



HAL
open science

Intérêt de la nouvelle génération de la cytométrie de flux en médecine d'urgence : exemple de la détection de syndrome infectieux-étude prospective

Guillaume Le Diagon

► To cite this version:

Guillaume Le Diagon. Intérêt de la nouvelle génération de la cytométrie de flux en médecine d'urgence : exemple de la détection de syndrome infectieux-étude prospective. Sciences du Vivant [q-bio]. 2019. dumas-02118459

HAL Id: dumas-02118459

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02118459>

Submitted on 3 May 2019

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.

**Intérêt de la nouvelle génération de la cytométrie de flux en médecine
d'urgence : exemple de la détection de syndrome infectieux - étude
prospective**

T H È S E

Présentée et publiquement soutenue devant

LA FACULTÉ DES SCIENCES MÉDICALES ET PARAMÉDICALES

DE MARSEILLE

Le 8 Mars 2019

Par Monsieur Guillaume LE DIAGON

Né le 22 décembre 1989 à Enghien-Les-Bains (95)

Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

D.E.S. de MÉDECINE GÉNÉRALE

Membres du Jury de la Thèse:

Monsieur le Professeur MICHELET Pierre

Président

Monsieur le Docteur MARKARIAN Thibaut

Directeur

Monsieur le Professeur GERBEAUX Patrick

Assesseur

Monsieur le Professeur LEONE Marc

Assesseur

**Intérêt de la nouvelle génération de la cytométrie de flux en médecine
d'urgence : exemple de la détection de syndrome infectieux - étude
prospective**

T H È S E

Présentée et publiquement soutenue devant

**LA FACULTÉ DES SCIENCES MÉDICALES ET PARAMÉDICALES
DE MARSEILLE**

Le 8 Mars 2019

Par Monsieur Guillaume LE DIAGON

Né le 22 décembre 1989 à Enghien-Les-Bains (95)

Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

D.E.S. de MÉDECINE GÉNÉRALE

Membres du Jury de la Thèse :

Monsieur le Professeur MICHELET Pierre	Président
Monsieur le Docteur MARKARIAN Thibaut	Directeur
Monsieur le Professeur GERBEAUX Patrick	Assesseur
Monsieur le Professeur LEONE Marc	Assesseur

**A mon Président de jury, Monsieur le
Professeur MICHELET Pierre,**

Vous me faites l'honneur de présider ce jury de thèse.

Je vous remercie pour m'avoir fait confiance et permis de réaliser ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de mes sincères reconnaissances et de mon plus profond respect.

**Remerciement au Professeur GERBEAUX
Patrick,**

Je vous remercie d'avoir accepté de siéger à mon jury de thèse et de l'intérêt que vous portez à mon travail. Je vous prie d'accepter mes sincères reconnaissances et mon profond respect.

A Monsieur le Professeur LEONE Marc,

Je vous remercie d'avoir accepté de siéger à mon jury de thèse et de l'intérêt que vous portez à mon travail. Je vous prie d'accepter mes sincères reconnaissances et mon profond respect.

TABLE DES MATIÈRES

1. INTRODUCTION

2. MATÉRIEL ET MÉTHODE

2.1 Inclusion prospective de patient

2.2. Recueil des données informatiques

2.3. Techniques de dosage

2.4. Evaluation par cytométrie de flux

2.5. Analyse statistique

3. RÉSULTATS

3.1. Sujets inclus

3.2. Epidémiologie

3.3. Niveaux des biomarqueurs

3.4 Biomarqueurs dans l'analyse ROC

3.4.1. Diagnostic bactérien

3.4.2. Diagnostic viral

3.4.3 Comparaison avec la CRP et la PCT

4. DISCUSSION

5. CONCLUSION

Bibliographie

Résumé

1. INTRODUCTION

De nos jours, l'un des principaux challenges pour les praticiens des services d'accueil des urgences (SAU) est de confirmer l'étiologie infectieuse en présence de patients présentant une fièvre ou des symptômes faisant suspecter une origine septique, et par conséquent, de débiter précocément des thérapeutiques ciblées tout en orientant le patient vers un service adapté (1). Dans le cas des infections bactériennes, une antibiothérapie précoce est nécessaire afin d'éviter l'évolution vers le choc septique (2). Dans le cadre des infections virales, un diagnostic rapide permettra de limiter l'utilisation abusive d'antibiotiques ce qui évitera de développer des résistances bactériennes (4). Cependant la multiplicité des formes cliniques ainsi que l'aspécificité des symptômes obligent le praticien à recourir quasi systématiquement à des examens complémentaires tels que les mesures biochimiques.

Les deux marqueurs les plus couramment utilisés sont la protéine C-réactive (CRP) et de la procalcitonine (PCT) (6). Cependant, leurs performances en termes de sensibilité et de spécificité sont limitées, en particulier en cas de syndromes inflammatoires d'étiologie non infectieuse (7).

De nombreuses études ont défini un large éventail de biomarqueurs dont des marqueurs cellulaires pour réaliser le diagnostic étiologique des patients infectés (14-18). L'une des limites des marqueurs cellulaires réside dans la technique par cytométrie en flux utilisée pour leur détection. En effet, une telle technique semble peu adaptée aux conditions des services d'urgence en raison de la complexité de ses procédures et de ses exigences en terme de matériel et de formation pour la préparation des échantillons et l'utilisation du cytomètre en flux (19).

Le résultat d'études récentes nous a poussé à vouloir développer cette technique. Certains marqueurs cellulaires ont ainsi pu différencier les infections bactériennes comme le CD64 avec une spécificité de 91% (85-95.2) et une sensibilité de 79% (70-86) (14), et des infections virales avec le CD169, dont l'expression monocytaire a été rapportée comme augmentée chez des patients atteints d'infection virale telle que Epstein- Barr virus (EBV) et les infections par le Human Immunodeficiency Virus (HIV) (10-11).

De plus, une récente étude rétrospective réalisée par notre équipe a analysé les niveaux de CD64 sur les neutrophiles (nCD64) et de CD169 sur les monocytes (mCD169) dans le cadre d'infections virales et bactériennes. La Moyenne d'Intensité de Fluorescence (MIF) du CD64 avait une sensibilité de 88% (73 - 96) et une spécificité de 90% (82 – 95) pour le diagnostic d'infections bactériennes lorsqu'on utilise un cut-off >0,87 UI. Pour le diagnostic d'infections virales, une MIF >1,58 UI du CD169 avait une sensibilité de 86% (42 – 100) et une spécificité de 100% (96 – 100).

Récemment une nouvelle technique de cytométrie en flux a vu le jour, plus facile et plus rapide permettant d'obtenir les résultats en moins de 15 minutes. Il nous paraissait ainsi essentiel d'étudier les marqueurs cellulaires les plus performants pour les diagnostics d'infections bactériennes et virales et ainsi envisager d'utiliser ce nouveau cytomètre en flux au SAU et cela dès l'accueil du patient.

Nous formulons donc l'hypothèse que certains marqueurs cellulaires mesurés en cytométrie en flux permettraient de confirmer l'étiologie bactérienne ou virale et ainsi améliorer le triage et la thérapeutique des patients suspects d'infection au SAU.

L'objectif principal de cette étude était donc d'évaluer de façon prospective la performance diagnostic du CD64 pour les infections bactériennes et du CD169 pour les infections virales dans une population de patients consultant aux urgences.

Les objectifs secondaires étaient d'analyser la performance diagnostic d'autres marqueurs cellulaires couramment utilisés en biologie cellulaire.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODE

2.1 Inclusion prospective de patient

Il s'agissait d'une étude observationnelle, prospective et monocentrique dans le SAU adultes de la Timone à Marseille. Les inclusions se sont déroulées sur une période de douze jours chez des sujets âgés de plus de 18 ans suspects d'infection.

- Critères d'inclusion : fièvre > 38°C ou hypothermie < 36,5°C associée à un potentiel syndrome infectieux clinique, soit respiratoire (toux, expectoration, dyspnée), soit urinaire (polyurie, brûlures mictionnelles), soit abdominal (douleurs, diarrhée), soit neurologique (syndrome méningé, confusion), soit cutané (éruption cutanée, érysipèle).
- Critères de non inclusion : un dossier clinique incomplet, patient traumatisé, ou présentant une maladie inflammatoire et auto-immune connue, une maladie infectieuse chronique virale, fongique ou bactérienne, soit ayant un traitement antibiotique ou anti viral préalable à l'admission, traitement immunosuppresseur, soit si le patient présentait une brûlure étendue ou une chirurgie récente (< 1 mois).

Le comité d'éthique hospitalière a approuvé les protocoles de cette étude prospective observationnelle et non interventionnelle. La confidentialité a été préservée à tous les niveaux. Tous les participants ont donné leur consentement éclairé écrit. Les soins de routine des sujets n'ont pas été modifiés et toutes les données évaluées dans l'étude faisaient partie de la pratique clinique de routine et ont été extraites des dossiers des sujets sans aucune intervention dans le cadre de l'étude.

2.2. Recueil des données informatique.

Une analyse de données épidémiologiques, cliniques et paracliniques a été effectuée grâce au dossier médical informatisé :

- Données épidémiologiques : sexe, âge, antécédents (cancer évolutif, maladie hépatique, insuffisance cardiaque congestive, maladie cérébro-vasculaire, maladie rénale), institutionnalisation ou non, statut mental altéré ou non, motif de consultation (symptomatologie et durée), antibiothérapie initiée au SAU
- Variables physiologiques : la Pression Artérielle Systolique (PAS), la Pression Artérielle Diastolique (PAD), la Pression Artérielle Moyenne (PAM), la Fréquence Cardiaque (FC), ainsi que la température corporelle
- Données biologiques : le nombre de GB, le nombre de PNN ainsi que la CRP, la PCT, l'urémie, la natrémie, la glycémie et l'hématocrite
- Données de l'examen médical : délais depuis le début de la symptomatologie, symptômes (respiratoires, digestifs, gynécologiques, neurologiques, urinaires, ORL, cutanés, post-opératoires, non infectieux)
- Orientation : retour au domicile, hospitalisation conventionnelle ou en réanimation et décès

Lorsque le patient était hospitalisé, le diagnostic final correspondait au diagnostic établi par les médecins spécialistes du service concerné, rapporté sur le dossier médical. En cas de retour au domicile après passage aux urgences, le diagnostic final était déterminé par un praticien des urgences à partir de l'ensemble des données patient disponibles. Dès lors que le diagnostic était discutable, un deuxième praticien était consulté. A partir de ce diagnostic final, trois groupes de patients ont pu être établis :

- Groupe I : Patients « Non Infectés », ne présentant aucun signe clinique ou biologique infectieux
- Groupe II : Patients « Infectés Bactérien » ayant une bactérie identifiée biologiquement, ou un dossier clinique fortement évocateur d'une atteinte bactérienne
- Groupe III : Patients « Infectés Viral » ayant un virus identifié, ou un dossier clinique fortement évocateur d'une atteinte virale

2.3. Techniques de dosage.

Les échantillons de sang ont été envoyés au laboratoire d'hématologie de l'hôpital de La Timone pour y être traités de manière standard dans le cadre des tests cliniques de routine appliqués dans les hôpitaux en cas de suspicion infectieuse.

Les numérations des globules blancs (GB) et des polynucléaires neutrophiles (PNN) étaient évaluées à l'aide du système Sysmex XN. La PCT et la CRP ont été mesurées : pour la PCT par ADVIA Centaur® BRAHMS de Siemens et pour la Protéine C-réactive par Gen.3 de COBAS.

Pour la détection des virus, les échantillons de sang ou de liquide céphalo-rachidien ont été examinés avec la technique de réaction en chaîne de la polymérase (PCR) et les échantillons de sérum ont été testés pour la recherche d'IgG et d'IgM à l'aide de l'analyseur LIAISON® de DiaSorin. Pour la détection bactérienne, les hémocultures ont été effectuées à l'aide du système de spectrométrie de masse Brucker et des tests d'antigénurie urinaire (pour *Streptococcus pneumoniae* et *Legionella*), de PCR (pour Chlamydia et Mycoplasma) et/ou de cultures des sécrétions des voies respiratoires (écouvillons nasopharyngés, trachéobronchiques, aspiration ou lavage broncho-alvéolaire) ont également été utilisés.

2.4. Evaluation par cytométrie en flux

Les échantillons de sang restants dans des tubes à l'EDTA ont été récupérés et traités dans les deux heures suivant le prélèvement. Les niveaux d'expression de nCD64, mCD169, mCD35, nCD35, mCD55, nCD55, mCD46, rHLA-ABC, ICD69, mCD69, nCD69, mCD14 et mHLA-DR ont été déterminés par cytométrie en flux dans le sang.

En résumé, des titrations des anticorps suivants ont été réalisées conformément au protocole établi par notre équipe : les anti-CD169-Phycoérythrine (PE) (clone 7-239), anti-CD64-Pacific Blue (PBE) (clone 22), anti-CD35-Fluorescéine Isothyocyanate (FITC) (clone J3D3), anti-CD55-PE (clone JS11KSC2.3), anti-HLA-ABC-Alexa Fluor 700 (AF700) (clone B9.12.1), anti-CD69-Allophycocyanine (APC) (clone TP1.55.3), anti-CD14-Krome Orange (KO) (clone RMO52) et anti-HLA-DR-PBE (clone Immu357), produits de Beckman Coulter (Beckman Coulter Inc., Brea, Californie, USA) et anti-

CD46-APC (clone TRA-2-10) produit de Biolegend (Biolegend Inc., San Diego, Californie, USA).

Deux associations d'anticorps ont été réalisées, une première contenant des anti-CD64, anti-CD169, anti-CD35 et anti-CD69, et une seconde, les anti-CD55, anti-CD46, anti-HLA-ABC, anti-CD14 et anti-HLA-DR. Les deux associations d'anticorps immunofluorescents ont été converties en quantités optimisées pour un seul test en une couche « vitrifiée » au fond de deux tubes de test différents de 5 mL, en utilisant le procédé de séchage DURA Innovations (Beckman Coulter Inc.) afin de réduire les sources d'erreur humaine et de variabilité, mais en préservant les caractéristiques de performance du réactif (19-24).

Nous avons procédé à la lyse hématologique des globules rouges en utilisant 500µL de la solution lysante Versalyse™ de Beckman Coulter Inc., transférée dans chacun des deux tubes, puis 5 µL de sang à l'EDTA ont été ajoutés. Après 15 minutes d'incubation, les échantillons ont été analysés par cytométrie en flux Navios à 3 lasers et 10 couleurs (Beckman Coulter Inc.). Des billes Flow-Set (Beckman Coulter) ont été utilisées avant chaque analyse afin de contrôler une variabilité potentielle des performances du dispositif, mais aucune harmonisation entre les valeurs mesurées au cours de la période d'étude n'a été nécessaire.

L'analyse a été effectuée à l'aide du logiciel d'analyse Kaluza (Beckman Coulter Inc.). Les sous-populations de leucocytes ont été sélectionnées sur la base de leurs caractéristiques de diffusion latérale (Forward Scatter) et vers l'avant (Side scatter). Les niveaux d'expression de chaque biomarqueur ont été déterminés en tant que moyenne des intensités de fluorescence (MIF).

Toute influence sur les procédures médicales et le diagnostic a été empêchée en masquant les résultats de l'analyse par cytométrie en flux à tous les praticiens.

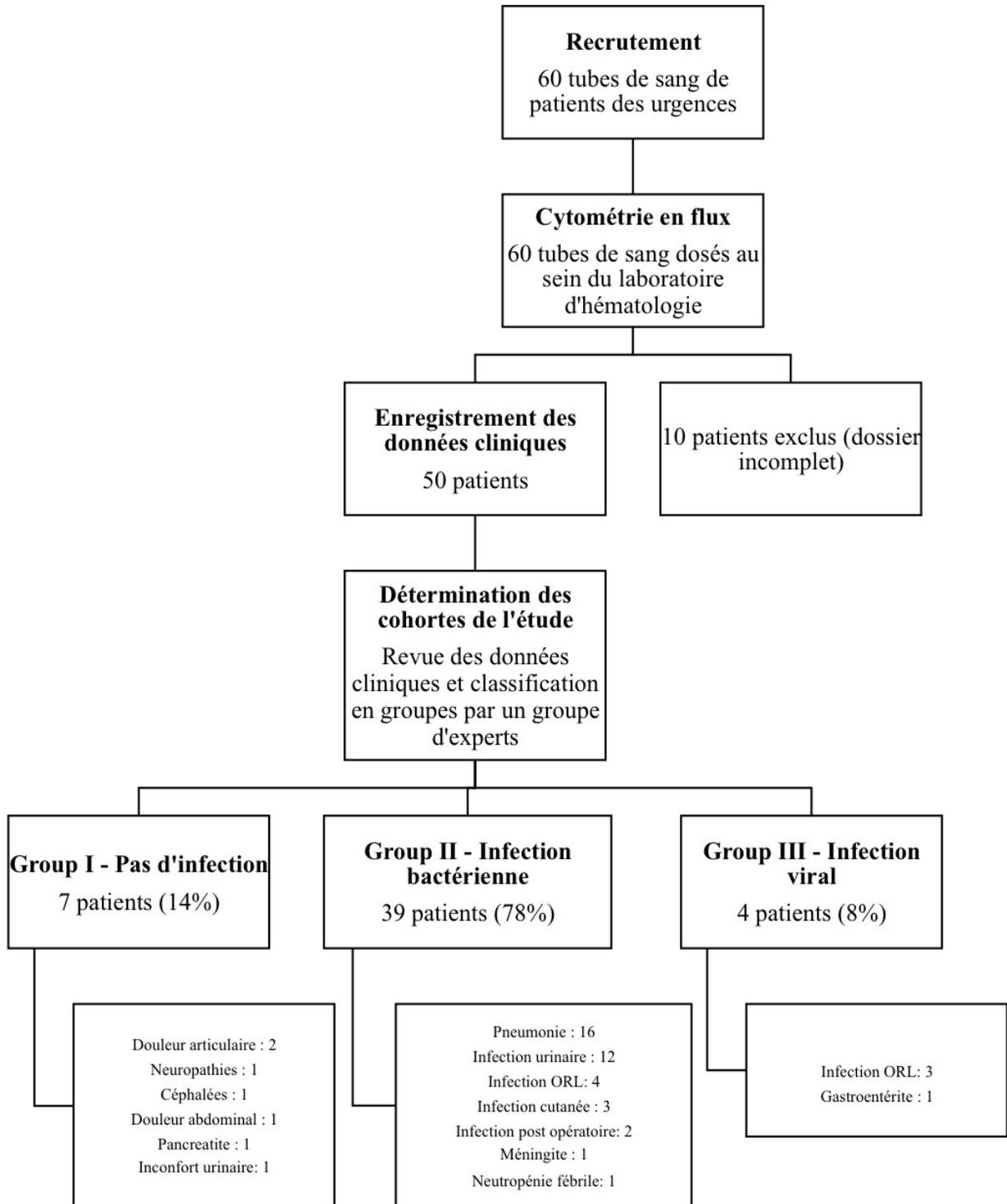
3. RÉSULTATS

3.1. Sujets inclus

Sur la période d'inclusion, 60 patients ont été inclus. Les échantillons biologiques de ces sujets, y compris les tubes de sang, ont tous été traités au laboratoire d'hématologie de l'hôpital, mais seuls 50 patients ont été définitivement inclus dans l'étude. En effet, 10 sujets ont présenté des dossiers cliniques incomplets pour répondre aux critères de l'étude et atteindre le diagnostic infectieux final.

Sur les 50 patients restants, 39 patients (78%) ont été classés dans le groupe II (infection bactérienne), tandis que 4 cas (8%) ont été classés comme infection virale (groupe III). Les 7 patients restants (14%) ont été considérés comme n'ayant aucune infection (groupe I). La **figure n°1** ci-dessous présente un aperçu de l'organigramme de l'étude.

Figure n°1. Schéma de l'étude



3.2. Epidémiologie

Les 50 patients de la cohorte finale ont respecté l'équilibre hommes-femmes, 25 étant des femmes (50%) et 25 des hommes (50%) d'un âge moyen de 57 ans.

Ils affichaient en moyenne une température corporelle élevée (moyenne : 38,0 ° C) et divers symptômes cliniques infectieux (respiratoires, gastro-intestinaux, urologiques/gynécologiques, neurologiques, ORL, cutanés et post-opératoires), ayant un délai d'apparition en moyenne de 5 (+/- 9) jours.

Le **tableau 1** présente toutes les données épidémiologiques, cliniques et para-cliniques.

Compte tenu des données démographiques, aucune différence statistique entre les groupes n'a été observée. Seul l'âge moyen a été significativement réduit avec 28 ans (+/- 14) dans le groupe viral III comparé à 57 ans (+/- 24) dans la population étudiée ($p=0,01$). Les constantes des patients étaient équivalentes entre les groupes, sauf la fréquence cardiaque à 104 battements par minute (+/- 21) (bpm) dans le groupe bactérien II comparé à 99 bpm (+/- 22) pour la population étudiée ($p=0,005$).

Tableau 1. Données épidémiologiques des quatre groupes

Variable	Caractéristique	Population totale (n=50)	Group II – Infection bactérienne (n=39)	Group III- Infection virale (n=4)	Valeur-p Group II vs Group I & Group III	Valeur-p Group III vs Group I & Group II
Sexe	<i>Homme</i>	25 (50%)	19 (49%)	3 (75%)	0.733	0.609
	<i>Femme</i>	25 (50%)	20 (51%)	1 (25%)		
Age des patients	<i>Age</i>	57 ± 24	61 ± 24	28 ± 14	0.081	0.010*
Histoire clinique	<i>Institutionnalisation</i>	9 (18%)	7 (18%)	0 (0%)	1.000	1.000
	<i>Etat mental altéré</i>	9 (18%)	7 (18%)	0 (0%)	1.000	1.000
	<i>Cancer avancé</i>	2 (4%)	2 (5%)	0 (0%)	1.000	1.000
	<i>Maladie du foie</i>	4 (8%)	4 (10%)	0 (0%)	0.562	1.000
	<i>Maladie cardio-vasculaire</i>	4 (8%)	3 (8%)	0 (0%)	1.000	1.000
	<i>Maladie vasculaire cérébral</i>	4 (8%)	4 (10%)	0 (0%)	0.562	1.000
	<i>Maladie rénale</i>	2 (4%)	2 (5%)	0 (0%)	1.000	1.000
Constante	<i>Tension systolique (mm Hg)</i>	127 ± 23	128 ± 25	127 ± 15	0.970	0.815
	<i>Tension diastolique (mm Hg)</i>	73 ± 15	73 ± 16	73 ± 11	0.556	0.957
	<i>Pression artérielle moyenne (mm Hg)</i>	91 ± 16	91 ± 18	91 ± 10	0.774	0.706
	<i>Fréquence cardiaque (bpm)</i>	99 ± 22	104 ± 21	90 ± 7	0.005*	0.459
	<i>Température corporelle (°C)</i>	38 ± 1	38 ± 1	38 ± 2	0.317	0.607

Les différents symptômes infectieux sont plus souvent retrouvés chez les sujets du groupe bactérien II par rapport aux autres groupes ($p=0,01$). Cependant le nombre de jours symptomatiques ne différait pas significativement entre les groupes (**tableau 2**). Les symptômes respiratoires constituaient la présentation clinique le plus souvent associé aux infections bactériennes ($n=21$ soit 54%). On a remarqué qu'à l'apparition de leurs symptômes, les sujets chez lesquels des infections bactériennes ont été diagnostiquées, un traitement antibiotique a le plus souvent été mis en place $n=27$ (69%) ($p<0,01$). De plus, les patients étaient hospitalisés, la durée d'hospitalisation était significativement plus longue avec 6 jours (± 8) dans le groupe II versus 1 jour ($\pm 0,5$) dans le groupe III ($p=0,04$).

Tableau 2. Variables physiologiques, symptomatologiques et d'orientation

Variables	Caractéristique	Population total (n=50)	Group II – infection bactérienne (n=39)	Group III- Infection viral (n=4)	Valeur-p Group II vs Group I & Group III	Valeur-p Group III vs Group I & Group II
Symptômes	<i>Nombre de jours symptomatiques</i>	5 ± 9	5 ± 10	2 ± 2	0,46	0,64
	<i>Respiratoires</i>	22 (44%)	21 (54%)	1 (25%)	0.01*	0.23
	<i>Digestifs</i>	5 (10%)	2 (5%)	0 (0%)		
	<i>Gynécologiques</i>	2 (4%)	2 (5%)	0 (0%)		
	<i>Neurologiques</i>	2 (4%)	0 (0%)	1 (25%)		
	<i>Urinaires</i>	7 (14%)	6 (15%)	0 (0%)		
	<i>ORL</i>	4 (8%)	3 (8%)	1 (25%)		
	<i>Cutanés</i>	3 (6%)	2 (5%)	0 (0%)		
	<i>Post-opératoires</i>	3 (6%)	2 (5%)	0 (0%)		
<i>Symptômes non infectieux</i>	2 (4%)	1 (3%)	1 (25%)			
Antibiothérapie	<i>Initiale</i>	29 (58%)	27 (69%)	2 (50%)	≤ 0.01*	0.48
Hospitalisation	<i>Nombre de jours si d'hospitalisation</i>	5 ± 8	6 ± 8	1 ± 0,5	0.04*	0.1
Orientation après les urgences	<i>Retour au domicile</i>	28 (56%)	20 (51%)	4 (100%)	0.76	0.33
	<i>Hospitalisation conventionnelle</i>	19 (38%)	16 (41%)	0 (0%)		
	<i>Réanimation</i>	1 (2%)	1 (3%)	0 (0%)		
	<i>Mort</i>	2 (4%)	2 (5%)	0 (0%)		

Enfin, la comparaison des mesures biochimiques et biologiques montre des différences statistiquement significatives entre les groupes. La glycémie était significativement plus élevée dans le groupe bactérien II ($p=0,04$) avec une glycémie en mmol/L à 8 (+/-5) versus 5 (+/-1) dans le groupe viral III ($p=0,02$). L'hématocrite était significativement diminuée dans le groupe bactérien II 37%(+/-5) versus 42 % (+/- 3) dans le groupe III ($p=0,005$) tandis que la PCT et la CRP étaient significativement plus élevées dans le groupe bactérien II comparé au groupe viral III, respectivement 1 ng/mL (+/- 2) versus 0,04 ng/mL (+/- 0,04) ($p=0,03$) et 86 mg/mL (+/- 74) versus 7 mg/mL (+/- 8) ($p<0,01$).

Le **tableau 3** présente les données biologiques et biochimiques.

Tableau 3. Données biologiques et biochimiques

Variables	Caractéristique	Population total (n=50)	Group II – Infection bactérienne (n=39)	Group III - Infection viral (n=4)	p-value Group II vs Group I & Group III	p-value Group III vs Group I & Group II
Biologie	<i>CRP (mg/mL)</i>	71 ± 72	86 ± 74	7 ± 8	≤ 0.001*	0.01*
	<i>PCT (ng/mL)</i>	1 ± 2	1 ± 2	0,04 ± 0,04	0.03*	0.05
	<i>Globules blancs (G/L)</i>	10 ± 5	11 ± 5	7 ± 2	0.52	0.23
	<i>Polynucléaires neutrophiles (G/L)</i>	7 ± 5	7 ± 5	6 ± 0,1	0.73	0.82
Biochimie	<i>Urée (mmol/L)</i>	10 ± 17	11 ± 19	5 ± 2	0.31	0.46
	<i>Natrémie (mmol/L)</i>	140 ± 6	140 ± 6	140 ± 2	0.08	0.69
	<i>Glycémie (mmol/L)</i>	8 ± 5	8 ± 5	5 ± 1	0.04*	0.02*
	<i>Hématocrite (%)</i>	38 ± 5	37 ± 5	42 ± 3	0.005*	0.07

Au total, 11 espèces pathogènes communes ont été détectées. Ces dernières sont répertoriées dans le **tableau 4**. *Escherichia coli* n=3 (28%) et *Klebsiella pneumoniae* n=2 (18%) sont les agents pathogènes les plus représentés.

Tableau 4. Identification des pathogènes identifiés dans la cohorte

Pathogène identifié	Nombre d'identification (n=11)
<i>Escherichia coli</i>	3 (28%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2 (18%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 (9%)
<i>Staphylococcus hominis</i>	1 (9%)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 (9%)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1 (9%)
<i>Enterobacter cloacae</i>	1 (9%)
<i>Haemophilus influenzae</i>	1 (9%)

3.3. Niveaux des biomarqueurs

Au total, 9 biomarqueurs ont été évalués par cytométrie en flux sur 1 à 3 sous-ensembles de leucocytes : nCD64, mCD169, mCD35, nCD35, mCD55, nCD55, rHLA-ABC, mCD46, mCD14, mHLA-DR, mCD69, ICD69 et nCD69. Le **tableau 5** montre les moyennes d'intensités de fluorescence dans l'ensemble de la cohorte et plus spécifiquement chez les sujets atteints d'infections bactériennes et chez les sujets présentant des affections virales.

Concernant l'objectif principal, les patients du groupe bactérien II présentaient des taux de nCD64 significativement plus élevés que le groupe contrôle III, avec 2 UI (+/-1) pour le groupe II ($p < 0,001$) versus 1 UI (+/-1) pour le groupe viral ($p < 0,001$). Pour le taux de mCD169, on retrouve un taux à 7 UI (+/-5) pour le groupe viral comparé à 1 UI (+/-3) pour le groupe bactérien ($p = 0,003$).

Concernant les objectifs secondaires, les résultats sont présentés également dans le tableau 5. On notera un taux de rHLA-ABC 5 UI (+/-1) pour le diagnostic infecté viral

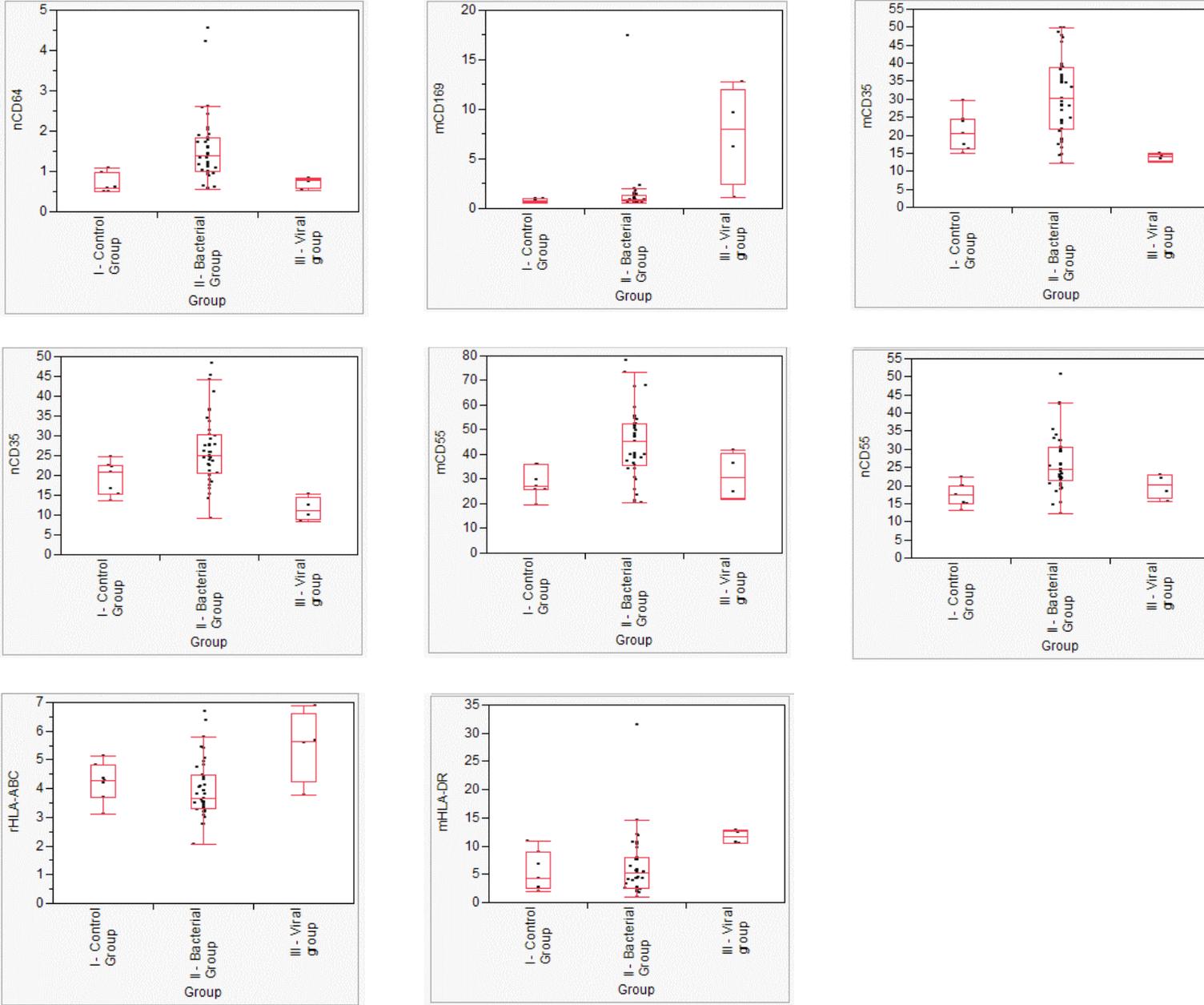
versus 4 UI (+/-1) (p = 0,02) pour le diagnostic infecté bactérien et mHLA-DR 12 UI (+/-1) pour le groupe viral versus 6 UI (+/-5) (p = 0,003) pour le groupe bactérien, donc des taux significativement plus élevés dans le groupe III que dans le groupe II.

Tableau 5. Résultats de la cytométrie de flux

Variables	Population totale (n=50)	Group II – Infection bactérienne (n=39)	Group III- Infection virale (n=4)	p-value Group II vs Group I & Group III	p-value Group III vs Group I & Group II
nCD64	1 ± 1	2 ±1	1	≤ 0.001*	0.02*
mCD169	2 ± 3	1 ±3	7 ± 5	0.66	0.003*
mCD35	28 ± 11	31 ± 11	14 ± 1	0.001*	≤ 0.001*
nCD35	24 ± 9	26 ±9	12 ± 3	≤ 0.001*	≤ 0.001*
mCD55	41 ± 14	45 ± 14	31 ± 10	0.001*	0.164
nCD55	24 ± 8	26 ± 8	20 ± 3	0.001*	0.19
rHLA-ABC	4 ± 1	4 ± 1	5 ± 1	0.04*	0.02*
mCD46	47 ± 15	47 ± 15	56 ± 19	0.86	0.16
mCD14	39 ± 9	39 ± 9	40 ± 6	0.14	0.82
mHLA-DR	7 ± 5	6 ± 5	12 ± 1	0.14	0.003*
ICD69	14 ±6	15 ±7	11 ± 2	0.01*	0.26
mCD69	11 ±2	12 ± 3	11 ± 1	0.26	0.96
nCD69	10 ±2	10 ± 2	9 ± 1	0.06	0.90

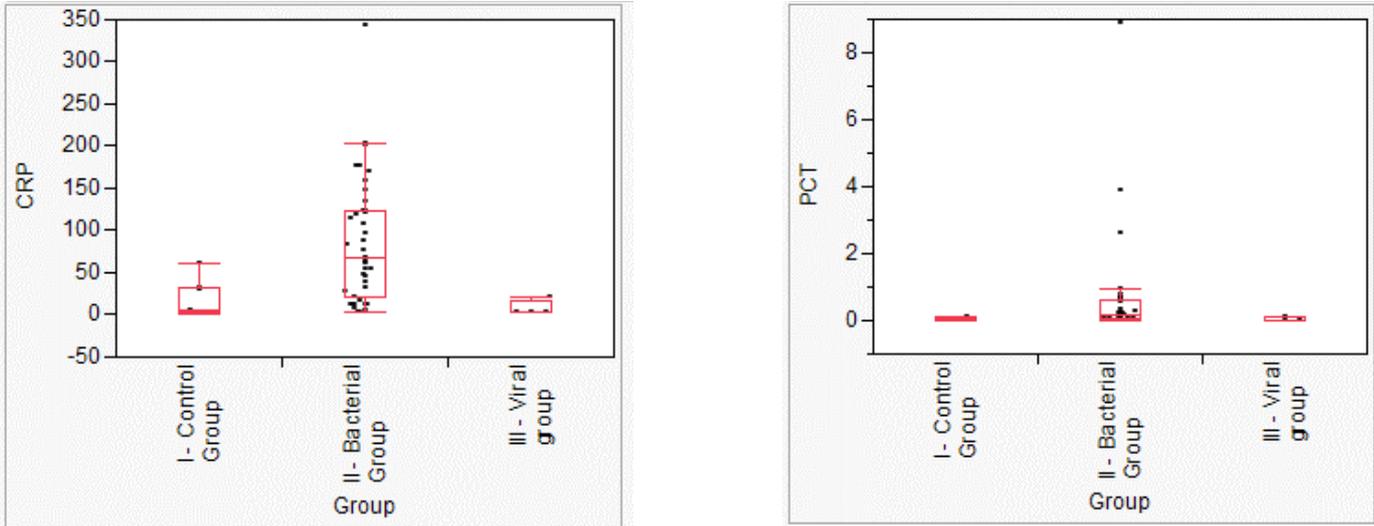
La **figure 2** montre les niveaux d'expression des 8 paramètres pour chaque groupe infectieux.

Figure 2. Niveaux des biomarqueurs pour les trois groupes



À titre de comparaison, la **figure 3** présente la répartition des niveaux de CRP et de PCT entre les groupes. Comme indiqué précédemment, la CRP est significativement plus élevée dans le groupe bactérien II 86 mg/mL (+/- 74) ($p < 0,001$) versus 7 mg/mL (+/-8) dans le groupe viral III ($p = 0,008$), alors que la PCT est significativement plus élevée dans le groupe bactérien II 1(+/-2) ng/mL ($p = 0,03$) versus 0,04 (+/-0,04) ng/mL ($p = 0,05$) dans le groupe viral.

Figure 3. Niveaux de CRP et PCT pour les trois groupes de patients



3.4 Biomarqueurs dans l'analyse ROC

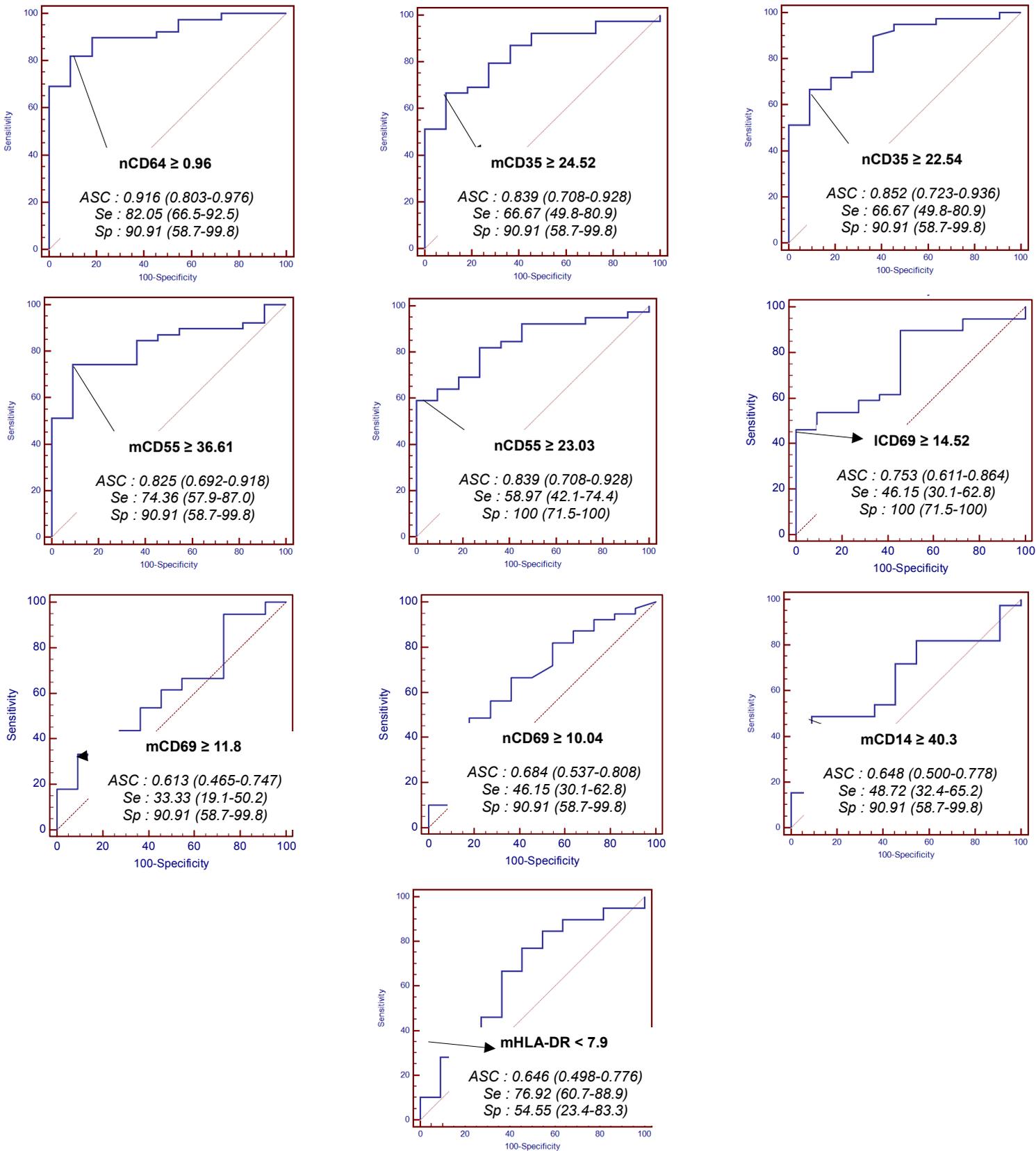
Une courbe ROC a été réalisé pour chaque marqueur cellulaire afin d'analyser ses performance en termes de diagnostic infectieux bactérien ou viral.

3.4.1. Diagnostic bactérien

Les biomarqueurs connus pour être exprimés dans des conditions bactériennes sont nCD64, mCD35, nCD35, mCD55 et nCD55, et potentiellement ICD69, mCD69, nCD69, mCD14 et mHLA-DR.

La **figure 4** illustre les résultats de leur courbe ROC pour distinguer les patients atteints d'infections bactériennes comparés aux patients des autres groupes. Avec un seuil $\geq 0,96$ UI pour les patients bactériens du groupe II, le nCD64 offre les meilleures performances de discrimination bactérienne avec une sensibilité de 82% (66,5 - 92,5), une spécificité de 91% (58,7 - 99,8), un rapport de vraisemblance positif de 9,03 (1,4 - 58,8), un rapport de vraisemblance négatif de 0,20 (0,10 - 0,4). L'aire sous la courbe est de 0,92 (0,80 - 0,98) et l'intervalle de confiance à 95%.

Figure 4. Caractéristiques des biomarqueurs pour la recherche d'infection bactérienne



3.4.2. Diagnostic viral

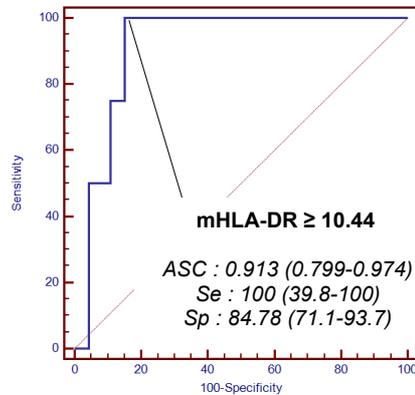
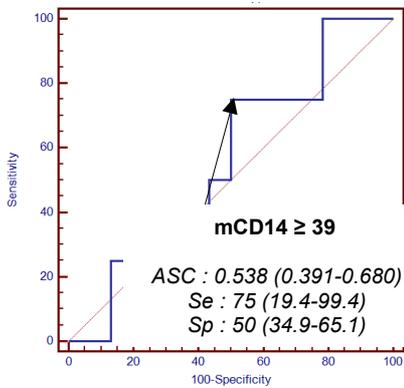
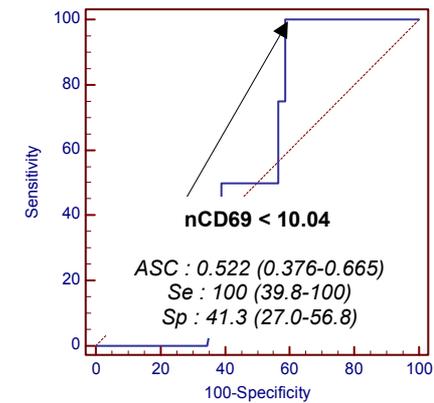
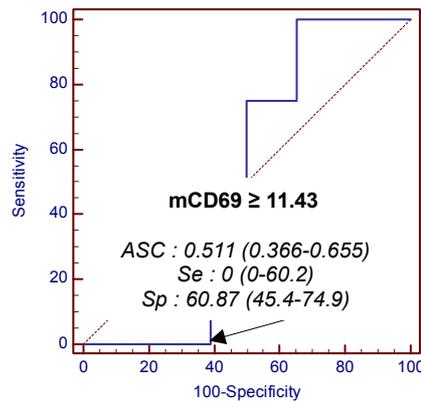
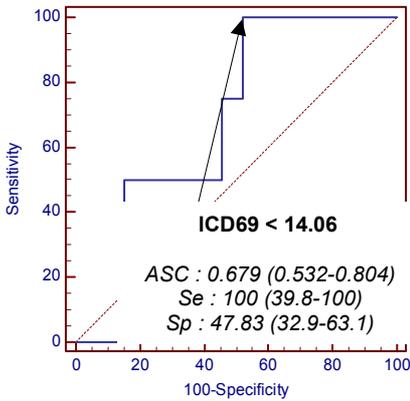
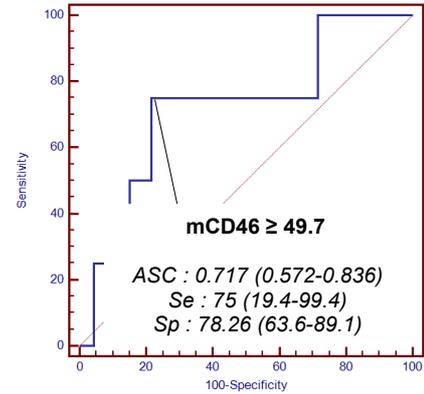
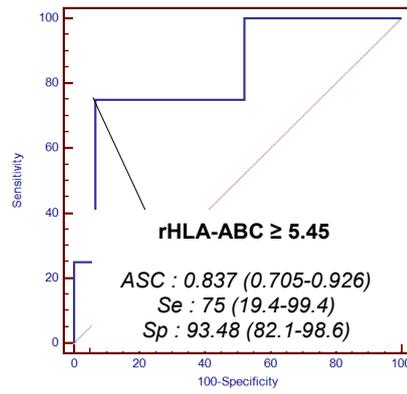
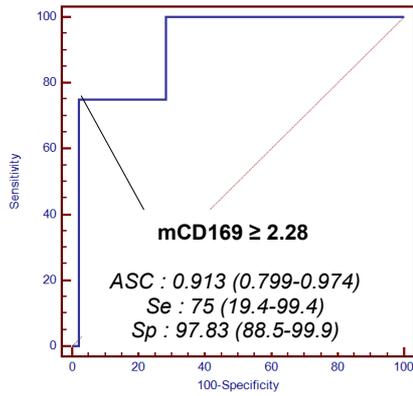
Les biomarqueurs connus pour augmenter dans des cas d'affections virales sont mCD169, rHLA-ABC et mCD46, et potentiellement ICD69, mCD69, nCD69, mCD14 et mHLA-DR. La **figure 5** présente les résultats de leur courbe ROC pour distinguer les patients présentant des infections virales comparés aux patients de tous les autres groupes.

Avec un seuil $\geq 2,28$ UI pour les patients viraux du groupe III, le mCD169 offre l'une des meilleures discriminations avec une sensibilité de 75% (19,4 - 99,4), une spécificité de 98% (88,5 - 99,9), un rapport de vraisemblance positif de 34,5 (4,6 - 259,9) et un rapport de vraisemblance négatif de 0,26 (0,05 - 1,4) pour détecter les infections virales. L'aire sous la courbe est de 0,91 (0,80 - 0,97) et l'intervalle de confiance à 95%.

Outre le mCD169, avec un seuil $\geq 10,44$ UI, le mHLA-DR présente également de bonnes performances discriminantes avec une sensibilité de 100% (39,8 - 100), une spécificité de 85% (71,1 - 93,7), un rapport de vraisemblance positif de 6,57 (3,3 - 13) et un rapport de vraisemblance négatif de 0 pour détecter les infections virales. L'aire sous la courbe est 0,91 (0,80 - 0,97).

Enfin, avec un seuil $\geq 5,45$ UI pour les patients viraux du groupe III, le rHLA-ABC montre de bonnes performances discriminantes avec une sensibilité de 75% (19,4 - 99,4), une spécificité de 94% (82,1 - 98,6), un rapport de vraisemblance positif de 11,5 (3,4 - 39,4) et un rapport de vraisemblance négatif de 0,27 (0,05 - 1,5) pour détecter les infections virales. L'aire sous la courbe est de 0,84 (0,71 - 0,93).

Figure 5. Résultats des biomarqueurs pour la recherche d'infection virale



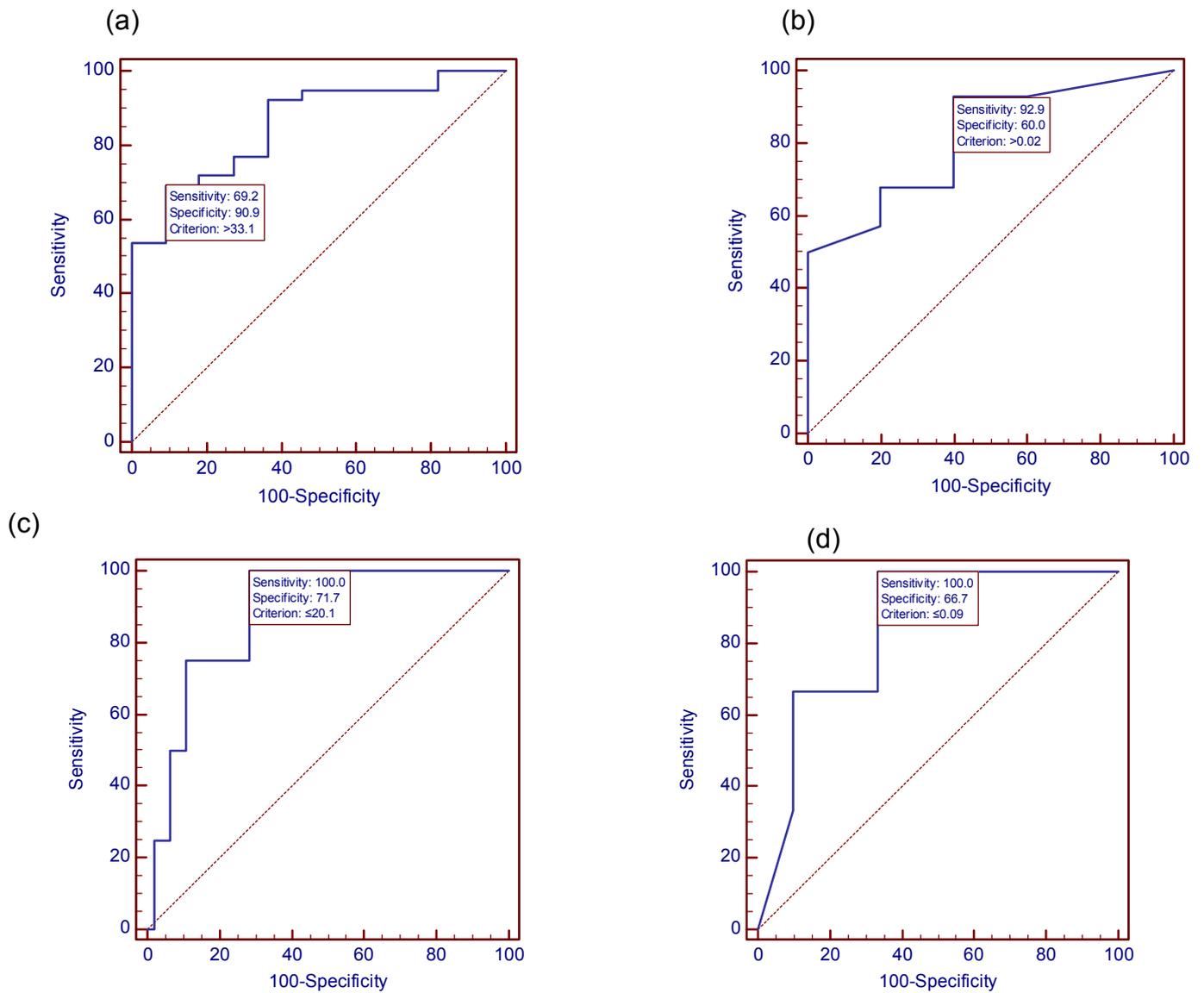
3.4.3 Comparaison avec la CRP et la PCT.

En comparaison avec les marqueurs cellulaires antérieurs, la **figure 6** présente les courbes ROC de la CRP et de la PCT pour la discrimination des patients atteints d'infections bactériennes ou virales.

Pour les patients du groupe II, le seuil optimal de CRP est $\geq 33,1$ mg/mL, avec une sensibilité de 69% (52,4 - 83), une spécificité de 91% (58,7 - 99,8) et une aire sous la courbe de 0,86 (0,73 - 0,94). Le seuil optimal pour la PCT est $\geq 0,02$ ng/mL, avec une sensibilité de 93% (76,5 - 99,1), une spécificité de 60% (14,7 - 94,7) et une aire sous la courbe de 0,81 (0,64 - 0,93).

Pour les patients du groupe III, le seuil optimal pour la CRP est inférieur à 20,1 mg/mL, avec une sensibilité de 100% (39,8 - 100), une spécificité de 72% (56,5 - 84) et une aire sous la courbe de 0,88 (0,76 - 0,96). Le seuil pour la PCT est inférieur à 0,09 ng/mL, avec une sensibilité de 100% (29,2 - 100), une spécificité de 67% (47,2 - 82,7) et une aire sous la courbe de 0,84 (0,67 - 0,94).

Figure 6. Résultats de l'analyse caractéristique pour la CRP et la PCT



- (a) CRP dans le groupe II**
- (b) PCT dans le groupe II**
- (c) CRP dans le groupe III**
- (d) PCT dans le groupe III**

4. DISCUSSION

Dans cette étude, nous avons pu observer une bonne performance diagnostique du marqueur cellulaire CD64 pour les infections bactériennes.

Le CD169 ainsi que d'autres biomarqueurs présentés dans cette étude semblent être également intéressants pour le diagnostic d'infections virales. Cependant, compte tenu de la taille de l'échantillon, il est impossible de généraliser ces résultats.

A notre connaissance, il s'agit de la première étude prospective s'intéressant au dosage de marqueurs cellulaires en cytométrie en flux dans un service d'accueil des urgences.

Le but de cette étude observationnelle prospective était d'évaluer plusieurs biomarqueurs pour le diagnostic d'infection bactérienne et virale chez les patients se présentant dans un SAU avec des symptômes infectieux.

Dans notre étude, le CD64 a permis de faire le diagnostic d'infection bactérienne avec une sensibilité et une spécificité supérieure aux analyses actuelles de la CRP et de la PCT (6,7). Ce diagnostic est en accord avec les nombreuses études déjà réalisées sur ce marqueur (3,12,13,36,45). Ce résultat est primordial car le développement de cette technique rapide nous permettrait de traiter rapidement les infections bactériennes et ainsi éviter leur aggravation avec une bonne sensibilité. Il apparaît également vital afin de limiter la prescription d'antibiotiques et ainsi limiter les résistances bactériennes grâce à une bonne spécificité.

Concernant le CD169 pour le diagnostic d'infection virale, comme supposé initialement et en accord avec des études antérieures (8,9,10), ce marqueur a permis de faire le diagnostic avec une bonne sensibilité et une bonne spécificité. Ces résultats pourraient apporter un vrai bénéfice en période d'épidémie comme lors de la grippe saisonnière (29-31). On pourrait ainsi imaginer un test avec deux marqueurs cellulaires, le CD169 pour le diagnostic d'infection viral et le CD64 pour le diagnostic de surinfection combiné à une PCR qui permettrait l'orientation rapide des patients ce qui est un des objectifs majeurs des urgentistes. La détection rapide d'une grippe surinfectée impliquerait une prise en charge rapide par traitement antibiotique, alors qu'une grippe non surinfectée et bien tolérée serait rapidement orientée vers un retour au domicile pour éviter la

transmission du virus aux SAU et ce de façon sécuritaire avec une réévaluation par le médecin traitant.

Les données des biomarqueurs étant conformes à celles d'études précédentes (16,36), on a remarqué que les sujets infectés par un virus présentaient des taux significativement plus élevés de rHLA-ABC et de mHLA-DR, ce qui a été confirmé dans notre étude (17, 37). Les résultats sont donc encourageants concernant ces deux marqueurs cellulaires pour déterminer les sujets ayant des affections virales et la détermination de leur seuil diagnostique optimal apparaît donc cruciale. On pourrait ainsi imaginer un test combinant ces deux marqueurs au CD169 (15).

L'équipe de Dittrich et AL a mis en évidence les principales exigences d'un examen diagnostique aux urgences (1). La technique de cytométrie en flux étant très exigeante (19), elle présente de nombreuses limites aux SAU. L'une des principales innovations de cette étude est le protocole de cytométrie en flux utilisé pour évaluer les niveaux de biomarqueurs. Cette procédure semble satisfaire aux caractéristiques optimales minimales attendues pour un test bactérien ou viral aux SAU. En effet, il s'agit d'une méthode rapide qui nous apporte des résultats en moins de 15 minutes sur échantillon de sang grâce à un cytomètre "portatif" en accès rapide dès l'entrée des urgences. Cette méthode, plus simple, combinée aux performances diagnostiques des biomarqueurs devrait permettre le développement d'une nouvelle méthode très utile pour la discrimination des infections bactériennes et virales.

De plus, même si l'étude a été réalisée avec des tubes de sang prélevés sur EDTA, seuls 5 µL de l'échantillon ont été nécessaires à la procédure, ce qui permet aux futures études d'envisager l'utilisation du sang capillaire. Les patients suspects d'infections seraient ainsi rapidement triés et ce de façon optimale. Les antibiotiques pourront ainsi être introduits de façon précoce et limités aux seules infections bactériennes.

Pendant de nombreuses années, cette recherche perpétuelle de nouveaux biomarqueurs pour la stratification infectieuse a été citée comme essentielle par de nombreuses équipes pour le triage, l'orientation et le traitement appropriés des patients présentant une infection systémique (15, 17, 26). La CRP est souvent cité comme marqueur très sensible de l'inflammation, mais manque de spécificité et a par conséquent une utilité limitée en urgence pour identifier l'étiologie de l'infection chez les

patients fébriles (43). La PCT est performante en cas de sepsis ou choc septique mais elle manque de sensibilité pour les infections bactériennes localisées (46).

De plus, la rapidité du diagnostic étant un paramètre tout aussi important aux SAU, le résultat des prélèvements de la PCT et de la CRP est obtenu après 60 à 90mn dans la majorité des centres et présente un coup de respectivement 21,6€ et 5,4€ alors que l'on peut apprécier l'avantage d'un test combiné CD64/CD169 obtenu en moins de 15min et qui ne reviendrait qu'à 5€.

Cependant, notre étude présente plusieurs limites. La première est la faible cohorte de patients et plus particulièrement dans le groupe "Infecté Viral" pour l'interprétation du CD169. Bien que positifs et encourageants, nos résultats devront être confrontés à ceux que l'on pourrait obtenir en période d'épidémie comme celle de la grippe ainsi qu'aux résultats des différentes études existantes (29–31).

La seconde limite est la méconnaissance de la cinétique de ces marqueurs cellulaires en fonction des thérapeutiques mises en place. Ainsi, les recherches futures devraient se concentrer sur la façon de les incorporer dans le cadre d'une gestion clinique globale des sujets fébriles (45) en évaluant leur cinétique (26). Des études prospectives et interventionnelles seront nécessaires afin d'établir un protocole de recherche avec confirmation microbiologique obligatoire afin de limiter les erreurs d'étiquetages (42).

Afin d'améliorer la prise en charge des patients infectés adressés aux SAU, il apparaît intéressant de développer cette technique diagnostique. Il faudra pour ce faire confirmer nos résultats dans une étude prospective randomisée et interventionnelle, de préférence en période d'épidémie comme lors de la grippe avec des tests rapides qui nous permettraient de confirmer la présence du germe et valider ainsi notre marqueur viral. Le test combiné sera également un élément important pour le dépistage des surinfections bactériennes.

En outre, une évaluation de la cinétique dans le temps de nos biomarqueurs apparaît comme un des enjeux majeurs pour le développement de cette technique dans le cadre d'une prise en charge complète des patients.

5. CONCLUSION

Ces dernières années, un certain nombre d'essais prometteurs ont été décrits dans la littérature comme utilisant un seul ou plusieurs combinaisons de marqueurs cellulaires pour prédire les causes bactériennes ou virales de la fièvre. Cette étude a démontré l'intérêt d'évaluer les niveaux de biomarqueurs nCD64, mCD169, mHLA-DR, rHLA-ABC chez des sujets présentant une infection systémique fébrile dans le service d'accueil des urgences.

Dans une volonté globale d'amélioration, leurs niveaux sont mesurés par une procédure de cytométrie en flux innovante, simple et rapide. Ce protocole, dans les contextes d'urgences, pourrait être considéré comme une alternative encourageante aux dosages de CRP ou de PCT pour guider les décisions de triage et de traitement pour un large éventail de sujets infectés.

BIBLIOGRAPHIE

1. Dittrich, S., Tadesse, B. T., Moussy, F., Chua, A., Zorzet, A., Tängdén, T., ... González, I. J. (2016). Target Product Profile for a Diagnostic Assay to Differentiate between Bacterial and Non-Bacterial Infections and Reduce Antimicrobial Overuse in Resource-Limited Settings: An Expert Consensus. *PLOS ONE*, *11*(8), e0161721. doi:10.1371/journal.pone.0161721
2. Liang, S. Y., Theodoro, D. L., Schuur, J. D., & Marschall, J. (2014). Infection Prevention in the Emergency Department. *Annals of emergency medicine*, *64*(3), 299–313. doi:10.1016/j.annemergmed.2014.02.024
3. Hassan, U., Ghonge, T., Reddy Jr., B., Patel, M., Rappleye, M., Taneja, I., ... Bashir, R. (2017). A point-of-care microfluidic biochip for quantification of CD64 expression from whole blood for sepsis stratification. *Nature Communications*, *8*, 15949. doi:10.1038/ncomms15949
4. Ventola, C. L. (2015). The Antibiotic Resistance Crisis. *Pharmacy and Therapeutics*, *40*(4), 277–283.
5. Bartlett, J. G., Gilbert, D. N., & Spellberg, B. (2013). Seven Ways to Preserve the Miracle of Antibiotics. *Clinical Infectious Diseases*, *56*(10), 1445–1450. doi:10.1093/cid/cit070
6. Sklavou, R., Karavanaki, K., Critselis, E., Kossiva, L., Giannaki, M., Tsolia, M., ... Polychronopoulou, S. (2012). Variation of serum C-reactive protein (CRP) over time in pediatric cancer patients with febrile illness and its relevance to identified pathogen. *Clinical Biochemistry*, *45*(15), 1178–1182. doi:10.1016/j.clinbiochem.2012.07.088
7. Judy Siegel-Itzkocich. (2016). Israeli product that pinpoints viruses, bacteria gets European grant. *Health & Science-Jerusalem Post*. Retrieved March 20, 2018, from <http://www.jpost.com/Business-and-Innovation/Health-and-Science/Israeli-product-that-pinpoints-viruses-bacteria-gets-European-grant-467771>
8. van der Kuyl, A. C., van den Burg, R., Zorgdrager, F., Groot, F., Berkhout, B., & Cornelissen, M. (2007). Sialoadhesin (CD169) Expression in CD14+ Cells Is Upregulated Early after HIV-1 Infection and Increases during Disease Progression. *PLoS ONE*, *2*(2), e257. doi:10.1371/journal.pone.0000257
9. Kim, W.-K., McGary, C. M., Holder, G. E., Filipowicz, A. R., Kim, M. M., Beydoun, H. A., ... Kuroda, M. J. (2015). Increased Expression of CD169 on Blood Monocytes and Its Regulation by Virus and CD8 T Cells in Macaque Models of HIV Infection and

AIDS. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 31(7), 696–706.
doi:10.1089/aid.2015.0003

10. Rempel, H., Calosing, C., Sun, B., & Pulliam, L. (2008). Sialoadhesin Expressed on IFN-Induced Monocytes Binds HIV-1 and Enhances Infectivity. *PLoS ONE*, 3(4). doi:10.1371/journal.pone.0001967
11. Ashokkumar, C., Gabriellan, A., Ningappa, M., Mazariegos, G., Sun, Q., & Sindhi, R. (2012). Increased Monocyte Expression of Sialoadhesin During Acute Cellular Rejection and Other Enteritides After Intestine Transplantation in Children: *Transplantation*, 93(5), 561–564. doi:10.1097/TP.0b013e3182449189
12. Li, S., Huang, X., Chen, Z., Zhong, H., Peng, Q., Deng, Y., ... Zhao, J. (2013). Neutrophil CD64 expression as a biomarker in the early diagnosis of bacterial infection: a meta-analysis. *International Journal of Infectious Diseases*, 17(1), e12–e23. doi:10.1016/j.ijid.2012.07.017
13. Xiong, S.-D., Pu, L.-F., Wang, H.-P., Hu, L.-H., Ding, Y.-Y., Li, M.-M., ... Zhai, Z.-M. (2017). Neutrophil CD64 Index as a superior biomarker for early diagnosis of infection in febrile patients in the hematology department. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 55(1). doi:10.1515/cclm-2016-0118
14. Cid, J., Aguinaco, R., Sánchez, R., García-Pardo, G., & Llorente, A. (2010). Neutrophil CD64 expression as marker of bacterial infection: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Infection*, 60(5), 313–319. doi:10.1016/j.jinf.2010.02.013
15. Kapasi, A. J., Dittrich, S., González, I. J., & Rodwell, T. C. (2016). Host Biomarkers for Distinguishing Bacterial from Non-Bacterial Causes of Acute Febrile Illness: A Comprehensive Review. *PLOS ONE*, 11(8), e0160278. doi:10.1371/journal.pone.0160278
16. Nuutila, J., Jalava-Karvinen, P., Hohenthal, U., Kotilainen, P., Pelliniemi, T.-T., Nikoskelainen, J., & Lilius, E.-M. (2013). Use of complement regulators, CD35, CD46, CD55, and CD59, on leukocytes as markers for diagnosis of viral and bacterial infections. *Human Immunology*, 74(5), 522–530. doi:10.1016/j.humimm.2013.01.011
17. Nuutila, J., Jalava-Karvinen, P., Hohenthal, U., Kotilainen, P., Pelliniemi, T.-T., Nikoskelainen, J., & Lilius, E.-M. (2013). A rapid flow cytometric method for distinguishing between febrile bacterial and viral infections. *Journal of Microbiological Methods*, 92(1), 64–72. doi:10.1016/j.mimet.2012.11.005
18. Chalupa, P., Beran, O., Herwald, H., Kaspříková, N., & Holub, M. (2011). Evaluation of potential biomarkers for the discrimination of bacterial and viral infections. *Infection*, 39(5), 411–417. doi:10.1007/s15010-011-0126-4

19. Demaret, J., Saison, J., Venet, F., Malcus, C., Poitevin-Later, F., Lepape, A., ... Monneret, G. (2013). Assessment of a novel flow cytometry technique of one-step intracellular staining: Example of FOXP3 in clinical samples. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry*, *84B*(3), 187–193. doi:10.1002/cyto.b.21070
20. Pitoiset, F., Cassard, L., El Soufi, K., Boselli, L., Grivel, J., Roux, A., ... Rosenzweig, M. (2018). Deep phenotyping of immune cell populations by optimized and standardized flow cytometry analyses: Deep Immunophenotyping for Clinical Studies. *Cytometry Part A*, *93*(8), 793–802. doi:10.1002/cyto.a.23570
21. Pitoiset, F., Barbié, M., Monneret, G., Braudeau, C., Pochard, P., Pellegrin, I., ... Rosenzweig, M. (2018). A standardized flow cytometry procedure for the monitoring of regulatory T cells in clinical trials: a standardized method to monitor Tregs. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry*, *94*(5), 621–626. doi:10.1002/cyto.b.21622
22. Hedley, B. D., Keeney, M., Popma, J., & Chin-Yee, I. (2015). Novel lymphocyte screening tube using dried monoclonal antibody reagents. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry*, *88*(6), 361–370. doi:10.1002/cyto.b.21251
23. Rajab, A., Axler, O., Leung, J., Wozniak, M., & Porwit, A. (2017). Ten-color 15-antibody flow cytometry panel for immunophenotyping of lymphocyte population. *International Journal of Laboratory Hematology*, *39*, 76–85. doi:10.1111/ijlh.12678
24. Correia, R. P., Rajab, A., Bento, L. C., Alexandre, A. M., Vaz, A. C., Schimidell, D., ... Bacal, N. S. (2018). A ten-color tube with dried antibody reagents for the screening of hematological malignancies. *International Journal of Laboratory Hematology*, *40*(2), 136–143. doi:10.1111/ijlh.12753
25. Jamin, C., Le Lann, L., Alvarez-Erriico, D., Barbarroja, N., Cantaert, T., Ducreux, J., ... Pers, J.-O. (2016). Multi-center harmonization of flow cytometers in the context of the European “PRECISESADS” project. *Autoimmunity Reviews*, *15*(11), 1038–1045. doi:10.1016/j.autrev.2016.07.034
26. Hausfater, P., Juillien, G., Madonna-Py, B., Haroche, J., Bernard, M., & Riou, B. (2007). Serum procalcitonin measurement as diagnostic and prognostic marker in febrile adult patients presenting to the emergency department. *Critical Care*, *11*(3), R60. doi:10.1186/cc5926
27. Hausfater, P., Garric, S., Ayed, S. B., Rosenheim, M., Bernard, M., & Riou, B. (2002). Usefulness of Procalcitonin as a Marker of Systemic Infection in Emergency Department Patients: A Prospective Study. *Clinical Infectious Diseases*, *34*(7), 895–901. doi:10.1086/339198
28. Hu, L., Shi, Q., Shi, M., Liu, R., & Wang, C. (2017). Diagnostic Value of PCT and CRP for Detecting Serious Bacterial Infections in Patients With Fever of Unknown

Origin: A Systematic Review and Meta-analysis. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*, 25(8), e61–e69. doi:10.1097/PAI.0000000000000552

29. Cuquemelle, E., Soulis, F., Villers, D., Roche-Campo, F., Ara Somohano, C., Fartoukh, M., ... Brun-Buisson, C. (2011). Can procalcitonin help identify associated bacterial infection in patients with severe influenza pneumonia? A multicentre study. *Intensive Care Medicine*, 37(5), 796–800. doi:10.1007/s00134-011-2189-1
30. Pfister, R., Kochanek, M., Leygeber, T., Brun-Buisson, C., Cuquemelle, E., Machado, M. B. P., ... Michels, G. (2014). Procalcitonin for diagnosis of bacterial pneumonia in critically ill patients during 2009 H1N1 influenza pandemic: a prospective cohort study, systematic review and individual patient data meta-analysis. *Critical Care*, 18(2), R44. doi:10.1186/cc13760
31. Haran, J. P., Beaudoin, F. L., Suner, S., & Lu, S. (2013). C-reactive protein as predictor of bacterial infection among patients with an influenza-like illness. *The American Journal of Emergency Medicine*, 31(1), 137–144. doi:10.1016/j.ajem.2012.06.026
32. Tang, B. M., Eslick, G. D., Craig, J. C., & McLean, A. S. (2007). Accuracy of procalcitonin for sepsis diagnosis in critically ill patients: systematic review and meta-analysis. *The Lancet Infectious Diseases*, 7(3), 210–217. doi:10.1016/S1473-3099(07)70052-X
33. Ray, P., Badarou-Acosi, G., Viallon, A., Boutoille, D., Arthaud, M., Trystram, D., & Riou, B. (2007). Accuracy of the cerebrospinal fluid results to differentiate bacterial from non bacterial meningitis, in case of negative gram-stained smear. *The American Journal of Emergency Medicine*, 25(2), 179–184. doi:10.1016/j.ajem.2006.07.012
34. Bossuyt, P. M., Reitsma, J. B., Bruns, D. E., Gatsonis, C. A., Glasziou, P. P., Irwig, L. M., ... de Vet, H. C. W. (2003). Towards complete and accurate reporting of studies of diagnostic accuracy: the STARD initiative. *BMJ : British Medical Journal*, 326(7379), 41–44.
35. Fischer, J. E., Bachmann, L. M., & Jaeschke, R. (2003). A readers' guide to the interpretation of diagnostic test properties: clinical example of sepsis. *Intensive Care Medicine*, 29(7), 1043–1051. doi:10.1007/s00134-003-1761-8
36. Mokuda, S., Doi, O., & Takasugi, K. (2012). Simultaneous quantitative analysis of the expression of CD64 and CD35 on neutrophils as markers to differentiate between bacterial and viral infections in patients with rheumatoid arthritis. *Modern Rheumatology*, 22(5), 750–757. doi:10.1007/s10165-011-0587-4
37. Pino, M., Erkizia, I., Benet, S., Erikson, E., Fernández-Figueras, M. T., Guerrero, D., ... Izquierdo-Useros, N. (2015). HIV-1 immune activation induces Siglec-1

expression and enhances viral trans-infection in blood and tissue myeloid cells. *Retrovirology*, 12(1). doi:10.1186/s12977-015-0160-x

38. Demaret, J., Walencik, A., Jacob, M.-C., Timsit, J.-F., Venet, F., Lepape, A., & Monneret, G. (2013). Inter-laboratory assessment of flow cytometric monocyte HLA-DR expression in clinical samples. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry*, 84B(1), 59–62. doi:10.1002/cyto.b.21043

39. Monneret, G., & Venet, F. (2014). Monocyte HLA-DR in sepsis: shall we stop following the flow? *Critical Care*, 18(1), 102. doi:10.1186/cc13179

40. Remy, S., Gossez, M., Belot, A., Hayman, J., Portefaix, A., Venet, F., ... Monneret, G. (2018). Massive increase in monocyte HLA-DR expression can be used to discriminate between septic shock and hemophagocytic lymphohistiocytosis-induced shock. *Critical Care*, 22. doi:10.1186/s13054-018-2146-2

41. Juskewitch, J. E., Abraham, R. S., League, S. C., Jenkins, S. M., Smith, C. Y., Enders, F. T., ... Huskins, W. C. (2015). Monocyte HLA-DR expression and neutrophil CD64 expression as biomarkers of infection in critically ill neonates and infants. *Pediatric research*, 78(6), 683–690. doi:10.1038/pr.2015.164

42. Srugo, I., Klein, A., Stein, M., Golan-Shany, O., Kerem, N., Chistyakov, I., ... Gervais, A. (2017). Validation of a Novel Assay to Distinguish Bacterial and Viral Infections. *Pediatrics*, 140(4), e20163453. doi:10.1542/peds.2016-3453

43. Weh, J., Antoni, C., Weiß, C., Findeisen, P., Ebert, M., & Böcker, U. (2013). Discriminatory potential of C-reactive protein, cytokines, and fecal markers in infectious gastroenteritis in adults. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 77(1), 79–84. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2013.05.005

44. Oved, K., Cohen, A., Boico, O., Navon, R., Friedman, T., Etshtein, L., ... Eden, E. (2015). A Novel Host-Proteome Signature for Distinguishing between Acute Bacterial and Viral Infections. *PLOS ONE*, 10(3), e0120012. doi:10.1371/journal.pone.0120012

45. Tang, Z., Qin, D., Tao, M., Lv, K., Chen, S., Zhu, X., ... Mao, S. (2018). Examining the utility of the CD64 index compared with other conventional indices for early diagnosis of neonatal infection. *Scientific Reports*, 8(1). doi:10.1038/s41598-018-28352-7

□ 46. Meisner M. Update on procalcitonin measurements. *Ann Lab Med*. 2014 Jul;34(4):263– 73.

ABRÉVIATIONS

CRP: Protéine C-réactive.

GB: Globules blancs.

MIF: Moyenne d'intensité de fluorescence.

PCT: Procalcitonine.

PNN: Polynucléaires neutrophiles.

Se: Sensibilité.

Sp: Spécificité.

Uf: Unité de fluorescence.

VPN: Valeur prédictive négative.

VPP: Valeur prédictive positive.

ASC: Aire sous la courbe.

SAU: Service d'accueil des urgences.

APHM: Assistance Publique Hôpitaux de Marseille.

Bpm: Battements par minute.

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

Introduction. Au service des urgences, le triage, la gestion et le traitement des patients présentant une infection systémique demeurent essentiels. Une précédente étude rétrospective avait montré l'intérêt d'évaluer les niveaux de deux biomarqueurs de surface cellulaire de leucocytes, CD64 sur les neutrophiles (nCD64) et CD169 sur les monocytes (mCD169), afin de discriminer potentiellement les sujets dans des conditions bactériennes ou virales. Leurs niveaux ont été évalués dans cette nouvelle étude prospective, ainsi que d'autres biomarqueurs, dont on a signalé le changement en cas de maladies infectieuses: CD14, CD35, CD46, CD55, CD69, HLA-ABC et HLA-DR.

Matériel et méthodes. Dans le cadre d'une étude prospective monocentrique, les patients du SAU de La Timone ont été inclus s'ils présentaient de la fièvre ou des symptômes aigus. Les niveaux des 9 biomarqueurs ont été mesurés par une nouvelle procédure de cytométrie de flux en une étape et comparés aux dossiers cliniques des patients et aux mesures biochimiques de référence telles que la protéine C-réactive (CRP) et la Procalcitonine (PCT).

Résultats. 39 des 50 patients inclus (78%) avaient des infections bactériennes confirmées et 4 des infections virales (8%). nCD64 a montré 82% de sensibilité et 91% de spécificité pour identifier les sujets dans des conditions bactériennes et mCD169, 75% de sensibilité et 98% de spécificité pour ceux dans des conditions virales. Fait intéressant, les rapports HLA-ABC (rHLA-ABC) et HLA-DR sur les monocytes (mHLA-DR) ont respectivement montré une sensibilité de 75% et 100% et une spécificité de 94% et 85% pour l'identification des sujets dans des conditions virales. D'autres nouveaux biomarqueurs testés présentaient des performances discriminantes plus faibles.

Conclusion. Cette étude préliminaire a démontré l'intérêt d'évaluer les niveaux de biomarqueurs nCD64, mCD169, mHLA-DR et rHLA-ABC chez des sujets présentant une infection systémique fébrile afin de différencier ceux de conditions bactériennes ou virales. La procédure de cytométrie de flux en une étape permet d'effectuer des mesures simples et rapides comme l'exigent les paramètres du SAU.

Mots-clés. CD64, CD169, mHLA-DR, rHLA-ABC, cytométrie de flux, urgence, infection bactérienne, infection virale.

