueur d'infection bactérienne [44]. Les conclusions retenues étaient que sTREM-1 représentait un biomarqueur fiable d'infection bactérienne. Ces résultats prometteurs n'ont pas été confirmés lors de deux études ultérieures de Latour-Pérez et al. [45] ainsi que de Barati et al. [46], impliquant 246 patients de réanimation, dans lesquelles la sensibilité variait de 49 à 70 % et la spécificité de 60 à 79 %. Des discordances similaires ont été rapportées dans des populations de réanimation pédiatrique [47,48]. Dans toutes ces études négatives, sTREM-1 était mesuré dans le plasma, et non au niveau du site de l'infection. Par conséquent, le dosage plasmatique de sTREM-1 ne semble pas tenir ses promesses initiales pour le diagnostic d'infection systémique. En effet, de nombreuses situations inflammatoires (pancréatite aiguë, postchirurgie cardiaque ou arrêt cardiocirculatoire) peuvent entraîner une augmentation des taux plasmatiques de sTREM-1.

L'intérêt de dosages locaux de sTREM-1 au cours d'infections localisées variées a fait l'objet de nombreuses publications. L'essentiel des travaux concerne les infections pleuro-pulmonaires. Dans le champ de la réanimation, Determann et al. ont constaté une augmentation des concentrations alvéolaires de sTREM-1 quelques jours avant l'établissement du diagnostic clinique de pneumopathie acquise sous ventilation mécanique ; la constatation d'un taux d'au moins 200 pg/ml associé à une augmentation d'au moins 100 pg/ml en 48 heures était hautement prédictive du diagnostic de PAVM [49]. Mais des pathologies inflammatoires non infectieuses locales peuvent également entraîner une augmentation des taux de sTREM-1 telles que les traumatismes thoraciques.

Soluble urokinase-type plasminogen activator receptor

Soluble urokinase-type plasminogen activator receptor (suPAR) est la forme soluble d'un récepteur membranaire, uPAR (*urokinase-type plasminogen activator receptor*), dont le ligand est constitué par uPA, plus connu sous le nom d'urokinase. Après clivage, la forme soluble suPAR est retrouvée dans de nombreux liquides biologiques. En plus de la protéolyse du plasminogène, suPAR est impliqué dans différents processus impliqués dans l'inflammation et le développement tissulaire [50].

L'intérêt diagnostique de suPAR a été récemment évalué par Backes et al. [51] dans une méta-analyse regroupant dix études réalisées en réanimation. Les auteurs concluent que les concentrations systémiques de suPAR n'ont qu'une faible valeur diagnostique dans cette population de patients critiques. Par contre, son intérêt pronostique semble supérieur à celui des principaux biomarqueurs utilisés couramment, puisque des concentrations élevées sont constamment associées à une issue défavorable, et ce, quelle que soit la pathologie considérée, infectieuse ou non.

Autres biomarqueurs

En plus des biomarqueurs précédemment détaillés, une multitude d'autres a été proposée pour améliorer le diagnostic de ce syndrome complexe qu'est le sepsis. La plupart d'entre eux sont repris dans une revue récente [4]. Force est de constater qu'aucun d'entre eux ne s'est révélé être le « biomarqueur idéal ». De plus, l'évaluation de la plupart de ces biomarqueurs reste du domaine de la recherche, un dosage en routine n'étant pas disponible dans la majorité des établissements de santé. En tenant compte des qualités de chacun de ces paramètres, il apparaît aujourd'hui que, plus qu'une molécule unique, une approche combinant plusieurs biomarqueurs serait probablement plus rentable en pratique clinique.

Combinaisons de biomarqueurs

Caractéristiques idéales

La complexité et la redondance de la réponse immunitaire rendent peu probable le fait qu'un biomarqueur unique puisse diagnostiquer toutes les formes de sepsis. Le sepsis n'est pas une maladie unique mais plutôt un processus hétérogène et complexe. Son expression est variable, et son intensité est influencée par la nature de l'infection, le patrimoine génétique de l'individu, les traitements instaurés et de nombreux autres facteurs encore méconnus [52]. Il n'existe actuellement pas de *gold standard* objectif utilisable pour confirmer ou infirmer l'existence d'un sepsis chez un patient

donné. La recherche s'oriente donc vers des « panels de biomarqueurs », c'est-à-dire des combinaisons de paramètres permettant d'apprécier au mieux les diverses facettes du sepsis.

La littérature actuelle regorge d'études évaluant plusieurs biomarqueurs. Cependant, lorsque plusieurs marqueurs sont mesurés, ils sont presque systématiquement analysés séparément, sans tenir compte des informations additionnelles potentielles apportées par leur analyse conjointe. Ces approches ne constituent pas des combinaisons de biomarqueurs. Afin d'apporter un réel bénéfice clinique au cours d'un sepsis éventuel, une combinaison de biomarqueurs devrait répondre à de nombreux critères [53] :

- un panel de biomarqueurs devrait apporter une aide aux différentes étapes de la prise en charge du patient, c'est-à-dire pour le diagnostic de sepsis et sa distinction du SIRS, pour l'évaluation de sa sévérité et pour guider les traitements instaurés ;
- ce panel devrait permettre l'identification du micro-organisme impliqué. De tels biomarqueurs existent déjà dans certaines situations, comme les antigènes solubles spécifiques de certaines bactéries ou champignons (antigène soluble urinaire de *Legionella pneumophila* par exemple) ;
- l'évaluation statistique de l'intérêt clinique d'un panel de biomarqueurs devrait en outre répondre aux mêmes exigences que celles détaillées précédemment dans la première partie ; la preuve définitive dans le domaine de la réanimation étant évidemment la démonstration d'un gain en termes de mortalité.

Exemples publiés

Kofoed et al. ont évalué l'apport d'une combinaison de biomarqueurs pour le diagnostic de sepsis chez 151 patients en SIRS hospitalisés en service de maladies infectieuses ou aux urgences [54]. Un panel de six biomarqueurs (suPAR, sTREM-1, MIF [*macrophage migration inhibitory factor*], CRP, PCT et leucocytes) possédait une capacité supérieure en comparaison de chaque marqueur évalué isolément.

Toujours pour la distinction SIRS/sepsis, Selberg et al. ont comparé un « sepsis score » déterminé à partir des concentrations en PCT, IL-6 et C3a chez 33 patients de réanimation [55]. Cette combinaison surpassait chaque biomarqueur pris isolément. Cependant, l'utilité de ce « sepsis score » n'a pas été validée prospectivement. Ce score ayant été obtenu en opérant une régression logistique complexe à partir des données d'une petite cohorte, il semble peu probable qu'il puisse survivre à une étude de validation externe.

L'aspect biphasique du TCA (BPW) est un phénomène récemment mis en évidence chez les patients septiques. Il

s'agit de la modification des propriétés de transmission de la lumière au cours de la formation initiale du caillot lors de la mesure du TCA [56]. Dans une étude monocentrique en réanimation, l'analyse combinée de la PCT et du BPW augmentait de façon significative la spécificité et la VPN (96 %), par rapport à chaque marqueur utilisé seul [57].

Le « bioscore » est une autre combinaison de marqueurs développée pour le diagnostic d'infection en réanimation [58]. Sa construction a été réalisée dans une cohorte prospective de 300 patients, à partir de trois biomarqueurs : la PCT, le sTREM-1 et le PMN CD64. L'expression de CD64 sur les neutrophiles fait partie du processus d'activation leucocytaire au cours de la réponse immunitaire innée. Plusieurs études ont retrouvé une certaine spécificité de ce marqueur pour l'identification des processus infectieux, celles-ci ayant été tempérées par une méta-analyse récente [59,60]. Le « bioscore » a ensuite été validé dans une cohorte incluant 79 patients hospitalisés dans une autre réanimation. Bien que ces patients aient des caractéristiques différentes de la cohorte initiale, la précision diagnostique du « bioscore » n'était pas altérée, avec une AUC à 0,95, supérieure à celle de chaque biomarqueur pris individuellement. L'utilisation de ce « bioscore » à l'admission puis répété à 24 heures permettait de classer correctement les patients dans la plupart des cas.

Le futur

Jusqu'à maintenant, la sélection de nouveaux biomarqueurs a été dominée par une approche ciblée dont les candidats potentiels dérivait des mêmes connaissances biologiques. Par conséquent, la majorité des biomarqueurs actuels sont des molécules impliquées dans les mêmes voies fonctionnelles physiopathologiques. Le développement des techniques à haut rendement que sont les « omiques », notamment la protéomique et la métabolomique, du fait de leur stratégie de recherche non biaisée, pourrait permettre l'identification de nouveaux marqueurs reflétant des processus biologiques distincts, éventuellement méconnus, et ainsi fournir des informations supplémentaires [61]. Cette approche a récemment été utilisée en réanimation néonatale : l'analyse par protéomique différentielle, entre un groupe de prématurés souffrant de sepsis et un groupe présentant un SIRS non infectieux, a permis l'identification de deux protéines d'intérêt : la proapolipoprotéine C2 et la protéine SAA (*serum amyloid A*). Ces deux biomarqueurs ont été combinés pour construire le score ApoSAA, qui a ensuite été validé dans une cohorte prospective [62]. Compte tenu de la complexité de la réponse de l'hôte à une infection, l'utilisation combinée de plusieurs marqueurs représentant différentes voies fonctionnelles pourrait constituer une approche fructueuse.

L'identification d'un micro-organisme par culture représente le *gold standard* actuel pour le diagnostic d'infection,

et permet d'étudier sa sensibilité aux anti-infectieux. Ces techniques de culture connaissent des limites, principalement représentées par le délai nécessaire et leur négativité fréquente chez des patients manifestement septiques. Des approches moléculaires ont été proposées pour pallier ces limites, notamment basées sur des techniques de PCR (*polymerase chain reaction*). Les PAMPs (*pathogen associated molecular patterns*) sont des motifs microbiens conservés, tels que le LPS ou le peptidoglycane. La détection par PCR des gènes codant pour ces motifs permet, non plus de rechercher des biomarqueurs reflétant la réponse de l'hôte à l'infection, mais bien des marqueurs d'origine microbienne directe, avec en plus la possibilité d'orienter vers un micro-organisme en particulier [63].

Conclusion

Les biomarqueurs connaissent actuellement un développement sans précédent. Aucun ne permet pourtant de diagnostiquer aujourd'hui un sepsis avec certitude, et la plupart des biomarqueurs étudiés restent du domaine de la recherche, sans possibilité de dosage en routine. Au fur et à mesure de notre progression dans la compréhension de ce syndrome complexe, il apparaît très clairement que ce diagnostic ne pourra être affirmé qu'en combinant différents marqueurs, représentatifs de plusieurs voies fonctionnelles impliquées dans la réponse de l'hôte à une infection. Il est par ailleurs fondamental de garder à l'esprit le fait que, bien que les paramètres statistiques obtenus dans certains travaux puissent apparaître excellents, ces marqueurs ne seront intéressants que si leur utilisation permet de modifier la prise en charge du patient, et idéalement son pronostic.

Conflit d'intérêt : les auteurs déclarent ne pas avoir de conflit d'intérêt.

Références

- Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M (2003) The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med* 348:1546–54
- Zambon M, Ceola M, Almeida-de-Castro R, et al (2008) Implementation of the Surviving Sepsis Campaign guidelines for severe sepsis and septic shock: we could go faster. *J Crit Care* 23:455
- Atkinson AJ, Colburn WA, DeGruttola VG, et al (2001) Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* 69:89–95
- Pierrakos C, Vincent JL (2010) Sepsis biomarkers: a review. *Crit Care* 14:R15
- Altman DG, Schulz KF, Moher D, et al (2001) The revised CONSORT statement for reporting randomized trials: explanation and elaboration. *Ann Intern Med* 134:663–94
- Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, et al (2003) The STARD statement for reporting studies of diagnostic accuracy: explanation and elaboration. *Clin Chem* 49:7–18
- Ray P, Manach YL, Riou B, Houle TT (2010) Statistical evaluation of a biomarker. *Anesthesiology* 112:1023
- Cook NR, Paynter NP (2011) Performance of reclassification statistics in comparing risk prediction models. *Biom J* 53:237–58
- Pepe MS, Etzioni R, Feng Z, et al (2001) Phases of biomarker development for early detection of cancer. *J Natl Cancer Inst* 93:1054–61
- Pencina MJ, D'Agostino Sr RB, D'Agostino Jr RB, Vasan RS (2008) Evaluating the added predictive ability of a new marker: from area under the ROC curve to reclassification and beyond. *Stat Med* 27:157–72
- Labarère J, Raskovalova T (2012) Quantification de la valeur ajoutée d'un biomarqueur par l'indice de Net Reclassification Improvement. In: Claessens YE, Ray P, Les biomarqueurs en médecine d'urgence. Springer-Verlag, Paris, pp 35–42:35–42
- Tillett WS, Francis T (1930) Serological reactions in pneumonia with a non-protein somatic fraction of pneumococcus. *J Exp Med* 52:561–71
- Vincent JL, Donadello K, Schmit X (2011) Biomarkers in the critically ill patient: C-reactive protein. *Crit Care Clin* 27:241
- Szalai AJ (2002) The biological functions of C-reactive protein. *Vasc Pharmacol* 39:105–7
- Black S, Kushner I, Samols D (2004) C-reactive protein. *J Biol Chem* 279:48487–90
- Ugarte H, Silva E, Mercan D, et al (1999) Procalcitonin used as a marker of infection in the intensive care unit. *Crit Care Med* 27:498–504
- Luzzani A, Polati E, Dorizzi R, et al (2003) Comparison of procalcitonin and C-reactive protein as markers of sepsis. *Crit Care Med* 31:1737–41
- Póvoa P, Coelho L, Almeida E, et al (2006) Early identification of intensive care unit-acquired infections with daily monitoring of C-reactive protein: a prospective observational study. *Crit Care* 10:R63
- Sakr Y, Burgett U, Nacul FE, et al (2008) Lipopolysaccharide binding protein in a surgical intensive care unit: a marker of sepsis?. *Crit Care Med* 36:2014–22
- Meisner M, Tschaikowsky K, Palmaers T, Schmidt J (1999) Comparison of procalcitonin (PCT) and C-reactive protein (CRP) plasma concentrations at different SOFA scores during the course of sepsis and MODS. *Crit Care* 3:45
- Lee CC, Hong MY, Lee NY, et al (2011) Pitfalls in using serum C-reactive protein to predict bacteremia in febrile adults in the ED. *Am J Emerg Med* 30:562–9
- Martini A, Gottin L, Menestrina N, et al (2010) Procalcitonin levels in surgical patients at risk of candidemia. *J Infect* 60:425–30
- Linscheid P, Seboek D, Schaer DJ, et al (2004) Expression and secretion of procalcitonin and calcitonin gene-related peptide by adherent monocytes and by macrophage-activated adipocytes. *Crit Care Med* 32:1715–21
- Linscheid P, Seboek D, Zulewski H, et al (2005) Autocrine/paracrine role of inflammation-mediated calcitonin gene-related peptide and adrenomedullin expression in human adipose tissue. *Endocrinology* 146:2699–708
- Reinhart K, Brunkhorst FM (2007) Meta-analysis of procalcitonin for sepsis detection. *Lancet Infect Dis* 7:500–2
- Uzzan B, Cohen R, Nicolas P, et al (2006) Procalcitonin as a diagnostic test for sepsis in critically ill adults and after surgery or trauma: a systematic review and meta-analysis. *Critical care medicine*. 34:1996–2003

27. Tang BMP, Eslick GD (2007) Procalcitonin for sepsis: methodological issues in meta-analysis lead to further uncertainty. *Crit Care Med* 35:679
28. Jaeschke R, Guyatt GH, Sackett DL (1994) Users' guides to the medical literature. III. How to use an article about a diagnostic test. B. What are the results and will they help me in caring for my patients? The Evidence-Based Medicine Working Group. *JAMA* 271:703–7
29. Tang BM, Eslick GD, Craig JC, McLean AS (2007) Accuracy of procalcitonin for sepsis diagnosis in critically ill patients: systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 7:210–7
30. Li H, Luo YF, Blackwell TS, Xie CM (2011) Meta-analysis and systematic review of procalcitonin-guided therapy in respiratory tract infections. *Antimicrob Agents Chemother* 55:5900–6
31. Reinhart K, Bauer M, Riedemann NC, Hartog CS (2012) New approaches to sepsis: molecular diagnostics and biomarkers. *Clin Microbiol Rev* 25:609–34
32. Bouadma L, Luyt CE, Tubach F, et al (2010) Use of procalcitonin to reduce patients' exposure to antibiotics in intensive care units (PRORATA trial): a multicentre randomised controlled trial. *Lancet* 375:463–74
33. Jensen JU, Hein L, Lundgren B, et al (2011) Procalcitonin-guided interventions against infections to increase early appropriate antibiotics and improve survival in the intensive care unit: a randomized trial. *Crit Care Med* 39:2048–58
34. Gaiñi S, Koldkjær OG, Pedersen SS (2006) Procalcitonin, lipopolysaccharide-binding protein, interleukin-6 and C-reactive protein in community-acquired infections and sepsis: a prospective study. *Crit Care* 10:R53
35. Cummings CJ, Sessler CN, Beall LD, et al (1997) Soluble E-selectin levels in sepsis and critical illness correlation with infection and hemodynamic dysfunction. *Am J Respir Crit Care Med* 156:431–7
36. Kennon C, Overturf G, Bessman S, et al (1996) Granulocyte colony-stimulating factor as a marker for bacterial infection in neonates. *J Pediatr* 128:765–9
37. Marchant A, Alegre ML, Hakim A, et al (1995) Clinical and biological significance of interleukin-10 plasma levels in patients with septic shock. *J Clin Immunol* 15:266–73
38. Sherwin C, Broadbent R, Young S, et al (2008) Utility of interleukin-12 and interleukin-10 in comparison with other cytokines and acute-phase reactants in the diagnosis of neonatal sepsis. *Am J Perinatol* 25:629–36
39. Oberholzer A, Steckholzer U, Kurimoto M, et al (2001) Interleukin-18 plasma levels are increased in patients with sepsis compared to severely injured patients. *Shock* (Augusta, Ga.) 16:411
40. Bouchon A, Facchetti F, Weigand MA, Colonna M (2001) TREM-1 amplifies inflammation and is a crucial mediator of septic shock. *Nature* 410:1103–7
41. Gómez-Piña V, Soares-Schanoski A, Rodríguez-Rojas A, et al (2007) Metalloproteinases shed TREM-1 ectodomain from lipopolysaccharide-stimulated human monocytes. *J Immunol* 179:4065–73
42. Gibot S, Kolopp-Sarda MN, Béné MC, et al (2004) Plasma level of a triggering receptor expressed on myeloid cells-1: its diagnostic accuracy in patients with suspected sepsis. *Ann Intern Med* 141:9
43. Gibot S, Cravoisy A, Levy B, et al (2004) Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells and the diagnosis of pneumonia. *N Engl J Med* 350:451–8
44. Jiyong J, Tiancha H, Wei C, Huahao S (2008) Diagnostic value of the soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in bacterial infection: a meta-analysis. *Intensive Care Med* 35:587–95
45. Latour-Pérez J, Alcalá-López A, García-García MÁ, et al (2010) Diagnostic accuracy of sTREM-1 to identify infection in critically ill patients with systemic inflammatory response syndrome. *Clin Biochem* 43:720–4
46. Barati M, Bashar FR, Shahrami R, et al (2010) Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells 1 and the diagnosis of sepsis. *J Crit Care* 25:362.e1–362.e6
47. Chen H, Hung C, Tseng H, Yang R (2008) Soluble form of triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (sTREM-1) as a diagnostic marker of serious bacterial infection in febrile infants less than three months of age. *Jpn J Infect Dis* 61:31
48. Sarafidis K, Soubasi-Griva V, Piretzki K, et al (2010) Diagnostic utility of elevated serum soluble triggering receptor expressed on myeloid cells (sTREM)-1 in infected neonates. *Intensive Care Med* 36:864–8
49. Determann RM, Millo JL, Gibot S, et al (2005) Serial changes in soluble triggering receptor expressed on myeloid cells in the lung during development of ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med* 31:1495–500
50. Thunø M, Macho B, Eugen-Olsen J (2009) suPAR: the molecular crystal ball. *Dis Markers* 27:157–72
51. Backes Y, Sluijs KF, Mackie DP, et al (2012) Usefulness of suPAR as a biological marker in patients with systemic inflammation or infection: a systematic review. *Intensive Care Med* 38:1418–28
52. Marshall JC, Vincent JL, Fink MP, et al (2003) Measures, markers, and mediators: toward a staging system for clinical sepsis. A report of the Fifth Toronto Sepsis Roundtable, Toronto, Ontario, Canada, October 25–26, 2000. *Crit Care Med* 31:1560–7
53. Casserly B, Read R, Levy MM (2011) Multimarker panels in sepsis. *Crit Care Clin* 27:391
54. Kofoed K, Andersen O, Kronborg G, et al (2007) Use of plasma C-reactive protein, procalcitonin, neutrophils, macrophage migration inhibitory factor, soluble urokinase-type plasminogen activator receptor, and soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in combination to diagnose infections: a prospective study. *Crit Care* 11:R38
55. Selberg O, Hecker H, Martin M, et al (2000) Discrimination of sepsis and systemic inflammatory response syndrome by determination of circulating plasma concentrations of procalcitonin, protein complement 3a, and interleukin-6. *Crit Care Med* 28:2793–8
56. Delannoy B, Guye ML, Slaiman DH, et al (2009) Effect of cardiopulmonary bypass on activated partial thromboplastin time waveform analysis, serum procalcitonin and C-reactive protein concentrations. *Crit Care* 13:R180
57. Zakariah AN, Cozzi SM, Van Nuffelen M, et al (2008) Combination of biphasic transmittance waveform with blood procalcitonin levels for diagnosis of sepsis in acutely ill patients. *Crit Care Med* 36:1507–12
58. Gibot S, Béné MC, Noel R, et al (2012) Combination biomarkers to diagnose sepsis in the critically ill patient. *Am J Respir Crit Care Med* 186:65–71
59. Qureshi SS, Lewis SM, Gant VA, et al (2001) Increased distribution and expression of CD64 on blood polymorphonuclear cells from patients with the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). *Clin Exp Immunol* 125:258–65
60. Nuutila J (2010) The novel applications of the quantitative analysis of neutrophil cell surface FcγRI (CD64) to the diagnosis of infectious and inflammatory diseases. *Curr Opin Infect Dis* 23:268–74
61. Wang P, Whiteaker JR, Paulovich AG (2009) The evolving role of mass spectrometry in cancer biomarker discovery. *Cancer Biol Ther* 8:1083–94
62. Ng PC, Ang IL, Chiu RWK, et al (2010) Host-response biomarkers for diagnosis of late-onset septicemia and necrotizing enterocolitis in preterm infants. *J Clin Invest* 120:2989
63. Breitung C, Hammel D, Scheld HH, et al (2005) Impact of a molecular approach to improve the microbiological diagnosis of infective heart valve endocarditis. *Circulation* 111:1415–21