

UNIVERSITE D'ANGERS
UFR DE MEDECINE
ECOLE DE SAGES-FEMMES RENE ROUCHY

DIPLOME D'ETAT DE SAGE-FEMME

**VALEUR DIAGNOSTIQUE DE LA PROCALCITONINE
AU CORDON DANS LES SUSPICIONS D'INFECTIONS
MATERNO-FOETALES**

MEMOIRE SOUTENU ET PRESENTE PAR

Wensie LIVE MING CHU

Née le 15 Avril 1989

Directeur de mémoire : Docteur SAVAGNER Christophe

Promotion 2009-2013

SOMMAIRE

GLOSSAIRE

INTRODUCTION	6
--------------------	---

PREMIERE PARTIE : GENERALITES

1. Infection materno-fœtale	8
2. Modes de contamination	8
3. Germes en cause et prévention	9
3.1. Germes	9
3.2. Prévention	10
3.3. Conséquences de la politique préventive	11
4. Démarche diagnostique et classification	12
4.1. Critères anamnestiques	12
4.1.1 Critères majeurs	13
4.1.2 Critères mineurs	13
4.2. Critères cliniques	13
4.3. Critères biologiques	15
4.4. Critères bactériologiques	16
4.5. Classification	18
5. Démarche thérapeutique	19
5.1. Traitements	19
5.2. Conséquences de l'antibiothérapie	20

DEUXIEME PARTIE : L'ETUDE

1. Objectifs	21
2. Matériels et méthodes	21
2.1. Type d'étude	21
2.2. Critères d'inclusion	21
2.3. Critères d'exclusion	21
2.4. Recueil de données	22
2.5. Critères de jugement	22
2.6. Variables étudiées	22
2.7. Méthodes statistiques et logiciels utilisés	23

2.7.1	Saisie et exploitation des données	23
2.7.2.	Méthodes statistiques	24
2.7.3.	Analyse de la valeur diagnostique	24
2.7.4.	Courbe de ROC et nomogramme de Bayes	25
3.	Résultats.....	25
3.1.	Population de l'étude et circonstances de naissance.....	25
3.1.1.	Données générales de la population.....	25
3.1.2.	Description des nouveau-nés infectés.....	28
3.2.	Incidence de l'infection materno-fœtale dans la population.....	31
3.2.1.	Incidence de l'IMF en fonction des circonstances de naissances	31
3.2.2.	Incidence de l'IMF en fonction des résultats d'examens	32
3.2.3.	Analyse des données quantitatives en fonction du statut infectieux.....	33
3.3.	Critère de jugement principal : valeur diagnostique	33
3.3.1	Description des valeurs mesurée de la Procalcitonine	33
3.3.2	Courbe ROC de la Procalcitonine au cordon	35
3.3.3	Probabilité post-test et nomogramme de Bayes	37

TROISIEME PARTIE : DISCUSSION

1.	Population de l'étude	40
2.	Limites de l'étude	40
3.	Point Positif de l'étude.....	43
4.	Analyses et comparaison	43
5.	Propositions	47

CONCLUSION.....	49
-----------------	----

BIBLIOGRAPHIE.....	50
--------------------	----

ANNEXES.....	57
--------------	----

RESUME	74
--------------	----

REMERCIEMENTS

Je tenais tout d'abord à remercier le Docteur Christophe Savagner qui m'a donné la possibilité de m'initier dans le domaine de la recherche clinique en participant activement à l'installation de l'étude HEMOCORD au sein du pôle Mère-Enfant ; et également pour son aide dans la réalisation de ce mémoire.

Je remercie l'Ecole de Sage-femme René Rouchy, et particulièrement Laurence SADI pour son écoute et sa bienveillance à l'égard des étudiants sages-femmes.

Je tenais à remercier Julie Gallais, initialement Attachée de Recherche Clinique concernant entre autre l'étude HEMOCORD, pour sa collaboration dans l'installation et la gestion de l'étude HEMOCORD.

Je remercie le Docteur Christèle Gras-Leguen, investigateur coordonnateur de l'étude HEMOCORD qui m'a permis de participer à ce projet et m'a autorisée à utiliser les données concernant la période étudiée.

Je tiens à remercier mes parents, mon frère et Cédric pour leur patience, leur écoute et leur soutien durant ces 5 années d'étude.

Et enfin je remercie mes amies de promotion pour ces 4 dernières années formidables.

GLOSSAIRE

- ANAES : Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé
- HAS : Haute Autorité de Santé
- IMF : Infection Materno-Fœtale
- CHU : Centre Hospitalier Universitaire
- SGB : *Streptococcus agalactiae*
- E.Coli : *Escherichia Coli*
- CDC : Center for Disease Control
- RPM : Rupture Prématuration des Membranes
- RPDE : Rupture de la Poche des Eaux
- ARCF : Anomalies du Rythme Cardiaque Fœtal
- PCT : Procalcitonine
- CRP : Protéine C-Réactive (C-Reactive-Protein)
- LG : Liquide gastrique
- ATB : Antibiotique
- SA : Semaines d'Aménorrhées
- CGP : Cocci Gram Positif
- BGN : Bacille Gram Négatif
- VPP : Valeur Prédictive Positive
- VPN : Valeur Prédictive Négative
- RV : Rapport de Vraisemblance
- Se : Sensibilité
- Sp : Spécificité

INTRODUCTION

L'Infection materno-fœtale concernerait 0,4‰ des naissances aux Etats-Unis et 1-4‰ naissances vivantes en France selon le dernier rapport de l'ANAES en 2002. [1,2] Malgré cette incidence peu élevée, la prise en charge précoce des infections demeure une préoccupation constante des pédiatres et sages-femmes, du fait de la difficulté de poser un diagnostic de certitude mais également des conséquences graves qui peuvent s'ensuivre. Notamment le *Streptococcus agalactiae*, le germe le plus fréquemment en cause puisqu'il est responsable en France de 0,2 infections bactériennes précoces sur 1000 naissances. Les conséquences d'une telle infection sont graves puisque 2 à 10% d'enfants nés à terme et infectés en décèdent et 10 à 30% pour les enfants prématurés infectés. [11]

Malgré les recommandations de l'ANAES de 2002 en matière de prévention des infections néonatales précoces, le diagnostic demeure difficile et est réalisé sur un grand nombre d'enfants puisqu'il repose sur des éléments peu spécifiques et très variables. Dans le doute, il n'est pas rare qu'une antibioprophylaxie précoce soit débutée, car s'assurer d'une réelle IMF pourrait retarder une prise en charge thérapeutique adéquate et entraîner de graves conséquences.

Or de nombreux auteurs estiment que la mise en place d'un traitement probabiliste n'est pas sans danger. Pour ne citer que quelques complications reconnues et liées à l'antibiothérapie précoce : on observe de nombreux effets délétères concernant la mise en place de la flore digestive du nouveau-né et le développement du système immunitaire ; il existe une sélection de germes résistants favorisant ainsi le développement d'infection nosocomiale.

Ainsi un diagnostic plus précis diminuerait considérablement la proportion d'enfants traités non infectés. Ainsi l'utilisation de marqueurs spécifiques aux infections bactériennes primitives, pourrait améliorer le diagnostic d'IMF et diminuer les pratiques probabilistes à l'origine de nombreuses complications qui peuvent s'avérer iatrogènes pour le nouveau-né.

L'objectif de cette étude est d'étudier la valeur diagnostique de la procalcitonine prélevée au cordon chez la population à risque et estimer si son utilisation pourrait améliorer la prise en charge des nouveau-nés en déterminant les enfants infectés des non-infectés.

PREMIERE PARTIE : GENERALITES

1. Infection materno-fœtale

L'Infection Materno-Fœtale est une infection bactérienne du nouveau-né résultant d'une transmission verticale materno-fœtale en période périnatale pouvant s'exprimer dès les premières minutes de vie, les premiers jours voire les premières semaines de vie.

L'infection bactérienne néonatale est classiquement répartie en 2 groupes dont les définitions varient selon les auteurs :

- infection néonatale précoce (*Early Onset Sepsis, EOS*) : survenant durant la première semaine de vie.

- infection néonatale tardive (*Late Onset Sepsis, LOS*) : survenant plus tardivement au cours du premier mois de vie.

La période étudiée sera limitée aux 3 premiers jours de vie car il a été démontré que les infections bactériennes de cette période sont quasiment exclusivement d'origine materno-fœtale, contrairement aux infections tardives dont les étiologies bactériennes sont multiples.

2. Modes de contamination

BLOND et al. décrivent 3 voies de contamination [9] :

- La voie hématogène transplacentaire** lors de bactériémie ou de septicémie maternelle. Il s'agit du type de contamination le plus rare.

- La voie ascendante**, qui est la plus fréquente. Les germes issus du tractus génital contaminent le liquide amniotique, que les membranes soient rompues ou non. Elle peut également survenir lors d'endométrite.

-**Lors du passage dans la filière génitale** au moment de l'accouchement : par inhalation ou ingestion des germes présents dans les sécrétions vaginales. Le risque infectieux est alors directement proportionnel à la virulence des bactéries ingérées, ainsi que les défenses immunitaires fœtales et maternelles. [3, 9]

3. Germes en cause et prévention

3.1 Epidémiologie

Le germe le plus fréquemment responsable des IMF est le *Streptococcus agalactiae* (streptocoque du groupe B). Il s'agit d'un cocci gram positif issu de la flore digestive, présent au niveau du périnée, du vagin, des voies respiratoires et de l'urètre masculin. En France le streptocoque B serait en cause dans 30-40% des infections bactériennes précoces. [7, 6, 46]. Le sérotype 3 est responsable des IMF les plus sévères.

Le second germe impliqué dans 16-36% des infections materno-fœtales, est *Escherichia Coli*, bacille gram négatif issu de la flore commensale du tube digestif. Si de nombreux sérotypes ont été recensés, le sérotype K1 en est le plus redoutable puisqu'il est responsable de 60-85% des méningites néonatales et 50% des septicémies selon BLOND et al. [9]

On retrouve d'autres bactéries impliquées dans les IMF, notamment *Haemophilus influenzae*, *mycoplasma*, *candida*, pneumocoques, *listeria monocytogenes*, les autres streptocoques. [1, 2, 3]

Le risque d'infection fœtale est variable selon le germe identifié. Ainsi on retrouve classiquement [3]:

Portage fréquent sans risque fœtal	Portage fréquent avec risque fœtal considérable	Portage exceptionnel avec risque fœtal majeur
corynébactérie streptocoques hémolytiques	<i>Streptococcus agalactiae</i> Entérobactéries (<i>Escherichia</i>	<i>Haemophilus influenzae</i> <i>Staphylococcus aureus</i>

lactobacilles	<i>Coli, Klebsiella)</i> <i>Enterococcus</i> Staphylocoques coagulases <i>Mycoplasma hominis</i> <i>Gardnerella vaginalis</i> <i>Ureaplasma urealyticum</i> <i>Candida albicans</i>	pneumocoque
---------------	---	-------------

3.2 Prévention

Selon plusieurs auteurs, de nombreuses complications obstétricales seraient liées au portage du *Streptococcus agalactiae*, présent chez 10-30% des femmes enceintes en France [9]. En effet ce germe augmente les risques d'accouchement prématuré, de chorioamniotite, d'infection de paroi, de septicémie et d'endométrite du post-partum. Dans les années 1970 il avait été démontré aux Etats-Unis que le SGB était responsable de 50% des décès néonataux liés aux IMF. [9]. Cette situation alarmante, associée au faible taux de femmes dépistées et pourtant porteuses du SGB ont généré l'idée d'un dépistage systématique du portage du SGB chez la femme enceinte.

C'est donc en 1996 que the Centers for Disease Control publie ses premières recommandations relatives à la prévention anténatale du risque infectieux. L'objectif du dépistage est de prédire le portage lors de l'accouchement en fonction de la constatation d'un portage à un moment donné au cours de la grossesse.

Aux Etats-Unis les premières recommandations concernant la prévention des infections périnatales à *Streptococcus agalactiae* datent de 1996 et ont été révisées à plusieurs reprises. En France l'ANAES publie ses premières recommandations en 2001 :

- Dépistage systématique du portage vaginal entre 34 et 38 SA
- Mise en place d'une antibioprophylaxie per partum, en cas de :
 - Antécédent d'infection materno-fœtale à streptocoque du groupe B lors d'une grossesse antérieure
 - Bactériurie au cours de la grossesse au SGB
 - Positivité du dépistage au SGB réalisé au cours du 9^{ème} mois

- Mise en place d'une antibioprophylaxie per partum en cas de résultats non connus du dépistage ou d'absence de dépistage du SGB si
 - prématurité
 - rupture des membranes supérieure à 12H
 - hyperthermie maternelle pendant le travail >38°C

Les recommandations concernant les modalités de l'antibioprophylaxie sont les suivantes : administration en intraveineuse de pénicilline G aux doses de 5 millions IU puis 2,5 millions IU toutes les 4 heures jusqu'à l'accouchement.

L'antibioprophylaxie est dite « complète » lorsqu'il y a eu au moins deux doses d'injectées à 4 heures d'intervalle. [1, 33]

Pour les autres germes, le dépistage systématique n'est pas recommandé.

Identifier les facteurs de risque et réaliser le dépistage du 9ème mois font de la sage-femme, un des acteurs principaux en matière de prévention médicale.

De plus, son rôle est primordial en salle de naissance puisque la sage-femme pourra décider, selon le contexte et les résultats des prélèvements de la mise en place d'une antibiothérapie selon le protocole instauré.

3.3 Conséquences de la politique préventive

Suite à la mise en place des recommandations en matière de dépistage et d'antibioprophylaxie per-partum, des résultats américains ont montré une baisse de l'incidence de l'infection materno-fœtale à SGB de 65% entre 1993 et 1998, et de 70% en 1999, dans les régions sélectionnées. A noter que selon le CDC, l'incidence des IMF avait commencé à décroître avant la publication des recommandations. [1, 9]

Changement dans l'épidémiologie des infections

Une étude réalisée par STOLL et al. a permis de mettre en évidence dans 15 centres américains, l'augmentation des sepsis à *E coli* entre les périodes de 1991-1993 et 1998-2000 après la mise de place de l'antibioprophylaxie. Ils montraient une chute significative des sepsis à *Streptococcus agalactiae* à 5,9‰ des nouveau-nés versus 1,7‰, tandis qu'à l'inverse on observait une augmentation de l'incidence des sepsis à *Escherichia coli* à 3,2 ‰ versus 6,8‰ (p= 0,004). [17]

Survenue plus tardive des signes d'IMF

Une étude réalisée en Espagne dans un service de néonatalogie [19] a mis en évidence le rôle de l'antibiothérapie précoce instaurée en 1992, dans l'apparition retardée de la symptomatologie infectieuse. Avant 1992, les incidences respectives étaient pour les EOS et LOS de 3,2 et 1,8‰ versus 2,5 et 4,6‰ après 1992, donc une diminution des sepsis précoces contre une augmentation des sepsis tardifs. [15,16, 19]

Escalade thérapeutique

La connaissance du statut maternel vis-à-vis du portage du SGB conduit à une modification de la prise en charge pédiatrique et ceci malgré l'antibioprophylaxie per partum administrée à la mère. En effet on observe une multiplication par 2,6 de l'antibiothérapie chez les prématurés ainsi qu'une prolongation de 1,8 fois la durée du traitement. [18]

Emergence de bactéries résistantes

Selon JOSEPH et al. le taux d'IMF à *Escherichia coli* ampi-R est passé de 25 à 67% ($p < 0,03$) depuis l'instauration d'une antibioprophylaxie par ampicilline chez les femmes en per partum. [20]

L'HAS préconise donc l'utilisation de pénicilline G dans le cadre de ses recommandations 2002.

4. Démarches diagnostiques et classification

Le diagnostic d'IMF repose sur une association d'éléments cliniques, biologiques et anamnestiques qu'il est important de définir.

4.1 Critères anamnestiques

Les critères anamnestiques correspondent à des éléments évocateurs d'un risque d'IMF plus élevé. Ils concernent toute la période précédant la naissance, l'accouchement en cours, mais aussi les antécédents lors d'une éventuelle grossesse antérieure.

Le rapport de l'ANAES de 2002 a permis de classer les facteurs anamnestiques selon deux catégories de risques d'IMF :

- des critères « majeurs » pour lesquels le risque d'IMF est élevé.
- des critères « mineurs » pour lesquels le risque de développer une IMF est plus faible.

4.1.1 Critères majeurs

- tableau évocateur de chorio-amnionite
- jumeau atteint d'une IMF
- température maternelle avant ou en début de travail > 38°C
- prématurité spontanée < 35 SA
- durée d'ouverture de la poche des eaux > 18 heures
- RPM < 37 SA
- en dehors d'une antibioprophylaxie maternelle complète
 - antécédent d'IMF à SGB
 - portage vaginal de SGB
 - bactériurie à SGB chez la mère pendant la grossesse.

4.1.2 Critères mineurs

- durée d'ouverture prolongée de la poche des eaux >12 h mais < 18 h
- prématurité spontanée < 37 SA et >= 35 SA
- anomalies du rythme cardiaque fœtal ou asphyxie fœtale non expliquée
- liquide teinté ou méconial

4.2 Critères cliniques

Il n'existe pas de signes spécifiques permettant un diagnostic de certitude d'IMF. Par ailleurs très peu de références existent démontrant la valeur diagnostique ainsi que la spécificité de ces signes. Cependant tous les médecins en charge des nouveau-nés s'accordent pour affirmer que :

« Tout nouveau-né qui va mal, et surtout sans raison apparente, est a priori suspect d'infection. » [1, 23]

Les signes cliniques évocateurs d'une IMF sont les suivants :

- fièvre ($> 37^{\circ}8$) ou hypothermie ($< 35^{\circ}C$)
- signes généraux : difficultés à téter
- signes hémodynamiques : teint gris, tachycardie, bradycardie, cyanose des extrémités, augmentation du temps de recoloration capillaire, désaturation, choc (fréquence cardiaque $> 180/mn$), pression artérielle moyenne anormale
- signes respiratoires : geignements, difficultés respiratoires avec tachypnée, dyspnée, pauses respiratoires, syndrome de détresse respiratoire aiguë, apnées
- signes neurologiques : fontanelle tendue, somnolence, troubles du tonus, troubles de conscience, convulsions
- signes cutanés : ictère précoce, purpura, éruption, cyanose
- signes digestifs : vomissements, météorisme abdominal, hépto-splénomégalie

D'autre part, si la symptomatologie demeure très variable selon les cas cliniques et contextes infectieux, il a été démontré que 71 % des nouveau-nés ont présenté des formes cliniques avant la 1^{ère} heure et 100 % étaient symptomatiques avant la 12^{ème} heure. [1, 3, 21, 22, 23]

Il est donc nécessaire de profiter du séjour à la maternité pour surveiller et dépister le plus précocement possible tout signe clinique d'infection, notamment dans les 12 premières heures de vie. Les sages-femmes de salle de naissance mais surtout de suites de couches ont par conséquent un rôle déterminant dans le dépistage des IMF.

La problématique actuelle du retour à domicile « précoce » soulève la question du retard de prise en charge précoce des IMF, les difficultés de repérer ces signes cliniques afin d'assurer la meilleure prise en charge des nouveau-nés dans les plus brefs délais.

4.3 Critères biologiques

L'hémogramme

D'après plusieurs ouvrages, cet examen est très peu spécifique à l'IMF.

En effet il existe une évolutivité physiologique des taux de leucocytes au cours des premiers jours de vie ainsi qu'une grande variabilité liée à l'âge gestationnel. De plus lors de toxémie maternelle, de fièvre maternelle, d'hémolyse et d'anoxo-ischémie fœtale, on observe une réponse leucocytaire, difficilement interprétable lors d'infections néonatales.

Les Protéines de l'inflammation

Pendant la période néonatale, l'infection représente la principale cause d'inflammation et permet donc l'utilisation des protéines inflammatoires dans le diagnostic de l'infection.

Au cours de l'inflammation sont libérées des cytokines qui vont induire la synthèse hépatique d'un certain nombre de protéines dont le taux sérique augmentera.

Par ailleurs, il est important de préciser que ces marqueurs ne passent pas la barrière placentaire, les taux mesurés chez le nouveau-né ne sont donc pas parasités par des protéines maternelles.

- **La Protéine C-Réactive ou CRP**

Cette protéine est actuellement le marqueur biologique le plus largement utilisé pour le diagnostic d'infection néonatale bactérienne. Elle est synthétisée et libérée lors de la phase aigüe de l'inflammation, seulement 6 à 12h après le début de l'infection, d'où sa sensibilité insuffisante pour diagnostiquer l'IMF avant les 12 premières heures de vie. En revanche des faux positifs peuvent être liés à l'inhalation méconiale, à des contusions musculaires, ou l'administration de surfactant, il est donc recommandé de réaliser plusieurs fois le prélèvement [7]. Malgré son caractère imparfait, son dosage rapide et facile en font un marqueur largement utilisé, notamment afin d'apprécier l'efficacité d'une antibiothérapie.

Au CHU d'Angers, sa valeur pathologique est estimée lorsque le taux sérique est supérieur à 10 mg/L.

- Les cytokines [36]

Ces molécules interviennent très tôt dans la cascade des marqueurs de l'inflammation, on s'est donc logiquement intéressé à ces molécules comme marqueurs précoces de l'infection néonatale, telle que l'interleukine 6. Du fait de la demi-vie courte des cytokines leur fiabilité est liée au moment de prélèvement par rapport au début de l'infection, l'IL6 par exemple, peut être dosée dans les 12 premières heures de vie et sera souvent associée à la CRP. Cependant on notera que le taux d'IL-6 s'élève au cours des infections virales et syndrome inflammatoires non infectieux. [7]

De plus la valeur seuil optimale des cytokines demeurent imprécise, et leurs dosages onéreux, d'où leur faible utilisation.

- La Procalcitonine ou PCT

Il s'agit d'une prohormone spécifique aux infections bactériennes, qui ne s'élève pas lors d'infection virale. Certaines études font état d'une élévation sérique de la PCT dans les cas de détresse respiratoire, d'anoxo-ischémie néonatale ou après l'administration de surfactant exogène. Son rôle dans les phénomènes anti-infectieux est encore peu connu et son dosage dans le diagnostic d'IMF n'est pas recommandé par l'HAS en raison du manque d'études réalisées. [7] Contrairement à la CRP, sa cinétique est plus rapide et on remarque un pic physiologique à 2 heures de vie. Ce pic physiologique rend de fait l'interprétation du seuil de positivité difficile, mais le prélèvement réalisé au cordon ombilical supprimerait cette difficulté. Sa valeur pathologique est estimée à 0,6ng/ml et des résultats sont obtenus après 30 min en laboratoire.

A Angers son dosage n'est pas instauré dans le diagnostic des IMF mais d'autres centres tels que le CHU de Nantes l'utilise couramment.

4.4 Critères bactériologiques

Liquide gastrique

Il s'agit d'un prélèvement réalisé à la naissance, précédant la première alimentation. Il permet de connaître la composition en bactéries du liquide amniotique inhalé par le nouveau-né in utero puis lors du passage dans la filière génitale. Son analyse a lieu en deux temps : une première exploration directe, puis une mise en culture.

L'examen direct est considéré positif dès lors que l'on retrouve un même morphotype bactérien dans plusieurs champs microscopiques. La positivité de cet examen constitue un facteur d'infection, nécessitant un dépistage et une surveillance renforcée. De plus l'examen direct du liquide gastrique permet d'observer la présence de polynucléaires, leur absence n'exclue cependant pas une situation pathologique.

L'analyse des résultats de l'examen direct nécessite une grande expérience de la part de l'examineur et doit prendre en compte le contexte clinique du couple mère-enfant.

La culture des prélèvements gastriques est réalisée en 24 à 48h. Dans les cas de nouveau-nés infectés, la bactérie isolée lors de la culture constitue alors l'étiologie principale de l'infection, d'autant plus si celle-ci est reconnue comme étant à haut risque infectieux.

D'autre part la négativité de cet examen, en dehors de toute antibiothérapie maternelle, constitue un élément important pour éliminer l'infection bactérienne.

L'HAS recommande la réalisation de 2 autres prélèvements périphériques complémentaires (oreille + un autre au choix) afin d'améliorer l'interprétation la performance diagnostique.

Au CHU d'Angers, aucun autre prélèvement périphérique n'est réalisé.

Placentoculture et frottis placentaires

Ces deux examens permettent de dépister les pathologies hématogènes en particulier celles à *Listeria monocytogenes*.

La biopsie placentaire est réalisée après l'accouchement au niveau des lésions ou près de l'insertion du cordon si le placenta semble normal.

Au CHU d'Angers, la placentoculture n'est réalisée que dans les cas de prématurité, où de suspicion d'infection.

Dans certains centres hospitaliers ce prélèvement est associé au liquide gastrique.

Hémoculture

Ce prélèvement bactériologique est l'examen *gold standard* permettant de diagnostiquer une infection bactérienne. La ponction est réalisée sur une veine périphérique ou un cathéter veineux ombilical. Au moins 1ml de sang néonatal doit être recueilli afin d'obtenir une meilleure sensibilité de l'examen. L'hémoculture est incubée au moins 5

jours, mais des premiers résultats apparaissent au bout de 48h. La négativité de ces derniers permet d'exclure une infection bactérienne chez un nouveau-né asymptomatique selon les recommandations 2002 de l'ANAES. De plus l'utilisation d'antibiotiques pendant le travail diminuerait la sensibilité de cet examen. [46, 54]

Ponction lombaire (PL)

L'examen bactériologique du liquide céphalo-rachidien (LCR), demeure un acte invasif et traumatique pour le nouveau-né. Aussi il sera recommandé uniquement dans les situations d'altération de l'état général, de signes neurologiques, de sepsis ou lors de la positivité d'une hémoculture.

Examen Cytobactériologique Urinaire (ECBU)

Cet examen est très peu réalisé dans les cas de suspicions d'IMF chez l'enfant de moins de 72 heures, et n'est pas recommandé par l'ANAES.

Autres prélèvements périphériques

Dans certaines situations il est prélevé divers autres prélèvements, non reconnus par l'ANAES, mais utilisés fréquemment par les pédiatres, contrairement à l'ECBU, rarement prélevé. Il s'agit notamment de prélèvement de vernix, de selles, etc.

Que ce soit en salle de naissance ou en service de suites de couches, la sage femme est confrontée aux situations infectieuses. Aussi elle peut être amenée à réaliser ces prélèvements, et donc en assure la qualité et la fiabilité. La sage-femme doit également savoir interpréter les résultats qu'elle transmettra au pédiatre si besoin.

4.5 Classification

L'association des différents critères décrits auparavant a permis de catégoriser les IMF en différents groupes [1]

- **Infection certaine** : Infection prouvée par la présence d'un germe pathogène dans un milieu normalement stérile (LCR, sang, urines, poumon...).

- **Infection probable** : Infection diagnostiquée par une anomalie clinique et/ou biologique, avec un voire plusieurs prélèvements bactériologiques périphériques positifs.

- **Infection possible** : Infection diagnostiquée par une anomalie clinique et/ou biologique, avec des prélèvements bactériologiques périphériques négatifs.

- **Colonisation** : positivité d'un prélèvement bactériologique périphérique, sans signes biologiques et/ou cliniques associés.

5. Démarches thérapeutiques

5.1 Stratégie thérapeutique

De l'état clinique de l'enfant dépendra la prise en charge thérapeutique initiale.

Nouveau-né symptomatique

La mise en place d'une antibiothérapie probabiliste est une urgence et doit être débutée le plus précocement possible, après la ponction des différents prélèvements biologiques et bactériologiques. En général on associe bêta-lactamine et aminoside qui sont administrés par voie intraveineuse.

Au bout de 48h la situation est réévaluée, le traitement doit être adapté en fonction des résultats des prélèvements s'il est maintenu, ou bien suspendu dans le cas d'amélioration de l'état du nouveau-né et de la négativité des résultats. Face à des tableaux cliniques préoccupants il est nécessaire de débiter une trithérapie en ajoutant une céphalosporine (Céfotaxime).

Nouveau-né asymptomatique

En l'absence de signes cliniques, toute démarche thérapeutique repose sur l'analyse des critères anamnestiques, biologiques et bactériologiques. En revanche en cas de chorioamniotite maternelle ou d'infection du 2^{ème} jumeau, le nouveau-né bénéficiera d'une antibiothérapie systématique.

Il est important de noter que l'antibioprophylaxie maternelle complète administrée en per partum ne permet pas d'exclure une infection néonatale et qu'il est important de rester vigilant quant à l'état clinique de l'enfant.

5.2 Conséquences de l'antibiothérapie

De manière générale, l'utilisation probabiliste d'antibiotiques à large spectre chez les mères ou chez les nouveau-nés n'est pas sans conséquences et ne doit pas être négligée. Il en résulte de nombreuses conséquences qu'il est primordial de connaître et à prendre en compte. STOCKLER M et al. estiment le taux de nouveau-nés suspects d'IMF et exposés aux antibiotiques de 82%. [51]

Conséquences immunologiques

L'antibiothérapie néonatale modifie la flore intestinale, déséquilibrant le système immunitaire de celle-ci. De plus l'administration parentérale d'antibiotiques favoriserait l'apparition d'entéocolite ulcéro-nécrosante, notamment chez le prématuré. Ainsi il a été observé que la modification de l'écosystème intestinale supprime la flore sensible, et entraîne une pression de sélection. Par exemple on note une multiplication microbienne des *Klebsiella* et l'émergence de *Pseudomonas aeruginosa* favorisés respectivement par la pénicilline A et le céfotaxime. [24, 25] .

D'autre part la surexposition des nouveau-nés aux antibiotiques favoriserait à plus long terme l'apparition d'allergies et d'asthme.

Résistances aux antibiotiques et infections nosocomiales

Le statut du portage maternel vis-à-vis du streptocoque du groupe B modifie parfois la prise en charge pédiatrique de certains nouveau-nés. Il n'est pas rare d'observer l'administration d'antibiotiques à large spectre et un allongement de la durée du traitement. Ces deux facteurs contribuent au phénomène de sélection et augmentent les infections à bactéries multirésistantes ainsi que les bactériémies à *Candida*. [5, 9]

Interférence dans la prise en charge

Une étude réalisée dans la région Centre de 1987 à 1991 aurait mis en évidence l'influence de l'antibiothérapie per partum et le Guthrie, dépistage néonatal effectué

systematiquement. En effet l'utilisation d'ampicilline ou de céfotaxime dans le traitement des infections materno-fœtales serait à l'origine d'erreurs dans le cadre du dépistage de la phénylcétonurie, notamment par inhibition du révélateur utilisé dans le test. (*Bacillus subtilis*)[34]

DEUXIEME PARTIE : L'ETUDE

1. Objectifs

Le but de cette étude est d'étudier la valeur diagnostique de la procalcitonine au cordon lors des suspicions d'IMF chez le nouveau-né. L'étude de ce marqueur aurait pour finalité d'améliorer la prise en charge du nouveau-né en mieux ciblant les infectés des non-infectés, afin de diminuer le nombre de bilans biologiques, d'hospitalisations et d'antibiothérapies.

2. Matériels et méthodes

2.1 Type d'étude

Cette étude a été réalisée du 5 Juin 2012 au 29 Novembre 2012 au CHU de Angers. Il s'agit d'une étude prospective, monocentrique et non interventionnelle. Elle est basée sur le protocole de l'étude HEMOCORD.

HEMOCORD est une étude prospective, multicentrique, non interventionnelle qui se déroule sur 18 mois, l'objectif étant d'évaluer la concordance diagnostique des hémocultures réalisées au cordon et en périphérie dans l'infection materno-fœtale précoce. Le CHU de Nantes en est le principal centre et le Dr GRAS-LEGUEN est le pédiatre investigateur de l'étude.

2.2 Critères d'inclusion

Les nouveau-nés inclus sont ceux de l'étude HEMOCORD qui ont présenté un facteur de risque d'infection materno-fœtale selon les critères de l'HAS et pour qui une PCT au cordon a été prélevée.

De plus le consentement des parents était indispensable.

2.3 Critères d'exclusion

Dans nos données ont été exclus les nouveau-nés dont le résultat de la procalcitonine était absent par défaut de réalisation ou de technique.

2.4 Recueil de données

Les données ont été recueillies grâce à un logiciel informatique intitulé *Clinsight*, par deux attachées de recherche clinique, et une étudiante sage-femme.

2.5 Critères de jugement

Le critère de jugement principal est la valeur seuil de la PCT au cordon dans le diagnostic des IMF. Celle-ci doit permettre de dépister et de traiter au moins autant d'enfants que le diagnostic basé sur les recommandations 2002 de l'ANAES.

La fiabilité de ce marqueur à dépister une IMF dépend de sa sensibilité, sa spécificité, sa valeur prédictive positive et négative ainsi que ses rapports de vraisemblance positif et négatif.

Les nouveau-nés ont été classés a posteriori en plusieurs catégories selon leur statut infectieux, sans prendre en compte les résultats de la PCT :

- Infecté certain
- Infecté probable
- Infecté possible
- Non infecté

Pour notre travail, nous avons déterminé les statuts infectieux des nouveau-nés selon les critères de l'HAS. Nous avons décidé de regrouper les « infectés certains » et les « infectés probables » et de les classer comme infectés. L'évolution clinique et biologique de l'enfant est aussi prise en compte donnant la possibilité de passer d'un statut à l'autre durant l'hospitalisation.

2.6 Variables étudiées

Nous avons étudié les variables suivantes en consultant les dossiers obstétrical, néonatal ainsi que les serveurs *Cyberlab* et *Crossway*:

- Date de naissance
- Poids de naissance
- Age gestationnel (en SA)

- Apgar à 5 minutes de vie
- Mode d'accouchement
- Température maternelle avant ou pendant le travail $>38^{\circ}\text{C}$
- Durée de l'ouverture de la poche des eaux
- Présence d'un liquide méconial ou teinté sans cause obstétricale
- Rupture prématurée des membranes avant 37SA
- Prélèvement vaginal positif à streptocoque B
- Antécédent d'IMF à streptocoque B
- Bactériurie positive à streptocoque B
- Anomalie du rythme cardiaque fœtal pendant le travail ou anoxo-ischémie périnatale
- Chorioamniotite
- Posologie de l'ATB utilisé
- Nouveau-né symptomatique : fièvre, hypothermie, tachycardie, bradycardie, hypotension, TRC $>3\text{sec}$, signes respiratoires, signes neurologiques, signes cutanés.
- pH ombilical artériel à la naissance
- Valeur PCT au cordon (ng /ml)
- Liquide gastrique direct et culture
- Hémocultures périphériques et centrales
- Placentoculture
- Protein-C-Reactive (mg/ml)
- Symptomatologie du nouveau-né
- Ponction lombaire
- Durée hospitalisation
- ATB donné, durée et posologie

2.7 Méthodes statistiques et logiciels utilisés

2.7.1 Saisie et exploitation des données

Le recueil des données a été réalisé sur le logiciel *Clinsigh* et les données ont ensuite été extraites sur tableur *Excel* afin de pouvoir analyser les informations recueillies. L'exploitation statistique s'est faite à partir du logiciel *Excel* et *OpenEpi*.

2.7.2 Méthodes statistiques

La description des données qualitatives est représentée par des pourcentages avec un intervalle de confiance à 95 % basé sur la loi normale. Leurs comparaisons sont effectuées avec le test de χ^2 corrigé de Yates et du test exact de Fischer lorsqu'une valeur attendue était inférieure à 5.

Les données quantitatives ont été traitées par le calcul des médianes, des moyennes ainsi que par des écarts-type. Leur comparaison a été réalisée par le test de Student en fonction de l'égalité des variances.

Les comparaisons ont été considérées significatives lorsque la valeur de p était inférieure à 0,05.

2.7.3 Analyse de la valeur diagnostique

Afin d'analyser le mieux possible nos données, nous avons utilisé plusieurs paramètres diagnostiques.

- Sensibilité : probabilité que le critère soit positif ou présent chez un enfant infecté
- Spécificité : probabilité que le critère soit négatif ou absent chez un enfant sain
- Valeur Prédictive Positive (VPP) : probabilité que l'enfant soit infecté si le critère est présent
- Valeur Prédictive négative (VPN): probabilité que l'enfant soit sain si le critère est absent
- Rapport de vraisemblance positif (RV+): rapport entre la probabilité de présenter un critère positif quand l'enfant est malade et la probabilité de présenter un critère positif quand l'enfant est sain. Plus le rapport de vraisemblance est élevé plus la valeur diagnostique du test est importante.

$$RV+ = \text{sensibilité} / (1 - \text{spécificité})$$

2.7.4 Courbe ROC et nomogramme de Bayes

Avec l'aide du Docteur SAVAGNER, une courbe ROC a été réalisée sur le logiciel SSPS grâce à nos données.

La courbe ROC représente la performance d'un test diagnostique à séparer les malades des non malades. Elle indique la relation graphique entre la sensibilité et spécificité de test, calculée pour toutes les valeurs seuils possibles. L'aire sous la courbe donne une estimation du pouvoir discriminant global du test diagnostique, c'est-à-dire la probabilité que le résultat du test d'un nouveau-né infecté soit supérieur à celui d'un enfant sain. Plus l'aire s'approche de 1 et plus le test est bon.

Le nomogramme de Bayes nous permet d'apprécier l'apport du test diagnostique en terme d'efficacité dans la prise en charge. Il a été réalisé à l'aide du test diagnostic sur <http://araw.mede.uic.edu/cgi-ebm/testcalc.pl>

Ainsi il permet le calcul des probabilités post-test en fonction des probabilités pré-test et du rapport de vraisemblance.

3. Résultats

3.1 Population de l'étude et circonstances de naissance

Notre étude a porté sur 650 nouveau-nés ayant bénéficié de la procalcitonine au cordon. Parmi eux ,21 ont été retirés de l'étude pour cause de données manquantes. Nous avons donc retenu 629 enfants sur 2160 enfants nés vivants pendant la période d'inclusion à la maternité du CHU de Angers (soit 29,1%).

3.1.1 Données générales de la population

Le *tableau I*, ainsi que les *figures 1 et 2*, représentent les caractéristiques de notre population de nouveau-nés suspects d'Infection materno-fœtale ainsi que les circonstances de naissance.

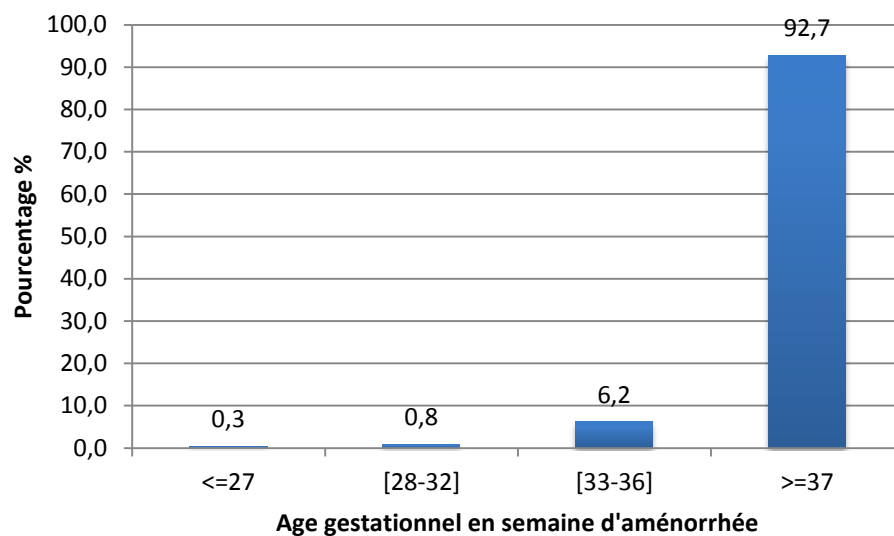


Figure 1 : Age gestationnel de la population étudiée en semaines d'aménorrhée

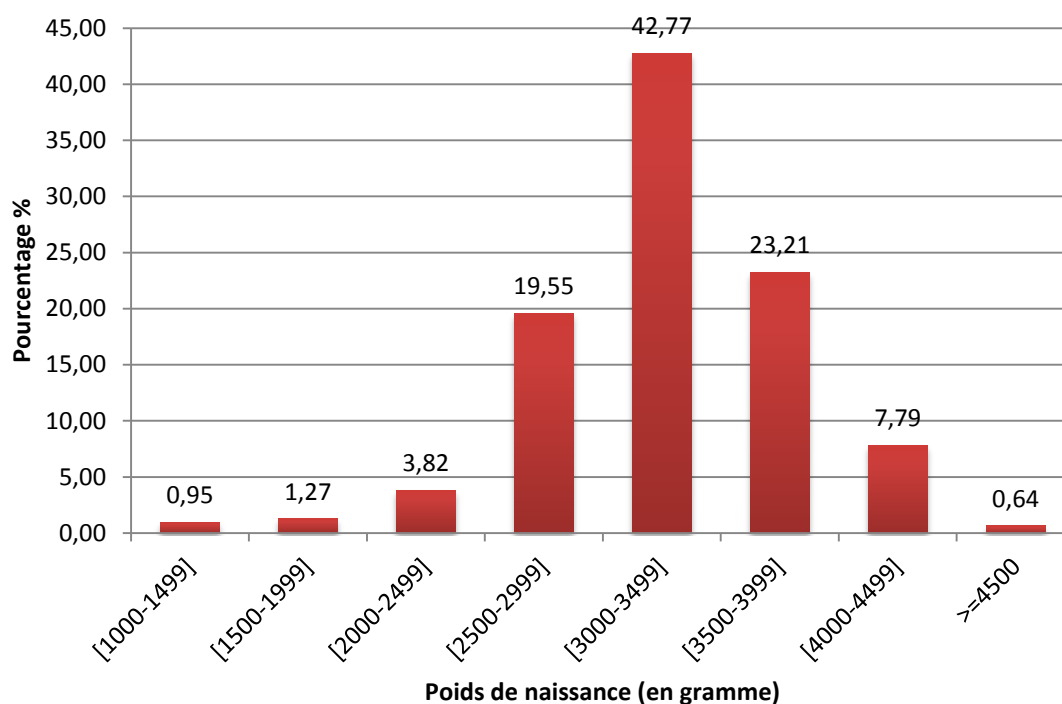


Figure 2 : Poids de naissance de la population étudiée en gramme.

On remarque que notre population est composée de 7,31% de prématurés, et parmi ces derniers 4,2 % sont considérés comme grands prématurés (<28 SA).

Tableau I : Données générales de la population et circonstances de naissance
(n=629)

	Données n	(%)	Moyenne ± Ecart-type
AG* en semaines d'aménorrhée			39,01 ± 1,87
PN[±] en grammes			3265 ± 534,5
Prélèvement vaginal positif	241	(38,3)	
- SB [£]	190	(30,2)	
- E Coli	4	(0,6)	
- Autres	37	(5,9)	
RPDE^α >12h	157	(25)	
- >18h	112	(17,81)	
Antécédent d'IMF[†]	32	(5,1)	
Antibioprophylaxie per-partum	339	(53,9)	
Température maternelle ≥38°	49	(7,8)	
Couleur liquide amniotique			
- clair	423	(67,2)	
- Autre (teinté, méconial,...)	208	(32,7)	
RCF[¥]			
- anomalies	103	(16,4)	
mode d'accouchement			
- voie basse simple	458	(72,8)	
- voie basse instrumentale	88	(14)	
- césarienne	83	(13,2)	
Apgar à 5 min de vie			9,93 ± 0,44
- <7	2	(0,3)	
pH artériel au cordon			
- <7	5	(0,8)	
- [7.00-7.10[23	(3,7)	
- [7.10-7.20[158	(25,1)	
- ≥7.20	410	(65,2)	
- non mesurable (quantité insuffisante, ...)	33	(5,2)	
Enfants symptomatiques	77	(12,2)	
Hospitalisations			
- Plus de 4 jours	44	(7,0)	

*Age gestationnel ; [±] Poids de naissance ; [£] Streptocoque B ; ^α Rupture de la poche des eaux ; [†] Infection materno-fœtale ; [¥] Rythme cardiaque fœtal

Nous remarquons que 53,9% des femmes ont bénéficié d'une antibioprophylaxie per-partum essentiellement liée au portage du *Streptococcus agalactiae* et de la rupture de la poche des eaux supérieure à 12h.

Dans le *tableau II*, figurent les résultats des examens réalisés chez les enfants suspects d'infection materno-fœtale.

**Tableau II : Description des résultats biologiques pour la population étudiée
(n=629)**

	Données n	(%)	Moyenne± Ecart-type
Liquide gastrique direct positif	96	(15,3)	
- CGP [†]	15	(15,6)	
- BGN ^α	14	(14,6)	
- Autres	67	(69,8)	
Liquide gastrique culture positive	109	(17,3)	
- <i>S. agalactiae</i>	18	(16,5)	
- <i>E coli</i>	45	(41,3)	
- Autres	47	(42,2)	
Placentocultures réalisées	19	(3,0)	
- positives	5	(26,3)	
Hémoculture périphériques réalisées	67	(10,6)	
- positives	3	(4,5)	
PCT[±] (ng/ml)			0,31 ± 2,44

[†] Cocci Gram Positif ; ^α Bacille Gram Négatif ; [±] Procalcitonine

Parmi les nouveau-nés présentant des facteurs de risques d'IMF, la culture des prélèvements gastriques était positive pour 17% d'entre eux. Parmi ces prélèvements, 16,5% étaient positifs à *Streptococcus agalactiae* tandis que les examens directs présentaient 15,6% d'examens à Cocci Gram Plus. Concernant le germe *Escherichia coli*, il représente 41,3% des cultures positives, alors que 14,6% des examens directs étaient positifs à Bacilles Gram Négatif.

Parmi les autres germes analysés dans les cultures des liquides gastriques, on retrouve essentiellement : *Klebsiella pneumoniae*, *Streptocoque anginosus*, *Streptococcus mitis oralis*.

De plus, 3 hémocultures périphériques étaient positives dans notre étude, les germes retrouvés sont : *Staphylococcus capitis*, *staphylococcus warneri* et *Bacillus pumilus*.

Quant aux placentocultures réalisées on retrouve 3 germes : *Escherichia coli*, *Streptococcus anginosus* et *Klebsiella pneumoniae*.

3.1.2 Description des nouveau-nés infectés

Dans notre étude, on avait 20 infections probables, soit au total 3,18 % des nouveau-nés de notre population étaient infectés. Les *tableaux III* et *IV* décrivent les circonstances de naissances ainsi que les examens réalisés concernant notre population « infectée ».

Tableau III : Données générales concernant la population de nouveau-nés infectés et circonstances de naissances (n=20)

	Données n	(%)	Moyenne± Ecart-type
AG* en semaines d'aménorrhée			37,7±3,6
PN[±] en grammes			3081±865
Prélèvement vaginal positif	13	(65,0)	
- SB [‡]	8	(61,5)	
- E Coli	3	(23,1)	
- Autres	2	(15,4)	
RPDE^α >12h	5	(25,0)	
- >18h	5	(100)	
Antécédent d'IMF[†]	2	(10,0)	
Antibioprophylaxie per-partum	14	(70,0)	
- 2 doses	7	(50,0)	
Température maternelle ≥38°	3	(15,0)	
Couleur liquide amniotique			
- clair	13	(65,0)	
- Autre (teinté, méconial,...)	7	(35,0)	
RCF[¥]			
- anomalies	3	(15,0)	
mode d'accouchement			
- voie basse simple	15	(75,0)	
- voie basse instrumentale	2	(10,0)	
- césarienne	3	(15,0)	
Apgar à 5 min de vie			9,5±1,1
- <7	0		
pH artériel au cordon			7,21±0,08
- <7	0		
- [7.00-7.10[3	(15,0)	
- [7.10-7.20[6	(30,0)	
- ≥7.20	10	(50,0)	
- non mesurable (quantité insuffisante, ...)	1	(5,0)	
Enfants symptomatiques	8	(40,0)	
Hospitalisations			12±15,2

*Age gestationnel ; [±] Poids de naissance ; [£] Streptocoque B ; ^α Rupture de la poche des eaux ; [†] Infection materno-fœtale ; [¥] Rythme cardiaque fœtal

Parmi les nouveau-nés infectés, il est intéressant de noter que pour 40 % d'entre eux, il avait été dépisté un portage vaginal à streptocoque B chez la mère.

Nous constatons que parmi les femmes porteuses du streptocoque B, 87,5% d'entre elles ont bénéficié d'une antibiothérapie per partum, mais seulement 42,9% furent complètes selon les recommandations de l'ANAES.

Chez les nouveau-nés infectés, l'âge gestationnel variait entre 27 et 41 SA, et les poids oscillaient entre 1320 et 4575 grammes.

Tableau IV : Description des résultats biologiques dans la population de nouveau-nés infectés (n=20)

	Données n	(%)	Moyenne± Ecart-type
Liquide gastrique direct positif	10	(50,0)	
- CGP [†]	5	(50,0)	
- BGN ^α	3	(30,0)	
- Autres	2	(20,0)	
Liquide gastrique culture positive	17	(85,0)	
- S. agalactiae	9	(52,9)	
- E coli	6	(35,3)	
- Autres	3	(17,6)	
Placentocultures réalisées	5	(25,0)	
- positives	3	(60,0)	
Hémoculture périphériques réalisées	17	(85,0)	
- positives	0		
Hémocultures centrales réalisées	3	(15,0)	
- positives	1	(33,3)	
PCT[±] (ng/ml)			5,0±13,1
CRP^β (mg/L)			20,3 ± 15,9
PL^π	2	(10,0)	

[†] Cocci Gram Positif ; ^α Bacille Gram Négatif ; [±] Procalcitonine ; ^β Protéine C-réactive ; ^π Ponction lombaire

Dans notre étude, on observe autant d'IMF à SGB que d'IMF dues à E Coli, soit 45% des IMF pour chacun des germes.

Parmi les nouveau-nés infectés, 40% présentaient des signes cliniques dès les premières 72 heures, notamment sur les plans respiratoires, neurologiques et hémodynamiques. Nous ne notons aucun décès périnatal dans la population étudiée.

Sur le plan paraclinique, les cultures des prélèvements gastriques ont mis en évidence les germes suivants : *Klebsiella pneumoniae*, *Prevotella Bivia*, *Streptococcus anginosus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus mitis* et *Streptococcus agalactiae*. Parmi les nouveau-nés infectés, des ponctions lombaires ont été réalisées sur 2 d'entre eux. Les analyses ne retrouvaient aucun germe présent.

Du point de vue des résultats bactériologiques sanguins, toutes les hémocultures périphériques sont revenues négatives. En revanche au niveau central 3 prélèvements ont été réalisés : pour l'un d'eux l'enfant n'avait pas bénéficié d'hémoculture périphérique, et l'analyse au central retrouvait le germe *Escherichia coli*. En revanche les 2 autres résultats centraux concordent avec les prélèvements périphériques qui avaient également été faits : les cultures étaient toutes stériles.

Concernant les placentocultures, 3 sont revenues positives au *Streptococcus anginosus* (1) et *Escherichia coli* (2), coïncidant avec les résultats des liquides gastriques prélevés chez les enfants correspondants.

L'annexe 1 rassemble nos données recueillies sur la population d'enfants infectés.

3.2 Incidence de l'infection materno-fœtale dans la population

3.2.1 Incidence de l'IMF en fonction des circonstances de naissances

Le *tableau V* représente l'incidence de l'IMF pour chaque variable étudiée grâce au recueil de données, concernant les circonstances de naissances.

Tableau V : Incidence de l'IMF dans la population étudiée en fonction des circonstances de naissances

Variables qualitatives n		Incidence d'IMF n (%)	RR [IC à 95%]	p
Données anténatales				
AG en semaines d'aménorrhée	<35	(19)	4(21,1)	8
	≥35	(610)	16(2,6)	[2,996-21,7]
	<37	(88)	6(6,8)	2,6
	≥37	(541)	14(2,6)	[1,04-6,7]
Portage Streptocoque B	oui	(190)	8(4,4)	1,6
	non	(448)	12(2,7)	[0,7-4]
RPDE	>12h	(157)	5(3,2)	1
				0,5

	<12h	(472)	15(3,2)	[0,4-2,7]	
Antécédent d'IMF	oui	(32)	2(6,3)	2	0,2
	non	(597)	18(3,0)	[0,5-8,5]	
Antibioprophylaxie per-partum	oui	(164)	7(4,3)	1,5	0,2
	non	(465)	13(2,8)	[0,6-3,8]	
T°[¶] maternelle per partum	<38	(580)	17(2,9)	2,1	0,1
	≥38	(49)	3(6,1)	[0,6-6,9]	
Liquide amniotique teinté	oui	(206)	7(3,4)	1,1	0,4
	non	(423)	13(3,1)	[0,4-2,7]	
ARCF	oui	(103)	3(2,9)	0,9	0,4
	non	(526)	17(3,2)	[0,3-3]	
mode d'accouchement	Voie basse	(546)	17(3,1)	0,9	0,4
	Césarienne	(83)	3(3,6)	[0,3-2,9]	
Données postnatales					
Apgar à 5 min de vie	<7	(2)	0	0	0,9
	≥7	(627)	20(3,2)		
pH artériel au cordon	<7,20	(188)	9	1,96	0,06
	≥ 7,20	(410)	10	[0,8-4,75]	
Enfants symptomatiques	oui	(77)	8(8,0)	3	0,03
	non	(552)	14(2,5)	[1,2-7,8]	

*Age gestationnel ; ^α Rupture de la poche des eaux ; [†] Infection materno-fœtale ; [‡] Anomalies du rythme cardiaque fœtal ; [§] Risque Relatif ; [∞] Intervalle de confiance ; [¶] Température

On observe que seul l'âge gestationnel <35 SA augmentait significativement le risque d'IMF.

Aussi un enfant présentant des signes cliniques symptomatologiques aura 3 fois plus de risque d'être atteint d'une infection bactérienne précoce.

Notons qu'une antibiothérapie complète pendant le travail ne diminuerait pas significativement le risque d'IMF d'après nos résultats.

Concernant le portage maternel du SGB, le risque que l'enfant soit infecté lorsque l'antibioprophylaxie n'est pas administrée ou incomplète est seulement augmenté de 0,94 (p=0,47 et IC [0,23-3,82]). Donc la différence n'est pas significative.

3.2.2 Incidence de l'IMF en fonction des résultats d'examens

Le *tableau VI* décrit les examens réalisés dans le but de diagnostiquer l'IMF dans notre population.

Tableau VI : Incidence de l'IMF dans la population étudiée en fonction des résultats d'exams

Variables qualitatives n			Incidence d'IMF n (%)	RR [IC à 95%]	p
PCT (ng/L)	≥0,6	(13)	5(38,5)	15,79	0,00001
	<0,6	(616)	15(2,4)	[6,7-36,9]	
Liquide gastrique direct	positif	(96)	10(10,4)	5,5	0,0002
	négatif	(533)	10(1,9)	[2,4-13]	
Liquide gastrique culture	positif	(109)	17(15,6)	27	0,000001
	négatif	(520)	3(0,6)	[8-90,6]	

† Infection materno-fœtale ; ± Procalcitonine ; # Risque Relatif ; ∞ Intervalle de confiance

On remarque que le risque d'être atteint d'une IMF précoce est multiplié par 16 environ lorsque le dosage de la PCT au cordon est ≥0,6ng/ml.

3.2.3 Analyses des données quantitatives en fonction du statut infectieux

Le *tableau VII* compare les variables quantitatives en fonction du statut infectieux de la population.

Tableau VII : Analyse des données quantitatives selon le statut infectieux

Variables quantitatives	Non infectés (n=609)	Infectés (n=20)	p
Age gestationnel (SA^μ)	39,4±0,3	37,5±0,3	<10exp- 6
Poids naissance (g)	3271±520	3081±865	NS [¶]
Apgar à 5 min	9±1	9±1	NS
pH artériel ombilical	7,23±0,08	7,21±0,08	NS
Durée hospitalisation (Jours)	4,2±4,4	12,5±	0,03
PCT[±] (ng/ml)	0,15±0,11	5,0±13,13	0,000002

^μ Semaines d'aménorrhée; [±] Procalcitonine, [¶] Non significatif

Nous observons que parmi les variables étudiées, le poids de naissance, le score d'Apgar à 5 minutes de vie ainsi que la mesure du pH artériel, ne sont pas significativement différents quelque soit le statut du nouveau-né.

3.3 Critère de jugement principal : valeur diagnostique

3.3.1 Courbe ROC de la Procalcitonine au cordon

La *figure 3* représente la courbe ROC à partir des dosages de la procalcitonine au cordon ombilical.

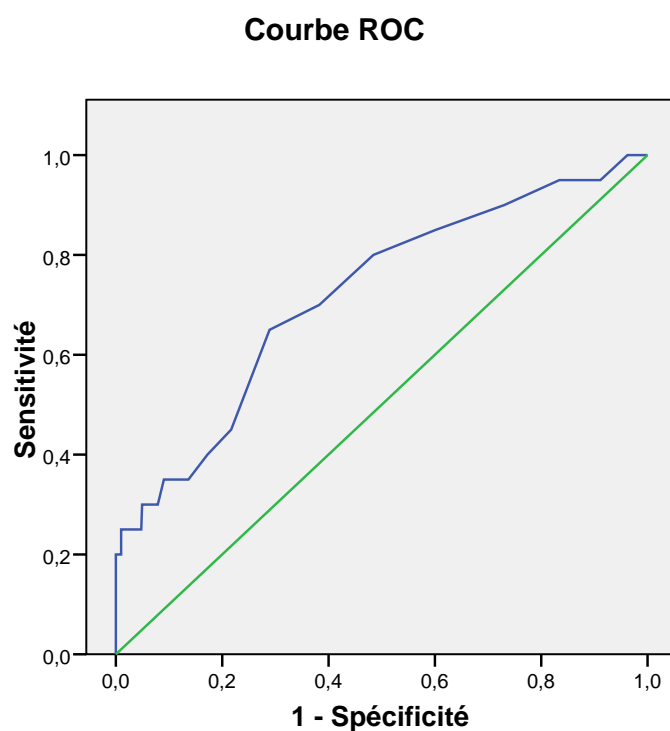


Figure 3 : Courbe ROC de la PCT au cordon

Dans notre étude l'aire sous la courbe est de 0,72 IC [0,55-0,89].

La courbe ROC a permis de calculer à partir de nos résultats, une valeur seuil à 0,15ng/ml pour laquelle la sensibilité et la spécificité sont les meilleures, à savoir :

-Se = 70%

-Sp = 61,7%

Pour comparaison nous avons également évalué le liquide gastrique au direct et en culture comme le décrit le *tableau VIII*.

Tableau VIII : Comparaison de la PCT, du liquide gastrique direct et en culture

Marqueur	Se [±] (%)	Sp [¥] (%)	VPP ^α (%)	VPN ^μ (%)	RV+ [†]	RV- [∞]
PCT[‡]	70	61,7	3,6	97,2	1,82	0,48
LG^β Direct	30	85,2	1,1	86,5	2,02	0,83
LG Culture	50	83,7	1,9	90,8	3,06	0,6

[‡]Procalcitonine, ^β Liquide Gastrique, [±]Sensibilité, [¥]Spécificité, ^α Valeur Prédictive Positive, ^μValeur Prédictive Négative, [†] Rapport de Vraisemblance positive, [∞] Rapport de Vraisemblance négative

3.3.2 Description des valeurs mesurées de la Procalcitonine

Dans notre population étudiée la valeur moyenne de la PCT est de 0,31ng/ml, avec des valeurs comprises entre 0,06 ng/ml et 44,41 ng/ml et la médiane étant de 0,13 ng/ml.

Chez les nouveau-nés sains, on a calculé la moyenne et la médiane, respectivement 0,15 ; 0,13 ng/ml. Pour les enfants appartenant au groupe « infecté » la moyenne de la PCT est de 5,0 ng/ml et la médiane de 0,16 ng/ml.

Dans la population 189 enfants ont une valeur de la PCT supérieure à 0,15 ng/ml soit 30% de notre population. Parmi ces enfants, 13 sont infectés. Il y a donc 176 faux-positifs, ce qui représente 28% de notre population.

Parmi nos nouveau-nés infectés, 13 ont une PCT élevée supérieure à 0,15ng/ml, les 7 autres sont donc des faux-négatifs, soit 1,1% de notre population.

Le nouveau-né D est né à terme après déclenchement pour pré-éclampsie modérée. Durant le travail il a été administré 1 seule dose d'antibiotique car il existait un portage maternel de SGB. A la naissance l'enfant s'est bien adapté avec un apgar à 10 et un pH à 7,28. Du fait de la culture du liquide gastrique positive à *Streptococcus agalactiae*, il a été dosé une CRP qui s'élevait à 11mg/L. Une antibiothérapie a donc été instaurée par Clamoxyl® pendant 7 jours par voie orale. La CRP s'est ensuite normalisée 48 heures après le début du traitement et aucun autre prélèvement n'a été réalisé. Durant l'hospitalisation de 4 jours, aucun signe clinique n'a été observé chez le nouveau-né. Concernant la PCT elle était de 0,09ng/ml.

Concernant le nouveau-né G, on note un antécédent d'IMF à SGB, avec un portage asymptomatique lors de cette grossesse et une rupture de la poche des eaux supérieure à 18H, cependant aucune antibioprophylaxie n'a pu être instaurée du fait d'un travail rapide. L'enfant est né avec un pH à 7,3 et le score d'apgar à 1 minute puis

3 et 5 était respectivement de 5, 9 et 10. A noter que l'enfant présentait un circulaire du cordon à la naissance. L'enfant a présenté des trémulations dans les heures suivant la naissance, il a été décidé d'hospitaliser l'enfant en Unité-Kangourou d'autant plus que le prélèvement gastrique était positif au direct et que la culture était concordante avec la présence de Streptocoque B. L'enfant a été placé sous antibiotique pendant 8 jours au total, 5 jours en intra veineux par Clamoxyl® et Amiklin® puis en relais per os pendant 3 jours avec du Clamoxyl®. Des dosages de CRP ont été effectués et on retrouve le taux maximum 24 heures après le début du traitement à 7mg/L. Une hémoculture périphérique a été prélevée sans germe retrouvé. L'enfant a séjourné 5 jours au total à la maternité et sa PCT était de 0,14ng/ml.

Le nouveau-né I est né à terme après une mise en travail spontanée. On note pendant le travail un liquide amniotique teinté. Le pH à la naissance était de 7,24, l'apgar à 8 puis à 5 minutes de vie à 10. L'enfant a toutefois bénéficié d'une oxygénothérapie durant les 6 premières heures de vie afin de maintenir une saturation stable et correcte. Les analyses du prélèvement gastrique ont révélé un bacille gram négatif au direct et une culture à E coli. Une CRP a été prélevée (21mg/L) à la suite de laquelle a été instauré un traitement antibiotique per os par Amoxicilline. Les contrôles effectués à 24 puis 48 heures du traitement ont dosé respectivement une CRP à 23 puis 12 mg/L, et l'hémoculture périphérique était négative. Le nouveau-né est resté asymptomatique pendant les 4 jours à la maternité et les antibiotiques ont été maintenus à la sortie pour une durée totale de 8 jours de traitement. Le nouveau-né I avait une PCT à 0,13ng/ml.

Concernant le nouveau-né J, on note un antécédent d'IMF à streptocoque, et un portage maternel pour cette grossesse. L'enfant est né à terme, mais l'antibioprophylaxie n'a pas pu être complète. Le travail s'est déroulé normalement, et à la naissance l'enfant avait un apgar à 8/10/10 et le pH artériel était de 7,12. On note qu'un circulaire serré du cordon a été sectionné à la vulve à la naissance. Du fait de la présence de cocci gram positif au direct l'enfant a séjourné initialement en Unité-Kangourou et la culture a mis en évidence du SGB. L'enfant a donc été mis sous Amiklin et Clamoxyl en intraveineux pendant 7 jours au total. Concernant les dosages de CRP, à J1 le taux était de 3mg/L, puis 48 heures après l'instauration du traitement (J3) 10mg/L, et le dosage à J6 est normal (<3mg/L). Au 3^{ème} jour de vie sont apparus des mouvements anormaux évocateurs de convulsions, associés à une hypotonie axiale et une pâleur et l'enfant a été secondairement hospitalisé dans l'unité de néonatalogie.

Au final il a été diagnostiqué par IRM cérébrale des lésions corticales bilatérales compatibles avec des lésions d'anoxo ischémie. Durant l'hospitalisation de 12 jours, une hémoculture a également été effectuée, sans germe à l'analyse et la PCT avait un taux de 0,15ng/ml.

Le nouveau-né M est né à terme par voie basse après déclenchement pour hypertension gravidique associée à une macrosomie fœtale. Durant le travail le liquide amniotique était teinté sans autre particularité par ailleurs. L'apgar coté à la naissance était de 1à et le pH artériel à 7,24. La culture du prélèvement gastrique a mis en évidence de *l'Escherichia coli*, il a donc été décidé à J3 de doser la CRP, dont le taux était de 23mg/L et mettre en place de l'Augmentin® per os pendant 9 jours. La CRP de contrôle à J4 était de 14mg/L puis s'est normalisée. Durant les 4 jours d'hospitalisation l'enfant était asymptomatique, l'hémoculture périphérique était négative et la procalcitonine dosée au cordon était de 0,11ng/ml.

Concernant le nouveau-né Q, on note un accouchement à 34 SA suite à une rupture des membranes sans étiologie connue, et l'administration d'une dose d'antibiotique pendant le travail. L'enfant est né par voie basse, avec un apgar à 10 et un pH artériel à 7,34. On note l'apparition d'une polypnée associée à une cyanose péri-buccale de résolution spontanée au premier jour de vie, le reste de l'examen est resté sans autre particularité. Devant la présence de Cocci gram positif à l'examen direct du prélèvement gastrique, une antibiothérapie en intraveineux par Clamoxyl® est débutée. La culture avait mis en évidence du Streptocoque B et l'hémoculture périphérique réalisée était négative. La CRP de départ était normale, inférieure à 3mg/L, et n'a jamais augmentée suite aux contrôles effectués à J2 et J3 où l'on avait respectivement des taux inférieurs à 3mg/L. Face à ces résultats et à l'absence d'autre signes cliniques pendant les 24 jours d'hospitalisation, il a été décidé d'interrompre le traitement antibiotique après 4 jours. La PCT de ce nouveau-né était de 0,14ng/ml.

Et enfin concernant le nouveau-né T on note un portage maternel de SGB nécessitant une antibioprophylaxie per partum qui fut complète. L'enfant est né par voie basse à 39SA et s'est très bien adapté durant les premières heures de vie avec un Apgar à la naissance à 10 et un pH artériel à 7,22. Il a été décidé de transférer l'enfant en unité de néonatalogie suite à l'apparition de trémulations et de geignements, associée au résultat du frottis gastrique positif à *Streptococcus agalactiae* à la culture. Il a donc été instauré un traitement IV par Amoxicilline et aminoside pendant 7 jours. Concernant les résultats biologiques, des dosages de la CRP ont été réalisés à J1, soit avant le

traitement puis à J2 et J5, avec pour valeurs respectives 33, 27 et 9 mg/L. L'enfant est resté 6 jours hospitalisés, pendant lesquels des hémocultures centrale et périphérique ont été réalisées, toutes négatives. La valeur de la PCT était de 0,12ng/ml.

3.3.3 Probabilité post-test et nomogramme de Bayes

La *figure 4* représente le nomogramme de Bayes en fonction de nos données concernant la valeur de la PCT et les statuts des enfants.

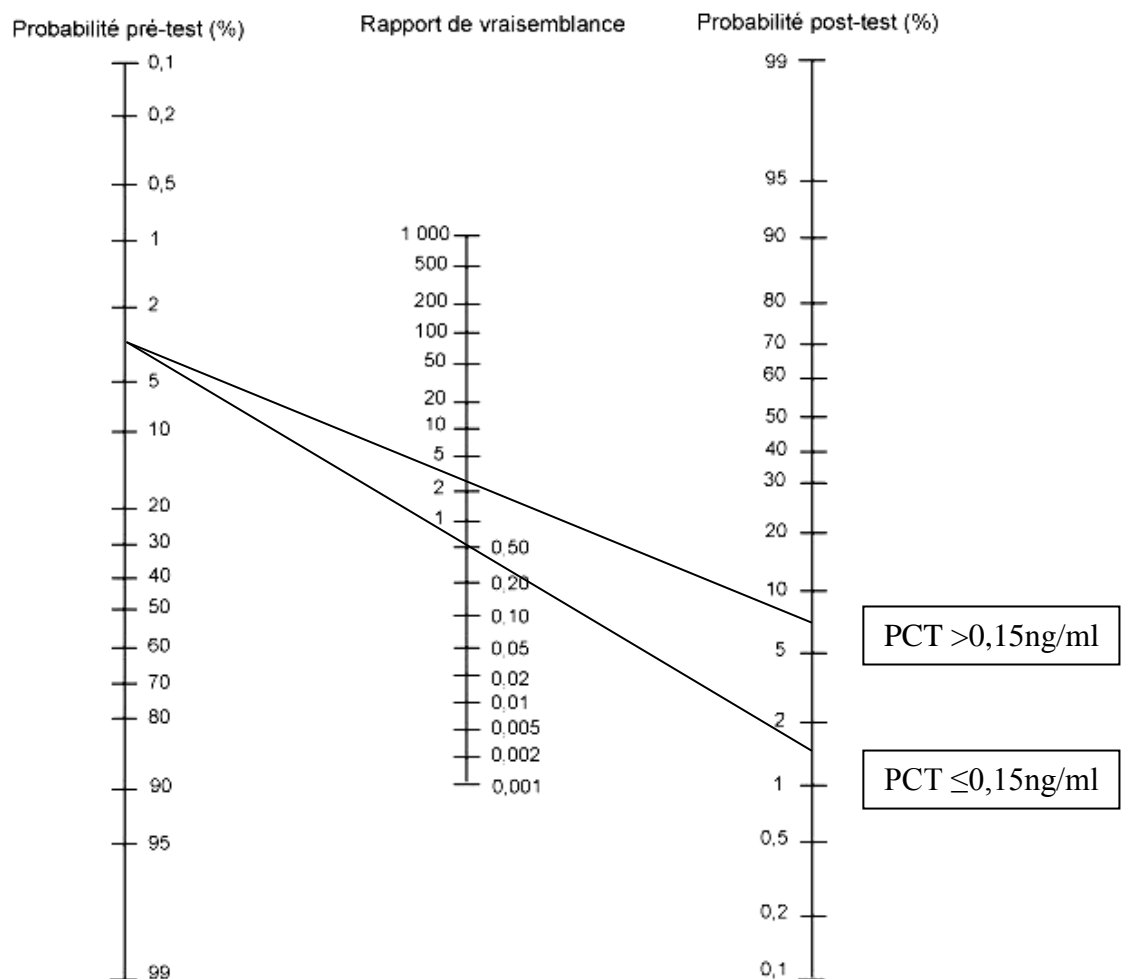


Figure 4 : Représentation de la valeur diagnostique de la PCT au cordon

La probabilité pré-test correspond à la prévalence de l'IMF dans notre population, soit 3,18%. La probabilité post-test est définie en fonction du calcul du rapport de vraisemblance positif. Celui-ci nous permet d'affirmer que le risque qu'un enfant soit infecté lorsque la PCT est positive est multiplié par 1,82.

La probabilité post-test permet de déterminer le risque d'être infecté lorsque le test est positif ou négatif. D'après nos calculs, il correspond à 8% lorsqu'il est positif, et à 1,5% lorsque le test est négatif. En d'autres termes, il y a un moins d'un risque sur 10 qu'un enfant soit infecté si la PCT est élevée.

TROISIEME PARTIE : DISCUSSION

L'objectif de notre étude est d'analyser la fiabilité de la procalcitonine au cordon pour dépister les infections materno-fœtales précoces chez la population à risque infectieux.

Nous montrons ici que le dosage de la procalcitonine semble intéressant, notamment grâce à sa sensibilité, et sa valeur prédictive négative bien qu'il ne soit pas un marqueur très spécifique.

1. La population de l'étude

Entre la période du 5 Juin 2012 au 29 Novembre 2012, 2160 naissances d'enfants vivants ont eu lieu et 20 de ces enfants ont présenté une infection materno-fœtale probable, d'après les recommandations ANAES de 2002. Durant l'année 2012, le CHU d'Angers a recensé 4249 de naissances vivantes, ainsi environ 39,3 nouveau-nés naissent infectés. L'incidence d'IMF en 2012 est donc estimée à 0,93%.

En 2002 l'ANAES faisait état de 1-4‰ naissance à infection materno-fœtale certaine et 3-8‰ probable. Aux Etats-Unis, le Centers for Disease Control (CDC) retrouvait 0,34 à 0,37 infections certaines sur 1000 naissances, tandis que Joram et al. faisaient état d'une incidence de 0,24‰ infections certaines et 1,8‰ infections probables dans leur population [1, 2, 27]. Dans notre étude 20 enfants étaient infectés soit une incidence de 9,26‰ infections probables. Nous constatons donc une incidence plus élevée très probablement liée à la classification, réalisée a posteriori.

En revanche aucune infection certaine n'a été diagnostiquée dans la période de l'étude. Il est toutefois nécessaire de préciser qu'un grand nombre d'enfants à risque nés dans la période de l'étude n'ont pu être inclus, pour des raisons citées plus bas.

2. Limites de l'étude

Il existe plusieurs biais dans notre étude.

Biais de sélection

L'étude consistait à prélever un liquide gastrique et une PCT au cordon ombilical pour chaque situation à risque d'IMF, afin d'inclure le nouveau-né dans l'étude. Cependant

seulement 52,4% des nouveau-nés présentant des facteurs de risques infectieux et pour qui un liquide gastrique a été prélevé, ont été inclus dans l'étude. Les situations d'urgence, pour lesquelles l'état clinique de l'enfant nécessitait une prise en charge et des soins techniques, ont été privilégiées et de nombreux enfants n'ont pu bénéficier du prélèvement ombilical de la PCT. Or on peut supposer que ces situations d'urgence sont les plus à risque infectieux. Certains nouveau-nés atteints d'IMF précoce n'ont peut-être pas été inclus au cours de cette période d'étude. Notre échantillon est donc probablement peu représentatif.

Par ailleurs, le groupe d'enfants non infectés ne représente pas un groupe d'enfants sains, car tous présentaient un facteur d'infection. Ainsi les valeurs calculées pour la PCT ne sont pas celles d'enfants sains mais d'enfants indemnes d'infection.

En d'autres termes notre population n'est pas représentative de la population générale, mais bien des enfants à risques infectieux.

Biais de recrutement

En effet, on a été inclus dans l'étude les nouveau-nés pour qui un liquide gastrique a été réalisé. Or au CHU d'Angers, les indications d'un tel prélèvement diffèrent par rapport aux recommandations nationales de l'HAS, et donc les indications d'inclusion de l'étude HEMOCORD [annexe 1]. Notamment concernant le portage maternel du *Streptococcus* B, qui est un critère de prélèvement à la maternité d'Angers quelque soit les doses d'antibiotiques administrées en per-partum [annexe 2]. Selon l'ANAES, le prélèvement gastrique n'est indiqué que si l'antibioprophylaxie per-natale est incomplète. Ainsi pour 4,8% de notre population, le dépistage positif à SB constitue la seule indication pour laquelle un frottis gastrique a été réalisé alors que l'antibioprophylaxie était complète.

Concernant ce groupe d'enfants pour qui le liquide gastrique a été prélevé malgré une antibioprophylaxie complète et pour seul portage maternel du SB, les résultats sont les suivants :

- 3 liquides gastriques se sont révélés positifs à l'examen direct, à Cocci Gram Plus, c'est-à-dire 10% des enfants appartenant à ce groupe. Autrement dit pour l'ensemble des liquides gastriques qui ont été prélevés pendant notre étude, 0,48% d'entre eux ont eu un direct positif malgré l'antibioprophylaxie complète.

- 7 liquides gastriques, soit 23,3% du groupe concerné et 1,11% de la population étudiée, avaient des germes à la culture, notamment *Escherichia coli* (2), *Streptococcus agalactiae* (3), et *Candida* (2).
- Au niveau de la concordance, 2 des 3 liquides gastriques positifs au direct se sont révélés positifs à la culture, il s'agissait de 2 infections materno-fœtales probables à Streptocoque B.

Au final sur 30 cas où le prélèvement du liquide gastrique n'était pas indiqué, 3 enfants inclus appartiennent au groupe des « infectés » et à chaque fois il s'agit d'IMF à *Streptococcus agalactiae*. Pour 2 d'entre eux, il y avait concordance entre les analyses du direct et des cultures.

L'enfant N est né à terme par voie basse et il a été réalisé une antibioprophylaxie pour portage maternel du SGB. A la naissance le nouveau-né avait un apgar à 10, un pH à 7,07 et des lactates à 10,9mmol/L. Un contrôle du pH et des lactates a été effectué à H2 avec des valeurs normalisées. L'enfant a été hospitalisé pendant 10 jours en néonatalogie pour luxation congénitale de hanche. Une antibiothérapie a été débutée pour présence de Cocci gram positif au frottis gastrique et une culture à *Streptococcus agalactiae*. Il a été administré en intra veineux du Clamoxyl® et Amiklin® pendant 48 heures puis du Clamoxyl® pendant 8 jours. Au niveau biologique la CRP à J0 était augmenté à 55mg/L. Elle a été contrôlée ensuite à J3, J4 et J5, les valeurs respectives étaient de 61, 34 et 22 mg/L. Il a également été prélevé une hémoculture périphérique qui s'est révélée négative. Durant son hospitalisation l'enfant est resté asymptomatique et la PCT au cordon était de 44,41ng/ml.

Le nouveau-né O est né à terme, on ne note aucune particularité pendant la grossesse. Le travail est marqué par l'antibioprophylaxie du per partum réalisé du fait du portage maternel du SGB et l'accouchement s'est déroulé par voie basse. L'enfant s'est bien adapté à la naissance avec un Apgar à 10 et un pH à 7,19. Face aux résultats positifs de la culture du liquide gastrique, il a été débuté une antibiothérapie per os à l'amoxicilline pendant 7 jours. La CRP a augmenté jusqu'à 11mg/L au maximum avant le traitement puis était de 3mg/L 48h après le traitement, tandis que la PCT au cordon était de 0,16ng/ml. L'hémoculture périphérique n'a détecté aucun germe et l'enfant était asymptomatique durant les 4 jours de son hospitalisation.

Le nouveau-né T est né à terme par voie basse simple, et a bénéficié d'une antibiothérapie complète pour portage maternel du SGB. L'enfant s'est très bien adapté à la vie extra-utérine avec un apgar à 10 dès la naissance et un pH à 7,22. Toutefois l'apparition de trémulations et de geignements associés aux les résultats du liquide gastrique (CGP, Streptocoque B) ont conduit à une hospitalisation de 6 jours en service de néonatalogie. Un dosage de CRP à 33mg/L a nécessité la mise en place d'une antibiothérapie en intraveineux pendant 7 jours (amoxicilline et aminoside). Dès le lendemain de la mise en place du traitement la CRP était descendue à 27mg/L puis elle s'est normalisée. Des hémocultures périphérique et centrale ont été réalisée sans germe à l'analyse et la PCT était inférieure à notre valeur seuil (0,12ng/ml).

Dans la situation où aucun liquide gastrique n'aurait été prélevé pour ces 3 enfants infectés, la prise en charge médicale se serait basée sur l'état clinique et l'âge gestationnel des enfants comme le suggère l'AAP. [8]

3. Point positif de l'étude

Il est important de préciser que l'analyse de la PCT et ses résultats ont respecté le principe d'étude en aveugle, puisque seules les ARC et l'étudiante sage-femme avaient connaissance des résultats concernant les nouveau-nés. Ainsi la prise en charge médicale des nouveau-nés inclus n'a pas été influencée ou altérée par les analyses de la PCT dans notre étude.

4. Analyses et Comparaison

Dans notre étude voici les résultats obtenus avec nos données :

- **Valeur seuil : 0,15ng/ml**
- **Sensibilité : 70 %**
- **Spécificité : 61,7 %**
- **Valeur Prédictive positive : 3,6 %**
- **Valeur prédictive négative : 97,2 %**
- **Rapport de vraisemblance positif : 1,82**
- **Rapport de vraisemblance négatif : 0,48**

Dans notre étude, la valeur seuil de la PCT au cordon, calculée à partir de la courbe ROC, est de 0,15ng/ml. La valeur seuil paraît plus faible que celles proposées dans la littérature, ce qui pourrait être expliqué par notre définition large de l'infection materno-fœtale incluant les infections probables à notre population. De plus notre étude concerne un effectif relativement faible. Ainsi si l'on s'intéresse aux études dont la cohorte est plus importante, et par conséquent dont la puissance est supérieure à notre étude, on retrouve une valeur seuil supérieure à la notre. Par exemple les études menées au CHU de Nantes ont calculé une valeur seuil à 0,6ng/ml.

Cependant si l'on considère la valeur calculée dans ces études, alors la PCT au cordon aurait été peu sensible, soit à 25%, puisque seulement 5 enfants sur les 20 infectés probables ont une mesure supérieure à cette valeur seuil. En revanche la probabilité que la PCT soit normale lorsque l'enfant est non-infecté aurait été meilleure que la notre puisque la Sp aurait été de 98,4% avec une valeur seuil à 0,6ng/ml.

Grace au nomogramme de Bayes, nous avons déterminé que le risque qu'un enfant soit infecté lorsque sa PCT est supérieure à 0,15 ng/ml est de 8%, tandis que lorsque le test est négatif le pourcentage d'infection materno-fœtale est proche de 1,5%.

D'autre part la sensibilité de la PCT au cordon est nettement plus intéressante que pour le prélèvement gastrique direct ou en culture, respectivement nous avons calculé, 70%, 30% et 50%. En d'autres termes la probabilité que l'examen direct du prélèvement gastrique soit positif quand un enfant est infecté n'est que de 1 sur 3. Tandis qu'il existe un risque de 70% qu'on obtienne une PCT pathologique si l'enfant est infecté.

En revanche la spécificité de notre marqueur n'est pas très intéressante par rapport au liquide gastrique, qu'il s'agisse de l'examen direct ou la culture. Ainsi la valeur de la PCT est de 61,7%, du direct 85,2% et de la culture 83,7%. Soit, un enfant non infecté à 2 risques sur 3 d'avoir une PCT au cordon inférieure ou égale à 0,15ng/ml, donc sur 10 enfants non infectés, 3 d'entre eux auront une PCT pathologique, tandis que pour le liquide gastrique, moins de 2 enfants sur 10 non infectés auront des résultats positifs.

Toutefois la PCT semble être un marqueur intéressant pour éliminer le diagnostic d'IMF précoce puisque sa VPN est nettement plus élevée que celles du liquide gastrique au direct et également en culture : pour la PCT et le direct 97,5% vs 86,5 et pour la PCT et la culture 97,5% vs 90,8%.

De plus si la valeur prédictive positive de la procalcitonine est faible, elle reste toutefois supérieure à celles pour le liquide gastrique : 3 fois supérieure au direct et quasiment 2 fois par rapport à la culture du frottis. En d'autres termes un enfant dont la PCT est supérieure à 0,15ng/ml aura 3 fois plus de risque d'être infecté que si l'examen direct du prélèvement est positif et 2 fois plus de risque d'être infecté que si la culture est positive.

LA VPP faible s'explique par le grand nombre de faux positifs dans notre étude.

Si l'on compare nos valeurs par rapport à celles décrites dans la littérature, comme l'indique le *Tableau IX*, nos résultats semblent moins significatifs.

Tableau IX : Description des résultats concernant la PCT prélevée au cordon

Etude	n =	Cut-off (ng/mL)	Se [¶]	Sp ^α	VPP ^μ	VPN [†]	RV ⁺ [∞]
Joram N	197	0,5	87,5	98,5	98,7	87,5	/
Cottineau M, 2011	2159	0,6	85,2	97	26,7	99,8	28,4
Laurans C, 2012	1267	0,6	87,5	98	/	/	/
Sauvage G, 2013	1803	0,6	85,7	97,3	/	/	/

[¶]Sensibilité ; ^α Spécificité ; ^μ Valeur Prédictive Positive ; [†] Valeur Prédictive Négative ; [∞] Rapport de Vraisemblance Positif

La différence de VPP peut s'expliquer par le grand nombre de faux positifs c'est-à-dire d'enfants non-infectés mais dont la PCT au cordon est supérieure à notre valeur seuil de 0,15ng/ml. Ces résultats peuvent s'expliquer par la réponse physiologique de la PCT face à certaines situations. En effet il a été observé en période néonatale une augmentation du taux sérique de cette prohormone dans les situations pathologiques telles que la détresse respiratoire et d'anoxo-ischémie néonatale.

La classification des nouveau-nés en sous-groupe afin de déterminer leur statut infectieux est sûrement à l'origine des différences des résultats obtenus.

Les facteurs sur lesquels se base notre classification correspondent aux critères émis dans les recommandations HAS de 2002. Ainsi un enfant dit « infecté probable » présente un liquide gastrique positif associé à des éléments biologiques et/ou cliniques. Plusieurs travaux concernant la symptomatologie dans les cas de suspicion d'IMF affirment que 71% des nouveau-nés infectés présentent des signes cliniques dès la 1^{ère}

heure et 100% dans les 12 premières heures. On retrouve également ces chiffres dans les différentes études menées au CHU de Nantes où 50 à 74% des enfants infectés étaient symptomatiques dès les 2 premières heures de vie [1, 46, 48, 49]. Or parmi les 20 enfants classés dans le groupe « infectés probable », 40% seulement ont présenté des signes cliniques lors de leur séjour à l'hôpital, un faible taux si l'on compare aux données citées. Il semble donc que notre population d'« infectés probables » ne soit pas représentative du fait de données parfois insuffisamment détaillées et peu concises. En effet notre recueil de données ne permettait pas de distinguer les signes cliniques fortement liés à une IMF de ceux associés à des difficultés d'adaptation relatifs à différentes pathologies (maladie des membranes hyalines, broncho dysplasie pulmonaire, etc.) Un recueil de données plus concis et détaillé aurait permis de différencier les enfants infectés probables des infectés possibles.

D'autre part concernant les enfants asymptomatiques, dont le liquide gastrique était positif, on observe des taux de CRP situés entre 11 mg/L et 55 mg/L, avec une moyenne peu élevée pour des enfants infectés, à 26,5 mg/L. Ainsi notre population d'enfants infectés probable demeure très hétérogène et la question d'une réelle infection se pose chez des enfants cliniquement sains pour qui le dosage de CRP est relativement faible (nouveau-nés B, D, H, O, R).

Au final plusieurs études montrent que la PCT apparaît comme un marqueur spécifique et sensible lors d'IMF précoces, avec de bonnes valeurs prédictives positive et négative. De plus sa mesure au cordon limite les difficultés d'interprétation notamment dans les situations de détresse respiratoires ou simplement du fait des variations physiologiques. Cependant la limite d'un tel marqueur précoce tel que la PCT est qu'il ne permet pas de diagnostiquer les infections tardives, pourtant elles aussi liées à une contamination per et post natale.

D'un point de vue clinique, il est intéressant de noter que la procalcitonine au cordon est un marqueur spécifique dont la valeur prédictive négative est intéressante, son dosage permettrait de réduire le nombre d'antibiothérapie administrée inutilement [27]. De plus la valeur de la PCT est pertinente quelque soit le terme et le poids de naissance de l'enfant né comme le souligne Chiesa [52], et permettrait de distinguer les simples colonisations des réelles infections d'après Joram [27]. Ainsi la réduction des antibiotiques représenterait un avantage direct du fait de sa potentielle toxicité sur le

système immunitaire des nouveau-nés et les risques liés à la pression de sélection des bactéries dans l'apparition des infections nosocomiales.

5. Propositions

Dans de nombreuses études le dosage de la PCT au cordon est souvent comparé à d'autres marqueurs spécifiques d'infection, notamment la CRP ou l'IL-6. Il pourrait être intéressant, pour une étude plus approfondie, d'inclure le dosage de la CRP, afin de les comparer et déterminer lequel des 2 marqueurs améliorerait la prise en charge dans les suspicions d'IMF précoces. Une étude réalisée par Joram et al. met en avant une meilleure Se et valeur prédictive négative de la procalcitonine par rapport à la CRP, respectivement pour la PCT 87,5% et 98,7% et pour la CRP, 50% et 94% ($p=0,003$ pour la Se et $p=0,08$ pour la VPN). La PCT serait-donc significativement plus intéressante pour dépister les infections bactériennes précoces.

A l'heure actuelle il n'existe que très peu de travaux scientifiques parus sur le rôle de la procalcitonine au cordon dans le diagnostic de l'IMF. Aussi notre étude manque de puissance car elle a été réalisée sur une petite cohorte, et pendant une courte période. Les résultats obtenus à l'issue de l'étude HEMOCORD, qui se déroule sur 18 mois et concerne donc une population nettement plus large, s'annoncent plus révélateurs et pertinents que nos résultats actuels. Cette perspective permettra sans doute d'élaborer une nouvelle approche médicale dans le diagnostic et la prise en charge des IMF précoces.

Concernant les recommandations en matière de prévention et de prise en charge des IMF, l'HAS procède à la réévaluation des dernières recommandations de 2002 afin d'apporter des précisions sur les facteurs de risque et permettre de mieux cibler le dépistage d'IMF.

Afin d'améliorer la prévention et alléger les traitements antibiotiques chez le nouveau-né, un groupe de travail a établi une nouvelle approche diagnostique des IMF et propose de nouveaux protocoles destinés au Réseau Sécurité Naissance des Pays de la Loire. Ainsi les indications en matière d'antibioprophylaxie ont été revues, par exemple il a été apporté des précisions sur les facteurs de risque et plus précisément la notion d'hyperthermie maternelle. De plus le dosage de la PCT au cordon, jusque là non

recommandé par l'HAS, est indiqué dans les nouveaux protocoles surtout lors de suspicion de chorioamniotite ou d'hyperthermie maternelle intra partum. Ce nouveau protocole précise également les indications pour lesquelles un prélèvement gastrique doit être réalisé en se basant sur les recommandations HAS de 2002 et les études récentes menées.

Ces nouveaux protocoles demeurent toutefois limités au Réseau « Sécurité Naissance » des Pays de la Loire et les nouvelles recommandations nationales par l'HAS seront prochainement publiées.

CONCLUSION

Cette étude de cohorte a permis de démontrer que la PCT au cordon est un marqueur intéressant dans le diagnostic d'infection materno-fœtale précoce et ceci quelque soit le terme.

Les résultats de cette étude nous incitent à envisager un diagnostic des IMF basé sur l'adaptation clinique de l'enfant à la vie extra-utérine, associée au dosage de la procalcitonine au cordon, pertinent du fait de la précocité du dosage et de son caractère non invasif.

Cette prise en charge constitue un réel progrès en matière de santé publique. Cette nouvelle perspective de prise en charge permettrait de mieux cibler la population d'enfants infectés, et constituerait un réel bénéfice en matière de santé publique. Il s'agirait à la fois de diminuer nettement les examens invasifs, mais également les conduites iatrogènes aux nouveau-nés.

Il faut toutefois resté prudent car cette étude a été réalisée sur une courte période, et il s'agit donc d'un échantillon relativement restreint. Aussi il serait intéressant d'étudier la PCT sur une population plus large. C'est le cas de l'étude HEMOCORD, et en particulier de l'étude ancillaire réalisée sur le CHU d'Angers concernant le dosage au cordon de la procalcitonine. Les résultats de cette étude permettront d'établir le caractère discriminant de ce marqueur quant au statut infectieux du nouveau-né et pourront peut-être aboutir à une nouvelle approche dans le diagnostic d'IMF.

BIBLIOGRAPHIE

1. AGENCE NATIONALE D'ACCREDITATION ET D'EVALUATION EN SANTE. Diagnostic et traitement curatif de l'infection bactérienne précoce du nouveau-né. Recommandations pour la pratique clinique. Paris : ANAES 2002
2. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Prevention of perinatal group B streptococcal disease : a public health perspective. MMWR Recomm Rep 1996;45:1-24
3. Y AUJARD. Epidémiologie des infections néonatales bactériennes primitives. Archives de Pédiatrie, Volume 5, Supplement 2, 1998, Pages 200s-203s
4. J SARLANGUE. Prévention des infections à bactéries multirésistantes en néonatalogie. Réanimation Urgences, Volume 6, Issue 2, Part 2, April 1997, Pages 254-259
5. N KACET, A LISKA, P TRUFFERT, B COIGNARD, P LEQUIEN. Infections nosocomiales chez le nouveau-né. Journal de Pédiatrie et de Puériculture, Volume 12, Issue 4, June 1999, Pages 195-203
6. A NOGUER STROEBEL, C THIBAUDON, JP DUBOS, M DJAVADZADEH AMINI, MO HUSSON, P TRUFFERT. Infections bactériennes néonatales précoces en maternité : peut-on limiter les prélèvements bactériologiques périphériques en salle de naissance ? Archives de Pédiatrie, Volume 15, Issue 4, April 2008, Pages 375-381
7. JF MAGNY, V RIGOURD, D MITANCHEZ, F KIEFFER, M VOYER. Marqueurs biologiques de l'infection néonatale. Journal de Pédiatrie et de Puériculture, Volume 13, Supplément 1, March 2000, Pages S29-S34
8. JACQUEMARD. Syndrome infectieux fœtal. EMC - Pédiatrie, Volume 1, Issue 3, August 2004, Pages 296-323

8. AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS COMMITTEE ON INFECTIOUS DISEASE AND COMMITTEE ON FETUS AND NEWBORN. Guidelines for prevention of group B streptococcal (GBS) infection by chemoprophylaxis. *Pediatrics* 1992;90:775-8.

9. BLOND MH, POULAIN P, GOLD F ET AL. Infection bactérienne maternofoetale. *Encycl Med Chir* 2004. 5-040-c-10

10. C THIBAUDON BAVEUX, A STROEBEL NOGUER, I BOULARD MALLET, M DJAVADZADEH AMINI, N KACET, P TRUFFERT, D SUBTIL, JP DUBOS. Prévention des infections bactériennes néonatales précoces à streptocoque B: L'expérience du CHRU de Lille en 2005. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction*, Volume 37, Issue 4, June 2008, Pages 392-399

11. JL VOLUMENIE, H FERNANDEZ, M VIAL, L LEBRUN, R FRYDMAN. Neonatal group B streptococcal infection: Results of 33 months of universal maternal screening and antibioprophylaxis. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, Volume 94, Issue 1, January 2001, Pages 79-85

11. SCHRAG SJ, ZYWICKI S, FARLEY MM, et al. Group B streptococcal disease in the era of intrapartum antibiotic prophylaxis. *N Engl J Med* 2000;342:15-20.

12. E BEN HAMIDA NOUAILI, K ABIDI, S CHAOUACHI, Z MARRAKCHI. Épidémiologie des infections materno-fœtales à streptocoque du groupe B. *Médecine et Maladies Infectieuses*, Volume 41, Issue 3, March 2011, Pages 123-125

13. K M PUOPOLO, D DRAPER, SOORA WI ET AL. Estimating the probably of neonatal early-onset infectious on the basis of maternal risk factors. *Pediatrics* 2011; 121; e1155

14. K MAYOR-LYNN, VH GONZALEZ-QUINTERO, MJ O'SULLIVAN ET AL. Comparison of early-onset neonatal sepsis caused by *Escherichia coli* and group B *Streptococcus*. *American Journal of Obstetrics and gynecology* 2005 192, 1437-9

15. HYDE TB, HILGER TM, REINGOLD A ET AL. Trends in incidence and antimicrobial resistance of early-onset sepsis: population-based surveillance in San Francisco and Atlanta. *Pediatrics* 2002; 110:690-5
16. SCHUCHAT A. Epidemiology of group B streptococcal disease in the United States: shifting paradigms. *Clin Microbiol Rev* 1998; 497-513
17. STOLL BJ, N HANSEN, AA FANAROFF ET AL. Changes in pathogens causing early onset sepsis in very-low-birth-weight infants. *N Engl J Med* 2002 ;347 :240-7
18. MERCER BM, RD RAMSEY, BM SIBAI. Prenatal screening for group B Streptococcus. I. Impact of antepartum screening on antenatal prophylaxis and intrapartum care. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:837-41.
19. HERVAS JA, BALLESTEROS F, ALOMA A, GIL J et al. Increase of Enterobacter in neonatal sepsis: a twenty-two-year study. *Pediatr infect dis j* 2001 ; 20 :134-40
20. JOSEPH TA, PYATI SP, JACOBS N. Neonatal early-onset Escherichia coli disease (The effect of intrapartum ampicillin), *Arch Pediatr Adolesc Med* 1998;152:35-40
21. LEJEUNE C, JABY-SERGENT MP, FLOCH-TUDAL C. Infections néonatales précoces graves à streptocoque du groupe B. Étude multicentrique rétrospective de l'incidence et des facteurs de risque. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 1995;24:644-50.
22. PASS MA, KHARE S, DILLON HC. Twin pregnancies: incidence of group B streptococcal colonization and disease. *J Pediatr* 1980;97:635-6.
23. LEJEUNE C, MAUDIEU P, ROBIN M, NECTOUX M. Fréquence des infections bactériennes néonatales dans les unités de réanimation et/ou néonatalogie. Étude multicentrique à l'aide d'un codage commun informatisé. *Pédiatrie* 1986;41:95-104.
24. AUJARD Y, LAMBERT-ZECHOVSKY N, BINGEN E. Effects of antibiotherapy on the microbial intestinal ecosystem in newborns and children. *Microbial ecology and intestinal infections*. Paris: Springer-Verlag; 1998.p.86-93

25. FOWLIE PW, SCHMIDT B. Diagnostic test for bacterial infection from birth to 90 days. A systematic review. *Arc Dis Child* 1998 ; 78 : 92-8
26. GRAS-LEGUEN C, LAUNAY E, COLAS H ET AL. Microbiote intestinale et antibiothérapie périnatale. *J Anti-infectieux*, 2011 Juin;(13) :p103-8
27. JORAM N, MULLER J-B, DENIZOT S ET AL. Umbilical cord blood procalcitonin level in early neonatal infections : a 4 year university hospital cohort study. *Eur J ClinMicrobiol Infect Dis*. 2011.p. 1005-13
28. JORAM N, BOSCHER C, DENIZOT S ET AL. Umbilical cord blood procalcitonin and C reactive protein concentrations as markers for early diagnosis of very early onset neonatal infection. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2006 Jan;91(1):F65-6.
29. VAZZALWAR R, E PINA RODRIGUES ET AL. Procalcitonin as a Screening Test for Late-Onset Sepsis in Preterm Very Low Birth Weight Infants. *J Perinatol* 2005, 25(6): 397-402.
30. F MAIRE, MC HERAUD, Y LORIETTE, B NORMAND, RJ BEGUE, A LABE. Intérêt de la procalcitonine dans les infections néonatales. *Archives de Pédiatrie*, Volume 6, Issue 5, May 1999, p. 503-509.
31. M CHEMSI, A HABZI, A HARRAK, S BENOMAR. Performances de la procalcitonine dans le diagnostic de l'infection materno-fœtale. *Journal de Pédiatrie et de Puériculture*, Volume 25, Issue 4, September 2012, Pages 185-192
32. D GENDREL, C BOHUON. La procalcitonine, un marqueur de l'infection bactérienne. *Médecine et Maladies Infectieuses*, Volume 30, Issue 8, August 2000, Pages 497-509.
33. H FERNANDEZ, Y VILLE, P BOURGET. Antibioprophylaxie en obstétrique. *Médecine et Maladies Infectieuses*, Volume 24, Supplement 6, November 1994, Pages

34. A HAMED, D MALVY, JC BORDERON, A TOUTAIN, M CORAINE, J DRUCKER. Antibiothérapie chez le nouveau-né. Enquête d'incidence au 3^{ème} jour de vie dans la région Centre. Médecine et Maladies Infectieuses, Volume 23, Issue 10, October 1993, Pages 663-665
35. S NOURI MERCHAOUI, N MAHDHAOUI, S BEIZIG, R ZAKHAMA, M FEKIH, J METHLOUTHI, N SALEM, H SEBOUI. Intérêt de la CRP sériée dans la prise en charge des nouveau-nés suspects d'infection bactérienne materno-fœtale : étude prospective de 775 cas. Journal de Pédiatrie et de Puériculture, Volume 22, Issue 2, April 2009, Pages 80-88
36. X HECHES, ML PIGNOL, O VAN DITZHUYZEN, B KOFFI. Interleukine 6 ou 8 ? Aide au diagnostic précoce de l'infection bactérienne du nouveau-né de moins de 12 heures de vie. Immuno-analyse & Biologie Spécialisée, Volume 15, Issue 5, September–October 2000, Pages 346-353
37. SAVAGNER C, HOPPE A, MONTCHO Y, LEMARIE, F BOUX DE CASSON, C BOUDERLIQUE. Intérêt de la procalcitonine pour le diagnostic d'infections nosocomiales bactériennes en néonatalogie : étude rétrospective sur 40 enfants. Journal de Pédiatrie et de Puériculture, Volume 21, Issue 7, October 2008, Pages 292-298
38. S CHAOUACHI, O MARRAKCHI, E BEN HAMIDA, K ABIDI, Z BECHIR, J ABDELMOULA JOUDA, Z MARRAKCJI. Apport de la procalcitonine dans le diagnostic précoce de l'infection materno-fœtale bactérienne. Etude prospective. Archives de Pédiatrie, Volume 18, Issue 3, March 2011, Pages 267-271
39. Y FAN, JL YU. Umbilical blood biomarkers for predicting early-onset neonatal sepsis. World J Pediatr. 2012 May;8(2):101-8. Epub 2012 May 10. Review.

40. FE CANPOLAT, YIGIT S, KORKMAZ A, YURDAKOK M, TEKINALP G. Procalcitonin versus CRP as an early indicator of fetal infection in preterm premature rupture of membranes. Turk J Pediatr. 2011 Mar-Apr;53(2):180-6
41. J M LABAUNE, G MONNERET, F BIENVENU, J BIENVENU, G PUTET. Évaluation de la procalcitonine et de la protéine C réactive (CRP) chez le nouveau-né à risque septique. Archives de Pédiatrie, Volume 4, Issue 9, September 1997, Page 916
42. D GENDREL, J RAYMOND, M ASSICOT, F MOULIN, C LACOMBE, C BOHUON. La procalcitonine, un marqueur précoce et sensible des infections bactériennes: comparaison avec IL6 et CRP dans les atteintes bactériennes et virales sévères. Archives de Pédiatrie, Volume 4, Supplément 2, 1997, Page 248s
43. BALLOT D.E, PEROVIC O, GALPIN J ET AL. Serum procalcitonin as an early marker of neonatal sepsis. S Afr Med J. 2004 Oct;94(10):851-4.
44. BOO NY, NOR AZLINA AA, ROHANA J. Usefulness of a semi-quantitative procalcitonin test kit for early diagnosis of neonatal sepsis. Singapore Med J. 2008 Mar;49(3):204-8.
45. LÓPEZ SASTRE, JBPÉREZ S, ROQUES SERRADILLA V ET AL. Procalcitonin is not sufficiently reliable to be the sole marker of neonatal sepsis of nosocomial origin. BMC Pediatr. 2006 May 18;6:16.
46. COTTINEAU M. Valeur diagnostique des critères de suspicion d'infection bactérienne néonatale 9ans après les recommandations de l'ANAES. Mémoire sage-femme: Nantes,2010,p 43
47. ZHANGBIN YU, JIEBO LIU, QING SUN, YUFANG QIU, SHUPING HAN, XIRONG GUO. The accuracy of the procalcitonin test for the diagnosis of neonatal sepsis: A meta-analysis. Scandinavian Journal of Infectious Diseases, 2010; 42: 723-733

48. SAUVAGE G. Mise en place d'un nouvel algorithme intégrant la procalcitonine au cordon dans le diagnostic des infections materno-fœtales. Mémoire sage-femme ; Nantes, 2013, p.23, 33-4.
49. LAURANS C. Valeur diagnostique d'un nouvel algorithme dans l'infection materno-fœtale incluant la procalcitonine. Mémoire sage-femme, Nantes, 2012, p.22-4.
50. H ALTUNHAN, A ANNAGUR, R ORS, I MEHMETOGLU. Procalcitonin measurement at 24 hours of age may be helpful in the prompt diagnosis of early-onset neonatal sepsis. International Journal of Infectious Diseases 15 (2011) e854-e858.
51. STOCKER ET AL. Neonatal procalcitonin intervention study (NeoPIIns): Effect of procalcitonin-guided decision making on duration of antibiotic therapy in suspected neonatal early-onset sepsis: a multi centre randomized superiority and non inferiority intervention study. BMC Pediatrics 2010, 10:89
52. C CHIESA, A PANERO, N ROSSI ET AL. Reliability of procalcitonin concentrations for the diagnosis of sepsis in critically ill neonates. Clinical Infectious Diseases 1998; 26: 664-72.
53. EVRIDIKI K VOULOUMANOU, ELENIE PLESSA, DROSOS E KARAGEORGOPOULOS ET AL. Serum procalcitonin as a diagnostic marker for neonatal sepsis : a systematic review and meta-analysis. Intensive Care Med 2011 37 : 747-762
54. CARBONELL-ESTRANY X, FIGUERAS-ALOY J, SALCEDO-ABIZANDA et al. Probable early-onset group B streptococcal neonatal sepsis : a serious clinical condition related to intrauterine infection. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 2008 93:F85-9

ANNEXES

- ANNEXE 1: Protocole HEMOCORD
- ANNEXE 2: Protocole pédiatrique du CHU d'Angers concernant le frottis gastrique au moment de l'étude
- ANNEXE 3: Données concernant les nouveau-nés infectés.
- ANNEXE 4: Recommandations de 2013 élaborées par les commissions du Réseau « Sécurité-naissance » : Prévention et Prise en charge des infections materno-fœtales.

ANNEXE 1 : Protocole HEMOCORD

Protocole *HEMOCORD*



**EVALUATION DE LA CONCORDANCE DIAGNOSTIQUE DES HEMOCULTURES
PRELEVEES AU CORDON ET EN PERIPHERIE DANS L'INFECTION MATERNO FŒTALE
PRECOCE.**

**RECHERCHE PROSPECTIVE MULTICENTRIQUE NON INTERVENTIONNELLE SUR
PRELEVEMENTS**

**Investigateur Coordonnateur ou personne qui dirige et surveille la réalisation de la
recherche :**

Dr Sophie DENIZOT
Réanimation néonatale
Hôpital Mère-Enfant
38 Boulevard Jean Monnet
44093 Nantes Cedex
Contact :
Tel : (33) 02 40 08 76 71
Fax : (33) 02 40 08 77 20

Méthodologiste :

Mr Bruno GIRAudeau
Centre d'Investigation Clinique INSERM 0202
CHRU de Tours
2 Bd Tonnellé
37044 Tours cedex 9
Tel : 33 (2) 47 47 46 18

Fax : 33 (2) 47 47 46 62

Etablissement responsable de la recherche :



CHU de Nantes

Contact : Anne Omnès
Cellule de promotion à la recherche clinique
5, allée de l'île Gloriette
44 093 Nantes cedex 01 (FRANCE)

Contact :

Tel : 02 53 48 28 35

Fax : 02 53 48 28 36

Comité Scientifique :

Pr Christele GRAS-LEGUEN- Réanimateur pédiatre- Pédiatrie (Investigateur)

Dr Sophie DENIZOT– Réanimateur Pédiatre – Investigateur Principal

Dr Jean-Baptiste MULLER– Pédiatre néonatalogue– Pédiatrie (Investigateur)

Dr Christophe SAVAGNER– Pédiatre néonatalogue– Pédiatrie (Investigateur)

Dr Jocelyne CAILLON- bactériologiste- Bactériologie

Mme Catherine KERFORN- cadre de santé, sage-femme- bloc obstétrical

M. Bruno GIRAudeau – Méthodologiste/Statisticien – Méthodologie

M. Arnaud LEGRAND – Coordinateur d'Essais Cliniques – Méthodologie

M. Thierry BOMPOIL- Attaché de Recherche en Biologie- Méthodologie

Pr Jean-Christophe ROZE – Réanimateur Pédiatre – Méthodologie

RESUME

Titre de l'étude	Evaluation de la concordance diagnostique des hémocultures prélevées au cordon et en périphérie dans l'infection materno fœtale (IMF) précoce. Recherche prospective multicentrique non interventionnelle sur prélèvements
Mots clés	Infection materno fœtale précoce, hémocultures, nouveau-né, prélèvement au cordon
Responsable de la recherche	CHU DE NANTES
Investigateur coordonnateur (si étude multicentrique)	Dr Sophie Denizot
Nombre de centres prévus	Etude multicentrique nationale : 3 centres impliqués (Nantes, Angers, Saint-Brieuc)
Type d'étude	Recherche non Interventionnelle
Planning de l'étude	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Durée totale : 18 mois ❖ Période de recrutement : de mai 2011 à novembre 2012 ❖ Durée de suivi par patient : la participation des patients à l'étude est limitée à la période de prélèvement soit 48 heures
Design de l'étude	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Multicentrique ❖ Non contrôlée ❖ Prospective
Objectifs de l'étude	<p><i>Objectif principal :</i> Montrer qu'il existe une concordance entre les résultats des hémocultures prélevées au cordon à la naissance (Hémoc C), et en périphérie (Hémoc P), dans les premières 48 heures de vie, pour la mise en évidence de bactéries pathogènes responsables d'IMF précoce.</p> <p><i>Objectif(s) secondaire(s) :</i> Analyser les cas de discordance entre Hémoc C et Hémoc P en distinguant la nature des germes documentés pour différencier des bactéries contaminantes ou pathogènes (effet du volume sanguin prélevé sur la positivité des hémocultures, effet du mode de prélèvement sur la contamination des hémocultures, faisabilité de l'hémoculture au cordon)</p>
Nombre de cas prévisionnel	On prévoit inclure plus de 3000 sujets dans cette étude.
Calendrier des différentes visites et des différents examens	L'étude est transversale et la participation des patients à l'étude est limitée à la période des prélèvements soit 48h00.
Critères principaux de sélection, d'inclusion, de non-inclusion et d'exclusion	<ul style="list-style-type: none"> • Critères d'inclusion: <ul style="list-style-type: none"> ➤ nouveau-né suspect d'infection materno-fœtale (définie par les critères ANAES, 2002) ➤ Non-opposition des parents ou de l'autorité parentale.

	<ul style="list-style-type: none"> • Critères de non-inclusion: <ul style="list-style-type: none"> ➤ Opposition des parents formulée après leur information par l'équipe médicale • Critères d'exclusion: <ul style="list-style-type: none"> ➤ Pas d'hémoculture au cordon disponible (problème de réalisation/technique...)
Procédure de référence (si applicable)	Non applicable
Critère de jugement principal	<p>Résultat de l'hémoculture, pour l'Hémoc C et pour l'Hémoc P</p> <p>A partir de là, deux informations seront recueillies :</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Présence/absence de bactéries pathogènes ➤ En cas de présence de bactéries, nature de ces bactéries (streptocoques du groupe B (<i>Streptococcus agalactiae</i>), et autres streptocoques non B (<i>S. mitis</i>, <i>S. sanguis</i>, etc.), <i>Streptococcus pneumoniae</i>, <i>Escherichia coli</i> et autres entérobactéries, <i>Listeria monocytogenes</i>, <i>Enterococcus sp</i>, <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Haemophilus influenzae</i> et <i>H. parainfluenzae</i>, <i>Acinetobacter sp</i>)
Critère(s) de jugement secondaire(s)	<p>Prévalence, selon les deux techniques, des enfants :</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Infectés certains (bactériologie positive à germe pathogène isolé d'un site normalement stérile : Hémoc P ou ponction lombaire) ➤ Infectés probable (anomalie clinique et/ou biologique, et prélèvement périphérique (prélèvement de liquide gastrique) positif à un germe pathogène) ➤ Infectés possible (anomalie clinique et/ou biologique, sans documentation bactériologique ou isolement d'un germe non pathogène) ➤ Colonisés (bactériologie positive, sans signe clinique ni biologique) ➤ Non infecté : pas de signes cliniques et bactériologie négative ou germe non pathogène <p><i>Ref. ANAES 2002 pour les définitions du statut d'infection du nouveau-né</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Etude pilote méthodologique comparant les résultats diagnostiques des flacons d'hémoculture pédiatriques versus adultes sur une cohorte de 300 patients.
Analyse statistiques	<p>L'analyse statistique sera réalisée selon un plan d'analyse prédéfini (analyse des concordances, analyse descriptive des cas discordants, analyses des qualités diagnostiques de l'Hémoc C, cf. protocole). Les analyses seront conduites sur l'échantillon de patients pour lesquels les données seront disponibles : aucune méthode d'imputation ne sera mise en œuvre.</p> <p>Un rapport d'analyse statistique sera rédigé en conformité avec les</p>

	recommandations de STROBE (<i>STrengthening the Reporting of OBservational studies in Epidemiology</i>).
Soumission au Groupe Nantais d’Ethique dans le Domaine de la Santé (GNEDS)	oui

ANNEXE 2 : Protocole pédiatrique du CHU d'Angers concernant le frottis gastrique au moment de l'étude

RESULTATS DE FROTTIS GASTRIQUE : QUE FAIRE ?

A QUELS NOUVEAU-NES FAIRE UN PRELEVEMENT ?

- **Tout nouveau-né présentant un facteur de risque d'infection materno-fœtale doit avoir, avant la première tétée, un prélèvement du liquide gastrique pour analyse en bactériologie.**
- 11 facteurs de risques ont été retenus :
 1. Endométrite ou amniotite
 2. Fièvre maternelle > 38°
 3. Infection urinaire ou vaginale au 3^{ème} trimestre
 4. RPM > 12 heures ou travail long
 5. PV + à streptocoque B au 3^{ème} trimestre
 6. Prématurité non consentie
 7. SFA inexpliquée avec apgar < 7 à 5 min
 8. RCF > 160/min pendant + de 10 minutes
 9. LA méconial
 10. Utilisation de 2 gels de maturation ou plus
 11. Naissance en contexte septique

QUE FAIRE DES RESULTATS DE L'EXAMEN DIRECT ?

- Si le nouveau-né présente des signes cliniques d'infection néonatale :
Ne pas tenir compte des résultats du FG et hospitaliser pour traitement antibiotique intraveineux, à l'unité mère enfant ou en néonatalogie.
- Si l'examen du nouveau-né est normal, sans signe clinique d'infection :
La conduite à tenir dépend des résultats de l'examen direct
 1. Nombreux diplocoques gram + : haut risque d'infection à Strepto B
 - ↳ hospitalisation pour bilan et traitement IV (UME ou PNN)
 2. Quelques diplocoques gram + : risque d'infection à Streptocoque B
 - ↳ surveillance en suite de couche
 - ↳ CRP 6 à 12 heures après la naissance
 - ↳ à renouveler 24 à 48 heures plus tard si besoin (selon le premier dosage et l'évolution clinique)

3. Rares diplocoques gram + : faible risque d'infection à Streptocoque B
 - ↳ surveillance en suite de couche
 - ↳ CRP 6 à 12 heures après la naissance
4. Nombreux bacilles gram - : risque d'infection à E Coli (rarement sévère)
 - ↳ surveillance en suite de couche
 - ↳ CRP 6 à 12 heures après la naissance
 - ↳ à renouveler 24 à 48 heures plus tard si besoin (selon le premier dosage et l'évolution clinique)
5. Quelques ou rares bacilles gram - : faible risque d'infection à E Coli
 - ↳ surveillance en suite de couche
 - ↳ CRP 6 à 12 heures après la naissance
6. Présence de bacilles gram + (quel que soit le nombre) : très probable flore vaginale de lactobacilles non pathogènes (listériose possible mais il existerait une anamnèse évocatrice ou une forte atteinte clinique)
 - ↳ surveillance en suite de couche
 - ↳ pas de dosage de la CRP
7. Présence de 2 types de germes différents : probable contamination
 - ↳ surveillance en suite de couche
 - ↳ récupérer à H 48 les résultats de la culture
 - ↳ CRP si un germe « pousse » en culture

QUE FAIRE DES RESULTATS DE LA CRP ?

- Si le nouveau-né présente des signes cliniques d'infection néonatale :
Ne pas tenir compte des résultats de la CRP et hospitaliser pour traitement antibiotique intraveineux, à l'unité mère enfant ou en néonatalogie.
 - Si l'examen du nouveau-né est normal, sans signe clinique d'infection :
La conduite à tenir dépend des résultats de la CRP
1. CRP < 10 mg/l :
 - ↳ pas de traitement
 - ↳ contrôle éventuel de la CRP 24 à 48 h plus tard selon le contexte
 2. CRP entre 10 et 30 mg/l :
 - ↳ traitement antibiotique oral
 - ↳ pas de sortie
 - ↳ contrôle de la CRP 24 à 48 h plus tard
 3. CRP > 30 mg/l :
 - ↳ traitement antibiotique intraveineux impératif
 - ↳ transfert en UME ou PNN

TRAITEMENT ORAL : COMMENT FAIRE ?

- Antibiotique à choisir :
 - Strepto B : Clamoxyl per os 125 mg x 3 par jour
 - Escherichia Coli : Augmentin per os 125 mg x 3 par jour
- Durée du traitement : 8 à 10 jours
- Surveillance de l'efficacité du traitement : contrôle de la CRP 48 h après
 - CRP normalisée < 10 mg/l :
 - poursuite du traitement à domicile
 - pas de contrôle en externe
 - CRP abaissée mais encore > 10 mg/l :
 - poursuite du traitement à domicile
 - contrôle en externe 2 jours après l'arrêt du traitement
 - CRP augmentée : transfert pour traitement IV

ANNEXE 3 : Données concernant les nouveau-nés infectés

- Antécédent d'IMF : 0. Non 1. Oui
- Terme en Semaines d'aménorrhée
- Portage maternel du Streptocoque B : 0.Non 1. Oui NF. Non fait
- Antibiotiques per partum complet (2 doses) : 0. Non 1. Oui
- Mode d'accouchement : 0. Voie basse simple 1.Voie basse instrumentale
2.Césarienne
- Rupture de la poche des eaux (RPDE) > 12heures : 0.Non 1.Oui
- Liquide amniotique teinté (LAT) ou méconial (LAM) : 0. Non 1.Oui
- Hyperthermie maternelle : 0.Non 1.Oui
- Chorioamniotite maternelle : 0.Non 1.Oui
- Anomalies du rythme Cardiaque Fœtal (ARCF) : 0.Non 1.Oui
- Poids de naissance (PN) en grammes
- Apgar à 5 minutes de vie
- pH artériel ombilical
- Procalcitonine (PCT) en ng/ml
- Durée d'hospitalisation en jours
- Symptômes : 0.Non 1.Oui
- Liquide Gastrique (LG) : examen direct
 - 0. Négatif 1.Cocci gram positif
 - 2.Bacille gram négatif 3. Autres
- Liquide gastrique : Culture
 - 0. Négative 1.Streptocoque B
 - 2. Escherichia Coli 3.Autres
- Protéine C-réactive (CRP) en mg/L
- Hémoculture Périphérique (HP) : 0.Négative 1.Positive NF. Non Fait
- Hémoculture centrale (HC) : 0.Négative 1.Positive NF. Non Fait
- Placentoculture :
 - 0. Négative 1.Streptocoque B
 - 2.Escherichia Coli 3. Autres NF. Non Fait

**ANNEXE 4: Recommandations de 2013 élaborées par les
commissions du Réseau « Sécurité-naissance » : Prévention et
Prise en charge des infections materno-fœtales**

RESUME

OBJECTIF- Cette étude a pour objectif d'analyser la valeur diagnostique de la procalcitonine au cordon, comme marqueur infectieux spécifique de l'infection materno-fœtale précoce chez le nouveau-né.

METHODES- Il s'agit d'une étude monocentrique prospective, non interventionnelle ayant inclus 629 dossiers entre le 5 Juin et le 29 Novembre 2012. Le dosage de la procalcitonine était réalisé chez les enfants bénéficiant d'un prélèvement gastrique à la naissance, et les résultats n'étaient pas connus de l'équipe médicale en charge du nouveau-né. La valeur diagnostique de la procalcitonine a été évaluée par sa sensibilité, sa spécificité, sa valeur prédictive positive et négative, grâce à la courbe ROC et au nomogramme de Bayes.

RESULTATS – 29% de la population de cette période a été étudiée sur le CHU d'Angers et parmi les nouveau-nés inclus, 20 étaient considérés comme infectés probable. L'analyse de la procalcitonine a mis en évidence les sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive et négative respectivement de 70%, 61,7%, 3,6%, 97,5%, pour une valeur seuil à 0,15ng/ml.

CONCLUSION- La procalcitonine au cordon semble être un marqueur intéressant dans le diagnostic de l'infection materno-fœtale bien que les résultats obtenus demeurent moins pertinents que ceux décrits dans la littérature. Ce marqueur pourrait être utilisé au sein d'une nouvelle approche diagnostique afin d'améliorer la prise en charge thérapeutique des nouveau-nés. Ces résultats doivent être confirmés dans une étude prospective multicentrique réalisée sur une période plus longue.

MOTS-CLES- procalcitonine- infection materno-fœtale- liquide gastrique- Streptocoque B

ABSTRACT

OBJECTIVE- This study aims to evaluate the diagnostic value of procalcitonin in blood cord as a specific marker in newborn suspected of neonatal infection.

METHODS- It is a monocentric prospective, non-interventional study which included 629 infants from June the 5th to November the 29th 2012. The procalcitonin results were kept unknown from the medical care unit. The diagnostic value was evaluated according to its sensitivity, specificity, positive and negative predictive values.

RESULTS – A sample of 29% of the population during this work was studied and twenty of the newborns were infected. The sensitivity, specificity, and negative and positive predictive values were respectively 70%, 61,7%, 3,6%, and 97,5% for PCT and the cut-off point was at 0,15ng/ml.

CONCLUSION- Serum Procalcitonin in blood cord appears to be a useful and effective marker to diagnose early neonatal sepsis. Incorporating procalcitonin in a new algorithm could improve therapeutic management of newborn suspected with neonatal infection. However our results, obtained in a relatively small number of neonates during a short period, are less relevant than described in literature. Nevertheless these results have to be confirmed by a properly designed trial, as a prospective multicentric study.

KEY-WORDS- procalcitonin- maternofetal infection- gastric fluid- Group B Streptococcus