

TLEMCEN



N° d'ordre

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE de TLEMCEN

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et d'Immunologie

MEMOIRE

Présenté par

Chibani Fatima Zahra

Et

Baraka Soulaf

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Immunologie

Intitulé

**Ratios neutrophiles / lymphocytes, lymphocytes / monocytes et neutrophiles /
plaquettes dans la septicémie du nouveau- né prématuré**

Soutenu le 03 juillet 2022, devant le jury composé de :

Président	Smahi Mouhamed Chemseddine	Professeur	Univ. Tlemcen
Encadreur	Benmansour Souheila Amal	MAA	Univ. Tlemcen
Examinatrice	Dr Nouari Wafa	MAA	Univ. Tlemcen

03/07/2022

Résumé

Introduction : le système immunitaire n'est pas complètement fonctionnel à la naissance. Ce fait expose les nouveau-nés à un risque élevé d'infection surtout les nouveau-nés prématurés car leur système immunitaire est immature, La septicémie c'est une des infections qui touchent les nouveau-nés prématurés en particulier.

Le diagnostic précoce du sepsis est essentiel pour réduire le taux élevé de morbidité et de mortalité, Plusieurs biomarqueurs ont déjà été étudiés pour le diagnostic précoce du sepsis. Ces marqueurs sont NLR, LMR, Neutrophiles/Plaquettes.

Objectif : Etudier les rapports neutrophiles/Lymphocytes, Lymphocytes/Monocytes, Neutrophiles/Plaquettes chez les nouveau-nés prématurés qui ont une septicémie.

Matériels et méthodes : Ont été prélevés des échantillons sanguins à partir des nouveaux nés prématurés infectés par la septicémie et des nouveaux nés prématurés qui ne sont pas infectés, ensuite ont été préparés et colorés les frottis sanguins, puis ont été lus ces frottis par le microscope optique avec grossissement 40x cette observation microscopique nous permet de numérotiser les cellules pour calculer les rapports neutrophiles/lymphocytes, lymphocytes/monocytes, neutrophiles/plaquettes.

Résultats : Pour les deux rapports NLR, LMR sont plus élevés chez les témoins par rapport aux patients et pour le rapport NPR est élevé chez les patients par rapport aux témoins.

Conclusions : Les trois ratios sont représentés de manière différente chez les prématurés infectés et non infectés.

Mots clé : système immunitaire, septicémie, rapports.

Abstract

Background: the immune system is not fully functional at birth. This fact exposes newborns to a high risk of infection, especially premature newborns because their immune system is immature. Sepsis is one of the infections that affects premature newborns.

Early diagnosis of sepsis is essential to reduce the high rate of morbidity and mortality. Several biomarkers have already been studied for the early diagnosis of sepsis. These markers are NLR, LMR, Neutrophils/Platelets.

Objective: Study the ratio of neutrophils/Lymphocytes ,Lymphocytes/Monocytes ,Neutrophils/Platelets in premature newborns who have sepsis.

Materials and methods: Blood samples were taken from premature newborns infected with sepsis and premature newborns who are not infected, then the blood smears were prepared and stained, then these smears were read by the optical microscope with 40x magnification this microscopic observation allows us to number the cells to calculate the neutrophil/lymphocyte, lymphocyte/monocyte, neutrophil/platelet ratios.

Results: For both NLR, LMR is higher in witnesses compared to patients and NPR is higher in patients compared to witnesses.

Conclusions: The three ratios are represented differently in affected and uninfected premature infants.

Keywords :immune system, sepsis, reports .

ملخص

مقدمة: الجهاز المناعي لا يعمل بشكل كامل عند الولادة. هذه الحقيقة تعرض الأطفال حديثي الولادة لخطر الإصابة بالعدوى ، خاصة الأطفال المبتسرين لأن جهاز المناعة لديهم غير ناضج ، الإنتان هو أحد أنواع العدوى التي تصيب الأطفال المبتسرين على وجه الخصوص.

يعد التشخيص المبكر للإنتان ضروريًا لتقليل المعدل المرتفع للمراضة والوفيات ، وقد تم بالفعل دراسة العديد من المؤشرات الحيوية من أجل التشخيص المبكر للإنتان. هذه العلامات هي NLR ، LMR، العدلات / الصفائح الدموية.

الهدف: دراسة نسبة العدلات / الخلايا الليمفاوية / الخلايا الليمفاوية وحيدات العدلات / الصفائح الدموية في حديثي الولادة المبتسرين المصابين بالتسمم.

المواد والطرق: تم أخذ عينات الدم من حديثي الولادة المبتسرين المصابين بالإنتان وحديثي الولادة المبتسرين غير المصابين ، ثم تم تحضير مسحات الدم وصبغها ، ثم تمت قراءة هذه المسحات بواسطة المجهر الضوئي بتكبير 40x هذه الملاحظة المجهرية تتيح لنا ترقيم الخلايا لحسابها. العدلات /الخلايا الليمفاوية ، الخلايا الليمفاوية / الوحيدات ، نسب العدلات / الصفائح الدموية.

النتائج: لكل من نسبة NLR، LMR أعلى في الشهود مقارنة بالمرضى ونسبة NPR أعلى في المرضى مقارنة بالشهود .

الاستنتاجات: يتم تمثيل النسب الثلاثة بشكل مختلف في الأطفال الخدج المصابين وغير المصابين.

كلمات البحث: جهاز المناعة ، الإنتان ، التقارير.

Avant-propos

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail. La première personne que nous tenons à remercier est notre encadrant Benmansour Souheila pour l'orientation, la confiance, la patience et ses bonnes explications qui ont constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené. Nous remercions madame Misali Rabia, pour nous avoir appris les bases du travail en laboratoire, pour sa disponibilité, ses conseils, sa compréhension, pour les heures passées à nous aider ainsi que pour son intérêt constant. Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions. Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous les professeurs qui nous ont enseigné et qui par leurs compétences nous ont soutenu dans la poursuite de nos études.

Dédicace de Baraka Soulaf

Je dédie ce mémoire à : Mes parents. Ma mère qui a tous sacrifié pour nous, qui m'a comblée de son amour, qui m'a appris que les bonnes choses dans la vie n'arrivent pas facilement, qui m'a toujours soutenue et conseillée, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mon éternelle gratitude. Mon père, a ce bel homme qui a toujours été, et restera toujours mon exemple et mon idole, à mon super-héros qui a sacrifié tout ce qu'il pouvait pour nous voir heureux, je te remercie pour les valeurs nobles et pour ton éducation. Mes chères sœurs Chaimaa et Bouchra, mon frèreSohaib, mes amies Fatima,Djihhan et Wafaa, j'aurais besoin de toute une vie pour vous remercier et vous décrire combien je vous aime. Merci !

Dédicace de chibani Fatima Zahra

Je dédie cet événement marquant de ma vie à la mémoire de mon père disparu trop tôt. Puisse Dieu, le tout puissant, l'avoir en sa sainte miséricorde. A ma très chère maman, autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie.

A mon frère, Sid et sa femme, mes sœurs Amel , Aicha, Khidiya, merci pour m'avoir toujours supportée dans mes décisions. Merci pour tout votre amour et votre confiance. Sans oublier mes amies d'enfance Imane et Rania. Je vous aime beaucoup et mon binôme Soulaf .

Table des matières

Résumé.....	iii
Abstract.....	iv
Résumé en arabe.....	v
Avant-propos.....	vi
Table des matières.....	vii
Liste des tableaux.....	ix
Liste des figures.....	x
Liste des abréviations.....	xi
Introduction.....	1
Chapitre 1	2
Revue de la littérature.....	2
1.1 Développement du système immunitaire	2
1.1.1. Généralités	2
1.1.2. Le système immunitaire durant la période fœtale	2
1.1.2.1. Développement de système immunitaire du fœtus.....	2
❖ Macrophages et cellules dendritiques.....	3
❖ Les cellules Natural killer	3
❖ Les lymphocytes b	4
❖ Les lymphocytes T	4
1.1.3. Le système immunitaire chez le nouveau-né.....	5
❖ Les barrières physiques	6
○ La peau.....	6
○ Les muqueuses.....	6

❖ Les cellules immunitaires innées.....	6
○ Les Neutrophiles.....	7
○ Les monocytes.....	7
○ Les macrophages.....	8
○ Les cellules dendritiques.....	9
○ Les Cellules tueuses naturelles (NK).....	10
❖ Les cellules lymphoïdes innées (ILC).....	10
❖ Le système de complément.....	11
❖ Les PRR.....	11
❖ Les lymphocytes T néonataux.....	12
❖ Les cellules T CD4 néonatales.....	13
❖ Cellules Th17 néonatales.....	13
❖ Cellules Treg néonatales.....	14
❖ Cellules T CD8 néonatales.....	14
❖ Les cellules B néonatales.....	15
1.1.4. Le système immunitaire chez le nouveau-né prématuré.....	15
❖ La peau et les muqueuses.....	16
❖ Fonction atténuée des récepteurs de type Toll-like chez les nouveau-nés prématurés.....	16
❖ Les peptides solubles/ les protéines.....	17
❖ Les cellules immunitaires innées.....	17
○ Les phagocytes.....	17
○ Les Cellules tueuses naturelles.....	18
❖ Les lymphocytes T.....	19
❖ Les lymphocytes b.....	20
1.2 Les infections chez les nouveau-nés prématurés.....	21
1.2.1. Généralités.....	21
1.2.1.2. Classification.....	21

❖ Septicémie à début précoce (EOS).....	21
❖ Septicémie à début tardive (LOS)	22
1.2.1.3. Symptômes	22
1.2.1.4. Diagnostic.....	22
1.2.1.5. Causes.....	23
❖ Les Organismes à Gram positif	24
❖ Les organismes à Gram négatif.....	25
1.2.2. Signes cliniques	25
Les signes cliniques suivants doivent être pris en compte	25
1.2.3. Marqueurs biologiques	26
❖ Hémoculture.....	26
❖ Anomalies de l'hémogramme	26
❖ Protéine C-réactive (CRP)	26
❖ Le fibrinogène	27
❖ L'orosomucoïde.....	27
❖ La procalcitonine (PCT)	27
❖ Les cytokines.....	27
1.2.4. Traitement des infections chez les prématurés	28
1.3 Les rapports cellulaires :	28
1.3.1 Le rapport Neutrophiles/Lymphocytes (NLR) :.....	28
1.3.2 Le rapport Lymphocytes/Monocytes LMR :	28
1.3.3 Le rapport Neutrophiles / Plaquettes :.....	29
Chapitre 2	32
Partie expérimentale	32
1.1 Conception de l'étude.....	32
2.1. Matériel et méthodes	32
2.1.1. Prélèvements sanguins et préparation des échantillons	32
2.1.2. La formule numérique sanguins NFS	33

2.1.3. Réalisation de frottis sanguin (FS)	33
2.1.3.1 La coloration MGG	34
2.1.4. Récupération des images microscopiques	35
Chapitre 3	38
Résultats	38
Chapitre 4	42
Discussion.....	42
Chapitre 5	43
Conclusion	43
Chapitre 6	45
Bibliographie.....	45

Liste des tableaux

Tableau 1 : les résultats de numérotation des cellules séparément.	38
Tableau 2 : les résultats des rapports.....	39

Liste des figures

Figure 1. Migration des monocytes sur l'endothélium par chimiotaxie(T. Gerhardt, K. Ley,2015) . . .	8
Figure 2. Structure du macrophage avec une vacuolisation cytoplasmique (David Israel Garrido, MD ; Matilde Boada, MD,2015).....	9
Figure 3. L'activation et la différenciation du lymphocyte T par la (CD) conventionnelle (Dr. Jörg Schibler , 2015).....	10
Figure 4. Développement et maturation des cellules T α/β dans le thymus(germain ,2002).	13
Figure 5: Présentation schématique des facteurs immunitaires sur leurs sites anatomiques, illustrant leur interaction.....	16

Liste des abréviations

A

ADCC: Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity.

ARNm : Acide Ribonucléique messenger.

AMP : Peptide antimicrobiens.

APP : Proteine et Peptide antimicrobien.

C

CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité.

CD : Cluster de différenciation.

CPG : Cytosine-Phosphate-Guanine.

CDc : Cellule dendritique conventionnelles.

CDp : Cellule dendritique plasmacytoides.

CXCL : CXC Chemokine Ligand.

C1q : Complement 1q.

C: Complement.

CB: Cord Blood.

CPA: Antigen Presenting Cell.

CTL : Cytotoxic T lymphocyte.

CoNS : Staphylocoques à coagulase négative.

CRP: C reactive protin.

CCL: CC Chemiokine Ligand.

CMV : Cytomégalovirus.

D

DJ : Diversité Jonction.

DC : Dendritic Cell.

E

ECBU : Exmen cytobactériologique des urines.

EOS : Septicémie à début précocose.

E. coli: *Escherichia coli*

ECN : Entérocolite Nécrosante Néonatale.

E. faecalis: Enterococcus faecalis.

E. faecium: Enterococcus faecium.

F

FOXP3: Forkhead Box Protein 3.

G

G-CSF: Granulocytes Colony Stimulating Factor.

GM-CSF: GranulocytesMacrophages Colony Stimulating Factor.

H

HBD: Human Beta Defensin.

HLA: Human Leucocyte Antigen.

HLA_DR: Human Leucocyte Antigen- DR isotype.

HSV: Herpes simplex virus.

HSP: Heat Shock Protein.

I

Ig: Immunoglobulins.

IL: Interleukin.

IFN : Interferon.

ILC : Cellule lymphoïdes Innes.

IMF : Infections materno-fœtal.

INT : Infections néonatales tardives.

IRF-3 : Interferon Regulatory Factor 3.

INP : Infections néonatales précoces.

L

LPS : Lipopolysaccharides

LCS : liquide cébrospinal.

LOS : Septicémie à début tardive.

LONS: Late-Onset Neonatal Sepsis.

LMR: Rapport Lymphocytes/Monocytes

M

MAC-1: Macrophage-1.

MBL: Mannose – Binding lectine.

MN: Naïf Mature.

N

NK: Natural Killer. (lymphocyte).

NOD:Nucleotide oligomerization domain receptors.

NLR: NOD-Like Receptor.

NFS: Numération formale sanguine.

NLR: Rapport Neutrophiles/Lymphocytes.

NPR: Rapport Neutrophiles/Plaquettes.

P

Pré_ B: Immature lymphocyte B.

PAMPs: Pathogen-Associated Molecular Pattern.

PMN: Polymorphonuclears.

PRR: Pattern Recognition Receptor.

PCT: Procalcitonin.

PHA: Polyhydroxyalcanoates.

PSTAT: Phospho Singal Transducers and Activators of Transcription.

PCR: Polymerase chain reaction.

PAF: Platelet Activating Factor.

R

RTE : Recent Thymic Emigrants.

ROR γ T: Orphan nuclear receptor.

RORC: Acid -related Orphan Receptor C.

RLR: RIG-I-like Receptor.

RIG-1 : Retinoic-acid Inducible.

S

SGB : Streptocoque du groupe B.

SNC : Système Nerveux Central.

SARM : Staphylococcus aureus resistant a la métiline.

T

TCR : T cell receptor.

Tdt: désoxynucléotidyl transférase terminals.

TNF: Tumor Necrosis Factors.

Th: T-helper.

TLR:Toll like receptors.

Treg: regulatory T cells.

TGF: Transforming growth factor.

T-bet : T-box expressed in T cell.

USIN : Unité de Soins Intensifs Neonatals.

U

USIN : Unité de Soins Intensifs Neonatals

V

VRS : Virus respiratoire syncytial.

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine.

Introduction

Le système immunitaire se développe en permanence depuis la conception, y compris pendant la période néonatale et les premières années de la vie. Il s'agit d'un processus continu dans lequel un développement accéléré ou retardé peu affecter l'individu (Aranda, 2021). L'immunité des nouveau-nés n'est que provisoire et commence à diminuer après les premières semaines ou les premiers mois.

Comme beaucoup d'autres systèmes de l'organisme, le système immunitaire n'est pas complètement fonctionnel à la naissance et le nouveau-né est de ce fait exposé à un risque élevé d'infection. En même temps, le fait de naître, c'est-à-dire de passer de l'environnement stérile de l'utérus au monde extérieur, expose à toute une série d'agents pathogènes que jamais rencontrés et contre lesquels aucune protection n'existe (Tregoning, s.d.).

Les prématurés sont typiquement plus vulnérables aux infections car leur système immunitaire est immature (Staff, 2009). La septicémie reste une cause majeure de mortalité et de morbidité néonatales chez les nouveau-nés prématurés et de très faible poids de naissance (Mohan Pammi, 2022).

Le diagnostic précoce du sepsis est essentiel pour réduire le taux élevé de morbidité et de mortalité chez ces patients. Cependant, la septicémie est souvent diagnostiquée tardivement car les signes et symptômes utilisés, tels que modification du nombre de leucocytes, fièvre, tachycardie et tachypnée, ne sont pas spécifiques et ne sont pas toujours présents.

Plusieurs biomarqueurs ont déjà été étudiés pour le diagnostic précoce du sepsis. Ces marqueurs sont NLR, LMR, Neutrophiles/Plaquettes (Martins, 2019).

.

Chapitre 1

Revue de la littérature

1.1 Développement du système immunitaire

1.1.1. Généralités

Le développement des mécanismes de défense immunitaire débute tôt dans la vie fœtale mais n'est pas encore achevé à la naissance. Les premières cellules souches hématopoïétiques, qui donnent naissance aux lignées cellulaires lymphocytaires et myélomonocytaires, apparaissent entre la quatrième et la huitième semaine après la conception (Durandy 1992). Le système immunitaire est constitué de l'ensemble des mécanismes de défense de l'organisme. Il est composé de deux types ; le système immunitaire inné (général) et le système immunitaire adaptatif (spécialisé). Ces deux systèmes travaillent en étroite collaboration et assument des fonctions différentes (The Innate and Adaptive Immune Systems 2020).

1.1.2. Le système immunitaire durant la période fœtale

La relation entre la mère et le fœtus fascine les immunologistes depuis des décennies. De nombreuses hypothèses liées à la protection du fœtus par le placenta, notamment l'expression d'antigènes d'histocompatibilité sur les tissus fœtaux, la tolérance immunitaire maternelle aux antigènes fœtaux et l'inhibition et/ou la régulation des réponses immunitaires anti fœtales maternelles ont été avancées pour expliquer la survie du fœtus "immunogène". Pourtant, les mécanismes restent encore à éclaircir totalement. (Morelli et al., 2015) La tolérance immunologique du fœtus en croissance est une condition préalable à une grossesse réussie. Alors que les mécanismes immunitaires doivent être en place pour se défendre contre l'invasion microbienne, le placenta est généralement programmé pour protéger le fœtus du rejet par le système immunitaire maternel. Plusieurs mécanismes immunitaires innés et adaptatifs distincts mais complémentaires contribuent à la relation immunologique commensale entre la mère et le fœtus tout au long de la grossesse. (Bobjgalindo, 2009)

1.1.2.1. Développement de système immunitaire du fœtus

Le premier stade de l'hémopoïèse du fœtus humain se produit dans le mésoderme du sac vitellin et dans le tissu mésenchymateux extra embryonnaire. Des progéniteurs pluripotents érythroïdes et granulomacrophages peuvent être détectés dans le sac vitellin des embryons humains à 3±4 semaines de gestation. Ces cellules primitives peuvent ensuite être détectées dans la circulation à partir de 4 semaines de gestation alors qu'elles migrent vers le foie, qui devient le principal site d'hémopoïèse à 5±6 semaines de gestation. À partir de 5±10 semaines, le foie subit une augmentation spectaculaire de sa taille en même temps que le nombre de cellules nucléées augmente. Ces progéniteurs précoces prolifèrent mais se différencient très peu, bien qu'une population discrète de granulocytes/macrophages apparaisse à ce moment-là. Le thymus et la rate sontensemencés à partir du foie et les cellules souches sont détectables dans la moelle osseuse à 11±12 semaines de gestation. L'hémopoïèse hépatique diminue au cours du troisième trimestre et cesse peu après la naissance. (Holt and Jones, 2000a).

❖ **Macrophages et cellules dendritiques**

Les macrophages, les cellules dendritiques et les cellules B jouent un rôle central dans la production d'une réponse immunitaire spécifique aux antigènes, car ils absorbent, traitent et présentent les antigènes aux cellules T. Bien que les cellules dendritiques soient considérées comme des cellules présentatrices d'antigènes professionnelles parce qu'elles peuvent amorcer les lymphocytes T naïves, on sait très peu de choses sur elles au cours de la période fœtale ; c'est pourquoi elles seront examinées avec les monocytes/macrophages, qui sont le premier type de cellules à apparaître dans la circulation fœtale. Deux populations de cellules ayant une structure dendritique/macrophage sont présentes dans le sac vitellin et le mésenchyme à l'âge de 4±6 semaines. Les cellules ayant cet aspect sont également évidentes dans le foie pré-hématopoïétique à 5 semaines de gestation. La population principale des macrophages du sac vitellin est négative pour le CMH (complexe majeur d'histocompatibilité) de classe II, et il existe une population mineure qui est positive pour le CMH de classe II. Les cellules négatives pour le CMH de classe II apparaissent dans le cortex thymique, dans les zones marginales des ganglions lymphatiques, dans la pulpe rouge de la rate et au milieu de l'activité érythropoïétique de la moelle osseuse. Quelques cellules positives pour le CMH de classe II sont observées dans le foie à 7±8 semaines de gestation, dans les ganglions lymphatiques à 11±13 semaines de gestation (Holt and Jones, 2000a).

❖ **Les cellules Natural killer**

Récemment, on s'est intéressé aux cellules tueuses naturelles (NK) qui réagissent avec des cellules cibles sélectionnées sans sensibilisation préalable. L'origine des cellules NK est controversée et il n'est pas certain qu'il s'agisse de cellules T, de monocytes/macrophages ou des deux. Les cellules NK semblent être distinctes des cellules K qui assurent la cytotoxicité cellulaire dépendante des

anticorps (ADCC). Les cellules NK sont présentes dans les cellules hépatiques fœtales murines. Toivanen et ses collègues ont détecté une activité NK dans la plupart des foies de fœtus humains de 9 à 23 semaines de gestation (Gale, 1987).

❖ Les lymphocytes b

Les cellules pro-B (surface CD24+/IgM-négative) et pré-B (surface cytoplasmique IgM+/IgM-négative) sont détectables dans le foie et l'épiploon du fœtus (un long repli de membrane péritonéale qui pend dans la cavité abdominale devant les intestins, et qui est considéré comme une partie du système lymphoïde puisqu'il contient des agrégats lymphoïdes lâches et non organisés), mais pas dans la rate, dès la 8e semaine de gestation. Le pourcentage de cellules pré-B dans l'épiploon et le foie du fœtus est similaire pendant 8 ± 12 semaines de gestation, mais le pourcentage de ces cellules se réduit au cours des semaines suivantes. Le taux de ces cellules diminue au cours des semaines 13 ± 23 dans l'épiploon et reste le même dans le foie. Ainsi, le développement des cellules B dans l'épiploon est transitoire. Les cellules B deviennent détectables dans la rate à 13 ± 23 semaines de gestation, et des cellules B CD5+ peuvent être observées dans la cavité péritonéale humaine et la cavité pleurale à 15 semaines de gestation. Le foie est un site important de différenciation des cellules B chez les mammifères. À 8 semaines de gestation, les cellules pré-B du foie expriment la chaîne m cytoplasmique, et les IgM de surface sont exprimées sur les cellules B du foie à 10 ± 12 semaines, les IgD de surface étant détectables à partir de 13 semaines de gestation. Des nodules primaires se développent autour des cellules dendritiques folliculaires dans les ganglions lymphatiques à partir de 17 semaines de gestation et contiennent une population de cellules B presque pure. Les cellules B du centre germinal sont absentes des ganglions lymphatiques fœtaux, ce qui reflète probablement l'absence d'antigènes. Les cellules B sont abondantes dans la moelle osseuse à 16 ± 20 semaines de gestation. La quantité de cellules B immatures dans la moelle osseuse diminue avec l'âge (Holt and Jones, 2000a).

❖ Les lymphocytes T

Les pro-thymocytes putatifs sont identifiés dans le foie du fœtus à partir de la septième semaine de gestation comme des cellules hautement prolifératives positives pour CD7 (cluster de différenciation 7), CD45 et CD3 cytoplasmique, mais n'exprimant pas CD3 membranaire, la chaîne b du TCR ou Tdt (désoxynucléotidyltransférase terminale, qui intervient dans la diversification de la région DJ de la chaîne lourde des Ig et du récepteur des cellules T [TCR] (T cell receptor)). Les précurseurs des cellules T CD7+ provenant du foie fœtal ensemencent le thymus à 8 ± 9 semaines de gestation ; 60 % sont des pro-thymocytes putatifs qui peuvent être identifiés dans le foie du fœtus à partir de 7 semaines de gestation comme des cellules hautement prolifératives positives pour CD7, CD45 et CD3 cytoplasmique, mais qui n'expriment pas CD3 membranaire, la chaîne b du TCR ou Tdt. Les précurseurs de cellules T CD7+ du foie du fœtus ensemencent le thymus à 8 ± 9 semaines de

gestation ; 60 % d'entre eux ont fui le thymus et représentent donc une population immature plutôt qu'une population mémoire. Le tractus gastro-intestinal fœtal peut être un site de différenciation des cellules T extra-thymiques, comme cela a été prouvé chez la souris. La muqueuse intestinale fœtale humaine présente des cellules T détectables dans la lamina propria et l'épithélium à partir de 12±14 semaines de gestation. Les cellules T dans l'épithélium de l'iléon fœtal sont principalement CD8+, et beaucoup expriment CD8aa. Environ la moitié des cellules CD8+ de la lamina propria sont également CD8aa, mais dans les plaques de Peyer, lorsqu'elles sont présentes, les cellules CD8ab prédominent. Des études menées sur des souris indiquent que les cellules CD8aa peuvent être indépendantes du thymus et se développer dans l'intestin. Une proportion significative de lymphocytes dans la lamina propria exprime CD7 en l'absence de CD3 et prolifère, comme l'indique l'expression de Ki67. Il n'y a pas de chevauchement entre l'intestin et le sang dans les transcriptions réarrangées du TCR b ; il est donc peu probable que les cellules T intestinales soient dérivées du sang. Les plaques de Peyer n'étant pas encore présentes avant 16±19 semaines de gestation, il est peu probable que les cellules T peuplant l'intestin avant cette période soient des cellules T qui recirculent des plaques de Peyer vers la lamina propria, comme cela se produit à l'âge adulte. (Holt and Jones, 2000b) .

1.1.3. Le système immunitaire chez le nouveau-né

À la naissance, le nouveau-né passe brutalement d'un environnement stérile à un environnement rempli de microorganismes commensaux ou pathogènes (Afanetti and Tissières, 2011), les nouveau-nés ont une faible mémoire immunologique et un système immunitaire en développement, ce qui accroît leur vulnérabilité aux agents infectieux (Basha et al., 2014).

1.1.3.1. L'immunité innée

L'immunité innée est un mécanisme de défense naturel de l'hôte qui fonctionne efficacement sans exposition à un micro-organisme ou à son antigène. Ce système est constitué de la barrière de surface (telle que la peau et les muqueuses), de nombreuses cellules (telles que le neutrophile, le monocyte, le macrophage, cellule dendritique et cellule NK) et de facteurs humoraux comme le complément. Il existe des limites à l'exposition aux antigènes in utero et une immunité adaptative défectueuse chez le nouveau-né. Le nouveau-né doit s'en remettre à son système immunitaire inné pour sa protection (Yoon, 2010). Après la naissance, il doit soudainement faire face à un monde de pathogènes tels que les bactéries et les virus. La transformation soudaine du monde stérile au monde "réel" rend le système immunitaire du nouveau-né très important, Le tractus gastro-intestinal du nouveau-né est relativement stérile avant la naissance, mais à la naissance, il est inoculé par le microbiote commensal de

l'environnement qui se multiplie et peuple les intestins en quelques jours. (Kumar and Bhat, 2016).

❖ **Les barrières physiques**

○ **La peau**

Lorsque le micro-organisme pénètre dans l'organisme, les cellules sous la peau reconnaissent d'abord l'agent pathogène et sont activées pour sécréter des cytokines inflammatoires et recruter de nombreuses cellules immunitaires. Après la naissance, la peau et l'intestin du nouveau-né sont rapidement colonisés par des flores microbiennes. La peau du nouveau-né possède un mécanisme de protection., des acides gras libres antimicrobiens. Il peut agir avec les cellules immunitaires pour tuer les micro-organismes. Le vernix caseosa est composé de lysozyme, d' α -défensines, d'ubiquitine, de psoriasine et des acides gras libres antimicrobiens. Il peut agir avec les cellules immunitaires pour tuer les micro-organismes(Yoon, 2010).

○ **Les muqueuses**

Le système immunitaire muqueux du nouveau-né est la première et principale barrière contre l'infection. L'immunité innée au niveau des surfaces muqueuses est médiée par les récepteurs de reconnaissance de motifs qui reconnaissent les PAMPs (pathogen-associated molecular pattern) uniques des microbes ; les Peptides antimicrobiens, macrophages, cellules dendritiques, les composants du complément comprennent les éléments de l'immunité innée des muqueuses chez le nouveau-né. L'immunité adaptative des muqueuses néonatales est assurée par les plaques de Peyers et d'autres structures lymphoïdes dans les domaines suivants : le tractus gastro-intestinal, le tractus génital, les glandes mammaires, les tissus nasopharyngés et les sites sous-épithéliaux et intra-épithéliaux .Le développement de l'immunité muqueuse chez les nouveau-nés après la naissance dépend de la nature de la microflore muqueuse, des propriétés et de la nature des antigènes alimentaires et environnementaux exposés au cours de la vie. Les nouveau-nés sont protégés par les anticorps maternels au niveau des surfaces muqueuses par des mécanismes distincts. L'IgA (Immunoglobuline A)sécrétoire limite la pénétration des bactéries intestinales commensales sur l'épithélium intestinal néonatal. Les IgA sont présentes dans les sécrétions muqueuses à l'âge d'une semaine et se transforment progressivement en IgA sécrétoires. Les surfaces muqueuses sont les principaux points d'entrée des agents pathogènes microbiens et le développement de l'immunité muqueuse est le principal mécanisme de prévention des infections(Kumar and Bhat, 2016).

❖ **Les cellules immunitaires innées**

Lorsque le premier arsenal de défense, tel que la peau et les muqueuses est percé, les cellules immunitaires innées se différencient en cellules effectrices, qui combattent l'infection en grande partie par des mécanismes non spécifiques (Kumar and Bhat, 2016)

- **Les Neutrophiles**

Les cellules polymorphes (PMN), telles que les neutrophiles, constituent la première ligne de défense contre les pathogènes et sont les premières à se déplacer vers le site de l'inflammation par "diapédèse". À la naissance (24-72 premières heures), le nombre de neutrophiles augmente rapidement, puis se stabilise à un niveau normal au cours de la première semaine de vie. Au cours d'une infection chez le nouveau-né, le besoin en neutrophiles est plus important, ce qui conduit à une déplétion rapide des PMN dans la moelle osseuse, favorisant la libération de neutrophiles immatures. Les neutrophiles immatures néonataux - les "formes en bande" - ont une capacité réduite à déformer, migrer, phagocytter et digérer les agents pathogènes. Une neutropénie prolongée entraîne une grave déficience de la défense antimicrobienne du nouveau-né. Les neutrophiles normaux agissent par des mécanismes d'adhésion qui sont très diminués chez les nouveau-nés en raison de la faible expression des molécules d'adhésion comme la L-sélectine et le CD11b/CD18 (Mac-1). Un potentiel membranaire défectueux, un influx calcique réduit et une polymérisation de l'actine conduit à une réduction de la chimiotaxie et de la diapédèse. L'expression réduite des récepteurs de migration comme les sélectines et les intégrines, ainsi qu'une altération de la chimiotaxie, réduit le potentiel de migration des neutrophiles néonataux. La capacité phagocytaire des neutrophiles néonataux à terme est altérée à la naissance, mais atteint des niveaux comparables à ceux des adultes trois jours après la naissance. Les neutrophiles néonataux sont déficients en protéines et peptides antimicrobiens, ce qui réduit leurs fonctions antibactériennes (Kumar and Bhat, 2016).

- **Les monocytes**

À la naissance, la concentration de monocytes est plus élevée chez les nouveau-nés que chez les adultes, avec une augmentation significative des monocytes CD14^{bright} CD16^{-ve} et CD14⁺CD16⁺ chez les nouveau-nés. Une augmentation progressive des concentrations de monocytes au cours des deux premières semaines, suivie d'une diminution à partir de la troisième semaine postnatale a été observée. Il est intéressant de noter que des études récentes ont montré que les proportions de monocytes étaient plus élevées chez les nouveau-nés prématurés que chez les nouveau-nés à terme ou même aux adultes pendant la période néonatale. L'expression de HLA-DR (Human Bet Defensin) et de CD80 dans les monocytes du sang de cordon est faible et augmente progressivement au cours de la période néonatale, pour atteindre des niveaux adultes entre 6 et 9 mois. La stimulation avec

LPS (Lipopolysaccharides) ou CpG (Cytosine-Phosphate-Guanine) augmente significativement l'expression de HLA-DR et CD80. (Kumar and Bhat, 2016). La migration des monocytes néonataux le long de l'endothélium par chimiotaxie et leur extravasation vers le site de l'inflammation sont atténuées (figure 2). L'expression de la molécule d'adhésion Mac-1 était plus faible dans les monocytes néonataux, mais les niveaux de L-sélectine étaient comparables à ceux des adultes. (Kumar and Bhat, 2016). En réponse à la stimulation du LPS, les monocytes du sang de cordon ont produit des niveaux significativement plus élevés de cytokines TNF- α (Tumor Necrosis Factor α), IL-6 (Interleukin 6) et IL-10 par rapport aux enfants de 2 mois, 1 an ou même 4 ans et le mode d'accouchement ne change rien à ce résultat. Les monocytes néonataux ont également montré une expression plus élevée et soutenue de TLR4 en réponse au LPS, par rapport aux enfants de 2 mois et aux adultes. (Kumar and Bhat, 2016).

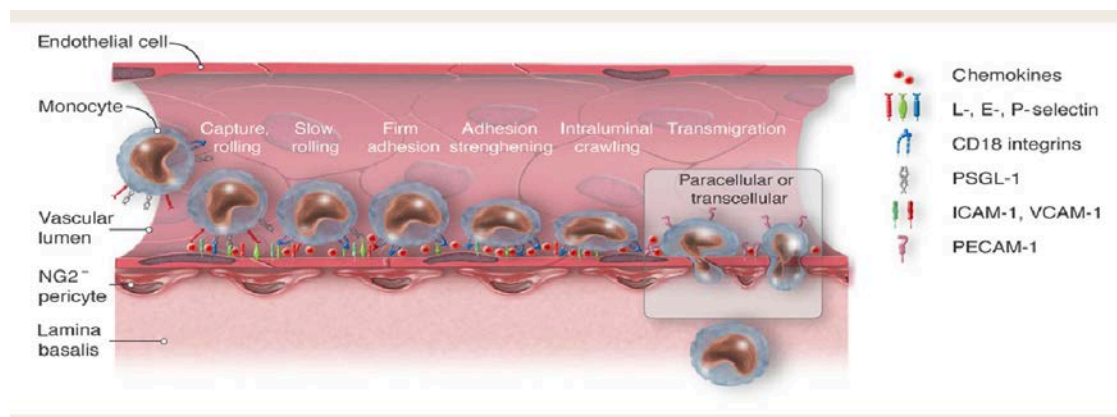


Figure 1. Migration des monocytes sur l'endothélium par chimiotaxie (T. Gerhardt, K. Ley, 2015).

○ Les macrophages

Les monocytes traversent les capillaires sanguins et pénètrent dans les tissus où ils se différencient en macrophages. Ces macrophages néonataux présentent une vacuolisation cytoplasmique accrue (figure 3) et une expression réduite des résidus lipidiques, du CD11b, du CD14 et du F4/80. Pourtant, à la rencontre d'un pathogène, ils produisent de grandes quantités d'IL-6 et de CCL2/3/4 (chemokine ligand 2/3/4). Compte tenu des effets inhibiteurs de l'IL-6 sur les réponses neutrophiles, l'augmentation du rapport IL-6/TNF- α dans le sang périphérique néonatal, comme décrit ci-dessus, peut expliquer la réduction de la migration neutrophile vers les sites de tissus inflammatoires. Les réponses phagocytaires des macrophages néonataux sont similaires à celles des adultes. Généralement ces études mettent en évidence une altération des fonctions de présentation de l'antigène, de la sécrétion de cytokines et des capacités de stimulation des lymphocytes T des CD et des

monocytes/macrophages néonataux lors de la rencontre avec un pathogène, un phénomène qui rend les nouveau-nés particulièrement vulnérables aux infections (Tsafaras et al., 2020).

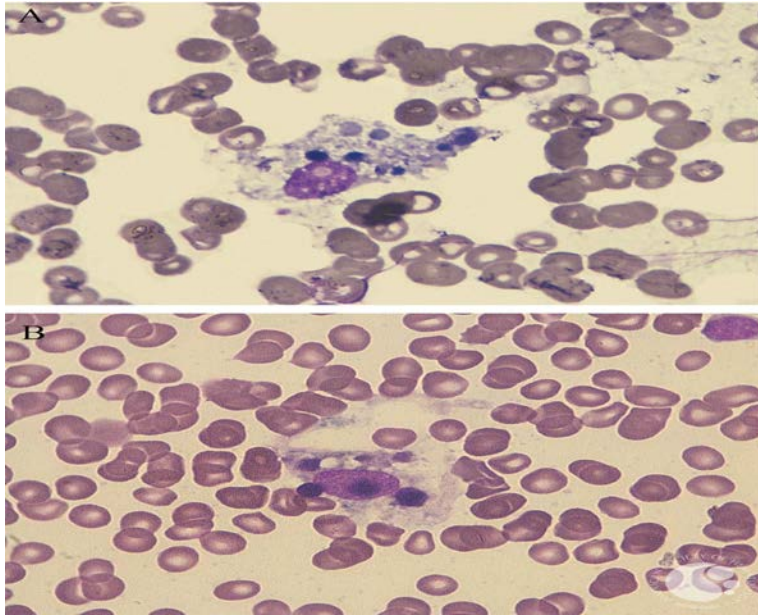


Figure 4. Structure du macrophage avec une vacuolisation cytoplasmique (David Israel Garrido, MD ; Matilde Boada, MD, 2015). Les images A et B présentent des macrophages vacuolisés avec des cellules digérées à l'intérieur de phagosomes.

○ Les cellules dendritiques

Les cellules dendritiques (CD) humaines se composent principalement de deux lignées distinctes sur le plan du développement : les CD conventionnelles (CDc) qui provoquent l'activation et la différenciation des lymphocytes T (figure 4), et les CD plasmacytoïdes (CDp), qui produisent des interférons de type I et médient les réponses antivirales. Les (CDc) néonatales sont réduites dans le sang périphérique et lors de la rencontre avec un agent pathogène [c'est-à-dire (LPS)], elles sécrètent de faibles niveaux d'IL-12, ce qui entraîne une altération de la polarisation des cellules T helper de type (Th1). La diminution de la synthèse de l'IL-12 par les (CDc) néonatales est liée à une altération du remodelage de la chromatine dans le promoteur du gène. En particulier, les CDc néonataux sécrètent des niveaux élevés de cytokines associées aux cellules Th2, telles que l'IL-4 et l'IL-13, avec les cytokines anti-inflammatoires, peuvent être associées à la production de l'IL-12 avec la cytokine anti-inflammatoire IL-10, maintiennent les (CDc) dans un état immature. L'expression de l'antigène leucocytaire humain (HLA)-DR et des molécules costimulatrices, telles que CD40, CD80 et CD86, est également diminuée dans les (CDc) néonatales, ce qui réduit leurs fonctions de présentation de l'antigène et de stimulation des cellules T. La production défectueuse d'IFN- β (Interferon B) et de gènes de chimiokines inductibles par

l'IFN, y compris CXCL9 (cxc chemokine ligand 9), CXCL10 et CXCL11, par les (CD) néonatales est considérée comme résultant d'une diminution de l'expression des gènes dépendants de l'IRF-3 (interferon regulatory factor 3) des gènes dépendants d'IRF-3 (Tsafaras et al., 2020) .

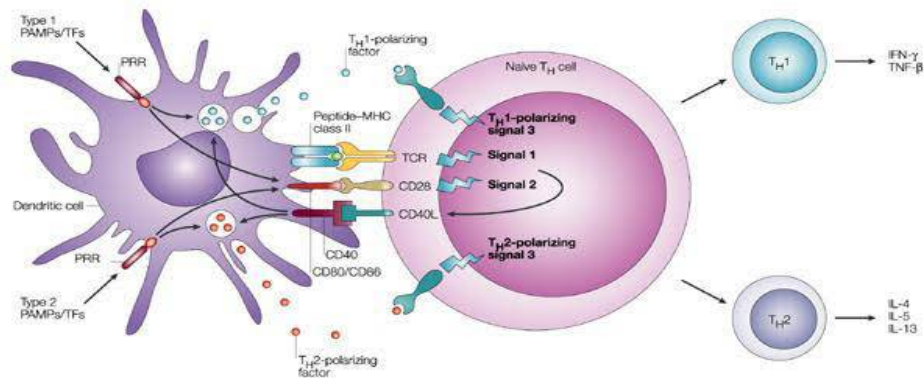


Figure 3. L'activation et la différenciation du lymphocyte T par la (CD) conventionnelle (Dr. Jörg Schibler , 2015) .

o **Les Cellules tueuses naturelles (NK)**

On constate que les cellules NK du sang de cordon augmentent avec l'âge gestationnel, Les taux de cellules NK sont élevés à la naissance et puis diminuent progressivement pendant l'enfance, pour atteindre des niveaux adultes à l'âge de 5 ans. L'activation rapide des cellules NK se produit par le biais d'un contact de cellule avec des monocytes, des DC, des cellules T CD4+ et des cytokines. Les cellules NK activées sécrètent des cytokines, principalement l'IFN-γ, et facilitent la protection contre les pathogènes, en tuant les cellules infectées. Il existe deux sous-ensembles matures de cellules NK fonctionnellement différents, CD56^{bright} CD16⁻ et CD56^{dim} CD16⁺. Les cellules CD56^{bright} sont associées à la sécrétion de niveaux élevés de cytokines, à une cytotoxicité moindre et à une localisation spécifique dans les ganglions lymphatiques. Alors que les cellules CD56^{dim} sont principalement des cellules effectrices cytotoxiques qui infiltrent les tissus enflammés, La fonction des cellules NK est régulée par la diversité des récepteurs d'activation et d'inhibition présents à la surface de ses cellules. L'efficacité cytotoxique des cellules NK du sang de cordon humain est trois fois moindre que celle des adultes. La réduction des granules cytoplasmiques, la faible capacité de dégranulation (expression réduite de CD107c), une faible libération des facteurs lytiques et une diminution de la teneur en perforine et en granzyme associés aux cellules NK du sang de cordon ombilical (Kumar and Bhat, 2016).

❖ **Les cellules lymphoïdes innées (ILC)**

Les cellules lymphoïdes innées (ILC) se caractérisent par la libération de cytokines associées aux cellules Th et par l'absence de récepteurs spécifiques aux antigènes. Les ILC sont classées en trois sous-groupes (ILC1, ILC2, ILC3), en fonction de leur profil de cytokines et de facteurs de transcription, et représentent des moteurs essentiels des réponses précoces de l'hôte au cours des infections et des blessures. La présence et la fonctionnalité des ILC augmentent pendant la période d'enfance, où les ILC contribuent à la formation du tissu lymphoïde et à l'homéostasie intestinale en régulant l'installation du microbiome et les processus métaboliques. Lors d'une infection intra-amniotique, les ILC migrent vers le liquide amniotique et participent à la réparation des tissus (Tsafaras et al., 2020) .

❖ Le système de complément

Les protéines du complément atteignent à la naissance environ deux tiers des niveaux des adultes pour les nouveau-nés à terme, Le système du complément chez les nouveau-nés en bonne santé est peu développé et les concentrations de complément atteignent les niveaux adultes vers 12-18 mois. Le complément tels que C1q(complément 1q), C4 (complément 4) et C3 (voie classique) et la properdine, le facteur B (voie alternative) sont réduits chez les nouveau-nés. Le niveau réduit du composant C3 chez les nouveau-nés, qui peut former des complexes efficaces avec d'autres composants pour lutter contre les agents pathogènes et renforce leur susceptibilité aux infections. L'activation du complément est étroitement contrôlée et les niveaux circulants des régulateurs, à savoir les protéines de liaison du C4b, sont à des niveaux indétectables chez les nouveau-nés. Le sous-développement du système du complément du nouveau-né se traduit par une réduction de la capacité à lyser les bactéries, une altération de la chimiotaxie et un moindre recrutement des leucocytes vers les sites d'infection, ainsi qu'une moindre capacité de phagocytose (opsonisation) (Kumar and Bhat, 2016) .

❖ Les PRR

Les cellules de l'immunité innée possèdent des récepteurs de reconnaissance codés par la lignée germinale (solubles ou associés aux cellules) qui reconnaissent des motifs moléculaires associés à des agents pathogènes conservés au cours de l'évolution (PAMPs) pour provoquer une réponse immunitaire. Les PAMPs sont invariants et sont vitaux pour la survie des pathogènes. Lorsque les PRR (pattern recognition receptor) présents à la surface des cellules reconnaissent les PAMPs, ils déclenchent des réponses pro-inflammatoires et antimicrobiennes par le biais de diverses voies de signalisation, comprenant des molécules adaptatrices, et des facteurs de transcription. Les récepteurs TLR (Toll like receptors) sont largement étudiés parmi les PRR et jouent un rôle important dans la reconnaissance des

agents pathogènes et la production de la réponse immunitaire inflammatoire. Les nouveaux présentent une réponse TLR et une production de cytokines diminuées. La capacité du système immunitaire inné à faire la différence entre le soi et le non-soi infectieux est vitale et la décision de répondre à un agent pathogène dépend des récepteurs du système immunitaire inné associés au génome lorsqu'ils rencontrent les motifs moléculaires associés aux agents pathogènes (PAMP) (Kumar and Bhat, 2016) .

1.1.3.2. L'immunité adaptative

❖ Les lymphocytes T néonataux

Il existe deux sous-ensembles distincts de cellules T qui expriment les protéines γ/δ et α/β des récepteurs des cellules T (TCR). Les cellules exprimant les TCR γ/δ dans le foie fœtal ne migrent pas vers le thymus pour leur maturation, mais jouent un rôle important dans la protection contre les infections microbiennes à un stade précoce du développement. Des études chez la souris ont démontré que les cellules TCR- γ/δ stimulent les cellules dendritiques pour la production de cytokines et de chimiokines qui conduisent à l'activation des réponses immunitaires adaptatives. Les cellules T α/β migrent vers le thymus pour leur maturation par le biais d'une série d'événements développementaux orchestrés qui aboutissent à des thymocytes TCR+ engagés dans la lignée CD4 ou CD8, ce qui joue un rôle essentiel dans la reconnaissance des antigènes et l'activation des lymphocytes T. Ces cellules T quittent d'abord le thymus dans un état phénotypiquement et fonctionnellement immature. On les appelle les émigrants thymiques récents (RTE) (Basha et al., 2014).

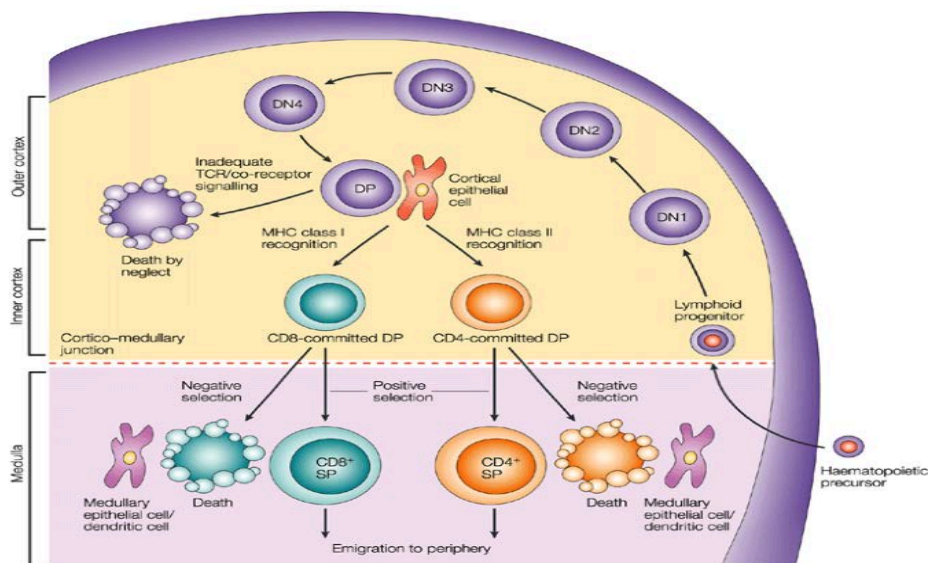


Figure 4. Développement et maturation des cellules T α/β dans le thymus

(germain ,2002). DN=doublé négatif, DP = doublé positif

❖ Les cellules T CD4 néonatales

Des études menées chez la souris ont montré que les RTE CD4⁺ sont plus susceptibles de produire des IL-4, IL-5 et IL-13 que leurs homologues matures naïfs. Chez l'homme, les cellules néonatales CD4⁺ du sang de cordon (CB) sont enrichies en RTE et prolifèrent en réponse à l'IL-7 en l'absence de stimulation du TCR. Il a été démontré que cela était dû à une régulation négative plus rapide de l'IL-7R α sur les RTE néonatales par rapport aux RTE adultes et à des niveaux plus élevés d'activation de pSTAT5 lors de l'exposition à l'IL-7. De plus, les régions promotrices des gènes des cytokines Th1 (T-helper 1) et Th2 des RTE CD4(+) naïfs sont caractérisées par une hyper méthylation spécifique au site par rapport à celles des T naïfs matures (MN). Des études expérimentales sur les cellules T CD4⁺ néonatales montrent une polarisation vers les réponses Th2 (IL-4, IL-5, IL-10) avec une diminution de la production de cytokines Th1 (IFN- γ , IL-2, et TNF- α). Il a été démontré que la suppression de la sécrétion d'interféron (IFN- γ) par les cellules Th1 était due à l'expression et la sécrétion plus élevées de l'IL-4. Le biais Th2 des cellules T CD4⁺ néonatales se reflète au niveau de la structure chromatinienne, puisque les lieux des cytokines Th2 sont hypo-méthylés et favorables à une transcription rapide et favorable à une transcription rapide. Des études récentes menées par Yoshimoto et al. Montrent que le profil épigénétique du locus Th2 au niveau des résidus CpG subit des modifications dans les cellules de la lignée des cellules T à partir de la mi-gestation du fœtus et se prolongent tout au long de la première semaine de vie. Plusieurs études ont également montré que les signaux co-stimulateurs environnementaux in utero influencent la différenciation des cellules Th et établissent des profils génomiques spécifiques de sous-ensembles à un stade précoce du développement du système immunitaire (Basha et al., 2014).

❖ Cellules Th17 néonatales

Des études récentes ont montré qu'une population de cellules T CD4⁺ CD161⁺ se transforme préférentiellement en cellules Th17. Ces cellules Th17 jouent un rôle important dans le développement de l'immunité contre les infections bactériennes et fongiques au niveau des barrières épithéliales. Les cellules Th17 expriment le facteur de transcription ROR γ T (orphan nuclear receptor), codé par la variante de transcription 2 du gène du récepteur orphelin C lié à l'acide rétinoïque (RORC) et sécrètent IL-17A et IL-17F ainsi qu'IL-21 et IL-22. Les cellules Th17 jouent un rôle important dans l'immunité néonatale contre les infections dues aux espèces *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Salmonella* et *Candida*. Des expériences utilisant des cellules de sang de cordon humain ont montré que les nouveau-nés ont une

fréquence très faible ou une absence totale de cellules Th17. Des preuves indiquent que cela pourrait être dû à des niveaux significativement plus faibles d'ARNm de RORC résultant en une production réduite du facteur de transcription ROR γ T.

Les cellules Th1, Th2 et Th17 jouent un rôle majeur dans le développement de l'immunité contre les pathogènes intracellulaires et les parasites extracellulaires. Tandis que les cellules Treg sont essentielles pour la tolérance immunitaire et jouent un rôle crucial dans la limitation des réponses immunitaires excessives exercées par les cellules Th1, Th2 et Th17 (Basha et al., 2014).

❖ Cellules Treg néonatales

Il a été démontré que l'orientation des cellules T naïves vers la lignée des cellules Th17 ou Treg est mutuellement exclusive et qu'il existe une voie de développement réciproque. La différenciation vers les phénotypes Th17 et Treg dépend du milieu cytokinique local. La présence de TGF- β (transforming growth factor β) avec IL-6, IL-21 conduit exclusivement les cellules T naïves à devenir Th17, tandis qu'IL-2 induit les cellules T naïves traitées par TGF- β à se différencier en cellules Treg Foxp3(+) (forkhead box protein 3). Les Tregs (regulatory t cells), qui expriment CD4, CD25 et Foxp3, maintiennent l'autotolérance immunologique et régulent négativement diverses réponses immunitaires. Les Tregs sont présents à une fréquence élevée dans le sang de cordon humain (~12% des cellules T CD4+) et dans les ganglions lymphatiques néonataux (~8%) [108,109]. Les cellules Treg fœtales humaines reflètent une plus grande propension des cellules T fœtales naïves à se différencier en Tregs en réponse aux antigènes maternels qui traversent le placenta. Il a été démontré que les cellules T naïves indifférenciées néonatales (CD4+CD8-Foxp3-) ont un mécanisme intrinsèque par défaut pour devenir des cellules Tregs lors de l'exposition aux antigènes maternels (Basha et al., 2014).

❖ Cellules T CD8 néonatales

Des études sur le sang de cordon ombilical humain et le sang de souris néonatale ont démontré une déficience à la fois dans l'ampleur et la fonctionnalité de la réponse des cellules T CD8+ néonatales. Il a été démontré que cela est due en partie à une production réduite d'IL-12p70 bioactif par les CPA (antigen presenting cell) néonatales par rapport aux CPA adultes. Des études récentes chez la souris ont montré que la hiérarchie néonatale des cellules T CD8+ est distincte de celle des adultes et influencée par les propriétés intrinsèques des cellules T chez les souris infectées par le VRS (virus respiratoire syncytial). Outre une réponse plus faible des cellules T CD8+, les souris néonatales présentent aussi un profil d'immunodominants différent de celui des adultes après une infection par le VRS.

L'altération de l'activation des cellules T CD8+ néonatales est également due à une co-stimulation limitée médiée par le CD28 en raison de l'expression réduite des récepteurs CD86 et CD80 de l'APC, ainsi que des différences dans l'absorption et le traitement de l'antigène soluble par les CD103+ néonatales. Les lymphocytes T cytotoxiques CD8+ (CTL) jouent un rôle important dans la défense de l'hôte contre les infections intracellulaires et sont des effecteurs importants de l'immunité antivirale et antitumorale (Basha et al., 2014) .

❖ Les cellules B néonatales

Les cellules B néonatales sont naïves, manquent d'exposition antigénique et n'ont qu'un répertoire d'immunoglobulines (Ig) de surface partiellement développée. Sur la base de l'expression de CD5, les cellules B sont différenciées en deux types, B-1 et B-2. Les cellules B-1 se différencient fonctionnellement des B2 par leur production naturelle d'Ig et jouent un rôle important dans la défense précoce contre les infections bactériennes et virales après la naissance. Les cellules B-1 humaines du sang de cordon et du sang périphérique adulte expriment un nouveau phénotype de marqueurs de surface, CD20+CD27+CD43+. Les cellules B-1 expriment CD11b, des niveaux élevés d'IgM (sIgM) et de faibles niveaux d'IgD sécrétée (sIgD), CD21, CD23 et CD45R (B220). Bien que ces cellules B-1 expriment un répertoire restreint de cellules B, il est démontré qu'elles sont la principale source de production dynamique d'anticorps indépendants des cellules T et qu'elles protègent contre les infections bactériennes telles que *Borrelia hermsii* et *Streptococcus pneumoniae* (Basha et al., 2014).

1.1.4. Le système immunitaire chez le nouveau-né prématuré

La prématurité est considérée comme toute naissance avant 37 semaine complète de grossesse et touche environ 10 % des naissances dans le monde. La naissance prématurée peut interrompre les influences de l'environnement intra-utérin sur le fœtus qui augmentent ou diminuent le risque d'avoir une morbidité à vie, avec un risque plus élevé d'infection en raison de leur système immunitaire immature. Les prématurés présentent des déficits dans l'immunité innée et adaptative, ainsi que dans l'interaction entre ces deux systèmes. Cependant, le système immunitaire des prématurés peut être davantage compromis par des facteurs associés à la naissance prématurée (Melville et Moss 2013)

1.1.4.1. L'immunité innée

Le développement de l'immunité à la naissance est vital et implique plusieurs mécanismes complexes. Les nouveau-nés dépendent fortement de leur immunité innée pour survivre au début de leur vie (Ballambattu Vishnu Bhat, 2018)

❖ La peau et les muqueuses

La peau néonatale est facilement altérée et ne présente pas les avantages d'une couche lipidique protectrice et d'un pH acide avant environ un mois d'âge postnatal. Ce phénomène est exacerbé chez les prématurés, chez qui ces caractéristiques mettent plus de temps à se développer. Le vernix caseosa, un biofilm naturel qui recouvre la peau du fœtus, fonctionne comme une barrière contre la perte d'eau, régulant la température et empêchant l'accès microbien. Le développement du vernix caseosa commence au cours du troisième trimestre, c'est la raison pour laquelle il n'est souvent pas complètement développé chez les prématurés. Il a également été démontré que les kératinocytes de la peau néonatale, et en particulier le vernix, produisent de manière constitutive un plus large éventail de peptides antimicrobiens (AMP) que les nourrissons plus âgés et les adultes, ce qui assure un niveau de protection supplémentaire. Les AMPs comprennent généralement les α -défensines et les β -défensines et la cathélicidine LL-37. L'immatunité de la peau des prématurés est exacerbée par les agressions iatrogènes infligées dans le cadre des soins intensifs vitaux. L'épithélium cutané néonatal est également rapidement colonisé par une flore normale de bactéries commensales après la naissance. Cette flore aide à prévenir la colonisation par des agents pathogènes (Sampah and Hackam, 2020).

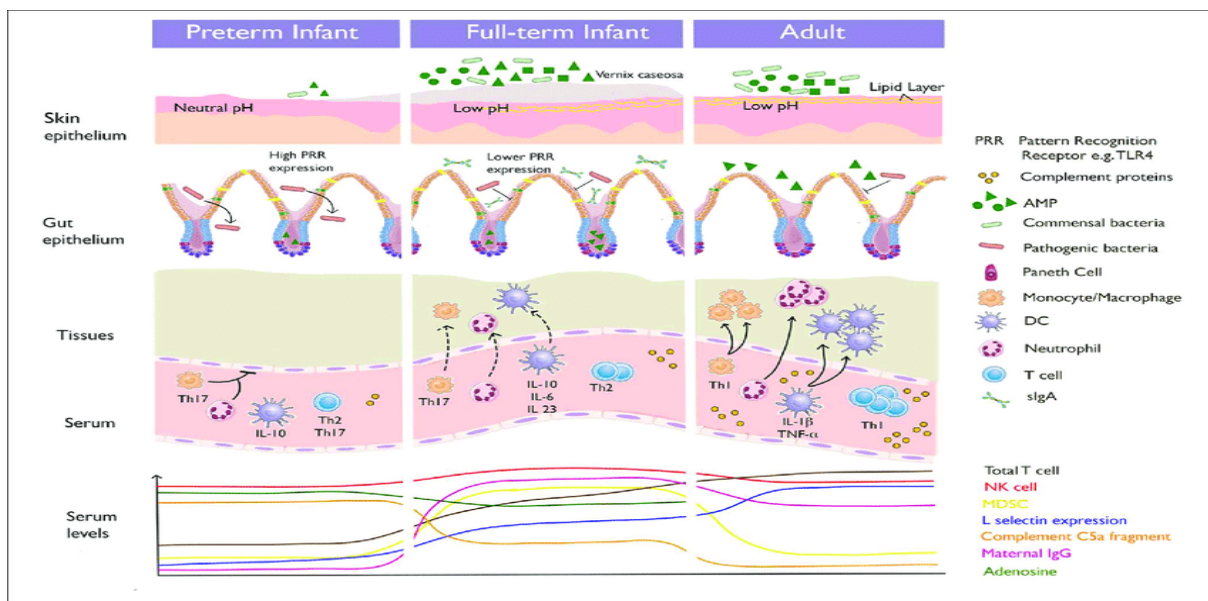


Figure 5 : Présentation schématique des facteurs immunitaires sur leurs sites anatomiques, illustrant leur interaction (J.Hacham, 2020).

❖ Fonction atténuée des récepteurs de type Toll-like chez les nouveau-nés prématurés

La surveillance immunitaire innée est réalisée par l'activation de récepteurs de surface cellulaire appelés Pattern Recognition Récepteur (PRR), qui comprennent les récepteurs de type (TLR), (NOD)(nucleotide oligomerization domain receptors), I (NLR)(nod-like receptor)et (RIG-I)(rig-like receptor) (RLR). Les TLR (Toll-like receptor) ont été au centre de la recherche immunologique néonatale en raison de l'étendue des connaissances scientifiques fondamentales dans ce domaine. Les réponses des cytokines TLR sont nettement atténuées dans le sang de cordon ombilical prématuré par rapport à leurs homologues nés à terme ou chez les adultes, lorsqu'elles sont examinées soit dans des populations de cellules, soit sur une base par cellule(Sharma et al., 2012).

❖ Les peptides solubles/ les protéines

Ont la capacité de tuer directement les agents pathogènes grâce à leurs propriétés antimicrobiennes. La production de facteurs solubles, tels que l'immunoglobuline (Ig), par le fœtus est limitée, de sorte qu'il doit dépendre de l'approvisionnement maternel. L'IgG spécifique de l'antigène est transférée à travers le placenta depuis la circulation maternelle en grande quantité après 32 semaines de gestation. Le transfert augmente avec l'âge fœtal ; les prématurés ont donc de faibles taux d'IgG maternelles circulantes. De faibles niveaux d'IgG entraînent un manque d'opsonisation, entraînant des déficiences dans la phagocytose. Les protéines et peptides antimicrobiens (APP) sont libérés des leucocytes, y compris les neutrophiles, les monocytes/macrophages et les lymphocytes, et peuvent se lier aux micro-organismes et les détruire. Les APP agissent par divers mécanismes de destruction des agents pathogènes. Les voies classiques, alternatives et du complément de la lectine sont toutes réduites dans leurs capacités de destruction des agents pathogènes chez les nourrissons prématurés. Les protéines du complément agissent par divers mécanismes pour activer la protéine C3 et induire la phagocytose. Les nouveau-nés prématurés sont déficients dans la production de C1, C4 (voie classique) et de facteur B (voie alternative) par rapport aux nouveau-nés à terme. Les nourrissons prématurés sont également déficients en lectine de liaison au mannose (MBL), récepteur de reconnaissance de formes, dont la production augmente à mesure que l'âge gestationnel augmente(Melville and Moss, 2013).

❖ Les cellules immunitaires innées

○ Les phagocytes

Ils comprennent les neutrophiles, les monocytes/macrophages et les cellules dendritiques (CD). Les prématurés ont un bassin réduit de neutrophiles et monocytes, et leurs précurseurs, en raison de la réduction du taux de facteur de stimulation des colonies de granulocytes (G-CSF) et de facteur de stimulation des colonies de granulocytes et de macrophages (GM-CSF). La monocytopenie et la neutropénie relatives des prématurés

peuvent grandement affecter leur capacité à combattre l'infection. Les neutrophiles sont parmi les premiers intervenants dans l'infection et jouent un rôle important dans la clairance bactérienne. En réponse à un agent pathogène envahissant, les neutrophiles migrent vers le site de l'infection pour digérer et tuer ces micro-organismes. Les neutrophiles des prématurés peuvent rencontrer des difficultés à migrer vers les sites d'infection en raison d'une réduction de l'expression des molécules d'adhésion telles que la L- sélectine et la E- sélectine. Les neutrophiles ingèrent et tuent les agents pathogènes en libérant des enzymes de leurs granules cytoplasmiques.

Les monocytes sont des cellules phagocytaires transmissibles par le sang qui se différencient en macrophages ou DC. Les monocytes ont des mécanismes bactéricides et sont impliqués dans la sécrétion de cytokines et de chimiokines et dans la présentation de l'antigène, les monocytes/macrophages peuvent activer d'autres cellules immunitaires telles que les cellules B et les cellules T. Les monocytes des prématurés ont une production réduite de cytokines, mais une efficacité similaire dans la phagocytose et la destruction intracellulaire des agents pathogènes que nouveau-nés à terme ; cependant, ils peuvent être limités dans leur capacité à activer la réponse immunitaire adaptative en raison de l'expression réduite du complexe majeur d'histocompatibilité (MHC) de classe II sur les leucocytes des nouveau-nés prématurés , limitant ainsi leur capacité à présenter l'antigène aux lymphocytes T et à les activer.

- **Les Cellules tueuses naturelles**

Les cellules NK jouent un rôle important dans la défense contre les cellules infectées par des virus et les cellules malignes en exprimant des récepteurs qui permettent de tuer ces cellules nocives. Le pourcentage de cellules NK dans le sang du cordon ombilical des prématurés et des nouveau-nés à terme est souvent légèrement inférieur à celui du sang des enfants et des adultes ; toutefois, le nombre absolu est légèrement supérieur, en raison d'une numération lymphocytaire globalement plus élevée chez les nourrissons. Les cellules NK fœtales et néonatales sont principalement déficientes en matière de production d'IFN γ et de TNF α et présentent une fonction cytotoxique réduite par rapport aux cellules adultes. Cinquante pour cent des cellules NK du sang du cordon des prématurés et des enfants nés à terme peuvent effectuer une cytolyse (mesurée à 15-60 % dans diverses études) par rapport aux cellules NK adultes. Les cellules NK tuent les cellules cibles infectées qui sont recouvertes d'anticorps IgG dans un processus connu sous le nom de cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC). L'activité ADCC des cellules NK néonatales a été mesurée à environ 50% de celle des cellules NK adultes.

En général, il existe peu de données sur le rôle des cellules NK dans les ECN (entérocolite nérosante néonatale), mais une petite étude prospective a révélé que les prématurés atteints d'ECN présentaient une réduction de la proportion de leurs cellules NK par rapport aux témoins. (Sampah and Hackam, 2020).

1.1.4.2. L'immunité adaptative

L'immunité adaptative, impliquant des lymphocytes (cellules B et T), est spécifique des agents pathogènes et nécessite l'acquisition d'une mémoire immunologique. La recombinaison génétique des récepteurs de la surface cellulaire des lymphocytes entraîne une augmentation du répertoire de reconnaissance des agents pathogènes. La reconnaissance d'un agent pathogène entraîne l'activation des lymphocytes, la destruction de l'agent pathogène et la production de lymphocytes mémoires, ce qui conduit à des réponses immunitaires adaptatives plus rapides lors de rencontres ultérieures avec le même agent pathogène. La maturation de l'immunité adaptative se produit principalement après la naissance à terme, de sorte que tous les nouveau-nés prématurés présentent des déficiences dans l'activation des lymphocytes T et la production de cytokines, la production d'immunoglobulines des lymphocytes B et les interactions entre les lymphocytes T et B (Melville and Moss, 2013).

❖ Les lymphocytes T

On a constaté que les nouveau-nés prématurés présentent une lymphopénie marquée (jusqu'à 50 % de réduction) avec une diminution significative du pourcentage de lymphocytes totaux, CD4+ et CD8+ par rapport aux enfants nés à terme. La réduction est la plus remarquable parmi la population CD8+, ce qui entraîne une augmentation du rapport CD4/CD8. Les DC et les macrophages induisent la production d'IL-12 après avoir rencontré des antigènes. L'IL-12 stimule à son tour les cellules NK et induit les cellules T CD4+ naïves à devenir des cellules effectrices de type Th1 qui produisent de l'IFN γ , déclenchant l'expression de cytokines pro-inflammatoires, comme l'IL-1 β , le TNF α , et une nouvelle régulation à la hausse de la production d'IL-12. Les cellules T CD4+ naïves prématurées présentent une activation réduite et une altération de la différenciation Th1 précoce, y compris la production d'IFN γ . Lorsqu'elles rencontrent des stimuli, ces cellules T expriment une polarisation Th2 et Th17, une faible polarisation Th1 et de faibles réponses innées à l'interféron de type 1 antiviral. On les qualifie donc de Th2 asymétriques. La production d'IFN γ par les cellules T CD4+ naïves stimulées du sang de cordon a été mesurée comme étant 5 à 10 fois inférieure à celle des cellules T CD4+ adultes. Les facteurs de transcription T-bet, GATA3 et ROR γ t régulent la différenciation en phénotypes Th1, Th2 et Th17, respectivement. En conséquence, des études récentes ont montré que la proportion de

cellules T CD4+ exprimant T-bet est réduite au sein de la population de cellules T de prématurés. Étant donné la réponse Th2 relativement préservée, les cellules T de prématurés sont encore capables d'aider les cellules B des nouveau-nés à synthétiser des anticorps. La fonction CD8 est également relativement intacte chez le prématuré, la production d'IFN γ par les cellules T CD8+ naïves stimulées du sang de cordon étant comparable à celle des adultes.(Sampah and Hackam, 2020).

❖ Les lymphocytes b

Après stimulation, les cellules B activées se différencient en plasmocytes, qui produisent de grandes quantités d'anticorps. Au cours de ce processus, les cellules B sont capables de passer de l'IgM à d'autres isotopes d'anticorps (IgG, IgA, IgE), un processus connu sous le nom de changement de classe, sans altérer la spécificité de l'antigène. L'incapacité du nouveau-né à changer efficacement de classe ou à produire des anticorps en réponse aux polysaccharides limite la résistance aux agents pathogènes bactériens contre lesquels la mère a produit peu ou pas d'anticorps IgG(Collins et al., 2018). Le transfert passif d'anticorps au fœtus et au nouveau-né se fait par le biais du transfert des IgG maternelles du placenta ou des IgA sécrétoires du lait maternel. In utero, les concentrations d'immunoglobulines sériques fœtales sont significativement faibles jusqu'à 18 à 20 semaines de gestation. La concentration d'immunoglobulines fœtales augmente avec le transfert d'immunoglobulines G (IgG) maternelles à travers le placenta au cours du troisième trimestre de la grossesse. Les nouveau-nés prématurés de moins de 22 semaines de gestation présentent 10 % du taux d'anticorps maternel, ce taux passant à 50 % entre 28 et 32 semaines et dépassant de 20 à 30 % le taux maternel à terme. Ce niveau plus faible d'IgG par rapport aux nourrissons nés à terme est probablement dû à un temps de transfert plus court, à des niveaux de production plus faibles et au transport placentaire. Les anticorps de ces nourrissons présentent une faible activité opsonique pour tous les types d'organismes. Les concentrations d'IgG peuvent encore baisser après la naissance chez ces prématurés en raison de l'hypogammaglobulinémie physiologique normale qui se produit chez tous les nourrissons. Cependant, le lait maternel des mères de prématurés présente des taux d'IgA plus élevés que le lait des mères de nouveau-nés à terme. Les essais cliniques évaluant l'effet de l'administration d'immunoglobulines orales chez les prématurés n'ont révélé aucun effet de l'administration d'immunoglobulines orales sur le risque de maladies à médiation immunitaire telles que l'ECN(entérocolite nécrosante néonatale)(Sampah and Hackam, 2020).

1.2 Les infections chez les nouveau-nés prématurés

1.2.1. Généralités

Dans le monde, plus de 15 millions de nourrissons naissent prématurément chaque année, et plus d'un million en meurent. La prématurité est aujourd'hui la cause la plus fréquente de décès néonatal, et une proportion importante de survivants de la prématurité sont infectés par des organismes étrangers, tels que des bactéries, des virus ou des champignons qui envahissent le corps, ou qui sont normalement présent dans le corps deviennent infectieux en raison de l'immunité réduite du bébé (AboutKidsHealth, s.d.). Les infections chez les prématurés se divisent en deux catégories distinctes. Les infections néonatales précoces (INP), également appelées infections materno-fœtales (IMF), surviennent entre le premier et le quatrième jour de vie. Les infections néonatales tardives (INT), qui surviennent entre le quatrième et le vingt-huitième jour de vie, comprennent les INT primitives transmises en postnatales et les INT nosocomiales (Leperchois-Loritte). Ces infections peuvent avoir plusieurs origines, notamment l'utérus, le vagin ou l'environnement de l'unité de soins intensifs néonataux. L'infection peut affecter toutes les parties du corps ou seulement quelques-unes, et peut avoir différents degrés de sévérité (AboutKidsHealth, s.d.).

1.2.1.1. La septicémie chez les nouveaux nés prématurés

La septicémie néonatale est définie comme une maladie des nourrissons âgés de moins d'un mois (Adkins et al., 2004), et touche jusqu'à 20 % des nouveau-nés prématurés ou des nouveau-nés de très faible poids de naissance, entraînant la mort de 18 % d'entre eux. La santé des nouveau-nés peut se détériorer rapidement, et ils peuvent développer un choc septique et mourir avant que l'identification de l'agent et les tests de sensibilité aux antimicrobiens ne soient prêts. Étant donné que l'inflammation est un événement important dans le processus de septicémie, de nombreuses études ont porté sur la mesure des médiateurs inflammatoires afin de permettre un diagnostic précoce de la septicémie (Segura-Cervantes et al., 2016). Les infections chez les nouveau-nés se manifestent souvent par une septicémie, avec ou sans signes focaux d'infection. Cette maladie fait généralement référence à des infections bactériennes, fongiques et virales systémiques qui peuvent être associées à différents symptômes (Kristóf et al., 2009).

1.2.1.2. Classification

❖ Septicémie à début précoce (EOS)

Différentes classifications concernant le moment de l'apparition des symptômes ont été utilisées, allant de 24 heures à 7 jours pour la septicémie "précoce". Dans de nombreux rapports, la septicémie a été définie comme une septicémie à début précoce (EOS), si l'infection commence avant 72 heures de vie. Dans de nombreux autres rapports, selon

Vesikari et al. Les infections à " début précoce ", définies comme étant jusqu'à l'âge d'une semaine, peuvent également provenir d'une colonisation intra-utérine, mais peuvent aussi être contractées pendant l'accouchement par contact avec des agents pathogènes dans le canal de naissance provenant de l'environnement de l'USIN (Unité de Soins Intensifs Neonatals). De plus, ils utilisent l'expression " maladie à début très précoce ", si elle débute <24 heures de vie, alors que l'infection s'est probablement produite in utero, ce qui justifie la classification de ce groupe comme une seule entité. La période exacte définie comme infection à début précoce n'est pas très importante, car 80-90% des infections de la première semaine de vie ont leur début dans les 2 premiers jours de vie (Kristóf et al., 2009) .

❖ **Septicémie à début tardive (LOS)**

La septicémie tardive (LOS) est définie si elle est survenue après 3 jours ou après la première semaine de vie. Elle est probablement le résultat d'une infection nosocomiale. Certains rapports utilisent des définitions supplémentaires spécifiques, comme la septicémie à début tardif (LLOS) avant 2 mois ou la septicémie néonatale à début très tardif (VLONS), définie comme une septicémie débutant 60 jours après la naissance. Ces définitions ont largement contribué au diagnostic et au traitement en identifiant les microorganismes susceptibles d'être responsables de la septicémie pendant ces périodes et les résultats attendus de l'infection. L'âge moyen au moment du diagnostic de la septicémie tardive varie de 14 à 36 jours (Kristóf et al., 2009) .

1.2.1.3. Symptômes

Les signes et les symptômes de la septicémie néonatale ne sont pas spécifiques. Ils comprennent la fièvre ou l'hypothermie, la détresse respiratoire, y compris la cyanose et l'apnée, les problèmes d'alimentation, la léthargie ou l'irritabilité, l'hypotonie, les convulsions, la fontanelle bombée, la mauvaise perfusion, les problèmes de saignement, la distension abdo minale, l'hépatomégalie, les selles gaussiennes, l'ictère inexplicable (Shah et Padbury, 2014) . Alors que les nouveau-nés à terme ont été décrits comme étant plus susceptibles de réagir à une infection bactérienne par de la fièvre, les nouveau-nés prématurés étaient plus susceptibles de répondre par une hypothermie, en raison de la difficulté transitoire à contrôler la température, en particulier au cours des deux premiers jours. (Kristóf et al., 2009) .

1.2.1.4. Diagnostic

Une évaluation diagnostique complète inclut :

- Une culture sanguine

- Ponction lombaire (si le nourrisson est suffisamment stable sur le plan clinique pour tolérer la procédure et si elle ne retardera pas l'instauration de l'antibiothérapie) (voir " Ponction lombaire " ci-dessous).
- Numération sanguine (NFS) avec différentiel et numération plaquettaire.
- Radiographie thoracique (si des symptômes respiratoires sont présents).
- Cultures des aspirations trachéales en cas d'intubation.
- Taux de protéine C-réactive (CRP) et/ou de procalcitonine (PCT) - Ces tests ne sont pas systématiquement requis mais peuvent être utilisés pour déterminer la durée du traitement s'ils sont suivis en série (Morven S Edwards, 2021).

1.2.1.5. Causes

Les membres de la flore génitale maternelle, tels que le SGB et *E. coli*, peuvent passer dans le liquide amniotique par le canal de naissance, soit à travers des membranes amniotiques intactes, soit, plus fréquemment, après rupture des membranes. Une fois que le liquide amniotique infecté est aspiré ou avalé par le fœtus, les agents pathogènes peuvent traverser les barrières muqueuses immatures, entraînant une pneumonie ou une bactériémie, et peuvent pénétrer la barrière hémato-encéphalique, entraînant une méningite. Les agents pathogènes inhabituels qui colonisent ou infectent le vagin ou d'autres parties de l'appareil reproducteur maternel peuvent causer une septicémie néonatale due à *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp, *Mycoplasma hominis*, *Candida* spp et autres.

La colonisation de la peau ou des muqueuses par des agents pathogènes potentiels peut se produire par les mains du personnel soignant ou des membres de la famille, par l'eau utilisée dans les systèmes d'humidification des incubateurs ou des ventilateurs, ou par des objets contaminés tels que les stéthoscopes, qui peuvent transporter des organismes directement d'un patient à l'autre. Les micro-organismes colonisateurs peuvent pénétrer dans la circulation sanguine par des lésions de la peau ou des muqueuses ou par translocation gastro-intestinale, ou être introduits par des dispositifs invasifs tels que des cathéters vasculaires, des tubes endotrachéaux ou des tubes d'alimentation.

La transmission hématogène transplacentaire de bactéries est une voie rare de SOE et se produit principalement avec *Listeria monocytogenes*. Chez les prématurés et les enfants à terme, le mode de transmission le plus courant des SOE est l'infection amniotique ascendante. Les membres de la flore génitale maternelle, comme les SGB et *E. coli*,

organismes responsables de la majorité des cas de SOE, peuvent passer par le canal de naissance pour atteindre le liquide amniotique, soit à travers des membranes amniotiques intactes, soit, plus fréquemment, après la rupture des membranes (Kristóf et al., 2009) .

❖ Les Organismes à Gram positif

Streptococcus agalactiae, streptocoque du groupe B [SGB]

Le tractus gastro-intestinal est le réservoir naturel des SGB et la principale source de colonisation vaginale. Environ 10 à 40 % des femmes enceintes sont colonisées par des SGB dans le vagin ou le rectum. Cette colonisation peut être transitoire, chronique ou intermittente. Au moins 35 % de leurs nourrissons sont colonisés. La densité de la colonisation du nourrisson détermine le risque de maladie envahissante, qui est 40 fois plus élevé en cas de forte colonisation. Les SGB sont une cause majeure de septicémie néonatale. Le risque de décès des prématurés est plus de trois fois supérieur à celui des enfants nés à terme. Par rapport aux enfants nés à terme, les prématurés sont beaucoup plus susceptibles de contracter une maladie invasive à SGB, en particulier le LOS (septicémie à début tardive) et le VLOS. Tous les principaux types de streptocoques du groupe B (types Ia, Ib, I a/c, II, III, IV et V) sont capables de coloniser la femme et de provoquer un EOS (septicémie à début précoce).

Staphylococcus aureus : Le staphylocoque doré est une cause beaucoup moins courante de septicémie néonatale au cours des dernières décennies que lors de son incidence maximale. Cependant, il peut être un pathogène nosocomial particulier dans les unités de soins intensifs néonataux (USIN). La surpopulation, le manque d'espace, le nettoyage insuffisant du matériel et l'absence initiale d'une attitude correcte à l'égard des techniques scrupuleuses de lavage des mains semblent contribuer à la propagation du SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méticiline).

Staphylocoques à coagulase négative (CoNS) : Les CoNS sont des organismes commensaux courants, peu pathogènes chez les hôtes immunocompétents, mais les nouveau-nés prématurés sont particulièrement sensibles aux infections invasives. La détection des CoNS dans les hémocultures des patients fébriles peut être compliquée. La principale espèce impliquée dans l'infection néonatale est *S. epidermidis*, qui représente environ 50 à 80 % de la colonisation du CoNS et 60 à 93 % des infections sanguines du CoNS.

Enterococcus species : Même si elles ne représentent qu'une faible proportion des septicémies néonatales, les espèces d'entérocoques méritent une mention spéciale à cause

de l'incidence croissante des septicémies néonatales à entérocoques (4-15%) avec un taux de mortalité d'environ 20% dans plusieurs études et de l'émergence de la résistance à la vancomycine parmi les entérocoques. *Enterococcus faecalis* et *E. faecium* sont tous deux responsables de septicémies chez les nouveau-nés prématurés, *E. faecalis* représentant plus de 80 % de ces cas (Kristóf et al., 2009).

❖ Les organismes à Gram négatif

Escherichia coli : Le SOE à *E. coli* se présente souvent à l'accouchement et se caractérise par une bactériémie avec ou sans méningite. Le choc septique dû à l'endotoxémie peut être un signe de présentation. Les nouveau-nés peuvent également être colonisés par *E. coli* à la naissance ou par contact avec des soignants colonisés pendant leur séjour à l'USIN et développer une infection ultérieurement. Plusieurs études ont montré une augmentation de l'incidence des septicémies dues à des bactéries à Gram négatif, en particulier *E. coli*, et notamment chez les prématurés.

Pseudomonas spp. : L'infection à *Pseudomonas* est très rarement acquise par voie périnatale ; cependant, elle fait partie des organismes gram-négatifs les plus fréquents à l'origine de septicémies nosocomiales chez les patients de l'USIN.

Haemophilus influenzae : peut être transmis verticalement de la mère à l'enfant au cours de l'accouchement et provoque occasionnellement des EOS chez les prématurés. La mortalité a été signalée jusqu'à 90 %. La septicémie à *Haemophilus* non typable est de plus en plus souvent identifiée chez les nouveau-nés, en particulier chez les prématurés.

Bactériémie anaérobie : Le rôle des anaérobies (en particulier *Bacteroides fragilis*) reste peu clair, bien que des décès soient attribués à *Bacteroides bacteremia*. Dans les enquêtes les plus récentes, les anaérobies représentaient moins de 5 % des cas de bactériémie néonatale (Kristóf et al., 2009).

1.2.2. Signes cliniques

Les signes cliniques suivants doivent être pris en compte

*Tout nouveau-né qui va mal, sans raison apparente, est a priori suspect d'infection.

* signes clinique évoquant l'infection néonatale :

- Fièvre (> 37,8 °C) ou hypothermie (< 35 °C)
- Signes hémodynamiques : teint gris, tachycardie, bradycardie, augmentation du temps de recoloration capillaire, hypotension artérielle,

- Signes respiratoires : geignements, tachypnée, dyspnée, pauses respiratoires, Détresse respiratoire,
- Signes neurologiques : fontanelle tendue, somnolence, troubles du tonus, troubles De conscience, convulsions,
- Signes cutanés : purpura, éruption et ictère (Sab).

1.2.3. Marqueurs biologiques

❖ Hémoculture

Le diagnostic de certitude repose idéalement sur deux hémocultures positives avec le même micro-organisme. En pratique, une seule hémoculture positive accompagnée de signes cliniques et biologiques (syndrome inflammatoire) est généralement retenue pour le diagnostic de bactériémie/septicémie nosocomiale chez le nouveau-né. La ponction lombaire n'est pas systématique. Elle est réalisée, dans un deuxième temps, si l'hémoculture est positive, en fonction du micro-organisme isolé ; elle est rarement faite dans les sepsis à SCoN dont l'évolution sous traitement est rapidement favorable. (Doit et al., 2015).

❖ Anomalies de l'hémogramme

La séquence chronologique classique de la réponse leucocytaire à l'infection est la suivante : neutropénie, myélémie, polynucléose neutrophile. La neutropénie est un phénomène assez précoce de durée généralement courte, elle est liée au trapping des polynucléaires neutrophiles sur le lieu de l'infection. L'apparition de formes jeunes de leucocytes dans la circulation sanguine traduit la forte stimulation médullaire, elle précède et accompagne l'hyperleucocytose. Ainsi, la constatation d'une neutropénie ou d'une hyperleucocytose et/ou d'une myélémie sont des marqueurs d'infection qui ont été étudiés au cours de la période néonatal.

Une thrombopénie inférieure à $100\ 000/\text{mm}^3$ est, dans ce contexte, évocatrice d'infection bactérienne

❖ Protéine C-réactive (CRP)

Cette protéine est actuellement le marqueur biologique le plus largement utilisé pour le diagnostic de l'infection bactérienne néonatale. C'est une protéine de la phase aiguë de l'inflammation, dont la synthèse et la libération hépatique sont déclenchées par l'interleukine 6, libérée par les macrophages. Elle ne traverse pas la barrière placentaire. Sa technique de dosage est facile et rapide. Elle est normalement non détectable dans le sérum. Sa valeur seuil habituellement retenue est de 6 mg/L. Sa cinétique est plus rapide que celle du fibrinogène et de l'orosomucoïde. Son taux

sérique s'élève entre 6 et 12 heures après le début de l'infection, culmine après 24-48 heures puis décroît rapidement pour se normaliser en 4 et 7 jours.

❖ Le fibrinogène

a été le premier marqueur utilisé avec une valeur seuil de 3,5 g/L de h0 à h48 et de 4 g/L au-delà. Sa sensibilité et sa spécificité sont proches de 70 et 80% au cours des premières heures de vie, l'hyperfibrinogénémie dure tant que durent les phénomènes inflammatoires. Son intérêt est limité par la lenteur de sa cinétique qui ne permet pas de l'utiliser comme marqueur précoce de l'inflammation.

❖ L'orosomucoïde

Sa cinétique est superposable à celle du fibrinogène avec, en conséquence, les mêmes limites de fiabilité au stade précoce de l'infection. Il aurait, en revanche, un intérêt comme marqueur de guérison de l'infection. Ses concentrations normales sont inférieures à 0,24 g/L de j0 à j2 et inférieures à 0,42 g/L ensuite. Certains auteurs proposent un dosage couplé à la CRP ce qui permettrait de poser le diagnostic dans près de 90% des cas.

❖ La procalcitonine (PCT)

Cette pro-hormone est normalement synthétisée par les cellules C de la thyroïde et qui se transforme en calcitonine dans la circulation sanguine. Chez le nouveau-né, il existe un pic physiologique survenant vers la 24^{ème} heure de vie, de 4 à 20 µg/L, suivi d'une baisse progressive, pour atteindre un plateau entre le 2^{ème} et le 5^{ème} jour de vie. En situation infectieuse, on observe une élévation du taux sérique de cette pro-hormone, dont le rôle est inconnu dans les phénomènes anti-infectieux

❖ Les cytokines

Les cytokines sont des molécules qui permettent aux cellules de l'organisme et, en particulier, aux cellules immunocompétentes de dialoguer entre elles. Lorsqu'il se produit une réponse inflammatoire à l'introduction dans l'organisme d'un antigène, qu'il soit infectieux ou non, il y a production séquentielle des différentes cytokines. Le macrophage joue un rôle central particulièrement important dans ce phénomène. Les trois principales cytokines produites par le macrophage sont : l'interleukine 1 (IL-1), l'interleukine 6 (IL-6) et le tumornecrosis factor (TNF). La production de ces cytokines est déclenchée soit directement par l'endotoxine bactérienne, soit par l'intermédiaire d'autres médiateurs, tels que les fractions C3a et C5a du complément, le plateletactivating factor (PAF); l'interféron (IFN), A l'inverse, l'interleukine 4 (IL-4), les heatshockprotein (HSP) et les hormones stéroïdiennes ont une action négative sur le macrophage,

ces cytokines intervenant en amont des protéines de l'inflammation et l'infection étant la cause quasi exclusive d'inflammation chez le nouveau-né(Sab, s. d.).

1.2.4. Traitement des infections chez les prématurés

Le traitement antibiotique empirique néonatal incluait le plus fréquemment l'ampicilline et la gentamicine. Bien que l'étude ait révélé que ces agents antimicrobiens restaient efficaces dans la majorité des cas, les chercheurs indiquent qu'une surveillance continue devrait permettre de contrôler la sensibilité aux antibiotiques des agents pathogènes de la septicémie à début précoce(Mary Bates, 2020)

Le choix du traitement empirique doit être fondé sur différents facteurs : le moment et le contexte de la maladie, les microorganismes les plus fréquemment rencontrés, les profils de sensibilité des agents pathogènes et les facteurs de risque. Fréquemment rencontrés, les profils de sensibilité de ces organismes, le lieu de l'infection suspectée et la sécurité de l'antibiotique. L'innocuité de l'antibiotique. Le traitement empirique initial des infections précoces devrait consister en l'administration d'ampicilline et d'un aminoglycoside par voie intraveineuse ou intramusculaire(Mehmet Satar, s.d.)

1.3 Les rapports cellulaires :

Les rapport (NLR) (LMR) (NPR), ce sont des biomarqueurs inflammatoires qui peuvent être utilisés comme indicateurs de l'inflammation systémique ; ils s'agitent d'une mesure simple qui n'ajoute pas de coût aux tests de laboratoire de l'hémogramme complet, qui sont couramment effectués dans les hôpitaux. Le NLR a été testé comme guide pour le pronostic de différentes maladies, telles que la septicémie, et les patients ont été divisés en survivants et non survivants(Martins1, 2019)

1.3.1 Le rapport Neutrophiles/Lymphocytes (NLR)

Le NLR, en divisant le nombre absolu des neutrophiles sur le nombre des lymphocytes de la formule sanguine complète, peut être utilisé comme marqueur alternatif de la septicémie néonatale, en particulier dans les pays en développement. C'est un examen facile et relativement peu coûteux. Une meilleure détection de la septicémie néonatale prouvée peut être obtenue en utilisant le NLR lorsqu'il est combiné avec la CRP(Khadijah Rizky Sumitro, s.d.).

1.3.2 Le rapport Lymphocytes/Monocytes LMR

Le LMR a été calculé en divisant le nombre absolu de lymphocytes par le nombre absolu de monocytes. Le LMR, en tant que nouveau biomarqueur inflammatoire, reflète l'équilibre entre

un pronostic favorable impliquant des lymphocytes et un pronostic défavorable impliquant des monocytes. La détection précoce de niveaux anormaux de LMR peut être utile pour prédire le développement de la ROP chez les nouveau-nés prématurés(Yu-Xiang Hu, s.d.) .

1.3.3 Le rapport Neutrophiles / Plaquettes

Calculé en divisant le nombre absolu de Neutrophiles par Nombre de plaquettes par unité de volume. De la formule sanguine complète.

Problématique et Objectifs :

La septicémie néonatale est une préoccupation permanente lors de la prise en charge des nouveau-nés, notamment prématurés. Le manque de signes cliniques spécifiques et de marqueurs inflammatoires fiables, disponibles et accessibles est une source de prescription excessive d'antibiotiques qui à son tour constitue un des facteurs d'émergence de résistance bactérienne aux antibiotiques.

Objectif

Comparer les ratios neutrophiles / lymphocytes, lymphocytes / monocytes et neutrophiles / plaquettes chez des prématurés présentant une infection et des prématurés non infectés.

But :

Montrer que le calcul simple de ratios à partir de la numérotation sanguine est un marqueur potentiel de l'infection chez le prématuré.

Chapitre 2

Partie expérimentale

1.1 Conception de l'étude

Notre étude réalisée au niveau de service pédiatrie (Néonatale) dans lequel nous avons prélevé des échantillons et laboratoire de recherche BIOMOLIB de l'université abou bekr belkaid Tlemcen ou nous avons préparé les échantillons.

L'étude se concentre sur les nouveau-nés prématurés mais infecté par la septicémie.

Deux populations sont choisies et incluses dans ce travail :

- Des nouveau-nés prématurés témoins qui ne sont pas infecté par la septicémie en bonne santé.
- Des nouveau-nés prématurés infecté par la septicémie.

2.1. Matériel et méthodes

2.1.1. Prélèvements sanguins et préparation des échantillons

Les échantillons sanguins ont été prélevés par infirmière de service pédiatrie dans le même jour de la naissance de bébé au niveau de veine jugulaire et mis dans des tubes contenant l'EDTA. Le sang des tubes EDTA est utilisé pour le comptage de la formule numérique sanguin.



Figure 06 : les prélèvements dans la veine jugulaire.

2.1.2. La formule numérique sanguins NFS

En pratique, cet examen est réalisé sur sang veineux (chez l'adulte) ou capillaire (chez le petit enfant) prélevé sur anticoagulant sec (EDTA). Lors du prélèvement, le tube doit être agité pour éviter la formation de micro-caillots. De plus, pour avoir une analyse cytologique correcte et une numération plaquettaire exacte, l'examen doit être réalisé rapidement (<2h) après le prélèvement. La numération et la formule sanguine sont maintenant réalisées sur des automates de façon suffisamment fiable. Cependant, ces appareils ne détectent pas les cellules dont la présence dans le Sang est anormale (cellules malignes par exemple). En conséquence, en cas d'anomalie quantitative ou qualitative détectée par l'automate, une étude morphologique du frottis de sang est Indispensable. Elle est réalisée par étalement d'une goutte de sang sur une lame de verre et coloration au May-Grunwald-Giemsa. L'analyse microscopique permet au biologiste :

- d'étudier la morphologie des globules rouges, des leucocytes, des plaquettes,
- d'établir une formule leucocytaire avec détection d'éventuelles cellules anormales non identifiées par l'automate (blastes, myélémie, cellules lymphomatoses),
- d'apprécier la présence d'éventuels agrégats plaquettaires permettant de détecter une fausse thrombopénie .(LAPOVSO, s.d.)



Figure 7 : l'appareil de FNS

2.1.3. Réalisation de frottis sanguin (FS)

- Immédiatement après le prélèvement sanguin, déposer une goutte de sang à l'extrémité de la lame porte-objet (près du bord maté).

- Placer devant la goutte une deuxième lame et former un angle de 30 à 45° avec la première lame.
- Reculer cette deuxième lame inclinée, jusqu'au contact de la goutte de sang pour la faire s'étendre, par capillarité, sur toute la largeur de la lame inclinée.
- Déplacer cette deuxième lame, d'un mouvement rapide vers l'avant, en glissant sur la première lame.
- Le frottis obtenu :
 - ✓ Ne doit être ni trop épais, ni trop mince
 - ✓ Ne doit atteindre ni les bords, ni les extrémités de la lame.
 - ✓ Ne doit pas présenter de trous, ni de stries
 - ✓ Doit être aussi régulier que possible(Lilia, 2015)



Figure 08: Frottis sanguin préparé

2.1.3.1 La coloration MGG

❖ Coloration manuelle

La coloration de MGG est une méthode de coloration utilisée en hématologie pour différencier et compter les différentes populations de cellules sanguines dans des préparations cellulaires (cytologie).

May-Grünwald Giemsa est réalisée classiquement sur :

- Des frottis sanguins
- Des myélogrammes(problio, 2018)

La coloration s'effectue par immersion la lame préparée dans les boites de coloration, le passage de la lame d'une boite à l'autre s'effectue par un temps précis.

1. May-Grunwald pur..... 2 min
2. Giemsa dilué au 1/10 5 min
3. Giemsa dilué au 1/10 5 min
4. Giemsa dilué au 1/10 5 min
5. Eau tamponnée PH 7 2 min
6. Eau tamponnée PH 7 3 min

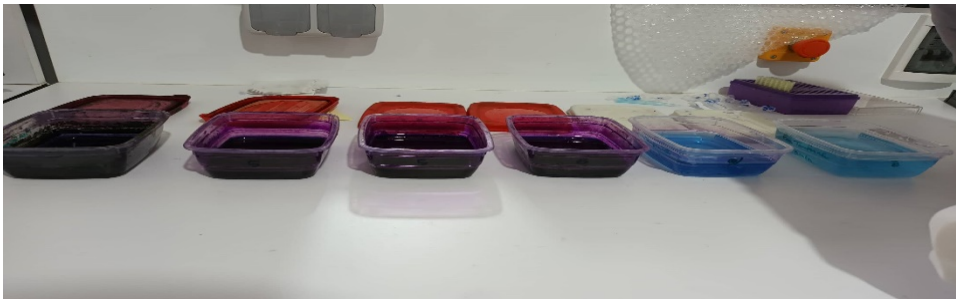


Figure 9: les boites de coloration MGG.

2.1.4. Récupération des images microscopiques

Après la coloration MGG nous sécherons les lames, il faut attendre au moins 5 minutes avant de pouvoir lire les frottis .la lame est observée sous microscope optique à grossissement x40.



Figure 10 : microscope optique (Grossissement x40)

Après l'observation microscopique, nous avons remarqué qu'il y avait différents types de cellules parmi ces cellules nous n'avons besoin que (Neutrophiles, Lymphocytes, Monocytes) pour calculer les rapports.

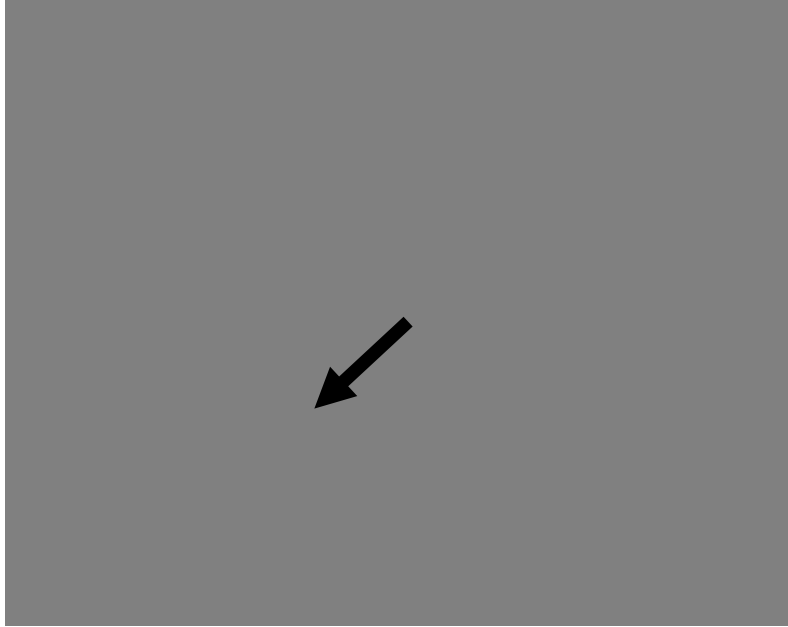


Figure 11 : observation d'un lymphocyte par microscope optique

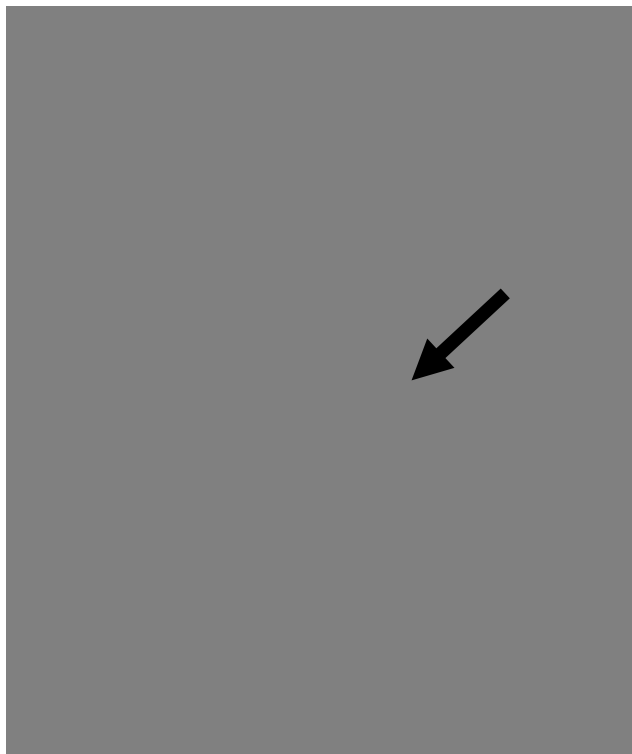


Figure 12 : observation d'un neutrophile par microscope optique

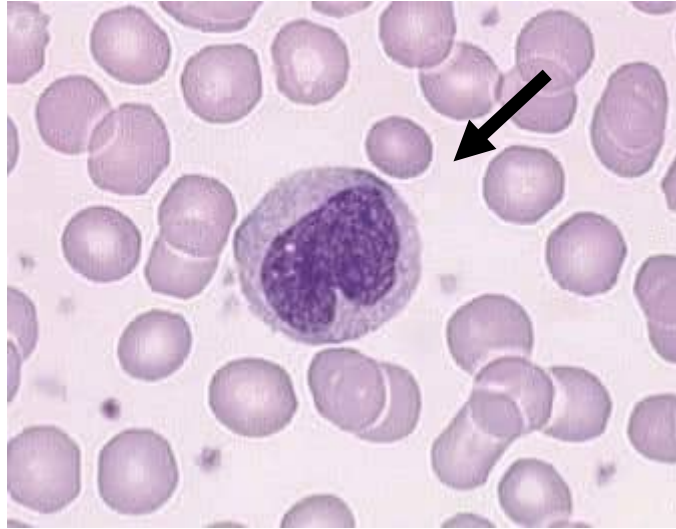


Figure 13 : observation d'un monocyte par microscope optique(F.Valensi, s.d.)

Chapitre 3

Résultats

Rapport des cellules dans la septicémie chez le nouveau-né prématuré :

- Au cours de la lecture des lames nous avons arrêtés jusqu'à 100 cellules dans chaque lame.
- Nous avons calculé les neutrophiles, les monocytes et les lymphocytes séparément, et les plaquettes à partir de FNS. Nous avons trouvé :

Tableau 1 : les résultats de numérotation des cellules séparément.

Les cellules	Témoin 1	Témoin 2	Témoin 3	Patient 1	Patient 2	Patient 3
Lymphocytes	47	68	66	62	76	68
Neutrophiles	52	29	30	23	21	27
Monocytes	1	3	4	16	3	5
Plaquettes	427	102	362	106	117	298

- Nous avons utilisé les résultats de numérotation dans les calculs des rapports

Les rapports de Témoins 1 (Abed xx) :

- Rapport Neutrophiles /Lymphocytes :

$$\frac{N}{L} = \frac{52}{47} = 1.06$$

- Rapport Lymphocytes / Monocyte

$$\frac{L}{M} = \frac{47}{1} = 47$$

- Rapport Neutrophiles / Plaquettes

$$\frac{N}{p} = \frac{52}{427} = 0.121$$

Tableau 2 : les résultats des rapports.

Les rapports	T 1	T 2	T 3	P 1	P 2	P 3
NLR	1.106	0.426	0.45	0.370	0.27	0.397
LMR	47	22.67	16.5	3.875	25.34	13.6
NPR	0.121	0.28	0.08	0.218	0.179	0.90

- Enfin, on a inséré les résultats de chaque rapport dans l'Excel pour calculer la moyenne et nous donner des graphes.

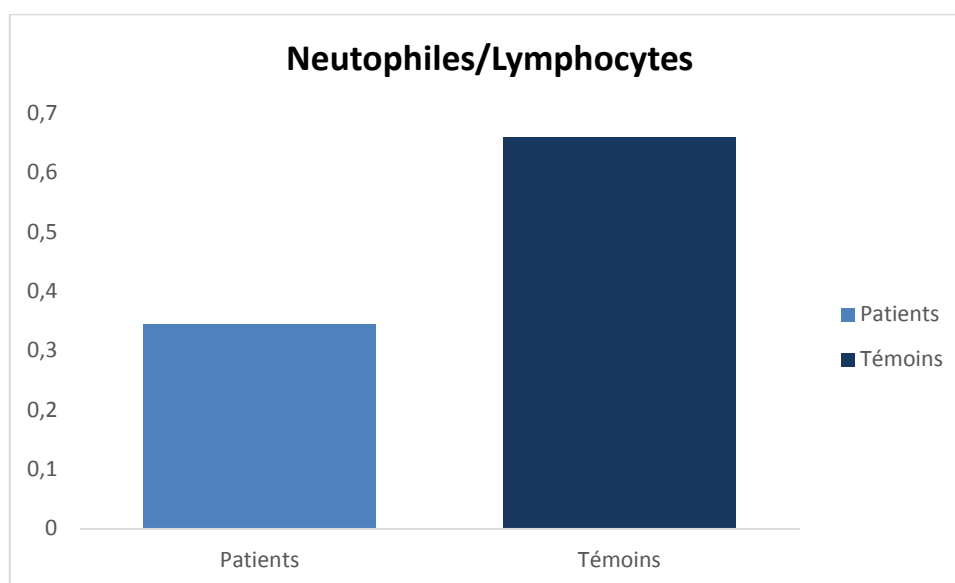


Figure 14 : Le rapport Neutrophiles / Lymphocytes chez les témoins et les patients

Chaque valeur représente la moyenne, on compare les moyennes entre les nouveau-nés prématuré infectés par la septicémie et les nouveaux nés prématuré qui ne sont pas infecté, on observe une différence dans le taux du NLR ; chez les patients est 0.35, chez les témoins 0.65, donc le taux de rapport des témoins est plus élevé que les patients. Ce graphe est réalisé par l'Excel.

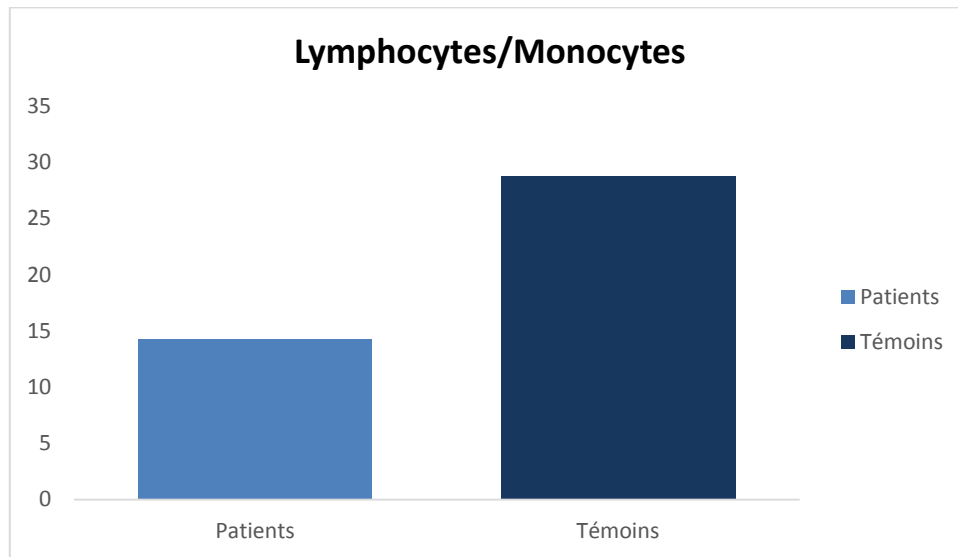


Figure 15 : Rapport Lymphocyte / Monocytes chez les patients et les témoins.

Chaque valeur représente la moyenne, on compare les moyennes entre les nouveau-nés prématuré infectés par la septicémie et les nouveaux nés prématuré qui ne sont pas infecté, on observe une différence dans le taux du LMR ; chez les patients est 14, chez les témoins 29, nous concluons que le taux de rapport chez les témoins est presque le double de patients

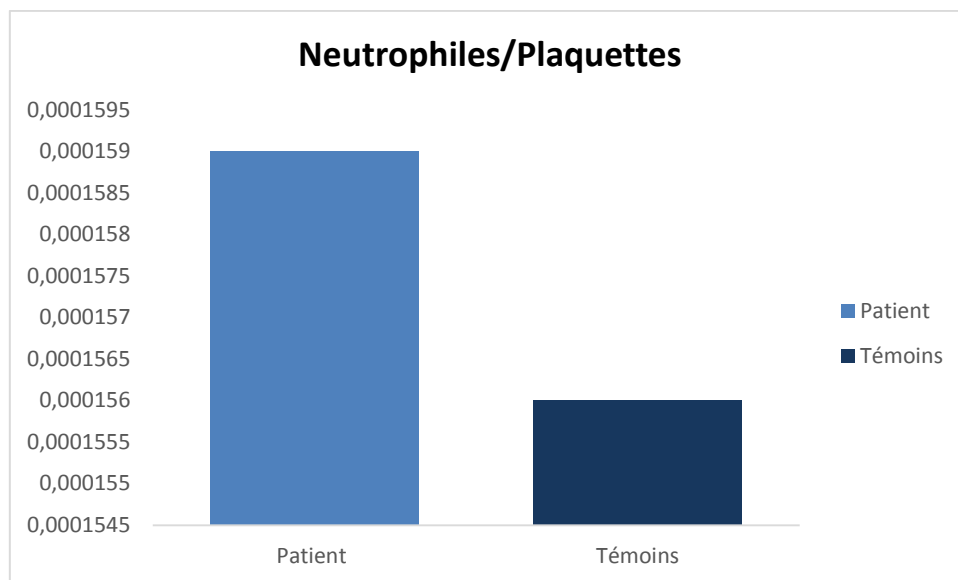


Figure 16 : Le rapport Neutrophiles/ Plaquettes chez les patients et les malades.

Chaque valeur représente la moyenne, on compare les moyennes entre les nouveau-nés prématuré infectés par la septicémie et les nouveaux nés prématuré qui ne sont pas infecté,

on observe une différence dans le taux du NPR ; chez les patients est 0.000159, chez les témoins 0.000156, nous concluons que le taux de rapport chez les patients est plus élevé par rapport aux témoins.

Chapitre 4

Discussion

Nous avons commencé notre étude depuis mai, on a d'abord commencé à travailler au niveau du service pédiatrie de l'hôpital « CHU » Tlemcen, on avait prélevé des échantillons mais nous avons un défi et des problèmes et manque d'échantillons parce que les nouveaux nés prématuré surtout qui sont infecté par la septicémie été très fragile, on avait aussi des problèmes de coagulations du sang chez les patients avec des micro-caillots . Nous avons réalisé notre pratique au niveau du laboratoires de recherche, on a préparée et colorée les frottis puis on avait les observer sous un microscope optique et ont avait numéroté les cellules Neutrophiles, Lymphocytes, Monocytes, et les plaquettes à partir du NFS, on avait remarqué il Ya une diminution dans les leucocytes chez les patients à cause de La septicémie qui se produit lors de la propagation dans le sang d'une infection, initialement localisée quelque part dans l'organisme.

Comme il est mentionner dans ce article du journal « SEPSIS » qui écrit par (Guyomar) que les vaisseaux sanguins commencent alors à fuir . Après ont avait calculé les NLR, LMR, NPR et inséré les résultats des rapports dans l'logiciel d'Excel et nous avons obtenus des graphes ; ces graphes nous a permis de connaitre les NLR, LMR chez les témoins est plus élevé par rapport aux patients et dans les NPR le taux du patient très élevé. Contrairement au résultat déjà trouvée nos résultats indiquent que les patients atteint de la septicémie ont des valeurs diminuées de NLR, LMR et augment de NPR par rapport aux témoins , nous concluons que ces biomarqueurs ne sont pas fiables.

Chapitre 5

Conclusion

D'après ce que nous avons trouvé dans les résultats des trois ratios NLR , LMR , NPR nous avons constaté qu'ils sont exprimés de manière différente chez les prématurés infectés par rapport à ceux non infectés . La faible taille de l'échantillon ne permet pas d'extrapoler ces résultats pour des populations plus importantes.

Chapitre 6

Bibliographie

A

Adkins, Becky, Claude Leclerc, et Marshall-Clarke Stuart. (2004). « Adkins,Becky ,Leclerc,Claude,Stuart,Marshall-Clarke ». *Nature Reviews Immunology* 4 (7): 553-64. <https://doi.org/10.1038/nri1394>.

Afanetti, M, et P Tissières. (2011). « Immunité innée du nouveau-né — Spécificités physiologiques et conséquences cliniques », [5.https://link.springer.com/article/10.1007/s13546-010-0018-](https://link.springer.com/article/10.1007/s13546-010-0018-5).

B

Basha, Saleem, Naveen Surendran, et Michael Pichichero. (2014). « Immune Responses in Neonates ». *Expert Review of Clinical Immunology* 10 (9): 1171-84. <https://doi.org/10.1586/1744666X.2014.942288>.

Bobjgalindo, Vasaprevia.jpg: Sigrid de Rooijderivative work: (2009). *twee vormen van vasa previa*. Vasaprevia.jpg. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Placta_prv.jpg.

Bellambatu vishnu bhat , Selvaraj manoj kumar kingsley.(2018).Innate immunity at birth: implications for inflammation and infection in newborns.immunity and inflammation in health and disease.

Brenda L. Tesini .(2020). « Septicémie chez le nouveau-né (Septicémie chez le nouveau-né ; Septicémie néonatale) »MD, University of Rochester School of Medicine and Dentistry.<https://www.msmanuals.com/fr/accueil/probl%C3%A8mes-de-sant%C3%A9-infantiles/infections-chez-le-nouveau-n%C3%A9/septic%C3%A9mie-chez-le-nouveau-n%C3%A9> ?

C

Collins, Amélie, Jörn-Hendrik Weitkamp, et James L Wynn. (2018). « Why Are Preterm Newborns at Increased Risk of Infection? » *Archives of Disease in Childhood - Fetal and Neonatal Edition* 103 (4): F391-94. <https://doi.org/10.1136/archdischild-2017-313595>.

D

Doit, Catherine, Valérie Biran, et Yannick Aujard. (2015). « Infections nosocomiales en néonatalogie ». In *Infections néonatales*, 91-106. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-2-294-74135-7.00009-7>.

f

F.Valensi,2005, Morphologie des cellules sanguines normales Morphological characteristics of peripheral blood normal cells,<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1638621304000199>

G

Gale, Robert Peter. (1987). « Development of the Immune System in Human Fetal Liver ». In *Fetal Liver Transplantation*, édité par Jean-Louis Touraine, Robert Peter Gale, et Vinod Kochupillai, 45-56. Dordrecht: Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-009-3365-1_6.

H

Härtel, Christoph, Kirstin Faust, Ingmar Fortma NHSnn, Alexander Humberg, Julia Pagel, Clara Haug, Reinhard Köhl, et al. (2020). « Sepsis Related Mortality of Extremely Low Gestational Age Newborns after the Introduction of Colonization Screening for Multi-Drug Resistant Organisms ». *Antimicrobial Resistance & Infection Control* 9 (1): 144. <https://doi.org/10.1186/s13756-020-00804-8>.

Holt, P. G., et C. A. Jones. 2000a. « The Development of the Immune System during Pregnancy and Early Life ». *Allergy* 55 (8): 688-97. <https://doi.org/10.1034/j.1398-9995.2000.00118.x>.

How long do babies carry their mothers immunity . (2021) .<https://www.nhs.uk/common-health-questions/childrens-health/how-long-do-babies-carry-their-mothers-immunity/>

J

John Tregoning . Imperial College London , UK . <https://www.immunology.org/public-information/bitesized-immunology/immune-development/neonatal-immunology?>

J.Haham,[https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.\(2020\).00899/full?fbclid=IwAR3mxJOanF_Ytw8YwrZ2D0SWkU9uXs2hr-_18WcQIPjyUkNMSVcEWGuEDug](https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.(2020).00899/full?fbclid=IwAR3mxJOanF_Ytw8YwrZ2D0SWkU9uXs2hr-_18WcQIPjyUkNMSVcEWGuEDug).

K

Kristóf, Katalin, Erika Kocsis, et K. Nagy. (2009). « Clinical Microbiology of Early-Onset and Late-Onset Neonatal Sepsis, Particularly among Preterm Babies ». *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 56 (1): 21-51. <https://doi.org/10.1556/AMicr.56.2009.1.2>.

Kumar, S. Kingsley Manoj, et B. Vishnu Bhat. (2016). « Distinct Mechanisms of the Newborn Innate Immunity ». *Immunology Letters* 173 (mai): 42-54. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2016.03.009>.

Khadijah Rizky Sumitro1 , Martono Tri Utomo1 *and Agung Dwi Wahyu Widodo2 .(2021).Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio as an Alternative Marker of Neonatal Sepsis in Developing Countries,<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7786268/pdf/OMJ-36-01-2000025.pdf>

L

Leperchois-Loritte, Marie.(2019). s. d. « Infections néonatales bactériennes et conseils à l'officine », « Listériose - Ministère des Solidarités et de la Santé ». s. d. <https://solidarites-sante.gouv.fr/soins-et-maladies/maladies/maladies-infectieuses/article/listeriose>.

M

Melville, Jacqueline M., et Timothy J. M. Moss. (2013). « The Immune Consequences of Preterm Birth ». *Frontiers in Neuroscience* 7. <https://doi.org/10.3389/fnins.2013.00079>.

Morelli, Sara, Mili Mandal, Laura T. Goldsmith, Banafsheh N. Kashani, et Nicholas M. Ponzio. (2015). « The Maternal Immune System during Pregnancy and Its Influence on Fetal Development ». *Research and Reports in Biology*, octobre, 171. <https://doi.org/10.2147/RRB.S80652>.

Maria Isabel de Moraes - Pinto, Fabiola Suano - Souza, Carolina S. (2020), Aranda. Immune System : development and acquisition of Immunological Competence, *Journal de Pédiatrie*

Mary Bates, Ph.D. (2020). Prevention and treatment of early-onset sepsis in newborns. *Pediatrics Nationwide*, <http://pediatricsnationwide.org>

Mehmet Satar, Ferda Özlü. (2012). Neonatal Sepsis : a continuing disease burden. *Turk J Pediatr*, http://www.turkishjournalpediatrics.org/uploads/pdf_TJP_1099.pdf?fbclid=IwAR0WAiNLONx5cGSIToz-HJZ9jEP75KRPyRn031y8naHmFRKCPY2BYJm1r7o

Morven S Edwards, MD. (2021). Clinical feature, evaluation, and diagnosis of sepsis in term and late preterm infants. <https://www.medilib.ir/uptodate/show/5043?fbclid=IwAR20sjYARGuwYtyTYII3op1KfvLWpRgJYF-T5EdQI-jWUBK3LX4JrGI1Ed0>

Eduarda Cristina Martins¹, Lilian da Fe Silveira¹, Karin Viegas², Andrea Diez Beck², Geferson Fioravanti Júnior², Rafael Viegas Cremonese¹, Priscila Schmidt Lora², 2019, Neutrophil-lymphocyte ratio in the early diagnosis of sepsis in an intensive care unit: a case-control study, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6443306/pdf/rbti-31-01-0063.pdf>

Mohan Pammi, MD, PhD. (2022). Treatment and prevention of bacterial sepsis in preterm infants <34 weeks gestation. https://www.aboutkidshealth.ca/article?contentid=1778&language=english&fbclid=IwAR3SfHL_IgHKLJ2WG07bt7nogZt4D1ltwcxN4MQp8TicNhhRZwVGeJwmAeY

O

Othmane LEBBARDI. (2010). LA SOUFFRANCE NEONATALE : Expérience du service de néonatalogie CHU Mohammed VI, Marrakech. <http://wd.fmpm.uca.ma/biblio/theses/annee-hm/FT/2010/these38-10.pdf>

S

Sampah, Maame Efua S., et David J. Hackam. (2020). « Dysregulated Mucosal Immunity and Associated Pathogenesis in Preterm Neonates ». *Frontiers in Immunology* 11 (mai): 899. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00899>.

Segura-Cervantes, Enrique, Javier Mancilla-Ramírez, Jorge González-Canudas, Erika Alba, René Santillán-Ballesteros, Deneb Morales-Barquet, Gabriela Sandoval-Plata, et Norma Galindo-Sevilla. (2016). « Inflammatory Response in Preterm and Very Preterm Newborns with Sepsis ». *Mediators of Inflammation* 2016: 1-8. <https://doi.org/10.1155/2016/6740827>.

Shah et Padbury. (2014). « Neonatal Sepsis: An Old Problem with New Insights Shah et Padbury ». *Virulence* 5 (1): 170-78. <https://doi.org/10.4161/viru.26906>.

Sharma, Ashish Arunkumar, Roger Jen, Alison Butler, et Pascal M. Lavoie. (2012). « The Developing Human Preterm Neonatal Immune System: A Case for More Research in This Area ». *Clinical Immunology* 145 (1): 61-68. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2012.08.006>.

T

Tsafaras, George P., Polyxeni Ntontsi, et Georgina Xanthou. (2020). « Advantages and Limitations of the Neonatal Immune System ». *Frontiers in Pediatrics* 8 (janvier): 5. <https://doi.org/10.3389/fped.2020.00005>.

TCHOZYME, Comptage cellulaire-Bonnes pratiques pour l'obtention de résultats fiables, <https://yris.ozyme.fr/fr/techozyme34-comptage-cellulaire?fbclid=IwAR1m18O1s-VfTq7LuUE6GbGAqlTWKjRnTRLmFN1pIlWnAXZ-Q5Qrhj5P81A>.

Y

Yoon, Hye Sun. (2010). « Neonatal Innate Immunity and Toll-like Receptor ». *Korean Journal of Pediatrics* 53 (12): 985. <https://doi.org/10.3345/kjp.2010.53.12.985>.

Yu-Xiang Hu¹, Xiao-Xuan Xu¹, Yi Shao¹, Gao-Le Yuan², Feng Mei¹, Quan Zhou¹, Yi Cheng¹, Jun Wang³, Xiao-Rong Wu¹. (2017). « The prognostic value of lymphocyte-to-monocyte ratio in retinopathy of prematurity ». *Lymphocyte-to-monocyte ratio in retinopathy of prematurity*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5686371/pdf/ijo-10-11-1716.pdf>