

Éditorial

## Marqueurs inflammatoires fécaux en nutrition et pathologies digestives chez l'enfant

### Faecal inflammatory markers in nutrition and digestive diseases in children

N. Kapel

*Laboratoire de coprologie fonctionnelle, groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, AP-HP, 47–83, boulevard de l'Hôpital, 75651 Paris cedex 13, France*

Reçu le 7 janvier 2004 ; accepté le 18 février 2004

Disponible sur Internet le 2 avril 2004

**Mots clés :** Marqueurs inflammatoires fécaux ; Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) ; Alpha-1 antitrypsine ; TNF-alpha ; Calprotectine

**Keywords:** Inflammatory bowel diseases; Biological markers; Alpha-1-antitrypsin; TNF-alpha; Calprotectin; Child

La symptomatologie clinique associée aux dysfonctionnements digestifs est souvent peu spécifique (diarrhée, douleurs abdominales, altération de l'état général, saignements) de sorte que leur investigation requiert la mise en œuvre de techniques d'explorations morphologiques ou histologiques souvent invasives. Les progrès récents dans le domaine de la biologie clinique permettent d'envisager des marqueurs non invasifs fécaux pour évaluer la réponse de la muqueuse intestinale à un stimulus, qu'il soit exogène ou endogène. C'est dans le domaine de l'inflammation que les progrès les plus importants ont été réalisés, ce qui apparaît particulièrement prometteur pour le clinicien car nombre de pathologies digestives ont une composante inflammatoire avec une atteinte diffuse, voire des zones inflammatoires d'accès difficile donc difficiles à visualiser. L'analyse des marqueurs fécaux renseignera sur l'ensemble de la fonction digestive. Ces nouveaux marqueurs, dosables sur des échantillons de selles, ont été développés pour tendre vers la définition du marqueur digestif idéal : non invasif donc acceptable, reproductible, sensible et spécifique de l'état de la fonction digestive. Ils doivent donc trouver toute leur place dans la stratégie diagnostique du pédiatre.

Les dosages fécaux ne sont pas nouveaux. Dès les années 1980, le dosage de l'alpha-1 antitrypsine (AAT) fécale a été proposé pour rechercher une exsudation protéique. Plus ré-

cemment, les progrès portant sur la connaissance des mécanismes immunopathologiques impliqués dans le développement des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin ont permis d'envisager de nouveaux marqueurs : cytokines pro-inflammatoires et protéines synthétisées par les polynucléaires neutrophiles ou éosinophiles infiltrant la muqueuse.

#### 1. Alpha-1 antitrypsine

Aujourd'hui, la détermination de la clairance de l'AAT est reconnue comme le « gold standard » pour rechercher une exsudation protéique, en apprécier l'intensité et donc l'activité des maladies inflammatoires de l'intestin [1]. Chez l'enfant, les travaux de Keller et al. ont montré une normalisation des concentrations de l'AAT fécale au niveau de celles de l'adulte sain dès l'âge de six jours [2]. L'AAT est une des principales antiprotéases du sérum ce qui explique sa grande stabilité dans le milieu protéolytique fécal. Elle est synthétisée essentiellement par le foie mais aussi par les macrophages et l'épithélium intestinal [3]. Le dosage fait appel à des techniques immunochimiques de type immunodiffusion radiale ou immunonéphélométrie. Selon les études, les résultats sont exprimés en concentration (mg/g de selles,  $N < 200$  ou mg/g de matière sèche,  $N < 1,25$ ) ou sous forme de clairance [(AAT fécale en mg/g  $\times$  poids des selles de 24 h)/AAT sérique ;  $N : < 20$  ml/24 h chez l'adulte]. Si ce dernier mode d'expression est le plus discriminant pour affir-

Adresse e-mail : [nathalie.kapel@psl.ap-hop-paris.fr](mailto:nathalie.kapel@psl.ap-hop-paris.fr) (N. Kapel).

mer et quantifier une exsudation protéique, il implique de procéder au recueil des selles de 72 heures afin de pallier les variations spontanées du débit fécal journalier. Il est difficile de réaliser et d'interpréter une clairance chez l'enfant, et encore plus chez le nourrisson, en raison de la variation du débit fécal quotidien en fonction de l'âge, et de la difficulté d'obtenir un recueil correct des selles de 24 heures (recueil sans couche pour éviter l'adsorption de l'eau fécale et donc incertitude sur le débit fécal par 24 h). C'est pourquoi, dans cette population, les résultats sont exprimés uniquement en concentration et rapportés à la matière sèche fécale, une concentration > 1,25 mg/g de matière sèche permettant d'évoquer une exsudation protéique [4].

## 2. Lactoferrine

La littérature scientifique propose régulièrement de nouveaux marqueurs d'inflammation mais nombre de ces protéines souffrent d'une dégradation au cours du transit intestinal et/ou d'une corrélation faible avec les index d'activité clinique ou endoscopiques. Ainsi, le dosage de la lactoferrine, protéine synthétisée au niveau des granules des polynucléaires neutrophiles et caractérisée par ses activités antibactériennes, a été proposé il y a déjà plus de dix ans en raison de sa grande stabilité dans les selles [5]. Cependant, nos travaux ainsi que ceux d'autres équipes, ont montré un recouvrement important de sa concentration fécale entre les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) quiescentes et actives, rendant ce marqueur impropre pour le suivi de l'évolution de la maladie et de la réponse thérapeutique [6]. Des résultats similaires ont été décrits avec les dosages des protéines cationiques et X des éosinophiles [7].

## 3. TNF-alpha

En 1992, Braegger et al. ont proposé le dosage du TNF-alpha comme marqueur d'activité des MICI chez l'enfant [8]. Cette cytokine pro-inflammatoire est produite par principalement les monocytes-macrophages mais aussi les lymphocytes T et B. Son implication dans la physiopathologie des MICI est aujourd'hui démontrée ce qui a abouti à la mise en place d'une approche thérapeutique fondée sur l'utilisation d'anticorps anti-TNF-alpha. Le TNF-alpha est dosable dans les selles mais il est sensible à la protéolyse intestinale de sorte que la qualité du résultat sera subordonnée à la qualité du recueil (congélation immédiate du prélèvement) et à sa conservation à -80 °C. Si ces conditions préanalytiques sont respectées, le taux de TNF-alpha fécal est corrélé avec les index d'activité clinique (CDAI, CDEIS) chez des patients porteurs d'atteintes coliques pures [9].

## 4. Calprotectine

Plus récemment, le dosage de la calprotectine fécale a été proposé comme marqueur des atteintes « organiques » du

tractus digestif chez l'adulte et l'enfant, les taux les plus élevés étant retrouvés au cours des MICI [10–12]. La calprotectine est une protéine de liaison au calcium et au zinc de 36,5 kDa. Elle est présente dans les granules des polynucléaires neutrophiles où elle représente 5 % des protéines totales et 60 % des protéines cytosoliques. Elle est également synthétisée par les monocytes et les macrophages [13]. Elle participe à la régulation des réponses immunitaires muqueuses par interaction avec les métalloprotéases zinc-dépendantes nécessaires à l'activation des cytokines pro-inflammatoires telles le TNF-alpha. Elle intervient aussi dans la régulation de l'apoptose par inhibition des enzymes zinc-dépendantes [14]. Sa concentration fécale est corrélée positivement à l'excrétion des polynucléaires neutrophiles mesurée par scintigraphie à l'indium ce qui en fait un marqueur sensible et spécifique de l'inflammation digestive ( $r = 0,70$ ,  $p < 0,001$ ) [15]. À la différence du TNF-alpha, la calprotectine montre une grande résistance vis-à-vis de la protéolyse intestinale et les concentrations fécales restent stables jusqu'à sept jours à température ambiante ce qui permet d'envisager facilement son dosage. Dans la population pédiatrique, le seuil de 50 µg/g est applicable après quatre ans [16]. Chez les enfants plus jeunes, des taux plus élevés sont physiologiques avec des valeurs médianes de 263,5 µg/g (IC95 % : 185–618,6) et 67 (IC95 % : 63,5–291) aux âges de trois mois et un an [17]. Chez le nourrisson, l'hyperperméabilité de la muqueuse intestinale se traduit par l'existence de taux élevés de calprotectine, sans aucune influence du mode d'alimentation (sein ou lait pour nourrissons) [18]. En revanche, l'existence d'une entérocolyte ulcéronécrosante se traduirait par une augmentation de la concentration fécale de la calprotectine en comparaison avec une population de nourrissons sains de même âge et de même terme [19]. Connaissant les progrès réalisés ces dernières années en réanimation néonatale, on conçoit l'intérêt de disposer de moyens de diagnostic précoce pour une pathologie dont les symptômes cliniques d'alerte manquent de spécificité. Dans ce contexte, le développement de marqueurs inflammatoires sensibles, spécifiques et non invasifs apparaît plein de promesses.

## Références

- [1] Florent C, L'Hirondel C, Desmazures C, Aymes C, Bernier JJ. Intestinal clearance of alpha 1-antitrypsin. A sensitive method for the detection of protein-losing enteropathy. *Gastroenterology* 1981;81: 777–80.
- [2] Keller KM, Knobel R, Ewe K. Fecal alpha 1-antitrypsin in newborn infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1997;24:271–5.
- [3] Perlmutter DH, Daniels JD, Auerbach HS, De Schryver-Kecsckemeti K, Winter HS, Alpers DH. The alpha 1-antitrypsin gene is expressed in a human intestinal epithelial cell line. *J Biol Chem* 1989;264:9485–90.
- [4] Lisowska-Myjak B, Pachecka J, Sokrates O, Brzozowska-Binda A, Torbicka E. Fecal alpha-1-antitrypsin excretion in children with diarrhea. *Scand J Gastroenterol* 1998;33:255–9.
- [5] Guerrant RL, Araujo V, Soares E, Kotloff K, Lima AA, Cooper WH, et al. Measurement of fecal lactoferrin as a marker of fecal leukocytes. *J Clin Microbiol* 1992;30:1238–42.

- [6] Sugi K, Saitoh O, Hirata I, Katsu K. Fecal lactoferrin as a marker for disease activity in inflammatory bowel disease: comparison with other neutrophil-derived proteins. *Am J Gastroenterol* 1996;91:927–34.
- [7] Saitoh O, Kojima K, Sugi K, Matsuse R, Uchida K, Tabata K, et al. Fecal eosinophil granule-derived proteins reflect disease activity in inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 1999;94:3513–20.
- [8] Braegger CP, Nicholls S, Murch SH, Stephens S, MacDonald TT. Tumour necrosis factor alpha in stool as a marker of intestinal inflammation. *Lancet* 1992;339:89–91.
- [9] Soulé JC, Andant C, Kapel N, Gobert JG. Evaluation of fecal tumor necrosis factor alpha (TNF $\alpha$ ) as a marker of Crohn's disease (CD) activity. *Gastroenterology* 1998;114:A1089.
- [10] Tibble JA, Sigthorsson G, Foster R, Forgacs I, Bjarnason I. Use of surrogate markers of inflammation and Rome criteria to distinguish organic from nonorganic intestinal disease. *Gastroenterology* 2002; 123:450–60.
- [11] Olafsdottir E, Aksnes L, Fluge G, Berstad A. Faecal calprotectin levels in infants with infantile colic, healthy infants, children with inflammatory bowel disease, children with recurrent abdominal pain and healthy children. *Acta Paediatr* 2002;91:45–50.
- [12] Carroccio A, Iacono G, Cottone M, Di Prima L, Cartabellotta F, Cavataio F, et al. Diagnostic accuracy of fecal calprotectin assay in distinguishing organic causes of chronic diarrhea from irritable bowel syndrome: a prospective study in adults and children. *Clin Chem* 2003;49:861–7.
- [13] Fagerhol MK. Calprotectin, a faecal marker of organic gastrointestinal abnormality. *Lancet* 2000;356:1783–4.
- [14] Isaksen B, Fagerhol MK. Calprotectin inhibits matrix metalloproteinases by sequestration of zinc. *Mol Pathol* 2001;54:289–92.
- [15] Tibble J, Teahon K, Thjodleifsson B, Roseth A, Sigthorsson G, Bridger S, et al. A simple method for assessing intestinal inflammation in Crohn's disease. *Gut* 2000;47:506–13.
- [16] Fagerberg UL, Loof L, Merzoug RD, Hansson LO, Finkel Y. Fecal calprotectin levels in healthy children studied with an improved assay. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003;37:468–72.
- [17] Rugtveit J, Fagerhol MK. Age-dependent variations in fecal calprotectin concentrations in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002; 34:323–4.
- [18] Campeotto F, Butel MJ, Kalach N, Derrieux S, Aubert-Jacquin C, Barbot L, et al. High faecal calprotectin levels in newborns. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2004 (sous presse).
- [19] Carroll D, Corfield A, Spicer R, Cairns P. Faecal calprotectin concentrations and diagnosis of necrotising enterocolitis. *Lancet* 2003;361: 310–1.