



Marqueurs inflammatoires des infections materno-fœtales précoces

Jean-Bernard Gouyon

Service de Pédiatrie 2

CHU de Dijon

Prise en charge des IMF

- Recommandations (CDC, HAS) -

- Antibiothérapie probabiliste pour tout nouveau-né suspect d'infection materno-foetale symptomatique. Pour les autres sont pris en compte l'anamnèse et les marqueurs de l'inflammation.
- Réévaluation à 48 heures avec résultats bactériologiques et dosages de CRP à H12 et H 36

Prise en charge des IMF

- Recommandations (CDC, HAS) -

- Antibiothérapie probabiliste pour tout nouveau-né suspect d'infection materno-foetale (critères anamnestiques, cliniques, biologiques)
- Réévaluation à 48 heures avec résultats bactériologiques et dosages de CRP à H12 et H 36

➔ 11 à 30 antibiothérapies pour 1 IMF !

Pression de sélection des antibiothérapies néonatales

1- Création d'une pression de sélection

(Tullus et al. Lancet 1989; Lautenbach et al. Clin Infect Dis 2001)

- Amoxicilline → Klebsiella spp.
- C3G → Enterobacter spp. et Serratia Spp.

2- Conséquences de la pression de sélection

- pour les USIN :
émergence d'infections nosocomiales à BGN résistants
(Cordero et al. Am J Infect Control 2004; Jain et al. J Med Microbiol 2003)
- pour les malades traités (Labenne et al. Pediatr Infect Dis j 2007)

Bourgogne: 1012 n-nés (260 prématurés) traités pour IMF avant H72

- Antibiothérapie probabiliste (selon ANAES 2002); CRP
- Infection certaine : 39 (3,9%)
- Infection probable : 288 (28,5%)
- Infection probablement exclue : 685 (67,7%)

➔ Antibiothérapie inutile 2 fois sur 3

- Durée antibiothérapie:
 - pas d'infection: H48
 - infection probable: Dès que CRP < 10 mg/:
 - infection certaine: Dès que SC- et CRP < 10 mg/l
(au moins 5 j si septicémie
et 14 j si méningite)

Bourgogne: 1012 n-nés (260 prématurés) traités pour IMF avant H72

- Antibiothérapie probabiliste (selon ANAES 2002); CRP
- Infection certaine : 39 (3,9%)
- Infection probable : 288 (28,5%)
- Infection probablement exclue : 685 (67,7%)

➔ Antibiothérapie inutile 2 fois sur 3

- Durée antibiothérapie:
 - pas d'infection: H48
 - infection probable: Dés que CRP < 10 mg/l
 - infection certaine: Dés que SC- et CRP < 10 mg/l
(au moins 5 j si septicémie
et 14 j si méningite)

Bourgogne: 1012 n-nés (260 prématurés) traités pour IMF avant H72

- Durée d'antibiothérapie trop longue : 28%
- Quatre facteurs indépendants significativement associés aux infections nosocomiales:
 - AG faible (OR: 5,6; 95% IC: 2,2 - 14,1)
 - Ventilation mécanique (OR: 4,1; 95% IC: 1,3 - 13,1)
 - Cathéter veineux central (OR: 16,1; 95% IC: 1,8 - 14)
 - Durée d'antibiothérapie excessive (OR: 2,5; 95% IC: 1,2 - 5,5)

Il Faut Rechercher des Critères de Diagnostic Discriminant pour:

- Eviter les antibiothérapies inutiles
- Réduire les durées des antibiothérapies

Les Critères d'un Bon Test Diagnostique

- Comparaison à un standard de référence
- Population d'étude = population concernée en clinique
- Résultats du test n'influence pas la décision de réaliser le standard
- Test reproductible
- Calcul des rapports de vraisemblance

Evaluation des Méthodes de Diagnostic des IMF

- **Sensibilité** = nombre de sujets correctement identifiés divisé par le nombre total d'infectés
- **Spécificité** = nombre de sujets sains correctement identifiés sur le nombre total d'enfants non infectés
- **Valeur prédictive positive** = probabilité qu'un sujet avec un test positif soit réellement infecté
- **Valeur prédictive négative** = probabilité qu'un sujet avec un test négatif soit indemne d'infection
- **Rapports de vraisemblance : probabilité de l'évènement en post-test vs probabilité en pré-test**
 - **RV positif** = probabilité d'IMF ($Se / (1-Sp)$) > 10
 - **RV négatif** = probabilité de non infection ($(1-Se) / Sp$) $< 0,1$



Les Limites des Marqueurs du Diagnostic d'IMF

- C réactive protéine
- Procalcitonine
- Cytokines
- Associations de marqueurs

Marqueurs de l'inflammation classiques

- la CRP -

- Faible sensibilité entre H0 et H 12 de vie
- Nombreuses causes de faux positifs
 - Bosse séro-sanguine, hématomes, lésions cutanées, érythème fessier, traumatisme obstétrical, forceps, fracture clavicule, incompatibilité foeto-maternelle
 - Pathologies inflammatoires non spécifiques : Inhalation, pneumothorax, administration de surfactant, micro-ponctions répétées, gestes invasifs de réanimation

Marqueurs de l'inflammation classiques

- la CRP -

Etude californienne incluant 1002 nouveau-nés suspects d'infection < J3

Trois CRP : (1) à l'admission, (2) entre 8 et 24 heures, et (3) entre 25 et 48 heures (seuil : 10 mg/l)

20 infections certaines, 74 infections probables

| | Sensibilité | Spécificité |
|---------------|-------------|-------------|
| CRP 1 | 35 - 39% | 90 - 93% |
| CRP 2 | 79 - 92% | 78 - 84% |
| CRP 2 ou 3 | 89 - 98% | 74 - 79% |
| CRP 1, 2 ou 3 | 89 - 98% | 71 - 76% |

Marqueurs de l'inflammation classiques

- la CRP -

- Faible sensibilité entre H0 et H 12 de vie
- Nombreuses causes de faux positifs
 - Bosse séro-sanguine, hématomes, lésions cutanées, érythème fessier, traumatisme obstétrical, forceps, fracture clavicule, incompatibilité foeto-maternelle
 - Pathologies inflammatoires non spécifiques : Inhalation, pneumothorax, administration de surfactant, micro-ponctions répétées, gestes invasifs de réanimation

Marqueurs de l'inflammation classiques

- la CRP -

- Etude Sud-Africaine incluant 100 nouveau-nés de moins de 24 heures suspects d'infection
- Exclusion des enfants ventilés
- Deux dosages de CRP à l'admission et 24 à 48 heures plus tard (seuil: 10 mg/l)
- Valeur prédictive négative de cette stratégie: **99%** (IC 95%: 95,6 – 99,9%)
- 8 enfants classés IMF exclue ont été ré-hospitalisés pour suspicion de sepsis, 2 infectés dont 1 décès

Marqueurs de l'inflammation classiques

- la CRP -

- Etude Sud-Africaine incluant 100 nouveau-nés de moins de 24 heures suspects d'infection
- Exclusion des enfants ventilés
- Deux dosages de CRP à l'admission et 24 à 48 heures plus tard (seuil: 10 mg/l)
- Valeur prédictive négative de cette stratégie: **99%** (IC 95%: **95,6 – 99,9%**)
- 8 enfants classés IMF exclue ont été ré-hospitalisés pour suspicion de sepsis, 2 infectés dont 1 décès

Procalcitonine et IMF précoces

Utilisation difficile dans la 1^e semaine de vie

- Synthèse :
 - Cellules C de la thyroïde
 - Monocytes et hépatocytes (en cas d'infection)
- Cinétique (après injection de LPS)
 - élévation 3 - 4 heures après
 - Pic au bout de 6 - 8 heures
 - $\frac{1}{2}$ vie : 25 - 30 heures
- Rôle ? Interaction avec cytokines pour libération de NO par NOS inducible

Pic physiologique néonatal

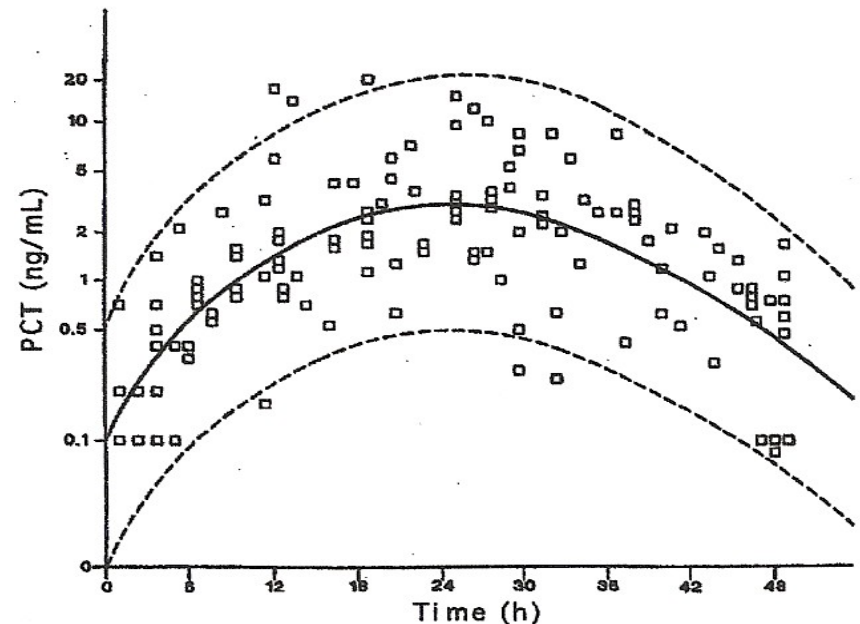
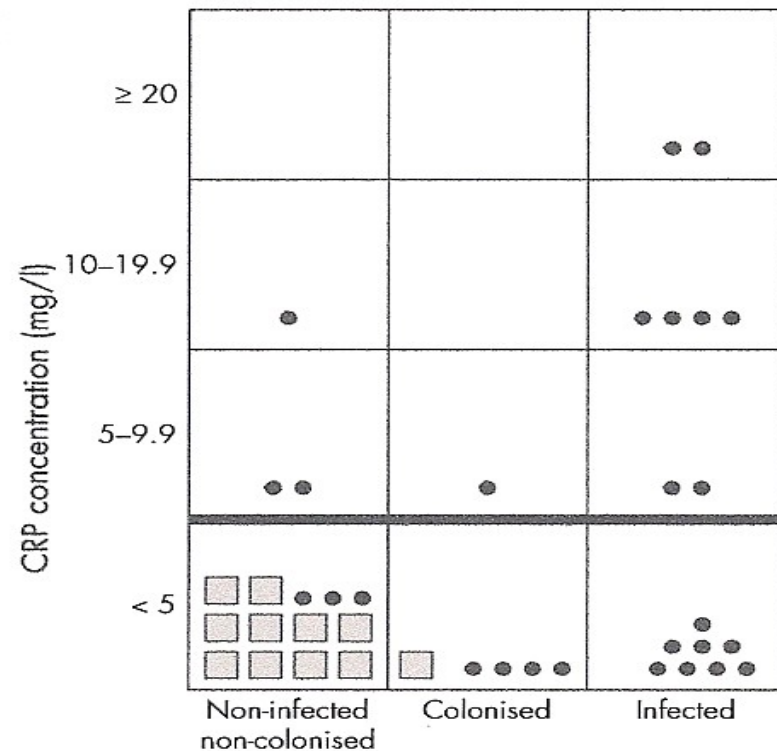
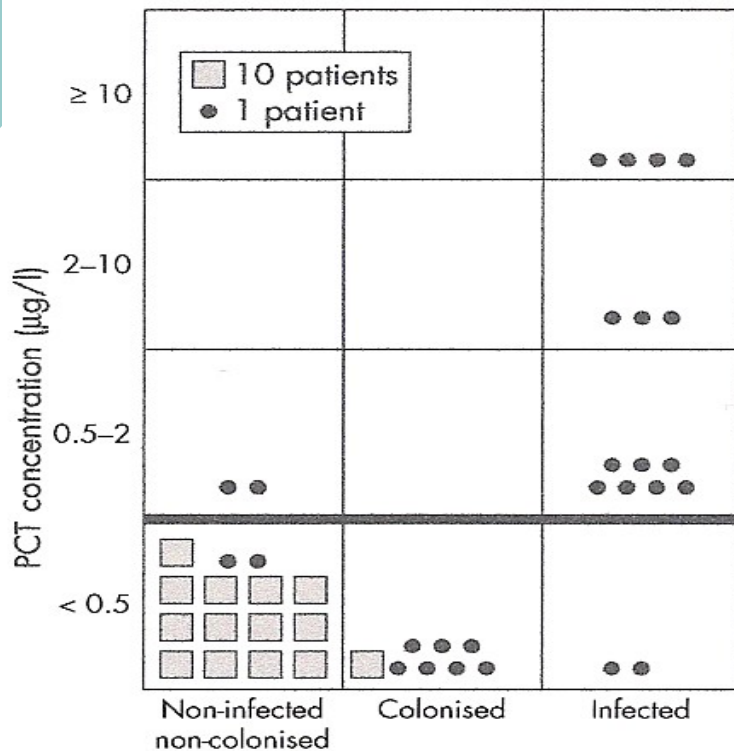


Figure 1. Age-specific 95% reference range for procalcitonin (PCT) in healthy neonates (group 0; see text) from birth to 48 hours of life. The squares represent single values; the dotted lines represent lower and upper limits; the bold line represents the geometric mean.

Procalcitonine au cordon et IMF précoces

Etude Nantaise : 167 nouveau-nés suspects d'IMF
 Dosage de PCT semi-quantitatif (seuil: 0,5ng/ml)
 16 IMF probables, 17 colonisés, 134 non infectés



Autres marqueurs de l'inflammation et IMF précoces

○ Nombreuses études :

- Cytokines pro-inflammatoires : IL-1b, IL-2, **IL-6**, **IL-8**, IL-12, TNF- α , IFN- γ , IL-1ra, s IL-2R
- Cytokines anti-inflammatoires : IL-4, IL-5, IL-10
- Adhésines : s ICAM-1, VCAM-1, E-sélectine
- Fractions complément : C3a-desArg, C3b BbP, C5b-9
- Marqueurs de surface cellulaire : CD11b, CD64

- **Résultats encourageants mais** grande variabilité dans la population étudiée, la méthodologie, la préparation et le stockage des échantillons, la technique de dosage, le seuil de positivité



Pas de méta-analyse possible
Peu d'utilisation en pratique clinique

IMF précoces et cytokines

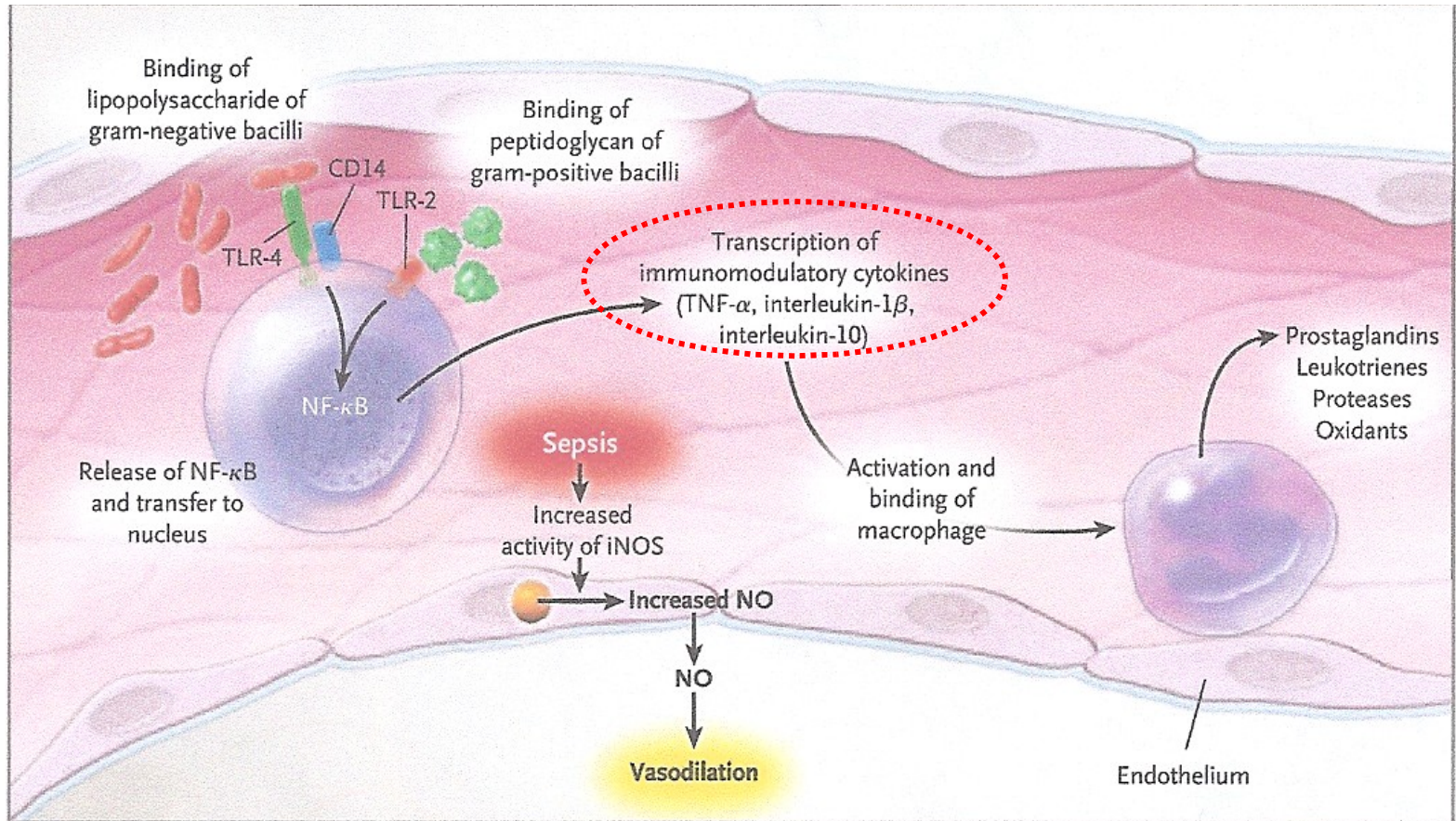
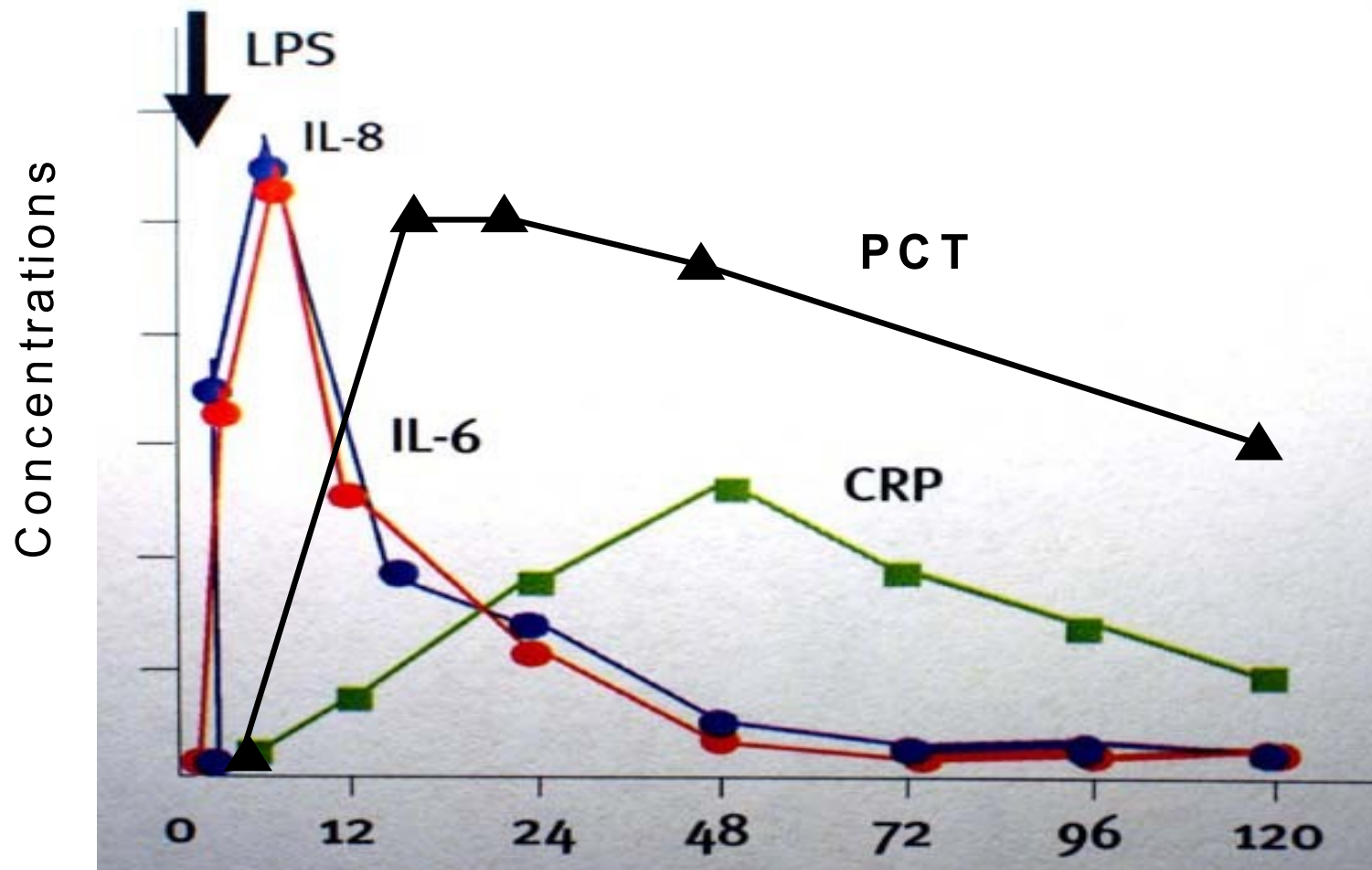


Figure 1. Inflammatory Responses to Sepsis.

Cytokines et Infection



Cytokines et IMF précoces

IL-6

- Sensibilité : 69 – 100%
- Spécificité : 36 - 93%
- Seuils : 10 – 500 pg/ml
- Faux positifs
 - Chorioamniotite
 - SFA, asphyxie périnatale
 - Score SNAP
 - Défaillance hémodynamique
 - Chirurgie

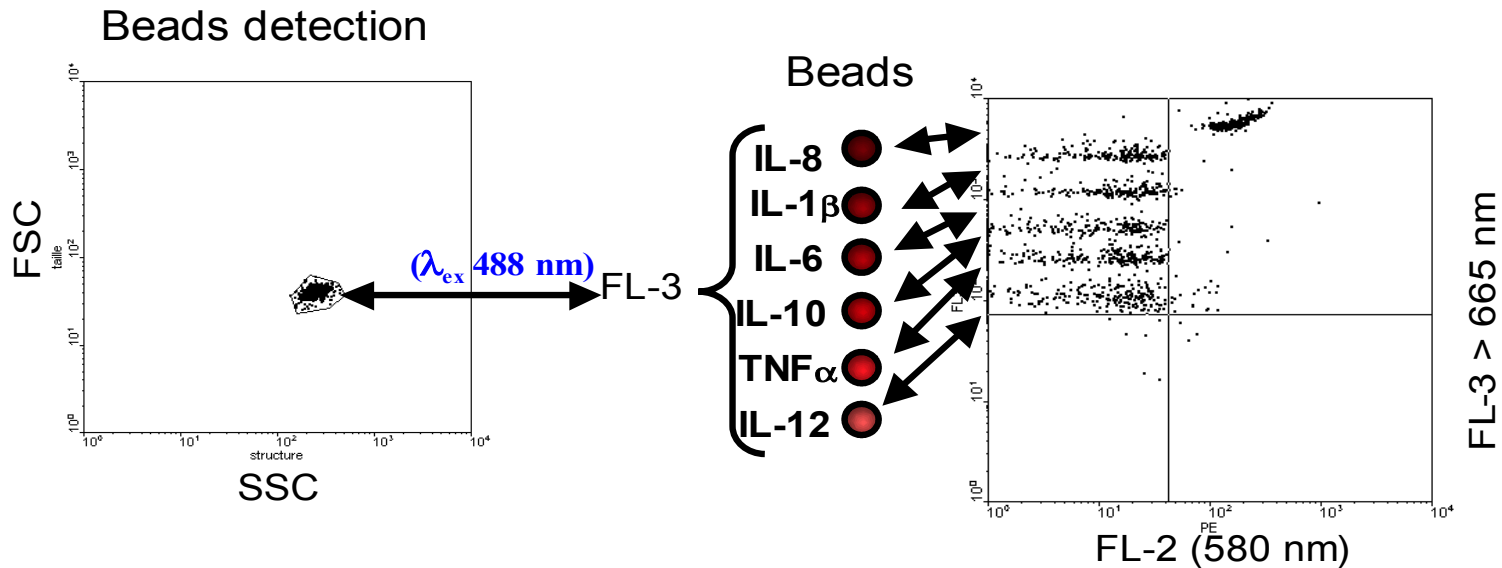
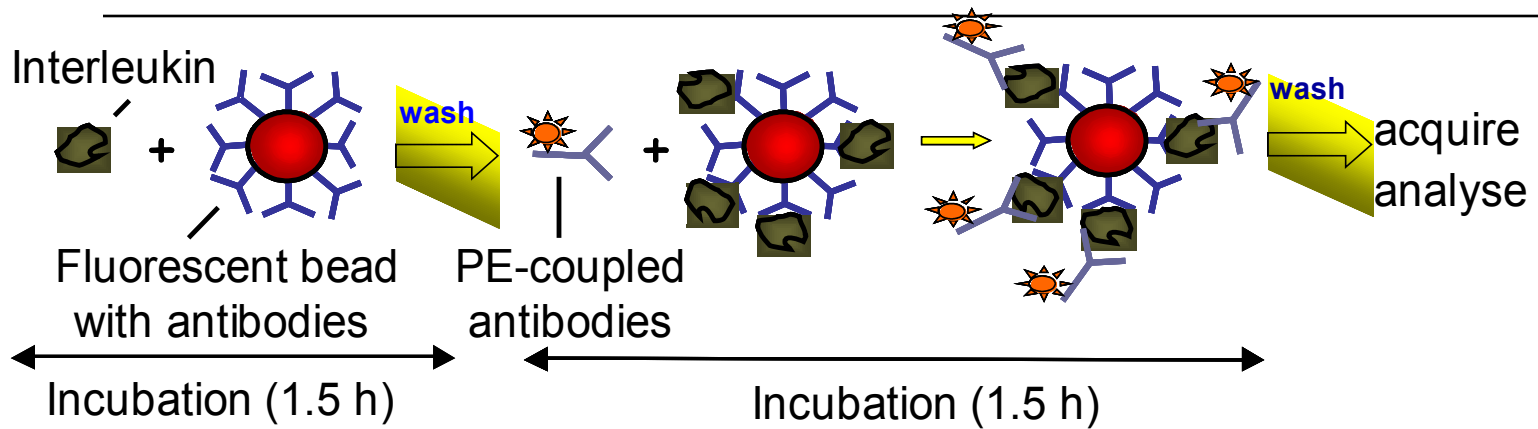
IL-8

- Sensibilité : 69 – 91%
- Spécificité : 73 - 93%
- Seuils : 25 – 200 pg/ml
- Faux positifs
 - Hémolyse
 - Chorioamniotie
 - SFA, asphyxie périnatale
 - Inhalation méconiale

Cytokines et IMF précoces

- Nombreuses études sur intérêt des cytokines dans le diagnostic des IMF avec **résultats prometteurs mais**
 - Méthodes de dosages longues et complexes
 - Manque de reproductibilité
 - Non automatisable
 - Volume de sérum nécessaire pour quantifier 1 protéine ($\geq 100 \mu\text{L}$)
 - Non disponibilité des résultats en temps réel
 - Et / ou prix élevé
- Progrès de la **cytométrie de flux** apparition de **techniques de dosage multiplexé** permettant la mesure simultanée de plusieurs marqueurs sur un très petit échantillon de sérum (dosage simultané de 6 à 40 marqueurs sur 10 à 50 μl de sérum).

Technique CBA (Cytometric Bead Array)



Dosages multiplexés de cytokines et IMF précoces

| | IMF certaine ou probable (n= 36) | IMF exclue (n = 267) | <i>P</i> |
|------------------|-------------------------------------|---------------------------------|----------|
| IL-6 (pg/mL) | 1293,1 ± 1617,2 502,5 (16-5000) | 154,1 ± 187,1 87 (0-1166) | < 0,001 |
| IL-8 (pg/mL) | 1302,8 ± 1702,1 374,5 (25-5000) | 182,9 ± 197,1 131,0 (0-1602) | < 0,001 |
| IL-10 (pg/mL) | 241,9 ± 749,4 60,0 (0-4519) | 44,9 ± 48,9 29,0 (0-314) | < 0,001 |
| TNF-α (pg/mL) | 9,4 ± 24,6 2,5 (0-145,0) | 3,7 ± 5,3 0 (0-28,7) | NS |
| IL-1β (pg/mL) | 41,0 ± 81,0 8,5 (0-343,0) | 15,9 ± 29,3 0 (0-218,0) | NS |
| IL-12 (pg/mL) | 6,9 ± 13,8 0 (0-60,0) | 4,8 ± 9,5 0 (0-44,0) | NS |

Dosages multiplexés de cytokines et IMF précoces

| | IL-6 ≥ 200 pg/ml | IL-8 ≥ 150 pg/ml | IL-6 ≥ 200 et IL-8 ≥ 150 pg/ml |
|-------------------------------|---------------------|---------------------|-----------------------------------|
| Sensibilité, % | 94,4 | 97,2 | 94,4 |
| Spécificité, % | 75,3 | 55,1 | 83,9 |
| VPP, % | 34,0 | 22,6 | 44,2 |
| VPN, % | 99,0 | 99,3 | 99,1 |
| Rapport de vraisemblance + | 3,82 | 2,16 | 5,86 |
| Rapport de vraisemblance - | 0,07 | 0,05 | 0,07 |

Conclusion (1)

1. Le marqueur ou l'association optimale de marqueurs de l'IMF précoce reste à identifier.
2. Il doit idéalement permettre de réaliser un dosage:
 - 24 / 24 h
 - avec une VPN et un rapport de vraisemblance négatif optimaux
 - une efficacité prospectivement contrôlée à grande échelle
 - une technologie « simplifiée »
 - un coût « raisonnable »

Conclusion (2): L'avenir

3. La place des marqueurs maternels (cervico-vaginaux ou Sériques) reste à évaluer selon les circonstances cliniques:

- Ex: Prédiction du diagnostic d'IMF en cas de RPM avant 34 SA- IL6 des sécrétions vaginales a une Se de 79% et une VPN de 92% (Kayem et al. Am J Obstet Gynecol 2005;92:140)

4. La place des marqueurs pour le diagnostic des infections bactériennes nosocomiales

Procalcitonine, Cytokines et Sévérité de l'Infection Néonatale

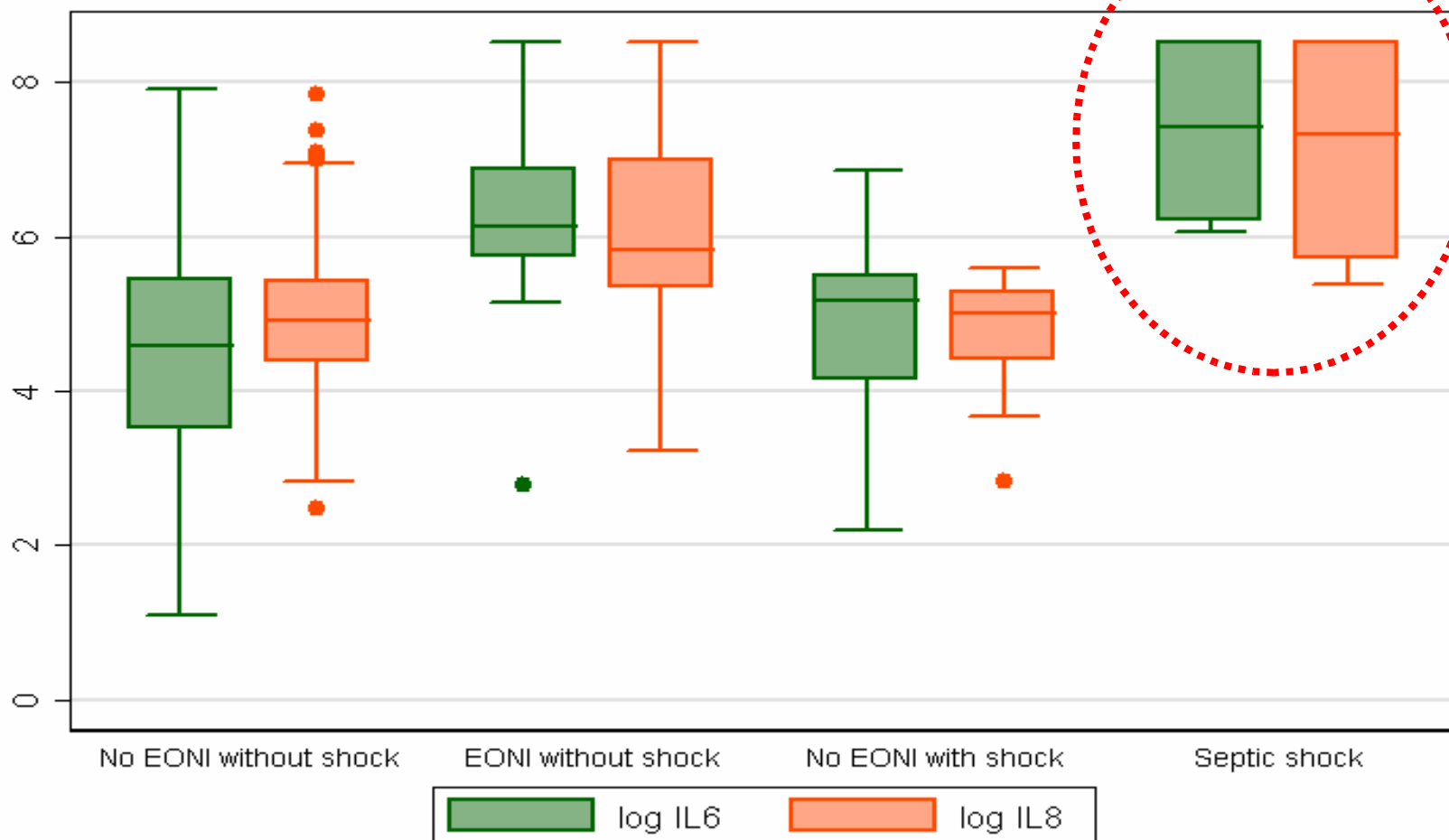
○ **Procalcitonine**

- Valeur pronostique démontrée dans le sepsis de l'adulte et dans le choc septique de l'enfant (*Assicot, Lancet 1993; 341: 515*)
- Valeur pronostique en néonatalogie ?

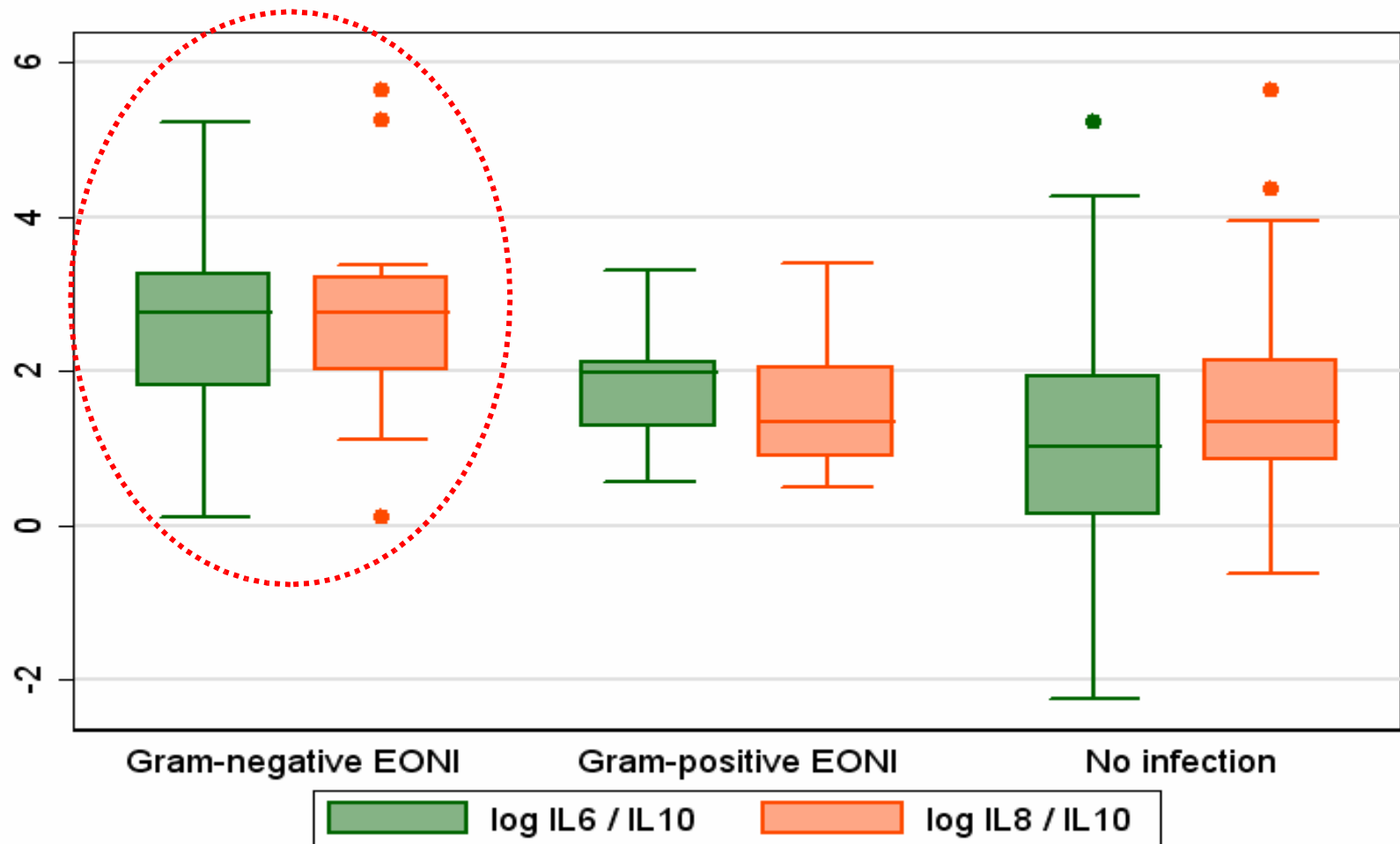
○ **Cytokines**

- Taux plasmatique d'IL-8 et d'IL-10 et mortalité dans l'infection bactérienne tardive et l'ECUN du prématuré (*Harris, J Pediatr 2005; 147: 462*)
- Rapports IL-10 / TNF- α et IL-6 / IL-10 et infection néonatale tardive avec CIVD (*Ng, Arch Dis Child Fetal Neonatal 2003; 88: 209*).

Dosage multiplexé de cytokines et choc septique néonatal



Dosage multiplexé de cytokines et germes des IMF



Durée de traitement et CRP

- ~~*Ehl S, Pediatrics 1997; 99: 216-221*~~

 - 176 nouveau-nés > 1500g divisés en 3 groupes
 - Groupe 1 : non infectés (n = 94)
 - Groupe 2a : infectés / CRP (n = 39)
 - Groupe 2b : infectés / contrôle (n = 43)
 - Stop ATB si CRP < 10 mg/l (groupe 2a) vs durée = 5 jours (gr 2b)
 - Surveillance = 1 mois
 - Durée ATB : 3,7 jours (groupe 2a) versus 5,5 jours (groupe 2b)
 - Infection tardive:
 - Groupe 2a = 1
 - Groupe 2b = 2
- *Philip A, Pediatrics 2000; 99: 216-221* :
 - 425 nouveau-nés de PN > 1500 g, avec stop ATB à H48 (pas d'IMF) ou dès que CRP < 10 mg/l (IMF certaine ou probable)
 - Aucune récurrence

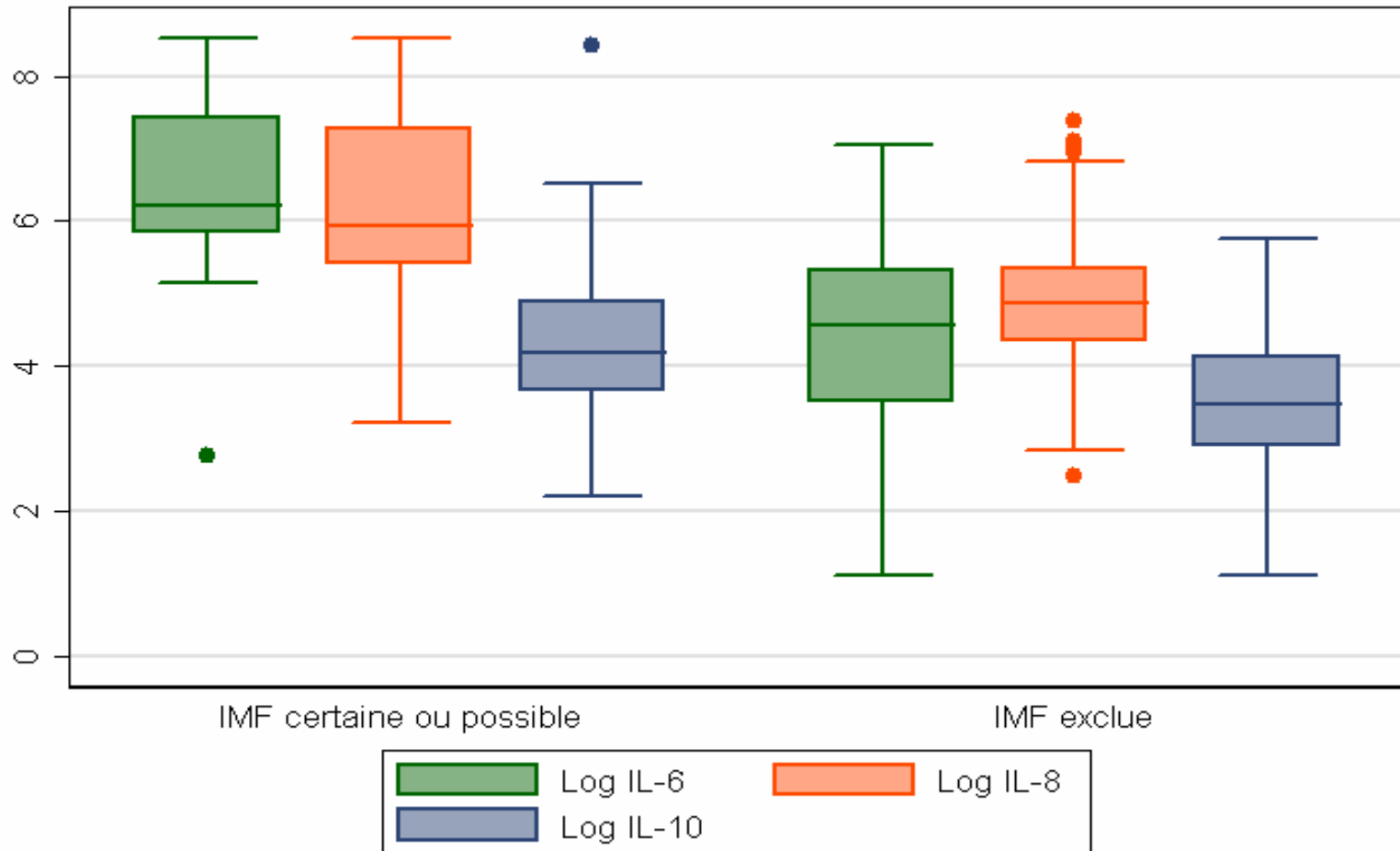
Durée de traitement et nouveaux marqueurs inflammatoires

- *Verboon-Maciolet, Pediatr Res 2006; 59: 457*
 - 92 nouveau-nés (4 à 35 jours), en réanimation
 - Groupe 1 (n = 37) : infection certaine (35 Staph CN)
 - Groupe 2 (n = 29) : sepsis clinique
 - Groupe 3 (n = 26) : contrôle
 - Dosage IL-6, IL-8, PCT et CRP au diagnostic et 72 heures après début du traitement
 - IL-6, IL-8 et PCT étaient meilleurs que la CRP pour le diagnostic et **se normalisaient en 72 heures chez les malades qui guérissaient cliniquement**

Marqueurs inflammatoires et IMF précoces : Conclusion / perspectives

- Intérêt des technologies multiplexes en réanimation néonatale pour le diagnostic des IMF précoces et des infections tardives acquises à l'hôpital
- Intérêt diagnostique de la PCT reste à préciser
- Durée de l'antibiothérapie guidée par CRP ou PCT
- Perspectives
 - Etudes en intention de traiter pour tester de nouveaux algorithmes diagnostiques
 - Equilibre des cytokines pro- et anti-inflammatoires pour déterminer pronostic et pathogène en cause
 - Guide la mise au point de techniques diagnostiques rapides

Diagnostic des IMF précoces par dosage multiplexé de cytokines : Résultats (3)



CRP et infections néonatales tardives

- *Pourcyrous, Pediatrics 1993; 92: 431*
 - Sensibilité de la CRP variable en fonction du germe isolé à l'hémoculture
 - BGN : 46 CRP élevées / 50 (92%)
 - SGB : 12 / 13 (92%)
 - *Staphylococcus aureus* : 8 / 9 (89%)
 - **Entérocoque : 10 / 14 (71%)**
 - **Streptococcus viridans : 6 / 10 (60%)**
 - **Staphylococcus epidermidis : 40 / 73 (55%)**

PCT et infections néonatales tardives

• *Verboon-Maciolet, Pediatr Res 2006; 59: 457*

- 92 nouveau-nés (4 à 35 jours), en réanimation
- Groupe 1 (n = 37) : infection certaine (**35 Staph à CN**)
- Groupe 2 (n = 29) : sepsis clinique
- Groupe 3 (n = 26) : contrôle
- Dosage sérique de CRP, PCT, IL-6 et IL-8

| | Se | Sp | VPP | VPN |
|-----------------|-----|-----|-----|-----|
| PCT > 0,5µg/l | 69% | 82% | 83% | 68% |
| CRP > 14mg/l | 65% | 52% | 63% | 54% |
| IL-6 > 60 pg/ml | 68% | 76% | 78% | 65% |
| IL-8 > 50 pg/ml | 84% | 52% | 72% | 74% |

Cytokines et Infections tardives

| Auteur | n | Marqueur (seuil) | Se (%) | Sp (%) | VPP (%) | VPN (%) |
|----------------|-----|---------------------|-----------|-----------|------------|------------|
| Franz (1999) | 215 | IL-8 (53) | 91 | 83 | 70 | 95 |
| | | IL-8 (70) | 80 | 91 | 74 | 91 |
| Ng (2002) | 110 | IL-6 (31) | 78 | 92 | 81 | 91 |
| Kuster (1998) | 182 | IL-6 (25) | 86 | 83 | | |
| | | IL-1ra (31) | 93 | 92 | | |
| Strait (1999) | 99 | IL-6 (95) | 88 | 70 | 7 | 99 |
| Ng (1997) | 101 | IL-6 (31) | 89 | 96 | 95 | 91 |
| | | IL-1 β (1) | 82 | 86 | 82 | 85 |
| | | TNF α (17) | 82 | 68 | 68 | 82 |
| Santana (2003) | 60 | IL-6 (30) | 61 | 80 | | |
| | | IL-8 (70) | 62 | 96 | | |

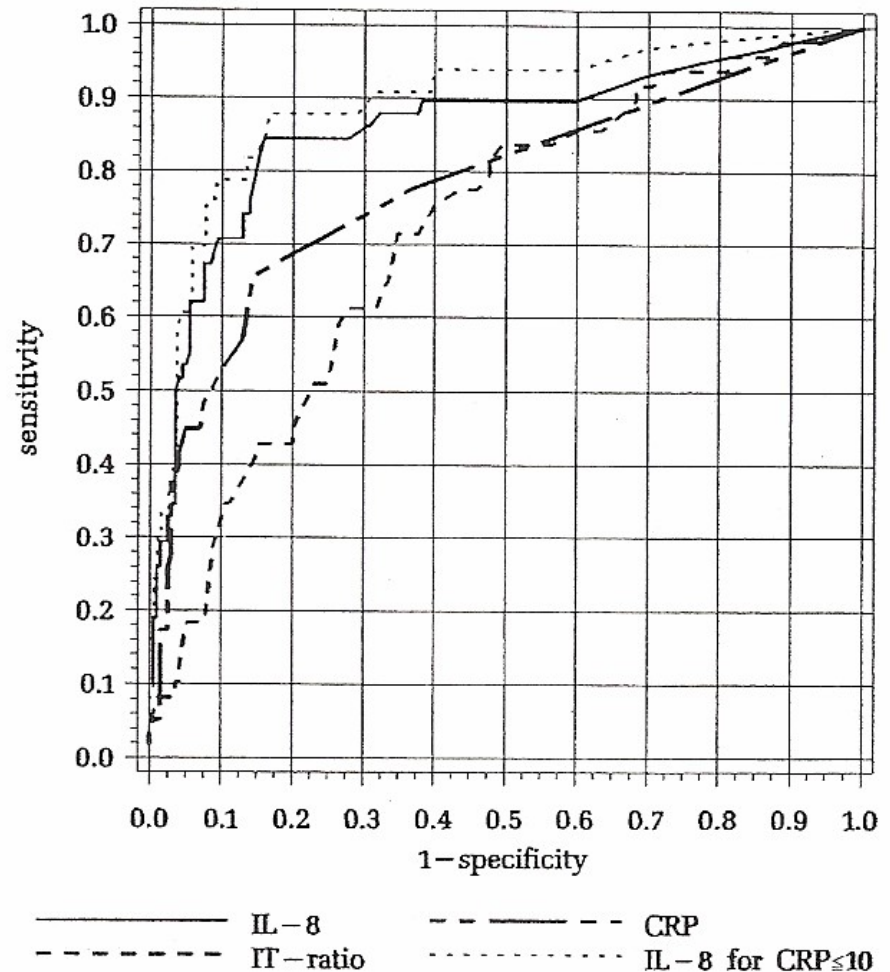
IL-8 et infections néonatales tardives

Franz, *Pediatrics* 1999; 104: 447

230 NN, 147 prématurés
Hospitalisés en réa
Suspects d'infection
Dosages : IL-8, CRP, NFS
26 prouvés infectés



IL-8 (seuil: 53 pg/ml)
permettait de réduire de
73% les ATB inutiles



Procalcitonine au cordon et IMF précoces

