

**UNIVERSITE PARIS 5
FACULTE DE SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET
BIOLOGIQUES DE PARIS DESCARTES**

ANNEE : 2012 - 2013

Thèse n°

Conformément aux dispositions de l'Arrêté du 4 octobre 1988 tient lieu de

THESE

Pour l'obtention du Diplôme d'Etat de

DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée devant le Jury interrégional

Le

Par Mlle Kaoutar OUAZZANI TOUHAMI

Titre :

**Les infections néonatales bactériennes dans les pays
industrialisés et les pays en voie de développement : à
propos d'une étude faite à Madagascar**

JURY :

Président :

Membres :

Remerciements

Je dédie cette thèse à :

- MES PARENTS

Qui ont consenti tous les sacrifices pour la carrière que je me suis tracée et qui ont toujours su m'encourager durant les moments difficiles. Veuillez trouver dans ce travail, l'expression de mon amour et ma profonde reconnaissance.

- MES SOEURS

- Aicha
- Meriem
- Kenza

- TOUTE MA FAMILLE

- MES AMIS MAROCAINS

- MES AMIS DE LA FACULTE

En témoignage de ma profonde affection et de mon amitié.

- MON MAÎTRE ET PRESIDENT DE THESE

- Madame le Professeur Marie-José BUTEL

Vous m'avez confié le sujet de ce travail.

Vous me faites aujourd'hui le grand honneur de composer le Jury de ma thèse.

Veillez trouver ici le témoignage de ma reconnaissance et de ma profonde admiration pour la clarté et l'élégance de votre enseignement.

- MES MAITRES ET JUGES

- Monsieur
- Madame le Professeur Marie-José BUTEL
- Madame le Professeur Josette RAYMOND

Je vous exprime toute ma reconnaissance car vous avez bien voulu me guider, me conseiller tout au long de ce travail.

Vous m'avez toujours réservé un accueil cordial et chaleureux.

Votre sympathique collaboration demeure à mes yeux exemplaire.

Je vous prie de croire à mes plus profonds et respectueux remerciements.

- Madame le Professeur Josette RAYMOND

Vous n'avez ménagé ni votre temps, ni vos conseils à l'élaboration de ce travail et vous m'avez toujours réservé un accueil cordial à chacun des moments où j'ai eu recours à votre aide précieuse.

Puisse ce travail être le témoignage de mon admiration et de ma profonde reconnaissance.

- TOUS MES PROFESSEURS DE LA FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET PHARMACEUTIQUES DE PARIS DESCARTES

En témoignage de ma profonde reconnaissance pour l'enseignement qu'ils m'ont prodigué.

- L'ASSOCIATION JEREMI-RHONES ALPES qui a financé cette étude
- Au Professeur A. Robinson (pédiatre), au Dr D. Rakotvao (pédiatre), aux Drs F. Randrianirina et E. Ratsima (biologistes), au Dr V. Richard, épidémiologiste sans qui cette étude n'aurait pas pu être réalisée.

Sommaire

I. Introduction.....	10
II. Les infections néonatales bactériennes dans les pays développés et dans les pays en voie de développement	11
A. Epidémiologie	11
B. Etiologies, mode de contamination et facteurs de risque	15
1. Etiologies et mode de contamination	15
2. Facteurs de risques	18
C. Diagnostic	20
1. Diagnostic clinique.....	20
2. Diagnostic biologique.....	21
3. Diagnostic bactériologique.....	23
a. Prélèvements périphériques	23
b. Hémoculture.....	23
c. Ponction lombaire	24
D. Traitement	24
1. Traitement symptomatique.....	24
2. Indication de l'antibiothérapie.....	24
3. Les molécules antibiotiques	25
a. Gestion des infections néonatales bactériennes dans les pays industrialisés	26
b. Gestion des infections materno-fœtales dans les pays en voie de développement.....	27
E. Prévention	29
III. Etude bactériologique menée dans deux hôpitaux de Madagascar : L'antibiothérapie probabiliste des infections néonatales utilisée dans les pays industrialisés est-elle adaptée à l'épidémiologie des pays en voie de développement : exemple de Madagascar?.....	31
A. Cadre de l'étude	31
1. Quelques informations sur Madagascar	31
2. Présentation des hôpitaux	32
B. Patients et méthodes.....	34
1. Patients	34

2.	Critères d'évaluation de l'infection	34
a.	Critères cliniques	34
b.	Etablissement d'un score clinique	36
3.	Méthodes	37
a.	Prélèvements	37
b.	Surveillance et indications de l'antibiothérapie.....	38
c.	Modalités de l'antibiothérapie initiale	39
4.	Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries isolées	40
a.	Antibiogramme	40
b.	Méthodes destinés à la recherche des BLSE	41
5.	Méthodes de comparaison des souches	43
a.	Méthodes de génotypage bactérien	43
b.	Méthode du Diversilab®	45
6.	Analyse statistique.....	48
C.	Résultats	48
1.	Population étudiée	48
2.	Classification des infections	49
a.	Infections certaines dans cette étude.....	49
b.	Infections probables	51
c.	Colonisation	52
3.	Epidémiologie comparative entre les deux hôpitaux.....	52
4.	Mortalité	55
a.	Mortalité globale	55
b.	Mortalité liée aux infections néonatales,	55
5.	Résistance des micro-organismes isolés dans les deux hôpitaux	56
a.	Phénotype de résistance des souches isolées	56
b.	Typage des souches bactériennes par la méthode Diversilab®	58
<input type="checkbox"/>	<u>Description du dendogramme des souches de <i>K.pneumoniae</i></u>	59
<input type="checkbox"/>	<u>Description du dendogramme des souches de <i>E.cloacae</i></u>	60
<input type="checkbox"/>	<u>Variation des profils en fonction du temps</u>	61
IV.	Discussion	63
V.	Conclusion	69

Liste des figures

Figure 1 : **Prévision pour l'atteinte de l'OMD 4 à l'échelle mondiale**

Figure 2 : **Critères anamnestiques** (ANAES, 2002)

Figure 3 : **Indication d'une antibiothérapie chez le nouveau-né symptomatique** (ANAES, 2002)

Figure 4 : **Détermination du score clinique à 1h de vie**

Figure 5 : **Détermination du score clinique à H12, J1 et J2**

Figure 6 : **Prise en charge et surveillance des nouveau-nés**

Figure 7 : **Test de synergie positif, aspect en bouchon de champagne**

Figure 8 : **Bandelette E-test, lecture différentielle d'une C3G avec et sans inhibiteur de β -lactamase**

Figure 9 : **Principe d'amplification de la rep-RCP**

Figure 10 : **Plateforme semi-automatisée d'analyse Diversilab®**

Figure 11 : **Différentes étapes d'analyse du procédé Diversilab®**

Figure 12 : **Répartition des bactéries**

Figure 13 : **Répartition des entérobactéries**

Figure 14 : **Résistance des souches aux antibiotiques utilisés**

Tableau 1 : **Critères biologiques pour le diagnostic d'infection néonatale bactérienne**

Tableau 2 : Synthèse des résultats

Tableau 3: Répartition des micro-organismes selon les hôpitaux

Tableau 4 : Répartition des espèces bactériennes responsables des décès dus à des INN selon les hôpitaux

Tableau 5 : Différents clones circulants à Befelatanana (HC+LG)

Liste des abréviations

AG : Age gestationnel

AMC : Amoxicilline + Acide clavulanique

ANAES : Agence nationale d'Accréditation et d'Évaluation en Santé

ATB : Antibiotiques

BLSE : β -lactamase à spectre étendu

C1G : Céphalosporine de 1^{ère} génération

C3G : Céphalosporine de 3^{ème} génération

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CHUA : Centre Hospitalier Universitaire d'Antananarivo

CMI : Concentration Minimale d'Inhibition

CRP : C- Réactive Protéine

E.coli : *Escherichia coli*

E. cloacae : *Enterobacter cloacae*

GB : Globules blancs

GHME : Groupe Hospitalier Mère Enfant

H12 : 12 heures de vie

HMET : Hôpital Mère Enfant Tsaralalana

HPA : Hôpital pédiatrique d'Ambohimandra

IL-6 : Interleukine-6

IM : Intramusculaire

IMF : Infection materno-fœtale

IP : Institut Pasteur

IV : Intraveineuse

J1 : 1^{er} jour de vie

J2 : 2^{ème} jour de vie

J3 : 3^{ème} jour de vie

K. pneumoniae : *Klebsiella pneumoniae*

LCR : Liquide Céphalo-Rachidien

MLST : Multi Locus Sequence Typing

NN : Nouveau-né

OMD : Objectif du Millénaire pour le Développement

OMD 4 : Objectif du Millénaire pour le Développement numéro 4

OMS : Organisation Mondiale de la santé

P : Profils

PCT : Procalcitonine

SA : Semaine d'aménorrhée

SARM : Staphylocoque doré résistant à la métiline

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

SGB : Streptocoque du groupe B

UNSI : Unité Néonatale des Soins Intensifs

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

I. Introduction

L'infection néonatale est, pour le pédiatre comme pour le néonatalogiste, un sujet de préoccupation constant. Selon l'Agence Nationale d'Accréditation et d'Évaluation en Santé (ANAES), elle est dite « précoce » lorsqu'elle survient dans les 72 premières heures de vie, liée à une infection *in utero* ou à une transmission materno-fœtale à partir de l'appareil génital maternel ou plus rarement à une infection nosocomiale acquise dès la naissance ; et « tardive », entre le 4^{ème} et le 28^{ème} jour de vie, pouvant être liée à une contamination par le milieu extérieur (environnement de soin, collectivités), (ANAES, 2002). Elles sont dues à des pathogènes différents. Les infections néonatales demeurent un grand problème de santé publique puisqu'elles sont fréquentes, graves, et responsables d'une mortalité néonatale élevée dans les pays en voie de développement.

Bien que la cause exacte de décès des nouveau-nés soit difficile à déterminer dans les pays en voie de développement, trois motifs majeurs de mortalité et morbidité néonatales sont retrouvés à travers le monde et représentent plus de 80% des décès néonataux : les infections, qui représentent 36% des décès (bactériémies et pneumonies : 29%, tétanos : 7%), la prématurité et ses complications (28%), et les asphyxies périnatales (23%) (Annexe 1) (Didrik SO, 2010 ; Black RE *et al.*, 2010). Parmi les infections néonatales, les infections materno-fœtales représentent la plus importante cause de morbidité.

L'épidémiologie et les facteurs de risque varient d'un pays à l'autre et de nombreuses études insistent sur la gravité des formes précoces. Les difficultés de diagnostic imposent une démarche diagnostique précoce, et une thérapeutique rapidement efficace, adaptées en fonction de l'épidémiologie locale. Si les pays développés semblent avoir maîtrisé la situation au vu de leurs résultats qui s'améliorent d'année en année, les pays en voie de développement restent en retard pour des multiples raisons : économiques, sociales, sanitaires et culturelles. Les difficultés rencontrées dans les pays en voie de développement, l'environnement local, les micro-organismes retrouvés, les soins inappropriés et retardés sont autant de facteurs aggravants qui contribuent sensiblement à l'augmentation de la mortalité néonatale. Des actions doivent être conduites à divers échelons pour une meilleure prise en charge et un meilleur pronostic en fonction de plusieurs paramètres : état sanitaire du pays, structure sanitaire existante, suivi de la grossesse, lieu d'accouchement, stade de l'infection (précoce ou tardive), rapidité du diagnostic et précocité du traitement. Les pays en voie de développement paient un lourd tribut devant ces infections néonatales particulièrement graves et tout doit concourir à la mise en place d'une stratégie globale.

L'objectif de ce travail est de rapporter, à partir des études publiées, la situation épidémiologique dans les pays à travers le monde. Bien qu'elles fassent défaut dans certains pays en voie de développement pour de multiples raisons, l'importance de ces études épidémiologiques n'est plus à démontrer, et il y a urgence à les mener, compte tenu de la mortalité néonatale très élevée dans ces pays. Il s'agit également d'insister sur les disparités de l'infection néonatale bactérienne entre pays industrialisés et pays en voie de développement, leur fréquence et les facteurs de risque sur lesquels une action synergique et une politique cohérente doivent être menées par les autorités de chaque pays afin de contribuer à réduire l'incidence et la mortalité de ces affections dans les pays en voie de développement. Enfin, ce travail nous permettra ; à travers une étude conduite d'avril 2010 à mars 2011 à Madagascar dans deux hôpitaux d'Antananarivo, fruit d'une collaboration entre les services de bactériologie de l'hôpital Cochin à Paris et du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) d'Antananarivo ; de voir si l'antibiothérapie préconisée dans les pays en voie de développement est adaptée aux micro-organismes rencontrés dans ces pays.

II. Les infections néonatales bactériennes dans les pays développés et dans les pays en voie de développement

A. Epidémiologie

Bien que le taux de mortalité des infections post-néonatales ait diminué considérablement dans un grand nombre de régions du monde, les infections néonatales, quant à elles, constituent toujours un problème de santé publique mondial, particulièrement préoccupant dans les pays en voie de développement. La morbidité et la mortalité néonatales restent très importantes à l'échelle mondiale. En effet, elles sont responsables d'environ 4 millions de décès annuels dans le monde, soit près d'un tiers des morts néonatales (Lawn JE *et al.*, 2010 (a)). De plus, les trois quarts des décès néonataux surviennent dans la première semaine de vie, représentant la mortalité néonatale précoce dont près de la moitié se produisent dans les premières 24 heures (UNICEF, 2009). Enfin, 99% des décès surviennent dans les pays à revenu faible et moyen, rendant le risque de décès néonataux dans ces pays 6 fois plus élevé que dans les pays industrialisés (Newton O, English M, 2007). Plus de deux tiers des décès néonataux sont enregistrés seulement dans dix pays : c'est en Afrique

subsaharienne et en Asie du Sud que le taux est le plus élevé, principalement en raison de l'épidémie du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) et des conditions précaires propres à ces régions (Lawn JE *et al.*, 2005 ; Bryce J *et al.*, 2005). L'écart se creuse avec d'autres régions comme l'Asie orientale et l'Afrique du Nord, puisque le nombre de décès a été réduit de plus de deux tiers depuis 1990 dans ces deux dernières régions (Lawn JE *et al.*, 2010 (a)). La mortalité néonatale, qui se définit par le nombre de décès dans les 28 premiers jours de vie pour mille naissances vivantes, constitue une part importante de la mortalité infantile. Cette dernière correspond au nombre annuel de décès des enfants de moins de 5 ans et représente 41% des décès mondiaux. (Black RE *et al.*, 2010 ; Rajaratnam JK *et al.*, 2010).

L'incidence de l'infection néonatale et infantile est plus élevée dans les pays émergents que dans les pays développés. Très peu d'études mesurant l'incidence de l'infection chez les nouveau-nés ont été réalisées dans les pays en voie de développement. Toutefois, celles qui ont été menées révèlent une incidence généralement sous-estimée par rapport à la réalité, ce qui rend la situation d'autant plus alarmante. La principale raison de ce manque de précision est l'insuffisance des notifications des naissances, des décès et des systèmes de surveillance, dans les pays en voie de développement, où la moitié à près de deux tiers des nouveau-nés, naissent et succombent à des infections, à domicile ou dans des milieux communautaires (Waters D *et al.*, 2011) et seulement la moitié de ces naissances sont assistées par une sage-femme (Darmsdadt GL *et al.*, 2009 (a)).

L'incidence des infections néonatales varie entre moins de 1 à 81 pour 1000 naissances vivantes selon le terme (Philip AGS, 1994 ; Bryce J. *et al.*, 2005). Elle est variable selon les différentes régions du monde ainsi qu'au sein d'un même pays. Alors que dans les pays les plus riches le taux de mortalité néonatale a largement diminué au cours des dernières décennies, il ne cesse d'augmenter dans les pays en voie de développement entraînant un écart grandissant dans les chances de survie d'un nouveau-né selon l'endroit où il sera né (Lawn JE *et al.*, 2010 (a)). En effet, les infections materno-fœtales dans les pays développés sont relativement rares avec une incidence estimée entre 4 et 10 pour mille naissances vivantes, selon les pays et les critères diagnostiques retenus (Aujard Y., 2001), alors que dans les pays à faible et moyen revenu ou à ressources limitées, l'incidence est de 37 pour 1000 naissances vivantes, soit près de 4 fois plus que dans les pays développés (Lawn JE *et al.*, 2005).

Afin de réduire le fardeau mondial de la mortalité néonatale, l'Organisation Mondiale de la Santé OMS a lancé les Objectifs du Millénaire pour le Développement (OMD) dont l'objectif de santé à atteindre, objectif numéro 4, est une réduction du taux de mortalité

infantile mondial de deux tiers entre 1990 et 2015 (Lawn JE *et al.*, 2010 (a) ; UNICEF, 2009 ; Black RE *et al.*, 2010 ; Rajaratnam *et al.*, 2010).

Des progrès remarquables avaient été accomplis avant 1990, avec une diminution du risque de décès néonataux de moitié chez les enfants de moins de 5 ans. De 1990 à aujourd'hui, les avancées se sont concrétisées et le taux de mortalité infantile mondiale a diminué continuellement de 2,2% par an, alors que la baisse annuelle nécessaire pour atteindre l'Objectif du Millénaire pour le Développement numéro 4 (OMD 4) est de 4.4%, soit 2 fois plus élevée (Lozano R. *et al.* 2011). La mortalité infanto-juvénile dans le monde a chuté de 11,9 millions de décès en 1990 à près de 7,2 millions de décès en 2011, soit une baisse de 39.5% (Lozano R. *et al.*, 2011). La plupart des pays en développement ont connu une augmentation de la mortalité des enfants de moins de 5 ans. En 1990, seuls 9 pays en voie de développement avaient un taux de mortalité infantile inférieur à 20 pour 1000 naissances vivantes, contre 41 pays dont 18 en Amérique latine et aux Caraïbes, 11 au Moyen-Orient et en Afrique du Nord et 8 en Asie en 2011. Le Moyen-Orient et l'Afrique du Nord ont connu une baisse du taux de mortalité infantile, passant de 5.7% en 1990 à 3.7% en 2011 (Lozano R. *et al.*, 2011). Cette diminution du taux de mortalité des enfants de moins de 5 ans de ces deux dernières décennies se rapporte à des progrès médicaux spécifiques, notamment aux programmes élargis de vaccination, à la supplémentation en vitamine A et à l'amélioration de l'accès à l'eau, aux soins et aux infrastructures de santé de base. Cependant, elle cache d'importantes disparités (Thaver D, Zaidi AK, 2009). L'Afrique subsaharienne, région confrontée aux problèmes les plus élevés en matière de survie du nouveau-né, est passée d'un taux de mortalité infantile de 33% en 1990 à 49% en 2011. De plus, la mortalité infanto-juvénile est encore de 87 pour mille naissances vivantes au Niger et en Guinée équatoriale, alors qu'elle est inférieure à 2 pour mille en Europe occidentale, en Australie et en Amérique du Nord (Lozano R. *et al.*, 2011).

La mortalité périnatale, qui concerne les enfants mort-nés ou décédés dans les 8 premiers jours de vie, et la mortalité néonatale, n'ont pas connu la même évolution que la mortalité infantile. Les deux dernières décennies ont été marquées par un progrès limité particulièrement frappant dans les pays à faible et moyen revenu, entraînant un ralentissement de la réduction du taux de mortalité néonatale, surtout au cours de la première semaine de vie (Black RE *et al.*, 2010). Concernant la mortalité néonatale au niveau mondial, des rapports récents indiquent une réduction annuelle de 2.1% entre 1990 et 2010 (Didrik SO, 2011 ; Rajaratnam JK *et al.*, 2010), mais les progrès sont trop lents et le retard est particulièrement marqué dans certains pays d'Afrique avec une réduction de 1% par an (Lozano R. *et al.*,

2011). Au cours de ces 20 dernières années, la mortalité néonatale a baissé de plus de deux tiers dans certains pays développés tels que le Luxembourg, Singapour, Chypre, la République tchèque, Oman et l'Estonie, et dans deux pays à revenu intermédiaire : la Serbie et les Maldives. Cette baisse se rapporte à des progrès médicaux considérables, notamment un corps médical et un personnel qualifiés, l'instauration de matériels médicaux et l'ouverture d'unités néonatales de soins intensifs (UNSI) dans les structures hospitalières. De plus, un certain nombre de pays à faible revenu d'Amérique latine et Asie du Sud-Est ont accompli des progrès considérables dans la réduction du taux de mortalité néonatale depuis 1990 et sont en voie d'atteindre l'OMD 4 en 2015 (Figure 1) (UNICEF, 2009). La Thaïlande et le Chili, ont réussi à atteindre des taux inférieurs à 10 pour 1000 naissances vivantes (Rohde J *et al.*, 2008). La mortalité néonatale au Chili est passée de 8,3 pour mille en 1990 à 5,0 pour mille en 2004 (Gonzalez R. *et al.*, 2006). Le sous-continent indien a également obtenu des résultats remarquables. En effet, de 1990 à 2010, la mortalité néonatale a été réduite de 65 à 31 pour mille au Bangladesh et de 19 à 7 pour mille au Sri Lanka (Mavalankar D *et al.*, 2009).

En Afrique, les progrès ont été plus lents, mais il y a des signes encourageants d'un possible changement. L'Algérie, l'Égypte, la Lybie, la Syrie et trois autres pays d'Afrique à faible revenu, le Botswana, l'Érythrée et le Malawi, sont en voie d'atteindre l'OMD 4 en 2015 (Kinney MV *et al.*, 2010 ; Lozano R. *et al.*, 2011). En revanche, d'autres pays africains tels que l'Éthiopie, le Ghana, l'Ouganda et la République unie de Tanzanie, ont progressé mais ne semblent pas encore être sur la bonne voie pour atteindre l'OMD 4 à temps (Lozano R. *et al.*, 2011). En effet, tous ces pays ont un taux de mortalité néonatale d'environ 30 pour 1000 naissances vivantes, soit 25 % de plus que la moyenne régionale (Lawn JE *et al.*, 2006). Le taux de mortalité néonatale est supérieur à 39 pour mille naissances vivantes pour douze pays africains, notamment le Mali, la Guinée, le Mozambique, l'Angola, la Mauritanie, la République centrafricaine... Le Nigéria, septième pays le plus peuplé du monde avec un revenu national brut par habitant relativement élevé comparé à d'autres pays africains, présente un retard considérable. En effet, le taux de mortalité néonatale est estimé à plus de 49 pour 1000. Il compte, avec quatre autres pays : l'Inde, la Chine, le Pakistan et la République démocratique du Congo, plus de 2 millions de décès néonataux par an, soit plus de la moitié des décès dans le monde (Black RE *et al.*, 2010 ; WHO, 2010 ; Bhutta Z *et al.*, 2010).

L'identification des principales causes de décès néonatal, la plupart évitables, a cependant permis de diminuer la mortalité néonatale dans toutes les régions du monde, même si cela varie considérablement entre les différents pays. Malgré l'intensification des efforts actuels, seul 31 pays atteindront l'objectif 4 de l'OMS (Lozano R. *et al.*, 2011). L'écart entre

pays riches et pauvres et le niveau d'urgence restent élevés dans les pays à faible revenu : l'essentiel reste à accomplir et il est nécessaire de transposer les solutions et mesures correctives à plus grande échelle pour atteindre les Objectifs du Millénaire pour le Développement en 2015.

B. Etiologies, mode de contamination et facteurs de risque

1. Etiologies et mode de contamination

La nature et la fréquence des micro-organismes responsables des infections néonatales bactériennes sont en constante évolution et varient entre les régions et pays du monde. La mise à jour des données étiologiques et la connaissance du profil bactériologique responsable de l'infection sont nécessaires et essentielles afin de proposer une antibiothérapie ciblée et adaptée et concevoir une prise en charge efficace.

Les infections néonatales bactériennes ont été classiquement divisées en : infections néonatales « précoces » qui comprennent l'infection anténatale et per-natale, et infections néonatales « tardives » ou infection post-natale. Il est habituel d'opposer les contaminations pré, per et post-natales car, selon la date de l'infection microbienne, le tableau clinique, ses modalités d'apparition et les micro-organismes rencontrés, les attitudes thérapeutiques et prophylactiques varient.

L'infection anténatale, autrement appelée infection materno-fœtale, est la plus fréquente. Elle est liée à une infection acquise au cours de la grossesse, et due à l'immaturation du système immunologique de défense contre les infections. Elle concerne des pathologies liées à l'acquisition d'une bactérie pathogène par le nouveau-né, à partir d'une colonisation maternelle. Elles sont responsables de 12% de la mortalité périnatale et de 9% de la mortalité néonatale précoce dans le monde (Aujard Y., 2001). L'infection per-natale est quant à elle acquise à la naissance, au moment de l'accouchement : lors de la rupture prématurée des membranes facilitant la colonisation du liquide amniotique par exemple, ou au moment du passage à travers la filière génitale. Les bactéries généralement en cause dans ces infections sont le streptocoque du groupe B (SGB), *Escherichia coli* (*E.coli*) et *Listeria monocytogenes*. L'infection post-natale correspond à une infection tardive du nouveau-né à partir de l'environnement hospitalier (infection nosocomiale), ou familiale du nouveau-né. Elle est due principalement à *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) et aux entérobactéries.

Les micro-organismes en cause dans les infections néonatales bactériennes sont différents entre les pays développés et les pays en voie de développement (Stoll BJ *et al.*, 2011 ; Zaidi AK *et al.*, 2009). Si *S. aureus* prédominait dans les années 1950 dans les pays industrialisés, le profil épidémiologique actuel des infections néonatales précoces est dominé par le SGB, *E. coli* et exceptionnellement *Listeria monocytogenes* (LRW, 2010 ; Stoll BJ *et al.*, 2011), alors que les micro-organismes à Gram positif sont responsables de 70% des infections néonatales bactériennes tardives (Sivanandan S. *et al.*, 2011). SGB est plus fréquemment retrouvé chez le nouveau-né à terme, alors que *E. coli* l'est plus chez les nouveau-nés prématurés (Stoll BJ *et al.*, 2011). L'infection néonatale à SGB peut être précoce, due à une transmission verticale à partir de la mère colonisée par SGB à l'enfant, ou tardive. L'infection néonatale précoce à SGB tend à disparaître dans les pays développés, notamment grâce à l'instauration de mesures préventives telles que le dépistage maternel du SGB au 6^{ème} mois de grossesse et l'antibioprophylaxie *per partum*, pour les femmes colonisées par SGB et/ou présentant d'autres facteurs de risque (Schrag S *et al.*, 2002). En revanche, l'infection néonatale tardive à SGB n'est pas contrôlée car elle est liée à une acquisition du SGB après l'accouchement par l'environnement extérieur ou familial de l'individu (Sivanandan S. *et al.*, 2011).

Dans les pays en voie de développement, l'épidémiologie des infections néonatales bactériennes a été très peu étudiée. Elle est différente de celle des pays occidentaux, avec en général une prédominance de bacilles à Gram négatif (77%) quel que soit le caractère précoce ou tardif de l'infection néonatale (Ottolini MC *et al.*, 2003 ; Vergnano S *et al.*, 2005 ; Zaidi AK *et al.*, 2005 ; Gordon A *et al.*, 2004 ; Orsin D *et al.*, 2004 ; Zaidi AK *et al.*, 2009). Les micro-organismes les plus souvent isolés pendant la première semaine de vie sont *Klebsiella* sp, responsable de 25% des infections néonatales bactériennes précoces, suivi de *S. aureus* (18%) et *E. coli* (15%) (Zaidi AK *et al.*, 2009 ; Sivanandan S. *et al.*, 2011). La prédominance des infections à Gram négatif a été expliquée par les soins limités entourant l'accouchement et le manque d'hygiène dans ces pays. Alors que dans les pays développés, le SGB représente la première cause d'infections néonatales précoces sévères, l'incidence (7%) et la prévalence (2%) de ces infections y semble beaucoup plus faible dans les pays en voie de développement (Waters D *et al.*, 2011 ; Schrag SJ, 2011 ; Downie L *et al.*, 2013) sauf dans de rares cas (Desinor OY *et al.*, 2004). Il est difficile de généraliser au sujet de l'importance de l'infection à SGB dans ces pays. Elle représentait moins de 1 % des infections néonatales dans les études asiatiques et environ 8 % des infections dans les études africaines, ce qui est surprenant d'autant plus que le niveau de colonisation maternelle semble similaire à celui dans les pays à

revenu élevé (Stoll BJ, 2006). Cette sous-estimation peut être due au fait que la majorité des infections néonatales précoces dans les pays à faible et moyen revenu ne sont pas notifiées car souvent, les nouveau-nés meurent avant d'atteindre les établissements de santé (Vergano S *et al.*, 2005).

Bien que les bacilles Gram négatif prédominent dans les pays en développement, l'épidémiologie des infections néonatales reste très variable selon les pays. En effet, d'après une étude menée sur différents sites, on remarque une différence d'étiologie entre les différentes régions du monde : *S. aureus* était plus répandu en Afrique, alors que *Klebsiella* sp était fréquent en Asie du Sud-Est (Waters D *et al.*, 2011).

Le niveau de résistance est souvent élevé, en partie à cause de la part importante des infections néonatales nosocomiales précoces.

Les infections nosocomiales sont des infections acquises dans un établissement de santé. Elles sont généralement dues, dans les pays industrialisés, à une contamination croisée d'un patient à un autre par l'intermédiaire d'instruments chirurgicaux ou médicaux. Les établissements de santé, dans les pays en voie de développement, sont une source importante d'infections néonatales nosocomiales chez les nouveau-nés. En effet, le manque de moyens et les ressources sanitaires limitées, la stérilisation inadéquate des instruments, le manque de personnel médical formé et qualifié font de la plupart des hôpitaux un terrain fertile pour les infections (Zaidi AK *et al.*, 2005). De plus, les mauvaises conditions d'hygiène prédisposent les nouveau-nés aux infections par des agents pathogènes environnementaux et ce même dès le début de la période néonatale. Une étude sur les infections néonatales dans les pays en développement a révélé que le taux d'incidence des infections nosocomiales des nouveau-nés à l'hôpital est jusqu'à 20 fois supérieur à celui observé dans les pays industrialisés (Zaidi AK *et al.*, 2009). Dans les pays développés, les micro-organismes le plus souvent mis en cause dans les infections nosocomiales au début de la période néonatale sont des bacilles à Gram négatif tels que *Klebsiella* sp et *Pseudomonas* sp, ainsi que *S. aureus* et les staphylocoques à coagulase négative, ce qui suggère une acquisition en milieu hospitalier (Zaidi AK *et al.*, 2009). A l'inverse, dans les pays en voie de développement, les quelques données récentes disponibles montrent que *Klebsiella* est l'agent pathogène prédominant le plus souvent isolé, avec un haut niveau de résistance aux antimicrobiens, suivi de *S. aureus* et *E. coli*. Ces trois espèces sont à l'origine de près de la moitié des infections nosocomiales dans les pays à faible et moyen revenu. Ce modèle de répartition a été noté, avec quelques variations, en Asie-Pacifique, Moyen-Orient, Asie centrale et Asie du Sud. Dans les pays du sud asiatique, *Klebsiella* s'est avérée plus fréquente que *E. coli* et *S. aureus*. En Afrique, ce sont les micro-

organismes à Gram positif qui prédominent : SGB, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* et *S. aureus* sont les pathogènes les plus fréquemment isolés (Zaidi AK *et al.*, 2009).

Ainsi, un suivi régulier des agents pathogènes dans les centres institutionnels est nécessaire pour suivre les tendances d'évolution des infections, le niveau de résistance des germes rencontrés et pour l'instauration d'un traitement approprié.

2. Facteurs de risques

Plusieurs facteurs contribuent à augmenter l'incidence de l'infection néonatale bactérienne et à la mortalité qui en résulte.

Il existe tout d'abord des facteurs de risques d'infection néonatale bactérienne communs aux pays développés et pays en voie de développement. En effet, la prématurité et le faible poids de naissance, poids inférieur à 2.5 kg, rendent les nouveau-nés plus sensibles aux infections (Levy O, 2007). Leurs défenses vis-à-vis des infections bactériennes sont limitées par la dénutrition, la fragilité de leur barrière cutanéomuqueuse, et l'immaturation de leur système immunitaire combinant un déficit de l'immunité humorale à un manque de fonctionnalité du complément et des polynucléaires neutrophiles. La prématurité constitue certes un facteur de risque de mortalité néonatale, mais aussi une cause directe du décès. Dans certains pays, la prématurité et le faible poids de naissance sont en augmentation (Keler M *et al.*, 2010) et le taux est très variable selon les régions du monde. Dans les pays industrialisés, le taux de prématurité et de faible poids de naissance sont respectivement de 7,5% et 4% contre 12,5% et 30% dans les pays les moins avancés (Beck S *et al.*, 2010). Le faible poids de naissance peut être favorisé par de mauvaises conditions socio-économiques, des carences alimentaires maternelles en acide folique, fer et zinc ou encore le tabagisme. Des facteurs maternels, tels que la dénutrition maternelle ou le portage du SGB dans les voies génitales de la mère lors du dernier trimestre de grossesse, sont associées à un risque accru d'infections, de prématurité et de retard de croissance intra-utérin (Didrik SO, 2011). De plus, le risque d'infection et de décès néonataux est plus élevé pendant l'accouchement qu'avant l'accouchement. En effet, la mauvaise présentation du bébé et le travail prolongé et/ou dystocique lors de l'accouchement entraînent une morbidité et mortalité plus élevée que la rupture prématurée des membranes avant le début du travail et avant 37 semaines d'aménorrhée, l'ouverture de la poche des eaux de plus de 12 heures, la chorio-amnionite, la tachycardie fœtale, la souffrance fœtale aiguë

inexpliquée ou encore la fièvre maternelle en *pré* ou *per-partum* (Didrik SO, 2011). Ces derniers constituent les facteurs de risques clinique de l'infection néonatale bactérienne précoce (Sivanandan S. *et al.*, 2011).

En plus de l'état naturellement vulnérable du système immunitaire du nouveau-né, les nouveau-nés dans les pays en voie de développement sont exposés à des facteurs de risques supplémentaires : externes, socio-économiques et culturels, ce qui entraîne un risque plus élevé d'infections par rapport aux nouveau-nés dans les pays industrialisés. Ces facteurs comprennent la pauvreté, l'analphabétisme, le faible statut social des femmes, les croyances culturelles concernant l'accouchement à domicile, ou encore le refus et le rejet des services de santé pour des raisons socio-culturelles, à l'origine de retards diagnostique et thérapeutique, l'absence d'assainissement et d'approvisionnement en eau potable, l'accès limité ou inexistant aux établissements de santé et les manipulations non hygiénique des instruments qui favorisent la contamination de l'équipement hospitalier et l'apparition de souches multi-résistantes contractées à l'hôpital (Bhutta Z *et al.*, 2009 ; Darmstadt GL *et al.*, 2009 (a) ; Lawn JE *et al.*, 2009 ; Ganatra HA *et al.* 2010). De plus, d'autres facteurs tels que le surpeuplement des unités néonatales, le défaut des pratiques d'hygiène, notamment le lavage des mains et l'utilisation excessive d'antibiotiques entraînent l'apparition de souches résistantes et augmentent le risque d'infections (Vain NE *et al.*, 2012). Malheureusement, le risque d'infections néonatales dans les pays en voie de développement est élevé par rapport aux pays industrialisés en raison d'une infrastructure hospitalière défaillante. Dans les zones rurales, il est souvent rapporté que les nouveau-nés ne reçoivent pas les soins de santé nécessaires car ils n'ont pas accès à ces services ce qui explique le taux de létalité élevé (Bang A *et al.*, 2001 ; Darmstadt GL *et al.*, 2009 (a)). De plus, même lorsqu'il existe des établissements de santé de qualité, une grande majorité de la population ne peut pas s'offrir les services de l'établissement en raison de moyens financiers (Qazi SA, Stoll BJ, 2009).

Selon l'OMS, seulement 68% des femmes dans les pays en voie de développement reçoivent des soins prénataux (WHO, 2003 (b)), et seulement 35% des mamans dans les pays les moins avancés ont accès à un personnel de santé qualifié lors de l'accouchement (WHO, 2008), alors que le suivi régulier de la grossesse est indispensable. Le nombre très élevé de décès néonataux en Afrique subsaharienne et en Asie du Sud est lié à la rareté de médecins et de sages-femmes dans ces régions. Les mamans sont alors conduites à des pratiques peu hygiéniques, lors de l'accouchement tels que l'accouchement sur une surface non stérile, la section du cordon ombilical avec des instruments sans asepsie, des mauvaises pratiques de soins cutanés ou encore des pratiques traditionnelles dangereuses comme l'application de

boisse de vache sur le cordon ombilical (Ganatra HA *et al.*, 2010). Dans le même temps, des pratiques bénéfiques comme l'utilisation du colostrum et l'allaitement maternel exclusif, sont souvent ignorés ou découragés (Stoll BJ, 2006). Tous ces facteurs tendent à augmenter la mortalité néonatale et infantile dans le monde.

C. Diagnostic

Il est souvent difficile d'établir le diagnostic d'infection néonatale dans la mesure où les signes cliniques et biologiques sont souvent frustrés chez le nouveau-né, particulièrement chez les prématurés, chez qui l'infection peut être aiguë et l'évolution clinique peut vite se détériorer. Il faut alors retenir que tout nouveau-né symptomatique doit faire évoquer la possibilité d'une infection materno-fœtale (Carole C *et al.*, 1999). La gravité potentielle de l'infection et les difficultés de diagnostic imposent une démarche diagnostique précoce, et une thérapeutique rapidement efficace, basée essentiellement sur l'antibiothérapie.

Le diagnostic certain de l'infection néonatale bactérienne nécessite la positivité d'un prélèvement central, hémoculture et/ou liquide céphalo-rachidien (LCR), mais en pratique clinique elle est rarement obtenue. Sa négativité est en partie due, dans les pays industrialisés, à l'application des recommandations d'antibioprophylaxie pour la prévention des infections materno-fœtales à SGB (ANAES, 2002 ; CDC, 2002). Toutefois, dans les pays les moins avancés, les moyens diagnostiques sont très limités : la surveillance continue des signes vitaux, hémocultures et autres signes biologiques ne sont pas disponibles par manque de moyens et de laboratoires biologiques adaptés. Ainsi, le diagnostic de l'infection néonatale est basé essentiellement sur des signes cliniques (Young Infants Clinical Signs Study Group, 2006). Le corps médical doit alors être capable de reconnaître ces signes, malgré l'absence de symptômes spécifiques chez le nouveau-né, car la reconnaissance de la maladie est fondamentale pour une prise en charge rapide et spécifique.

1. Diagnostic clinique

On recherchera des signes cliniques précoces d'infection qui sont inconstants et non spécifiques, car ils peuvent être rencontrés également au cours d'autres pathologies non infectieuses néonatales. Ils ne sont pas obligatoirement présents d'emblée et leur dépistage

précoce nécessite une surveillance attentive et répétée du nouveau-né au cours des premières heures de vie.

Plusieurs tableaux peuvent être décrits, allant des signes discrets : refus de téter, troubles thermiques, signes respiratoires et digestifs au tableau clinique de bactériémie majeure associant altération de l'état général, troubles hémodynamiques, détresse respiratoire et troubles de conscience voir syndrome hémorragique. Le tableau peut être mono symptomatique ou pluri symptomatique. (Figure 2)

Les signes cliniques peuvent être répartis en :

- **Signes généraux** : altération de l'état général sans raisons apparentes, refus de téter, troubles thermiques (hypo ou hyperthermie).
Il est important de souligner qu'une température normale n'élimine pas le diagnostic d'une infection materno-fœtale.
- **Signes respiratoires** : cyanose, apnées, bradypnée, voire tableau de détresse respiratoire majeure
- **Signes neurologiques** : hypotonie ou hypertonie, troubles de conscience à type de somnolence anormale voire un coma, convulsions, fontanelle tendue.
- **Signes hémodynamiques** : tachycardie, allongement du temps de recoloration supérieur à 3 secondes, hypotension artérielle
- **Signes cutanés** : teint gris, cyanose, purpura, ictère précoce (dans les premières 24 heures)
- **Signes digestifs** : distension abdominale, vomissements, diarrhée, hépatosplénomégalie

Ces symptômes imposent la recherche rapide de critères anamnestiques d'infection, majeurs et mineurs et un bilan infectieux biologique.

2. Diagnostic biologique

Au stade de suspicion d'infection, les examens biologiques sont essentiels et sont d'autant plus utiles s'ils sont effectués 6 à 12 heures après la naissance. De plus, les résultats des cultures effectuées à partir des divers liquides biologiques ne sont disponibles qu'après un certain délai, il est donc important de disposer de tests permettant de suspecter rapidement l'existence ou non d'une infection.

L'hémogramme est très peu contributif au diagnostic de l'infection néonatale. Cependant, deux anomalies de l'hémogramme rendent un diagnostic d'infection bactérienne probable : une leuco-neutropénie (inférieure à $5000/\text{mm}^3$) et une hyperleucocytose neutrophile (supérieure à $25000/\text{mm}^3$). Mais les globules blancs manquent de spécificité et de sensibilité, puisque des anomalies des globules blancs peuvent être retrouvées dans d'autres situations (ANAES, 2002). (Tableau1)

En néonatalogie, l'infection étant pratiquement la seule situation inflammatoire, les protéines de l'inflammation sont des marqueurs spécifiques de l'infection. Il est important de suivre ces marqueurs pour en connaître l'évolution.

- Le fibrinogène a été la première protéine retenue pouvant signaler une infection. Cette molécule a une spécificité de 80% et une sensibilité de 70% en cas d'infection néonatale, et l'hyperfibrinogénémie supérieure à 4g/L persiste tant que l'infection est évolutive. Cependant, ses limites sont représentées essentiellement par la lenteur de sa cinétique.
- La C-réactive protéine (CRP), marqueur le plus largement utilisé pour le diagnostic de l'infection néonatale bactérienne, est une glycoprotéine qui forme un précipité avec le polysaccharide C de *S. pneumoniae*. Elle est synthétisée par le foie en réponse à un antigène, une infection ou une inflammation. Cette synthèse est déclenchée par l'interleukine-6 (IL-6). Une concentration supérieure à 10-20 mg/L est synonyme d'infection. La sensibilité est faible pour le diagnostic précoce de l'infection néonatale bactérienne et elle peut être difficile à interpréter car présente un pic physiologique entre 24 à 36 heures : il s'agit donc d'un marqueur plus utile au diagnostic de l'infection néonatale bactérienne tardive du fait de sa cinétique d'apparition tardive (ANAES, 2002 ; Meem M *et al.*, 2011). Cependant, deux valeurs de CRP négatives, l'une le premier jour et l'autre 24 heures plus tard, ont une valeur prédictive négative voisine de 100% (Bomela HN *et al.*, 2000 ; Chirico G, Loda C, 2011).

De plus, l'IL-6 a la capacité de détecter les cas d'infection néonatale bactérienne à un stade très précoce (Buck C *et al.*, 1994). Ainsi, le dosage combiné de la CRP et de l'IL-6 peut être proposé pour le diagnostic précoce des infections néonatales bactériennes (Gendrel D, Raymond J *et al.*, 1996).

- La procalcitonine (PCT), pro-peptide de la calcitonine, présente l'avantage d'être un marqueur qui semble être spécifique de l'infection bactérienne, et est utile dans le diagnostic précoce des infections néonatales bactériennes (Gendrel D, Raymond J *et*

al., 1996). Une concentration supérieure à 5 µg/ml dans les premières 24 heures est évocatrice d'infection. Si elle est largement utilisée dans les pays développés car fiable et d'un intérêt certain, son coût élevé limite son utilisation dans les pays en voie de développement. La PCT a l'avantage d'augmenter plus rapidement et a une meilleure sensibilité et précision que la CRP pour le diagnostic de l'infection néonatale précoce (Yu Z, Liu J *et al.*, 2010 ; Meem M *et al.*, 2011).

3. Diagnostic bactériologique

Le bilan bactériologique d'une suspicion d'infection néonatale doit comporter un examen direct avec coloration de Gram du contenu gastrique et des prélèvements périphériques, ainsi qu'une hémoculture.

a. Prélèvements périphériques

Les prélèvements de liquide gastrique et périphériques sont indiqués chez les nouveau-nés suspects d'infection ou dans des situations à risque infectieux, notamment une fièvre maternelle ou encore la rupture prématurée des membranes (ANAES, 2002). On recueille le liquide gastrique avant toute alimentation, les sécrétions du repli de l'oreille et des sécrétions bronchiques si le nouveau-né est intubé. Ces prélèvements périphériques, deux au minimum, sont considérés comme significatifs lorsqu'ils sont positifs au même micro-organisme sur plusieurs sites, ou positifs chez la mère et le nouveau-né. Cependant, si la culture des prélèvements gastriques et périphériques permet de mettre en évidence une colonisation du nouveau-né, sa positivité n'implique pas une infection et ne constitue qu'un facteur de risque d'infection.

b. Hémoculture

Il constitue l'examen de référence pour confirmer l'infection néonatale bactérienne. Elle nécessite le prélèvement d'au moins 1 ml de sang veineux et est effectuée généralement chez la mère et le nouveau-né. Une des difficultés essentielles dans le diagnostic de l'infection materno-fœtale est la très faible sensibilité des hémocultures qui ne sont positives que dans moins de 10% des infections. En outre, la plupart des hôpitaux dans les pays en développement ne possèdent pas d'installations pour effectuer les hémocultures. Dans ce cas,

le diagnostic de l'infection néonatale est déterminé principalement sur les signes cliniques. Par ailleurs, il faut souligner dans ces pays la difficulté de réaliser des prélèvements sanguins : personnel peu formé, difficulté pour prendre une voie d'abord, disponibilité non constante des tubes à hémoculture, difficulté d'acheminement, manque de laboratoires, et quand ils existent, ne sont pas disponibles 24H/24...

c. Ponction lombaire

L'étude du liquide céphalo-rachidien est d'indication discutable selon les unités. Pour certaines, elle est systématique dans le bilan d'une infection materno-fœtale ; pour d'autres, sa réalisation ne se justifie que devant une altération de l'état général, des signes de bactériémie, des signes neurologiques, avant d'instaurer une antibiothérapie ou secondairement devant une CRP élevée ou l'isolement d'un micro-organisme à l'hémoculture (ANAES, 2002).

D. Traitement

1. Traitement symptomatique

Le traitement symptomatique doit être mis en place en même temps que le traitement étiologique. Il tend, dans les formes sévères, à corriger les désordres métaboliques et à maintenir les grandes fonctions vitales hémodynamiques, respiratoires et rénales.

2. Indication de l'antibiothérapie

Dans la période néonatale, les indications de l'antibiothérapie sont larges car la crainte de passer à côté d'une infection néonatale bactérienne est grande. La décision de prescrire une antibiothérapie chez un nouveau-né repose sur un faisceau d'arguments anamnestiques présents dans 30 à 40% des cas, cliniques, biologiques et/ou bactériologiques. Selon l'Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé (ANAES, 2002), les critères en faveur d'une infection materno-fœtale bactérienne sont de deux types. Les critères dits « majeurs » ou de grade A, fondés sur une preuve scientifique, et les critères « mineurs » ou de grade B, fondés sur une présomption scientifique (Figure 2). Ils indiquent un risque infectieux périnatal chez le nouveau-né. Ces critères sont essentiels et doivent toujours conduire, lorsqu'ils sont

présents, à la réalisation systématique d'un bilan classique, biologique et bactériologique chez le nouveau-né à la naissance, mais ne justifie pas à eux seuls une antibiothérapie.

Actuellement, l'antibiothérapie peut être instaurée dans trois situations différentes. En effet, si le nouveau-né a une symptomatologie clinique sévère, associé à un contexte obstétrical et/ou infectieux très marqué (fièvre maternelle avec accouchement prématuré) ou sans raison apparente (grade A), un traitement antibiotique probabiliste par voie intraveineuse (IV) sera instaurée en urgence, dès que le bilan clinique sera réalisé et que tous les prélèvements biologiques et bactériologiques seront faits (Aujard Y, 2001 ; ANAES, 2002). Le traitement sera ensuite poursuivi ou non selon l'état clinique de l'enfant et les résultats biologiques et microbiologiques et sera adapté aux micro-organismes identifiés dans les prélèvements (Figure 3). En revanche, si le nouveau-né est asymptomatique (grade B) ou pauci-symptomatique et né dans un contexte infectieux à haut risque, ce sont les arguments anamnestiques, les résultats du bilan biologique et bactériologique, et la surveillance clinique qui conditionneront la conduite thérapeutique (ANAES, 2002). Selon l'ANAES, seules une chorio-amnionite chez la mère et l'infection d'un jumeau justifient l'instauration immédiate d'une antibiothérapie chez le nouveau-né asymptomatique. Enfin, si le nouveau-né est asymptomatique avec un bilan biologique normal mais des prélèvements bactériologiques qui se sont avérés positifs, alors il présente et répond à la définition de la colonisation bactérienne néonatale.

3. Les molécules antibiotiques

Les infections néonatales sont redoutées par les professionnels de santé, compte tenu de leur forte létalité, en partie à cause de l'administration tardive ou insuffisante d'antibiotiques, de la rapidité avec laquelle elles peuvent se développer chez le nouveau-né, et de leurs difficultés diagnostiques notamment à distinguer le nouveau-né colonisé du nouveau-né réellement infecté. Beaucoup de décès pourraient être évités si les signes étaient plus francs et identifiés au début de l'infection afin de mettre en place rapidement le traitement adéquat (WHO, 1996 ; Darmstadt GL *et al.*, 2009 (a)).

Le choix de l'antibiothérapie initiale repose sur nombreux critères. En effet, le choix optimal d'un antibiotique, en cas de suspicion d'infection néonatale bactérienne, doit intégrer la connaissance de l'épidémiologie des micro-organismes responsables de l'infection, le spectre d'activité, les caractéristiques pharmacocinétiques avec la nécessité d'obtenir une action bactéricide rapide et une faible toxicité, ainsi que l'importance de la symptomatologie

(Thaver D *et al.*, 2009 ; Sivanandan S *et al.*, 2011). L'idéal est d'utiliser des antibiotiques à spectre étroit, de garder en réserve les antibiotiques à large spectre et de traiter les infections bactériennes et non les colonisations. La notion de risque d'être confronté à un germe résistant à l'ampicilline en raison d'une hospitalisation ou d'une antibiothérapie maternelle par une β -lactamine (au cours de troisième trimestre de grossesse et/ou dans les jours précédents l'accouchement) est également présente.

a. Gestion des infections néonatales bactériennes dans les pays industrialisés

L'antibiothérapie probabiliste doit être bactéricide et démarrée le plus précocement possible, avant l'isolement du micro-organisme. Chez le nouveau-né, l'association d'antibiotiques doit être systématique pour élargir le spectre bactérien, rechercher un effet synergique et diminuer l'apparition de mutants résistants (Baltimore RS, 2003 ; Sivanandan S *et al.*, 2011). On utilise classiquement une bithérapie, ou plus rarement une trithérapie. L'OMS recommande une hospitalisation et un traitement antibiotique associant β -lactamines et aminosides par voie parentérale (IV) comme traitement des infections néonatales bactériennes (Klein JO, Remington JS, 2006 ; Darmstadt GL *et al.*, 2009 (a) ; Downie L *et al.*, 2013). Certaines unités modifient ces recommandations pour inclure une céphalosporine de troisième génération (Vergano S *et al.*, 2005). L'antibiothérapie initiale associe le plus souvent pénicilline/ampicilline et la gentamicine et ampicilline et céfotaxime ou ceftriaxone, ces associations étant active contre les micro-organismes prédominants dans ces pays, à savoir : le SGB, *E. coli*, la *Listeria* et les entérocoques (ANAES, 2002 ; Sivanandan S *et al.*, 2011). L'adaptation de l'antibiothérapie est indispensable dès que le micro-organisme est identifié et que sa sensibilité aux antibiotiques est connue.

La durée du traitement pour les β -lactamines est généralement de 7 jours en cas d'infection certaine sans hémoculture positive. Elle est de 8 jours pour les bactériémies, de 14 jours pour une méningite à SGB et de 15 jours à 21 jours au minimum après obtention d'une culture négative pour une méningite à Gram négatif (ANAES, 2002 ; AAP, 2012). La durée du traitement par les aminosides ne fait pas l'unanimité. Pour certains, une monothérapie peut être envisagée dès le troisième jour en l'absence de méningite et, pour d'autres, l'aminoside peut être arrêté au cinquième jour. La surveillance des nouveau-né normaux ou suspects d'infection est au minimum de 48 heures car 95% des infections materno-fœtales surviennent dans les 48 heures (ANAES, 2002).

Par ailleurs dans les pays industrialisés, depuis la fin des années 1990, une antibiothérapie *per partum* a été proposée aux femmes en anténatal dans 4 situations : prévention de l'infection néonatale à SGB, antibioprofylaxie maternelle en prévention des infections postopératoires maternelles, antibioprofylaxie en cas de rupture prématurée de la poche des eaux et enfin pour le traitement des infections maternelles telles que les infections urinaires, génitales ou des épisodes de fièvre au cours de la grossesse (Hengten V, Cohen R, 2012). Ces stratégies de prévention ont apporté un bénéfice conséquent aux nouveau-nés avec une diminution de l'incidence des infections néonatales précoces à SGB (Baltimore RS *et al.*, 2001 ; Hengten V, Cohen R, 2012) et des infections materno-fœtales qui sont devenues rares (Aujard Y, 2001).

b. Gestion des infections materno-fœtales dans les pays en voie de développement.

Dans les pays en voie de développement, l'étiologie bactérienne et le modèle de sensibilité aux antibiotiques diffèrent selon les pays et les régions du monde, le choix de l'antibiothérapie doit alors être adapté à chaque région (Sivanandan S *et al.*, 2011). Il est donc difficile de comparer la résistance aux antibiotiques entre les pays car l'épidémiologie de l'infection néonatale bactérienne est extrêmement variable d'une région à l'autre et les études décrivant le profil de résistance des micro-organismes aux antibiotiques au fil du temps et dans la même unité sont encore insuffisantes (Vergano S *et al.*, 2005).

Cependant, les recommandations de l'OMS dans les pays émergents pour le traitement probabiliste des infections néonatales bactériennes sont calquées sur celles des pays industrialisés (OMS, 2004) notamment à cause des informations et des données limitées concernant les agents pathogènes responsables d'infections bactériennes et la résistance aux antibiotiques dans ces pays (Sivanandan S *et al.*, 2011 ; Downie L *et al.*, 2013).

Les indications de traitement sont, dans ces pays, encore plus larges que dans les pays industrialisés, notamment en raison du suivi aléatoire de la grossesse, du manque d'hygiène lors de l'accouchement et du manque d'investigations antérieures au traitement réalisés chez le nouveau-né. Cependant, certains pays en voie de développement ont signalé l'augmentation de la résistance, en particulier des micro-organismes à Gram négatif, aux antibiotiques de première ligne : l'association d'ampicilline et de gentamicine étant un choix approprié pour le traitement des infections néonatales à SGB et *E. coli* (Sivanandan S *et al.*, 2011). Ceci pourrait être attribué à un certain nombre de facteurs, notamment l'utilisation excessive

d'antibiotiques de façon inappropriée et prolongée, le peu de législation sur leur prescription et leur durée d'utilisation, la vente d'antibiotique sans prescription, les mauvaises conditions sanitaires et le manque d'infrastructures de santé (Rahman *et al.*, 2002 ; Zaidi AK *et al.*, 2005 ; Isaacs D, 2006). Tout ceci favorise l'émergence de germes résistants.

Le niveau de résistance des micro-organismes aux antibiotiques couramment utilisés dans les infections néonatales en milieu communautaire est particulièrement préoccupant (Vergnano S *et al.*, 2005). Les auteurs d'une étude récente soulignent le manque de données et la nécessité d'un système de surveillance actif supplémentaire afin de déterminer avec précision les motifs de la sensibilité des pathogènes permettant de mettre en place le traitement adéquat et de minimiser l'émergence de souches résistantes dans les pays en développement (Ganatra HA *et al.*, 2010).

Une étude suggère un taux de résistance inquiétant à l'ampicilline et la gentamicine en milieu communautaire, antibiotiques recommandés par l'OMS en première intention pour le traitement des infections néonatales bactériennes, ce qui montre que cette association est inefficace dans les pays en voie de développement (Zaidi AK *et al.*, 2005 ; Thaver D *et al.*, 2009). Une forte proportion d'*E.coli* est résistante à l'ampicilline (72%) alors que seulement 19% des souches sont résistants aux C3G. Parmi les espèces de *Klebsiella*, sensibles essentiellement à l'imipénème, antibiotique coûteux et souvent difficile à se procurer dans les pays en voie de développement, et presque toutes résistantes à l'ampicilline, 66% des souches étaient résistantes aux C3G. Quant à la résistance de ces souches à la gentamicine, elle est faible chez *E.coli* (13%) mais beaucoup plus élevée chez *Klebsiella* sp (60%) (Darmstadt GL *et al.*, 2009 (b) ; Thaver D *et al.*, 2009).

Toutefois, les données disponibles suggèrent que le niveau de résistance observé en milieu hospitalier est plus alarmant qu'en milieu communautaire (Thaver D *et al.*, 2009). Une étude concernant les infections nosocomiales néonatales dans les pays en développement estime que près de 70% des micro-organismes isolés dans les bactériémies néonatales sont résistants au traitement préconisé par l'OMS (Zaidi AK *et al.*, 2005). A l'hôpital, le taux de résistance à la gentamicine (71% chez *Klebsiella* et 50% chez *E. coli*) et le taux de résistance à la céfotaxime (51% chez *Klebsiella* et 46% chez *E.coli*) suggèrent la large diffusion de souches résistantes, notamment de bactéries productrices de β -lactamase à spectre étendu (BLSE) et de *S. aureus* résistantes à la méticilline (SARM) dans de nombreuses régions du monde, en particulier en Asie de sud où 56% des souches isolées sont résistantes à la méticilline (Zaidi AK *et al.*, 2005 ; Ganatra HA *et al.*, 2010). Il est important de prendre en compte ces données, afin

d'adapter l'antibiothérapie, en particulier en Asie du Sud-Est, région où *Klebsiella* est responsable de 45% des infections néonatales bactériennes.

Face à ce problème inquiétant de multirésistance, les médecins recommandent alors d'utiliser chez les nouveau-nés à risque d'infection néonatale bactérienne, des antibiotiques à large spectre en première intention (Zaidi AK *et al.*, 2005).

E. Prévention

Les stratégies préventives sont essentielles pour réduire la mortalité néonatale et la morbidité de l'infection bactérienne dans le monde. De nombreuses recommandations, aussi bien avant l'accouchement, pendant ou qu'en période prénatale, ont été établit par l'OMS et tentent d'être appliquées dans les pays en voie de développement, pendant qu'elles sont maîtrisées dans les pays industrialisés.

Dans les pays développés, l'utilisation d'antibiotiques en prophylaxie chez les femmes enceintes présentant un haut risque d'infection a considérablement réduit les infections à SGB. L'antibioprophylaxie *per partum* a permis de réduire l'incidence des infections néonatales bactériennes d'environ un tiers (Darmstadt GL *et al.*, 2005). Elle consiste en l'administration d'ampicilline en 1^{ère} intention à raison de 2g en intraveineuse dès le début du travail puis 1g toutes les quatre heures jusqu'à l'accouchement. L'érythromycine est proposée en cas d'allergie aux β -lactamines et le céfotaxime en cas de résistance aux macrolides. De plus, la désinfection large de la mère au niveau du sphincter génital est amplement réalisée dans les pays industrialisés afin d'éviter la colonisation du nouveau-né.

Dans les pays à faible et moyen revenu, malgré le contexte socio-économique et socio-culturels, le manque d'infrastructure avec eau potable, matériels et transports adaptés, les interventions les plus efficaces qui ont permis de réduire de façon importante la mortalité néonatale sont les soins prénataux pour les femmes enceintes qui permettent aux populations les plus marginalisées de recevoir des soins et visites à domicile au cours de leur grossesse. Près de 80% des soins de santé sont administrés à la maison dans les pays en voie de développement (UNICEF, 2009). En 2009, 78% des femmes dans le monde avaient reçu au moins une visite pendant la grossesse (UNICEF, 2009). En Afrique subsaharienne, 71% des femmes étaient suivies au moins une fois pendant leur grossesse et 44% ont reçu au moins 4 visites. L'Afrique du Nord et le Moyen-Orient enregistrent le plus haut taux (Kerber KJ *et al.*, 2007). Les professionnels de santé doivent travailler ensemble pour mettre en œuvre des

mesures préventives, notamment la présence suffisante de personnel qualifié lors de l'accouchement pour offrir les meilleurs soins à la naissance (Ganatra HA *et al.*, 2010) ; bien qu'il existe quelques exceptions notables notamment au Népal et au Bangladesh (Lawn JE *et al.*, 2010 (b)) et l'amélioration des soins obstétricaux d'urgence (Darmstadt *et al.*, 2005 ; Adam T *et al.*, 2005 ; Kerber KJ *et al.*, 2007). Au cours de la période postnatale, l'allaitement maternel précoce et exclusif est l'une des recommandations les plus importantes pour prévenir l'infection et réduire la mortalité et morbidité néonatale. En effet, le lait maternel, favorisant l'implantation d'une flore normale, est connu pour contenir des facteurs immunologiques importants et bénéfiques dans la prévention de l'infection ; lysozymes, lactoferrine et l'immunoglobuline A (Borghesi A *et al.*, 2011) ; dont certains ont le potentiel d'inhiber *E. coli* et d'autres pathogènes responsables d'infections néonatales (Levy O, 2007). Malheureusement, seuls 37% des nouveau-nés sont exclusivement nourris au sein dans les pays en voie de développement (UNICEF, 2009). Il faut donc promouvoir cette pratique à plus grande échelle.

Le manque de ressources pose des problèmes majeurs dans les pays en développement, mais la pauvreté n'est pas une excuse pour la forte morbidité et la mortalité des infections néonatales car des interventions efficaces et de faible coût sont disponibles et peuvent être ajustées. Les gouvernements doivent donc donner la priorité, et cela même sans équipements sophistiqués, à la réévaluation des systèmes sanitaires en amont et en aval de la périnatalogie pour l'amélioration de la survie des nouveau-nés en élargissant l'accès aux connaissances et à la qualité des soins et en privilégiant l'hygiène, l'accès gratuit aux soins prénataux et postnataux, la présence de personnel qualifié à l'accouchement pour offrir les meilleurs soins à la naissance (Ganatra HA *et al.*, 2010) et l'allaitement au sein exclusif. Les dépenses doivent se concentrer à promouvoir l'éducation et l'alphabétisation des femmes, à fournir davantage de matériel, à encourager et planifier l'accouchement à l'hôpital et à renforcer le suivi de la grossesse afin d'améliorer les inégalités socio-économiques et d'assurer une meilleure surveillance et une prise en charge adéquate des infections néonatales (Didrik SO, 2011).

III. Etude bactériologique menée dans deux hôpitaux de Madagascar : L'antibiothérapie probabiliste des infections néonatales utilisée dans les pays industrialisés est-elle adaptée à l'épidémiologie des pays en voie de développement : exemple de Madagascar?

L'objectif principal de ce travail était d'étudier l'épidémiologie des bactéries responsables d'infections materno-fœtales (IMF) ainsi que leur profil de résistance aux antibiotiques. Ceci afin d'éventuellement, adapter l'antibiothérapie probabiliste à l'écologie bactérienne locale lors d'une suspicion d'IMF précoce. Il s'agissait également d'améliorer la prise en charge des IMF bactériennes précoces, en particulier en mettant en place des protocoles standardisés.

A. Cadre de l'étude

1. Quelques informations sur Madagascar

L'île de Madagascar, 4^{ème} plus grande île du monde au large de l'Afrique, fait partie des dix pays les plus pauvres du monde, avec un revenu national brut par habitant estimé à 960 dollars américains (WHO, 2009 (a)). Les ressources naturelles sont essentiellement le graphite, le charbon, le sel, le quartz, ainsi que plusieurs pierres semi-précieuses. La pêche est développée et l'île possède un potentiel pour l'énergie hydraulique. Au début du siècle, Madagascar fut un des premiers producteurs de riz mondial. La majorité de la population vit de l'agriculture, principalement de la culture du riz et de l'élevage de zébus. Malgré une forte potentialité et biodiversité en ressources et un patrimoine naturel considérable, ce pays a longtemps semblé prometteur et pourtant l'instabilité socio-politique de ces dernières années associé à l'endettement excessif a plongé sa population dans une grande pauvreté (WHO, 2011 (b)). Selon une enquête périodique menée en 2010, près de 76,5 % (dont 82,2 % en milieu rural) des Malgaches sont considérés comme pauvres en 2010, alors qu'ils étaient 68,7 % en 2005. Cette pauvreté concernent 85,5% des enfants de moins de 5 ans qui vivent en dessous d'un seuil de pauvreté fixé à 468,800 Ariary, soit environ 234 dollars américains par personne et par an. De plus, de par sa situation géo-climatique, Madagascar est prédisposée à la survenue de risques climatiques extrêmes comprenant des cyclones, des inondations ou

encore une sécheresse répétée qui entraînent de lourdes conséquences sur la santé de la population et aggravent la situation et la vulnérabilité de la population.

La population de cette île atteignait près de 22 millions d'habitants en 2011, dont plus de la moitié des habitants sont âgés entre 15 et 64 ans. L'espérance de vie à la naissance est de 63 ans pour les hommes et de 67 ans pour les femmes (WHO, 2009 (a)). Le taux de mortalité maternelle est de 498 pour 100 000 naissances vivantes, alors que la cible des Objectifs du Millénaire pour le Développement est de 127 pour 100 000 naissances vivantes. Par ailleurs, le taux de mortalité infanto-juvénile était de 92,8 pour mille en 2010 et le taux de mortalité infantile est passé de 159 pour 1000 naissances vivantes en 1997 à 61 pour 1000 naissances vivantes en 2010 (WHO, 2009 (b) ; Perspectives économiques en Afrique, 2012). Bien qu'une certaine amélioration ait été constatée au cours de cette période, le niveau de mortalité à Madagascar reste préoccupant. Il est lié à l'état nutritionnel précaire, aux maladies infectieuses et à l'inaccessibilité géographique et financière des services de santé (Système des nations unies, 2003). Le pays doit alors continuer d'intensifier les efforts pour diminuer le taux de mortalité infantile à 31 pour mille et le taux de mortalité infanto-juvénile à 56 pour mille naissances vivantes en vue d'atteindre l'OMD 4 en 2015 (WHO, 2009 (b)).

2. Présentation des hôpitaux

Nous avons décidé d'étudier l'épidémiologie des IMF à Madagascar. En collaboration avec la Société Malgache de Pédiatrie, l'étude a été conduite dans deux hôpitaux de la province d'Antananarivo : l'hôpital de Befelatanana et celui de Soavinandriana.

L'hôpital de Befelatanana, spécialisé en gynécologie obstétrique, fait partie du Groupe Hospitalier Mère Enfant (GHME). Ce dernier, qui lui-même fait partie du Centre Hospitalier Universitaire d'Antananarivo (CHUA) avec quatre autres établissements, est composé de cinq centres hospitaliers situés à différents endroits d'Antananarivo. Cet établissement est constitué d'une maternité, d'un service de néonatalogie et d'un service de pédiatrie. La maternité accueille près de 7000 accouchements par an. Le service de néonatalogie se divise en deux unités : une unité de 43 lits, recevant les nouveau-nés nés dans le centre et une unité de 24 lits recevant les nouveau-nés malades et nouveau-nés d'autres établissements et/ou nés à la maison. Le département de pédiatrie de ce groupe hospitalier dispose de 227 lits et reçoit près de 6600 hospitalisations par année. Il comporte trois unités : l'Hôpital Mère Enfant Tsaralalana (HMET) qui accueille la pédiatrie générale, des consultations externes et des activités préventives materno-infantiles, un service de pédiatrie proprement dit qui inclut la

pédiatrie générale et un centre de vaccination, et enfin l'Hôpital pédiatrique d'Ambohimandra (HPA) qui réunit un service de pédiatrie et une maternité.

Malgré le matériel médical limité, le centre hospitalier Befelatanana accueille au total 17 000 patients par an, pour 428 lits. Les personnels médical et non médical doivent faire face à de nombreuses difficultés de fonctionnement : manque de budget ayant pour conséquence un manque de matériel, manque d'examen complémentaires, grand nombre de coupure de courant malgré la présence d'un groupe électrogène, soins à la charge du patient y compris les consommables médicaux, alors que 76,7% de la population vit en dessous du seuil de pauvreté et que les besoins de santé sont hors de portée de la plus grande majorité de la population du pays.

Bâti sur un terrain de trois hectares sur la colline de Soavinandriana dans le quartier est de la ville d'Antananarivo et inauguré officiellement le 13 Août 1891, l'hôpital de Soavinandriana était le premier hôpital de l'île. En 1977, sous la tutelle des Ministères de la Défense et des Finances, l'hôpital devint l'Hôpital Militaire d'Antananarivo, appelé Homi. En 1993, à la suite d'une réorganisation administrative, il devient le Centre Hospitalier de Soavinandriana. A ce jour, il attend son intégration au sein du Centre Hospitalo-Universitaire d'Antananarivo.

En mars 2001, à la suite des réformes des établissements publics nationaux, l'hôpital a choisi d'être un établissement public à caractère industriel et commercial. Cet établissement a une capacité d'accueil de 454 lits. Plus de la moitié de ces patients sont des particuliers, 28% sont fonctionnaires et 10% sont militaires. Le service de gynécologie et de maternité représente seulement 20% des activités de cet hôpital, avec environ 1500 accouchements par an.

Cependant, la couverture sanitaire reste cependant limitée et ces établissements sont en déficit de personnel médical (World Bank, 2011). Le déficit chronique de médecins en activité dans l'ensemble du pays en fait l'un des endroits du monde où l'accès aux soins de premier recours est le plus difficile : Madagascar est en état d'urgence sanitaire permanent. En effet, la répartition inadéquate est illustrée par le fait qu'environ 28% des professionnels de santé desservent près de 75% de la population vivant dans les zones rurales (World Bank, 2011), 44% des accouchements sont assistés par des professionnels de santé qualifiés et 35% ont lieu dans des structures sanitaires (WHO, 2009 (b)). De plus, la difficulté d'accès aux centres de santé est particulièrement ressentie en milieu rural où 35% de la population vit à plus de 10 km d'un établissement de santé : il apparaît que les régions rurales restent très défavorisées (Kashima S *et al.*, 2012). L'analphabétisme touche près de 47% de la population. Les femmes et la population des milieux ruraux sont les moins scolarisés (Institut national de

la statistique, 2002). Au vue de cette situation qui constitue un frein au développement sanitaire et social du pays, le gouvernement malgache a introduit un système de fonds de capitaux propres pour assurer un accès universel aux soins de santé. Le système finance les soins de base et les médicaments essentiels aux habitants les plus défavorisés (Poncin X, Le Mentec R, 2009). Malgré l'instauration de ce programme, et compte tenu des contraintes budgétaires importantes et de l'insuffisance des ressources humaines, Madagascar reste le troisième pays parmi les 44 pays africains avec le niveau le plus faible en terme de disponibilité de soins à l'hôpital (World Bank, 2011).

B. Patients et méthodes

1. Patients

Tous les nouveau-nés, présentant des critères anamnestiques de risque d'infection ou une suspicion clinique d'IMF et hospitalisés dans les services de maternité et de néonatalogie de l'hôpital Befelatanana et de l'hôpital Soavinandriana à Antananarivo, étaient inclus dans cette étude prospective, avec bénéfice individuel direct après consentement des familles (Annexe 2). La durée de l'étude a été de 12 mois, d'avril 2010 à mars 2011 permettant d'inclure 303 nouveau-nés. Seules les enfants nés pendant les heures ouvrables ont été inclus. Aucune des habitudes préalables de prise en charge des nouveau-nés n'était modifiée.

Une fiche médicale, constituant le dossier médical du nouveau-né, a été établit en salle de naissance (Annexe 3). Elle comporte des renseignements cliniques et biologiques : chez la mère il s'agissait des facteurs de risque d'IMF, de l'existence d'une antibiothérapie *per-* ou *post- partum* et du mode de suivi de la grossesse. Chez le NN, étaient pris en compte l'âge gestationnel, le poids de naissance, l'Apgar à 1 et 5 minutes et la présence de signes cliniques évoquant une IMF chez le nouveau-né.

2. Critères d'évaluation de l'infection

a. Critères cliniques

L'IMF, en dehors des tableaux cliniques infectieux évidents, était évoquée devant des critères anamnestiques ou des critères cliniques :

- Les critères anamnestiques sont ceux définis par l'OMS pour les pays en développement (WHO, 2003). Ils incluent une infection utérine ou fièvre maternelle présente dès le début du travail et jusqu'à trois jours après la naissance, un tableau de chorio-amnionite, une prématurité inférieure à 35 semaines d'aménorrhée (SA) et rupture prématurée des membranes plus de 18 h avant la naissance.
- Les signes cliniques évoquant une IMF varient selon le stade de l'accouchement :
 - Pendant le travail, les signes évocateurs sont :
 - Tachycardie fœtale supérieure à 160/minutes
 - Anomalies du rythme cardiaque fœtal non expliquées par les conditions obstétricales (circulaire du cordon, disproportion fœto-pelvienne, présentation vicieuse)
 - Liquide amniotique fétide (ou purée de pois), liquide amniotique teinté ou d'odeur nauséabonde sans cause obstétricales
 - A la naissance, l'IMF est suspectée devant :
 - Une souffrance fœtale aiguë : Apgar < 7 ou 5 minutes
 - Un examen clinique anormal sans cause obstétricale (absence de cri à la naissance, absence de reflexe de succion, hypotonie, cyanose et respiration rapide, peau infiltrée...)
 - Une fièvre supérieure 38°C persistante après 1 heure de vie
 - Une prématurité inexpliquée
 - Une réanimation prolongée
 - Après la naissance, les signes cliniques évoquant une IMF peuvent être isolés ou multiples et de gravité variable :
 - Fièvre supérieure à 38°C ou hypothermie inférieure à 35°C inexpliquée
 - Signes hémodynamiques (bradycardie, tachycardie, hypotension, augmentation du temps de recoloration)
 - Signes respiratoires (geignements, apnées, pauses, détresse respiratoire évaluée par le score de Silverman)
 - Signes neurologiques (hypotonie, hypertonie, convulsions, coma)
 - Signes cutanés (éruption cutanée suspecte, ictère précoce survenant avant 24 h de vie, ecchymoses, pétéchies...).
 - Pâleur, teint gris

En cas de convulsions, coma, bombement de la fontanelle, une méningite est évoquée. Une ponction lombaire est alors pratiquée dès que possible.

b. Etablissement d'un score clinique

Deux scores cliniques d'infection ont été déterminés et ont permis de surveiller tous les nouveau-nés à risque d'IMF jusqu'à 2 jours de vie (J2), qu'ils bénéficiaient ou non d'une antibiothérapie. Ces scores sont utilisés depuis plusieurs années par les pédiatres de la Fédération Rhône-Alpes avec un double objectif : dépister les IMF en situation de risque infectieux, sachant qu'en France ces situations relèvent de critères différents de ceux de l'OMS, et surveiller le développement éventuel d'une IMF sans traitement antibiotique.

Le premier score d'infection ou score n°1 est évalué en salle d'accouchement pendant la première heure de vie (H1). Il se base sur l'évaluation de certains signes cliniques auxquels sont attribués des points (1 point ou 2 points). Le résultat correspond à la somme de ces points (Figure 4).

Signes cliniques (absent : 0, présent : 1)	Points
Température > 37,8°C (présent : 2)	
Geignements	
Fréquence respiratoire > 50/minute	
Cyanose en air ambiant	
Fréquence cardiaque >180/minute	
Teint gris ou marbré	
Éruption cutanée suspecte	
Total	

Figure 4 : Détermination du score clinique à 1h de vie

Le deuxième score ou score n°2 est réalisé à la douzième heure de vie (H12) par la sage-femme. Par rapport au premier score, 2 signes cliniques ont été ajoutés ; la prise du sein et l'éventuelle apparition d'un ictère. De la même façon, le score correspond à la somme des points attribués aux signes cliniques (Figure 5). Ce même score est réévalué à J1 et J2 lors de la visite du pédiatre.

Signes cliniques (absent : 0, présent : 1)	H12	J1	J2
Température >37,8°C (présent : 2)			
Geignements			
Fréquence respiratoire >50/min			
Cyanose en air ambiant			
Teint gris ou marbré			
Éruption cutanée suspecte			
Hypotonie, mauvaise prise du sein			
Ictère < 24 h de vie			
Total			

Figure 5 : Détermination du score clinique à H12, J1 et J2

3. Méthodes

a. Prélèvements

Chez tous les nouveau-nés présentant des critères anamnestiques de risque d'infection, en particulier maternels, et/ou lorsque le score clinique évoquait une infection, un prélèvement du liquide gastrique et un prélèvement sanguin pour dosage de la CRP à partir de 12 heures de vie (H12) étaient effectués. Le liquide gastrique était recueilli à l'aide d'une sonde naso-gastrique stérile à usage unique fournie pour l'étude. En présence de signes cliniques évocateurs d'infection soit dès la naissance soit au cours de la surveillance continue, une hémoculture (1 ml ou mieux 2 ml de sang) était prélevée par voie périphérique ou ombilicale après désinfection soigneuse. En cas de suspicion de méningite, une ponction lombaire était effectuée avant toute antibiothérapie.

En ce qui concerne la mère, aucun prélèvement vaginal n'a pas pu être effectué à l'admission pour des problèmes de financement de l'étude. Par contre, une hémoculture était réalisée en cas de fièvre maternelle supérieure à 39,5°C.

Tous les prélèvements étaient adressés quotidiennement à l'Institut Pasteur (IP) de Madagascar. A l'hôpital Soavinandriana, ils étaient acheminés immédiatement à l'IP par la famille. A Befelatanana, l'examen direct et l'ensemencement des prélèvements étaient réalisés sur place, puis les prélèvements étaient transportés à l'IP. En effet, un technicien délégué par l'IP était présent au sein de la maternité pendant la durée de l'étude. Une étuve a été mise à disposition dans l'hôpital pour y incuber les hémocultures.

La CRP était considérée comme positive pour un seuil > 20mg/L.

b. Surveillance et indications de l'antibiothérapie

La prise en charge initiale du nouveau-né dépendait de l'évaluation du risque infectieux déterminé par les différents scores. Elle était initiée selon l'Algorithme de la prise en charge des nouveau-nés à risque infectieux, maternité de l'hôpital BE (Annexe 4). Une antibiothérapie systématique était instituée dès la naissance après avoir prélevé le liquide gastrique, si l'âge gestationnel (AG) était < 35 SA et/ou le poids de naissance < 2 kg, quelque soit les facteurs de risque d'infection, et si des signes d'infection maternelle étaient présents, quels que soient l'âge gestationnel ou le poids de naissance (chorioamniotite, fièvre). Le nouveau-né était surveillé à l'aide du score d'infection n°1 puis du score n°2. L'ensemble des nouveau-nés inclus dans le protocole était réexaminé chaque jour par le pédiatre.

Dans les autres situations de suspicion d'IMF, la surveillance et la prise en charge des nouveau-nés dépendaient tout d'abord des résultats du score n°1 pratiqué à H1 (Figure 6) :

- Si le score était < 2 , le nouveau-né n'était pas suspect d'IMF et bénéficiait d'une surveillance simple en maternité jusqu'à J2 à l'aide du score n°2. Dans ce cas, l'antibiothérapie n'était pas indiquée.
- Si le score était égal à 2, le nouveau-né présentait des facteurs de risque de développer une IMF. Il était réévalué à H12 par le score n°2. Un dosage de la CRP était prescrit à 12 heures de vie (en pratique, il a été réalisé par le pédiatre lors de la visite du matin). Si le score à H12 était ≥ 2 ou si la CRP est > 20 mg/L et quelque soit le résultat du score, l'antibiothérapie probabiliste était débutée après avoir prélevé une hémoculture. Si le score était < 1 et que la CRP était < 20 mg/L, aucune antibiothérapie n'était démarrée. L'enfant pouvait être confié à sa mère, à qui l'on avait appris les signes devant faire suspecter une infection.
- Si le score était > 2 , le nouveau-né était suspect d'IMF et l'antibiothérapie probabiliste est débutée après avoir prélevé une hémoculture. La surveillance est poursuivie à l'aide du score n°2.

Une antibiothérapie pouvait être prescrite dans d'autres situations non prévues par ce protocole. Cependant chaque prescription d'antibiotiques hors protocole devait être validée par le pédiatre et correspondait à une inclusion en vue d'une évaluation à posteriori.

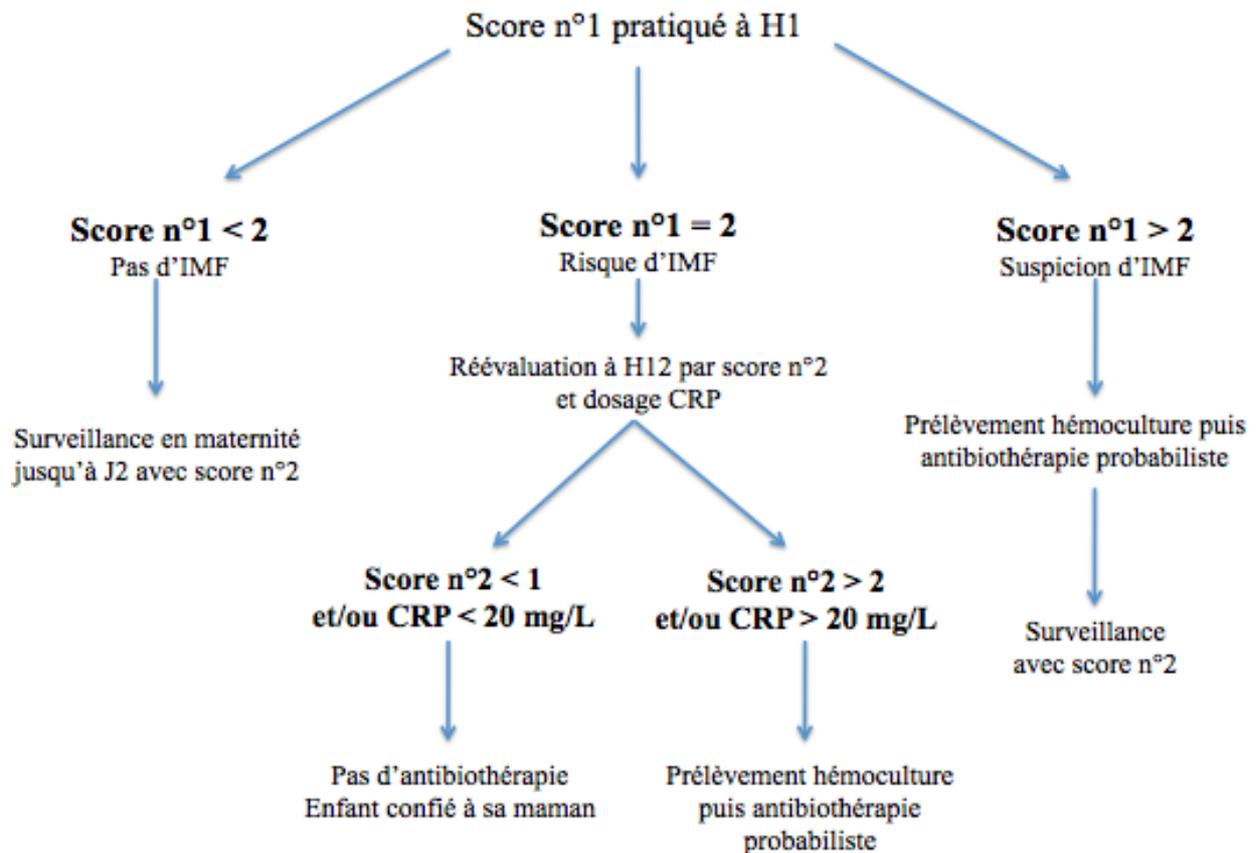


Figure 6 : Prise en charge et surveillance des nouveau-nés

c. Modalités de l'antibiothérapie initiale

L'antibiothérapie probabiliste utilisée dans les deux maternités était celle préconisée dans les pays industrialisés et adaptée aux micro-organismes les plus fréquemment responsables d'IMF : *E.coli* et SGB. La voie injectable était obligatoire, intraveineuse (IV) si possible, sinon intramusculaire (IM). Les posologies sont les suivantes : ampicilline 50 mg/kg toutes les 12 heures, ceftriaxone 50 mg/kg une fois par 24 heures et gentamicine 4 à 5 mg/kg une fois par 24 heures.

En cas d'identification d'une bactérie pathogène dans le liquide gastrique, l'hémoculture ou le LCR, l'antibiothérapie était adaptée en fonction de l'antibiogramme. Il est toutefois important de noter que l'imipenème n'est pas disponible à Madagascar empêchant l'adaptation du traitement si la bactérie sécrétait une β -lactamase à spectre étendu (BLSE). En cas de suspicion ou confirmation de méningite (sans attendre la ponction lombaire), les posologies de l'ampicilline et de la ceftriaxone sont doublées.

L'antibiothérapie initiale est arrêtée dans les conditions suivantes :

- Chez les nouveau-nés traités dès la naissance : arrêt du traitement au 3^e jour, si l'examen clinique (+/- CRP) est resté normal pendant toute la période de surveillance.
- Chez les nouveau-nés traités secondairement (du fait d'un score élevé ou pour une autre raison), quels que soient les résultats de l'hémoculture et du LCR : arrêt de la gentamicine après 3 à 5 jours de traitement, arrêt de l'ampicilline et de la ceftriaxone IV ou IM après 7 jours puis relais par amoxicilline per os à la même posologie pendant 3 jours (en cas de méningite, l'ampicilline est faite 10 jours IM, puis le relais per os est pris pour une durée de 11 jours et la ceftriaxone IM est maintenue 21 jours, soit une durée totale de traitement de 21 jours pour les 2 antibiotiques).

La sortie du service était permise en l'absence de tout symptôme clinique survenu pendant les 24 heures suivant l'arrêt du traitement. Toutefois, une sortie plus précoce a pu être décidée par l'investigateur principal en fonction du contexte. Il a fallu alors apprendre à la mère les signes cliniques devant faire évoquer une infection chez son enfant et lui demander de le ramener en cas d'apparition d'un de ces signes.

4. Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries isolées

a. Culture

Les hémocultures étaientensemencées sur des milieux Mérieux. Les liquides gastriques étaientensemencés sur des géloses au sang, des géloses ordinaires en atmosphère normale incubées et des géloses chocolat incubées en atmosphère enrichie en CO². Les milieux de culture étaient fabriqués par le laboratoire d'hygiène des aliments et de l'environnement de l'institut Pasteur de Madagascar qui est accrédité 17025 pour la fabrication des milieux.

b. Antibiogramme

L'antibiogramme est une technique de laboratoire permettant de tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques, de mesurer la capacité d'un antibiotique à inhiber la croissance bactérienne *in vivo*, permettant de guider le praticien

dans le choix d'un antibiotique pour la prise en charge d'une infection bactérienne, tout cela selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM). Il doit être réalisé selon des méthodes standard recommandées en utilisant la technique par diffusion des disques imprégnés d'antibiotiques en milieu gélosé.

La réalisation de l'antibiogramme passe par plusieurs étapes. Tout d'abord, le choix du milieu de culture utilisé varie en fonction des micro-organismes (OMS, 2005, CA-SFM) :

- Le milieu de Mueller Hinton pour les entérobactéries, *Pseudomonas* et les staphylocoques.
- Le milieu de Mueller Hinton additionné de 5% de sang de mouton pour les streptocoques.
- Le milieu Gélose chocolat polyvitex pour *Haemophilus* et *Neisseria*.

Les géloses sont séchées avant emploi. On procède ensuite à la préparation de l'inoculum. Cela consiste à prélever des colonies isolées et parfaitement identiques à l'aide d'un écouvillon et les émulsionner dans un tube contenant 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9%. La densité de l'inoculum doit être équivalente à celle de l'étalon 0,5 Mc Farland. Dans les 15 minutes suivant la préparation de l'inoculum, on procède à l'ensemencement. Un écouvillon sec et stérile est trempé dans la suspension bactérienne. Il sert à ensemercer en stries serrées, de haut en bas, sur toute la surface gélosée y compris le bord à 3 reprises. Les disques d'antibiotiques sont ensuite déposés à l'aide d'une paire de pinces stérile, en respectant un espace minimum de 24mm centre à centre entre les disques. Les boîtes sont incubées à 35°C, pendant 18 à 24 heures. La lecture de l'antibiogramme se fait le lendemain en mesurant et notant le diamètre de chaque zone d'inhibition, et les résultats seront interprétés en fonction des diamètres critiques figurant dans les tableaux d'interprétation fournis par les fabricants des disques.

A Madagascar, les antibiogrammes ont été réalisés selon les recommandations du CA-SFM.

c. Méthodes destinés à la recherche des BLSE

Les β -lactamases à spectre étendu (BLSE) sont des enzymes le plus souvent d'origine plasmidique produites par des micro-organismes pathogènes et se sont propagées dans le monde entier depuis leur première description en 1983 (Bradford PA, 2001). Les trois

familles majeures sont représentées par les enzymes de type TEM et SHV, β -lactamases principalement produites par *K.pneumoniae*, et l'enzyme de type CTX-M produites principalement par *E.coli* (Mirelis B et al., 2003 ; Pitout JDD, Laupland KB, 2008). Elles confèrent une résistance à l'ensemble des β -lactamines notamment les céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G), à l'exception des céphamycines et des carbapénèmes, et leur activité est inhibée *in vitro* par l'acide clavulanique en donnant sur l'antibiogramme une image caractéristique dite « en bouchon de champagne (Figure 7). La recherche d'une BLSE chez une entérobactérie résistante aux C3G doit être systématique en recherchant cette image de synergie facile à reconnaître (CA-SFM).

Cette technique de détection est réalisée en disposant les disques de C3G (la ceftazidime est la plus sensible) ou aztréonam, d'amoxicilline et acide clavulanique (AMC) en respectant un espace de 30 mm de distance, centre à centre. La détection est marquée par une synergie entre une C3G ou l'aztréonam, et le mélange AMC.

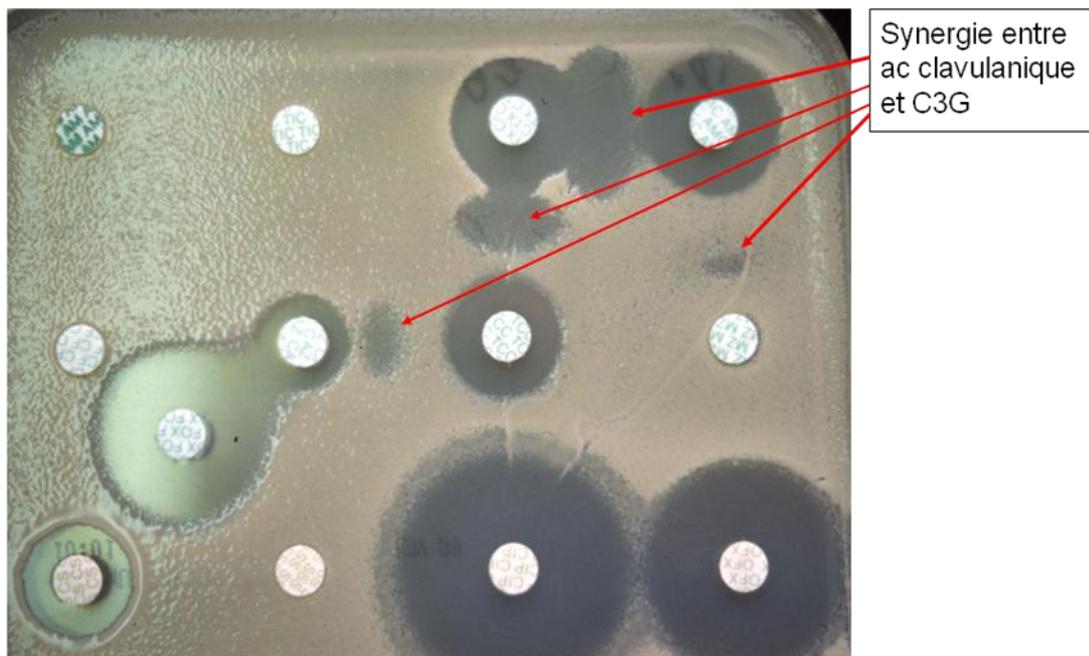


Figure 7 : Test de synergie positif, aspect en bouchon de champagne

Cette recherche peut aussi se faire à l'aide de bandelettes E-test. Elles contiennent d'un côté un gradient de ceftazidime ou de céfotaxime et de l'autre côté un gradient de la même molécule associée à l'acide clavulanique. La présence de BLSE est marquée par un

rapport CMI céphalosporine sur CMI céphalosporine associée à l'acide clavulanique supérieure à 8 (Figure 8).

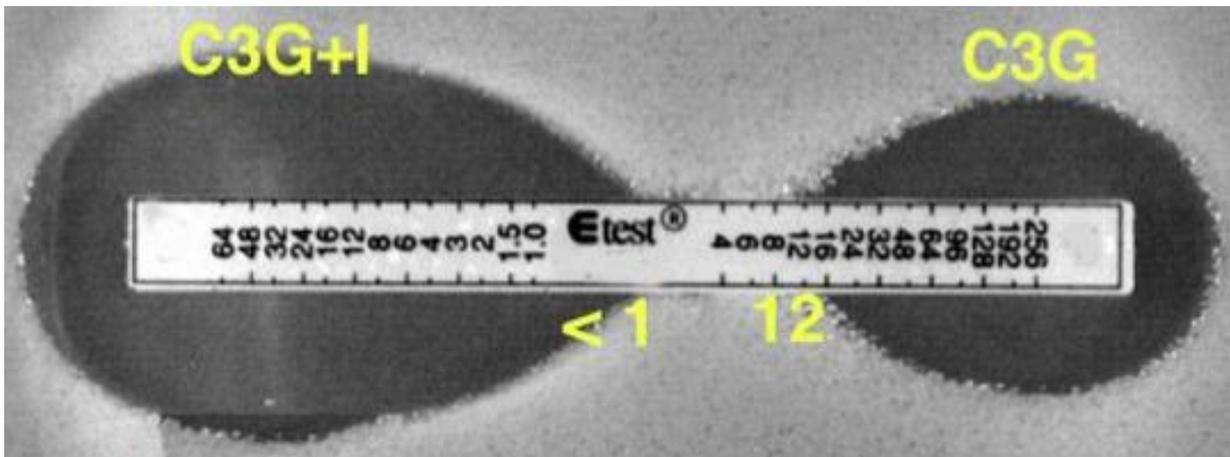


Figure 8 : Bandelette E-test, lecture différentielle d'une C3G avec et sans inhibiteur de β -lactamase

D'autres méthodes de détection existent. Certains appareils automatisés (Vitek de Biomérieux, Marcy l'étoile, France) permettent aussi d'identifier les BLSE. Compte tenu de la prévalence des BLSE, on peut considérer que la plupart des techniques proposées sont satisfaisantes avec des niveaux de sensibilité pour les entérobactéries supérieures à 80 %. Aucune méthode n'a une bonne spécificité.

5. Méthodes de comparaison des souches

a. Méthodes de géotypage bactérien

Les progrès actuels ont permis la mise au point d'un certain nombre de méthodes permettant la classification des espèces bactériennes en clones sur la base de marqueurs génétiques. La particularité est que chaque technique définit le caractère clonal des souches bactériennes en fonction de son pouvoir de résolution et des marqueurs moléculaires qu'elle analyse.

Il existe à l'heure actuelle de nombreuses techniques permettant la classification des bactéries en types clonaux sur la base de marqueurs génétiques. Chacune de ces techniques

définit le caractère clonal des souches en fonction de son pouvoir de résolution et des marqueurs moléculaires qu'elle analyse.

Avant l'arrivée des techniques moléculaires, les études d'épidémiologie utilisaient des marqueurs phénotypiques (biotype, antibiotype, qui prenaient en compte les caractères exprimés par les bactéries (phénomènes post-traductionnels). Toutefois, ces marqueurs phénotypiques sont fortement soumis à l'environnement et ces méthodes qualitatives sont mal adaptées à l'étude de l'évolution sub-clonale.

Actuellement, les marqueurs génotypiques sont plus sensibles et plus spécifiques. Ils permettent d'analyser le polymorphisme de l'ADN chromosomique et extra chromosomique. Ils peuvent comparer des séquences déterminées ou l'ensemble du génome et peuvent caractériser les divergences génétiques au sein des populations. Ces marqueurs sont pénétrants, c'est-à-dire que leur niveau d'expression est peu affecté par l'environnement ou le fond génétique de la bactérie et ils sont le reflet des mécanismes évolutifs des souches (mutations ponctuelles, réarrangements intra-chromosomiques ou acquisition horizontale de gènes). Cependant, bien que plus stables, ces méthodes ne doivent être utilisés que sur des espèces dont la structure génétique de la population est préalablement connue au risque de se révéler inefficaces.

Ces techniques moléculaires peuvent être divisées en trois grands groupes :

- **Les techniques basées sur un principe de restriction** au cours duquel le matériel génétique bactérien est coupé par des endonucléases en plusieurs brins en fonction des sites de coupure des enzymes. Ce nombre de sites est généralement faible et on obtient des profils de 5 à 20 fragments de 10 à 800kb. (ex : électrophorèse en champ pulsé PFGE). Grâce à sa grande résolution et sa polyvalence, le PFGE est devenue une référence pour le typage de nombreuses bactéries.
- **Les techniques basées sur les amplifications** de différentes parties du génome sélectionnées en fonction de leurs caractéristiques discriminantes. Ces amplifications peuvent être aléatoires (ex : Arbitrary Primers PCR) ou bien sélectives de séquences définies (ex : rep-PCR). Les résultats électrophorétiques sont représentés par une empreinte composée de bandes. La taille des fragments de chaque bande permet d'estimer la distribution et le polymorphisme des sites génomiques sélectivement ciblés par les enzymes ou les amorces. Ainsi des variations de ces sites génomiques produiront des cibles non reconnues et seront le témoin indirect de variations génétiques.
- **Les troisièmes utilisent les méthodes récentes de séquençage:**

❖ La MLST (Multi-locus Sequence Typing) est développée sur des gènes conservés du génome bactérien mais dont les variations minimales permettent de dégager de hauts pouvoirs de résolution dans les études épidémiologiques.

❖ L'analyse du polymorphisme de mutation ponctuelle ou « single nucleotide polymorphism » (SNP). Les SNPs sont des variations d'une seule paire de base du génome entre individus d'une même espèce. Ils peuvent se retrouver soit dans des régions codantes, soit dans des régions intergéniques. Certains de ces SNPs sont rares et très stables, caractéristiques de grandes branches phylogénétiques.

b. Méthode du Diversilab®

La méthode de typage bactérienne par procédé de « rep-PCR », développée dans les années 1990, est basée sur « l'amplification de fragments d'ADN situés entre les séquences répétitives et non codantes disséminées de façon aléatoire sur le chromosome des bactéries grâce à des amorces divergentes et complémentaires de ces éléments multi-copies (Figure 9).

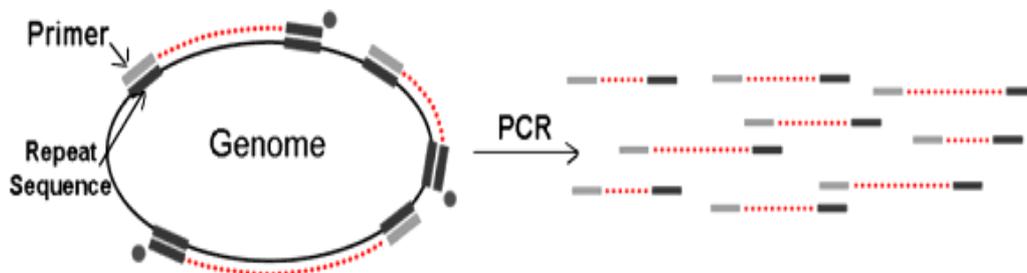


Figure 9 : Principe d'amplification de la rep-PCR

Cette technique génère des empreintes à partir des fragments amplifiés, appelés amplicons, produits et séparés en fonction de leur taille grâce à une électrophorèse capillaire. Ces empreintes sont spécifiques de chaque souche typée et permettent d'estimer le polymorphisme et le degré de parenté génomique entre les isolats étudiés.

L'application de cette technique de typage moléculaire des micro-organismes a été mise en exergue par plusieurs auteurs ces dernières années (Doleans-Jordheim *et al.*, 2009 ; Tenover F.C. *et al.*, 2009 ; Te Witt *et al.*, 2009 ; Grisold A.J *et al.*, 2010). Pour standardiser le

protocole de rep-PCR et rendre performante cette technique, plusieurs versions semi-automatisées ont été créées, dont la dernière a été commercialisée en 2006 par la société Biomérieux®, acteur mondial dans le domaine du diagnostic *in vitro*, sous le nom Diversilab® afin de permettre à un plus grand nombre de laboratoires d'accéder à cette solution innovante (Figure 10).



Figure 10 : Plateforme semi-automatisée d'analyse Diversilab®

Ce système débute par l'extraction de l'ADN des souches bactériennes par une technique manuelle de lyse mécanique et chimique (Figure 11). Pour cela, cet automate utilise des kits de réactifs et d'amorces standardisés en fonction de l'organisme étudié pour réaliser l'amplification par rep-PCR des inter-séquences répétées et produire des amplicons (schéma A). Puis l'électrophorèse capillaire de ces amplicons rendus fluorescents par l'ajout d'un réactif, est réalisée sur des micro-puces qui sont lues par le système laser de détection de l'automate. On obtient ainsi une empreinte génétique unique à chaque souche (schéma B). Enfin, l'interprétation des profils par rapport à une base de données, grâce à un site internet sécurisé externalisé, passe par l'analyse informatique comparative des résultats en temps réel. Il fournit automatiquement un dendrogramme classant les isolats en fonction de leur profil électrophorétique en fournissant une image virtuelle du gel qui aurait été obtenu par une méthode manuelle (schéma C) (Fluit A.C *et al.*, 2010).

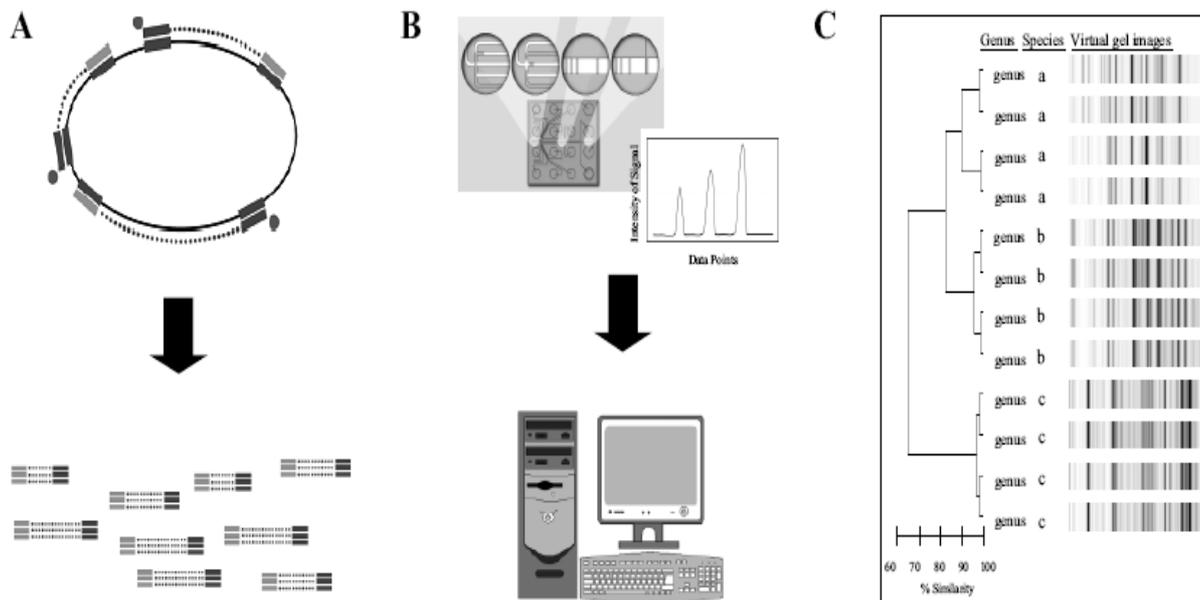


Figure 11 : Différentes étapes d'analyse du procédé Diversilab®

C'est une technique automatisée, facile d'utilisation et rapide : le génotypage bactérien peut être réalisé dans la journée. De plus, les résultats obtenus peuvent facilement être échangés et comparés entre les laboratoires puisque les données acquises par l'appareil sont directement stockées sur le site Internet du fournisseur. De plus, le système Diversilab® garantit un excellent niveau de précision et de reproductibilité. Cependant, elle comporte des limites, en particulier (Deplano A. *et al.*, 2011) :

- la nécessité d'utiliser des kits d'empreintes pour chaque espèce bactérienne
- l'absence d'instructions du fabricant sur les valeurs seuil de similarité afin de classer les profils proches rep-pcr comme génotypes identiques
- sa calibration très dépendante du micro-organisme étudié
- son pouvoir discriminant variable
- la lisibilité des profils rendus complexes par le rendement variable de l'amplification des différents fragments

Cette méthode a été validée pour le typage des bactéries à Gram négatifs telles que *Acinetobacter spp.*, *E. coli* et *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp* (Deplano A. *et al.*, 2011).

6. Analyse statistique

Les tests statistiques étaient effectués à l'aide du programme Statview (Abacus[®], CA, USA). Les différences étaient analysées par les tests de Chi-square et Anova. Une valeur de $p \leq 0,05$ était considérée comme statistiquement significative.

C. Résultats

1. Population étudiée

Entre le 1^{er} avril 2010 et le 31 mars 2011, 8500 nouveau-nés (NN) étaient admis dans les unités de néonatalogie des maternités de Befelatanana et de Soavinandriana Antananarivo. Parmi ces 8500 NN, 303 ont présenté une suspicion d'IMF et ont été inclus dans l'étude : 164 ont été admis à l'hôpital de Befelatanana et 139 à l'hôpital de Soavinandriana. L'âge gestationnel de ces NN était compris entre 24 et 43 SA, avec une moyenne de 34,5 SA +/- a calculer (Tableau 2). Les prématurés d'âge gestationnel < 38 SA représentaient 19,5% (60/303) des NN dont 20 NN avaient un âge gestationnel < 32 SA et 40 NN entre 32 et 36 SA. Parmi ces 303 NN, 172 (56,8%) étaient de sexe masculin et 131 (43,2%) de sexe féminin : le sex-ratio était de 1,3.

Un liquide gastrique a été prélevé chez 282 nouveau-nés, une hémoculture chez 238 d'entre eux. Une CRP était effectuée chez 269 enfants. Certains nouveau-nés n'ont bénéficié que d'une hémoculture et d'autres que du prélèvement du liquide gastrique.

Au total, ont été considérés comme positifs

- 60/282 (21,3%) prélèvements gastriques
- 85/238 (35,7%) hémocultures
- 92/269 (34,2%) CRP (seuil > à 6 mg/L).

Parmi les 303 mères, 101 (33,3%) ont bénéficié d'un suivi de grossesse à l'hôpital, 97 (32,0%) d'un suivi en centre de santé, 38 (12,5%) d'un suivi par une sage femme, 35 (11,6%) par un médecin libre et enfin 22 (7,3%) non pas été suivi pendant la grossesse. Seules 293 femmes ont pu être inclus dans l'étude (données manquantes pour les autres).

2. Classification des infections

1) Selon l'ANAES, les IMF se classent en **différentes catégories** (ANAES, 2002, : www.has-sante.fr/.../infection-bacterienne-precocce-du-nouveau-ne)

- **Une infection certaine** est une infection prouvée par la positivité, d'au moins, un prélèvement dans un site normalement stérile (sang, liquide céphalo-rachidien, poumon, urine).
- **Une infection probable** est une infection diagnostiquée par une anomalie clinique et/ou biologique, et documentée par un prélèvement de liquide gastrique positif à un seul micro-organisme pathogène.
- **Une infection possible** est une infection diagnostiquée par une anomalie clinique et/ou biologique, mais non documentée par un ou des prélèvements microbiologiques (Gilson GJ *et al.*, 2000).
- **La colonisation** De plus, la présence d'un micro-organisme dans un prélèvement périphérique en l'absence de signes cliniques ou biologiques.

2) CRP

Au total la CRP a pu être dosée chez 272 enfants. Elle était > 20mg/L chez 58 enfants.

a. Infections certaines

Parmi les 254 hémocultures réalisées, 86 étaient négatives et 168 étaient positives. Parmi ces 168 hémocultures positives, 92 (28,2%) l'étaient avec des bactéries considérées comme étant des contaminations : 39 étaient des staphylocoques à coagulase négative (SCN), 7 des corynebactéries, 8 des *Bacillus* sp, 4 des *Micrococcus*, 1 *Branhamella*, 7 des Streptocoques sp. Les 26 autres hémocultures étaient soit contaminées avec plusieurs bactéries, soit les résultats n'ont pu être exploités.

Les 76 hémocultures étaient positives avec une bactérie potentiellement responsable d'infection néonatale. A partir de ces 76 hémocultures, 99 bactéries ont été isolées. En effet,

certaines hémocultures étant positives avec 2 germes. Les bactéries se répartissaient de la façon suivante (Figure 12) :

- 51/96 bactéries isolées (51%) étaient des entérobactéries. Parmi ces 51 souches, 28/51 (54,9%) étaient des *Enterobacter cloacae*, 14/51 (27,5%) des *Klebsiella pneumoniae*, 7/51 (13,7%) des *Escherichia coli* et 2/51 (3,9%) des *Proteus mirabilis* (Figure 13).
- 33/96 (33%) étaient des cocci à Gram positif : 12 *Enterococcus faecalis*, 1 *Enterococcus faecium*, 9 streptocoques du groupe B, 1 streptocoque du groupe G, 5 *Staphylococcus aureus* et 5 *Streptococcus anginosus*
- 9/102 (9%) *Acinetobacter* sp
- 5/102 (5%) autres bacilles à Gram négatif dont 3 *Haemophilus influenzae*, 1 *Pseudomonas* sp et 1 *Pasteurella multocida*
- 1 *Bacillus cereus*
- 1 *Candida albicans*

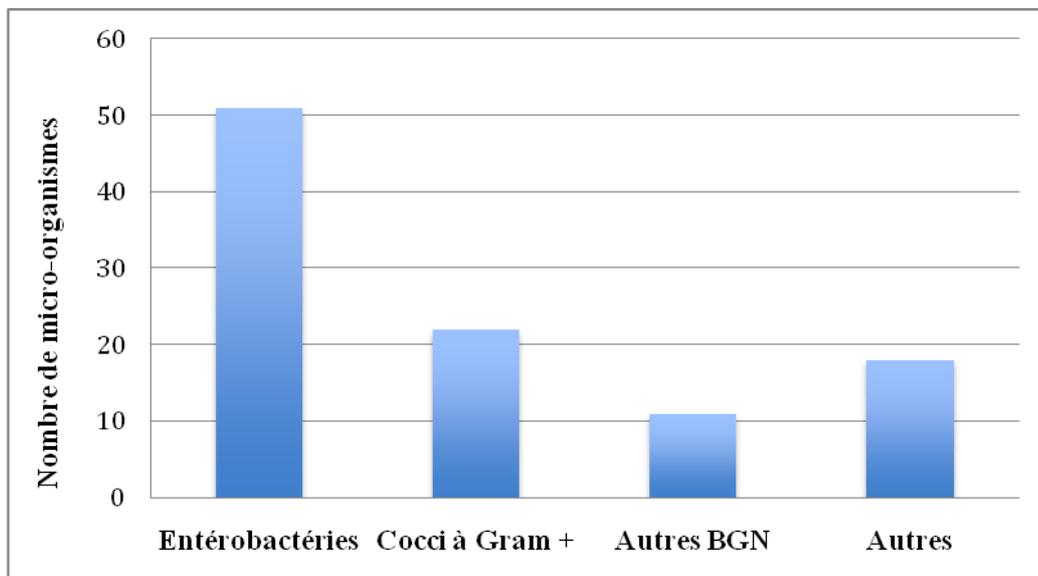


Figure 12 : Répartition des bactéries

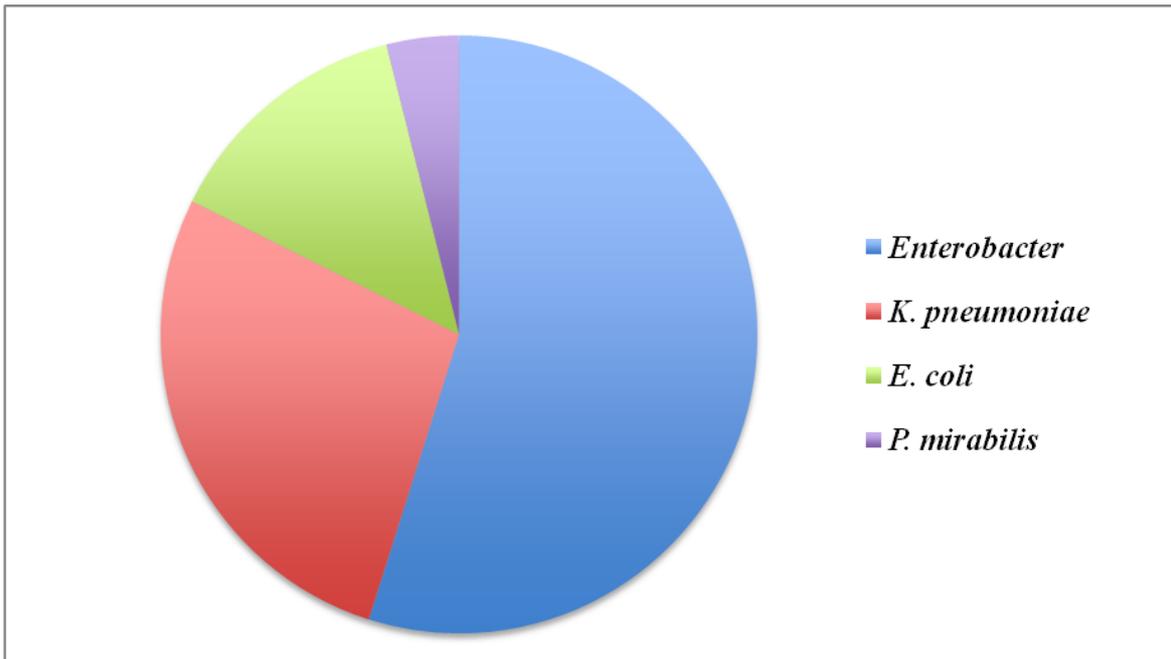


Figure 13 : Répartition des entérobactéries

Parmi les 76 hémocultures positives, 16 étaient positives à deux bactéries : il s'agissait de l'association *Enterobacter cloacae* et *Klebsiella pneumoniae* dans six cas, l'association *Enterobacter faecalis* et une autre bactérie (1 *A. baumannii*, 3 *E. coli*, 1 *S. aureus*, 1 SGB, 1 *E. cloacae*) dans 7 cas, l'association *A. baumannii* et 1 streptocoque sp. dans un cas, SGB et *Streptococcus mitis*, l'association SGB et *Branhamella* dans un cas.

Chez ces 76 NN, un dosage de la CRP a été réalisé 70 NN avec une hémoculture positive. Parmi ces 70 NN, 29(41,4%) avaient une CRP positive.

b. Infections probables

Une infection probable est définie par l'association d'une culture positive du liquide gastrique à une CRP augmentée malgré une hémoculture négative.

Au total, 24 NN étaient considérés comme présentant une infection probable. Leur CRP était donc positive dans tous les cas. Les bactéries retrouvées dans les liquides gastriques étaient principalement des bacilles à Gram négatif (Figure 14). Il s'agissait de

- 12 *E.coli* dont 6 de phénotype sauvage et 6 porteurs de β -lactamases de type TEM (prélevés à J0)
- 6 *E.cloacae* dont 4 porteurs de BLSE (prélevés à J1) et 2 de phénotype sauvage

- 1 *K. pneumoniae* porteuse de BLSE
- 4 SGB (associés à *E. faecalis* dans 2 cas)
- 1 *Staphylococcus aureus* associé à un *E. faecalis*.

c. Colonisation

La colonisation est définie par la positivité de la culture du liquide gastrique associée à la négativité à la fois de l'hémoculture et de la CRP.

Au total, 28 NN seulement étaient colonisés. Les

- 16 *E.coli* (57,1%) dont 9 étaient porteurs de résistance de type TEM
- 4 *E. cloacae* dont 1 porteur de BLSE
- 3 *K. pneumoniae* porteuses de BLSE (2 NN prélevés à J0 et un à J1)
- 1 Streptocoque du groupe B
- 1 *Morganella morganii*
- 1 *Acinetobacter sp*
- 2 Candida

De la même façon que précédemment, les entérobactéries étaient majoritairement présentes dans ces prélèvements (84,9%) et en particulier les *E. coli* qui représentaient 57,1% des bactéries isolées.

Par définition, la CRP était négative

d. Infection possible non identifiée

Chez 21 NN, la CRP était supérieure 20mg/ L, alors qu'aucune bactérie n'était isolée ni du liquide gastrique, ni de l'hémoculture. Parmi ces enfants, 4 sont décédés, dont un d'un syndrome hémorragique.

3. Epidémiologie comparative entre les deux hôpitaux

L'épidémiologie des deux hôpitaux a été comparée. Au total, parmi les 282 liquides gastriques, 143 provenaient d'enfants nés à l'hôpital de Befelatanana et 139 à l'hôpital de Soavinandriana. De la même façon, parmi les 234 hémocultures réalisées, 135 hémocultures

provenaient d'enfants nés à l'hôpital de Befelatanana et 99 de l'hôpital de Soavinandriana. De nombreuses différences étaient observées entre les deux hôpitaux (Tableau 3).

A Befelatanana, 62/165 NN inclus ont présenté une infection néonatale bactérienne certaine (hémoculture positive). Parmi les bactéries isolées, les bacilles à Gram négatif, et plus précisément les entérobactéries étaient majoritaires (70%) se répartissant de la façon suivante: 27 étaient des *E.cloacae* et tous étaient porteuses de BLSE (31,1%), 13 étaient des *K. pneumoniae* dont 7 étaient porteuses de BLSE, 4 *E.coli*. Les autres bactéries à Gram négatif représentaient 12,1% des isolats : *Acinetobacter baumannii* (6,8%), *Haemophilus influenzae* (4,1%), *Pseudomonas* sp (1,4%). Seulement 20,3% des isolats étaient des cocci à Gram positif : *Enterococcus faecalis* (8,1%), *Streptococcus anginosus* (6,8%), SGB (2,7%), *S. aureus* (1,4%) et 1 Streptocoques du groupe C (1,4%). Quatre hémocultures étaient positives à 2 germes : *E. cloacae* et *K. pneumoniae*. Alors que dans les hémocultures, *E. cloacae* et *K. pneumoniae* étaient prédominants, dans les prélèvements gastriques c'est *E. coli* qui était la première bactérie isolée (38,5%).

En raison du grand nombre d'infections, l'instauration assez large de l'antibiothérapie à H1, H12, J1 et J2 chez les NN, bien plus forte à Befelatanana qu'à Soavinandriana, semble jouer un rôle important. A H1, 71,2% des NN avaient reçu une antibiothérapie probabiliste après la réalisation de l'hémoculture. A J1 et J2, respectivement 70,1% et 69,5% des NN avaient reçu une antibiothérapie.

A Soavinandriana, le faible nombre d'hémocultures positives (26,6%) suggère que la suspicion d'infections néonatales dans cet hôpital est moins fréquente. Le diagnostic d'infection néonatale bactérienne était confirmé dans 25 cas, soit près de 2,5 fois moins qu'à l'hôpital de Befelatanana. La distribution des bactéries identifiées suit la même logique que dans l'autre hôpital mais à de moindres proportions. Parmi les hémocultures, les germes les plus fréquemment rencontrés étaient des bacilles à Gram négatif (32,1%) avec une prédominance d'*E.coli* (10,7%) et des cocci à Gram positif (25%) avec en tête *S.aureus* (10,7%). *E.cloacae* et *K.pneumoniae*, entérobactéries majoritairement présentes à l'hôpital de Befelatanana, étaient présents seulement dans 1 hémoculture positive à ces 2 germes. L'antibiothérapie a été instaurée chez 24,4% des NN à H1, 9,3% à H12, 10,8% à J1 et 7,2% à J2.

De plus, 76/307 (25%) mères ont reçu une antibiothérapie en *per partum* : 11/166 (6,6%) à Befelatanana et 65/141(46%) à Soavinandriana. Seuls 3/76 (3,9%) NN sont décédés alors qu'une antibiothérapie *per partum* avait été instaurée chez la mère alors que 44/226 (19,5%) NN sont décédés en l'absence d'antibiothérapie *per partum* (p=0,03).

	Befelatanana n = 164	Soavinandriana N = 139	p
Hémocultures	4 <i>E.coli</i> 6 Enterocoques 1 <i>Pseudomonas</i> sp 3 SGB de sérotype Ia, II, V 1 Streptocoques du groupe C 1 <i>Staphylococcus aureus</i> 5 <i>Streptococcus anginosus</i> 3 <i>Haemophilus</i> 23 <i>E. cloacae</i> (23 BLSE) 9 <i>K. pneumoniae</i> (7 BLSE) 4 <i>E. cloacae</i> + <i>K.pneumoniae</i> 5 <i>Acinetobacter baumannii</i> 64/135 = 47,4%	3 <i>E. coli</i> 2 Enterocoques 2 <i>Proteus mirabilis</i> 2 SBG de sérotype Ia, II 1 Pasteurelle 3 <i>Staphylococcus aureus</i> 1 <i>E.cloacae</i> + <i>K.pneumoniae</i> 1 <i>Acinetobacter baumannii</i> 15/99 = 15,1%	
Décès	41/164 = 25%	6/139 = 4,3%	<0.01
Antibiothérapie <i>per partum</i>	6/164 = 3,8%	71/139 = 51,1%	<0.01
Liquide gastrique	15 <i>E.coli</i> (3K1) 7 <i>E.cloacae</i> (6 BLSE) 4 <i>K.pneumoniae</i> (BLSE) 2 SGB de sérotype Ia, II 1 <i>Haemophilus</i> 29/143 = 20,3%	16 <i>E.coli</i> (2K1) 4 <i>E.cloacae</i> (1 BLSE) 2 <i>K.pneumoniae</i> (1 BLSE) 2 SGB de sérotype Ia, II 24/139 = 17,3%	

Tableau 3: Epidémiologie dans les différents les hôpitaux

4. Mortalité

a. Mortalité globale

Parmi les nouveau-nés inclus dans l'étude, 47 sont décédés, soit un taux de mortalité globale de 15,5% : 18,0% de sexe masculin et 12,2% de sexe féminin, soit un sex-ratio de 1.5.

b. Mortalité liée aux infections néonatales,

Parmi les 47 NN décédés, l'infection néonatale bactérienne était responsable du décès dans 25 cas, soit un taux de mortalité lié aux infections néonatales (INN) de 53.2% (Tableau 4). Toutefois, ce taux de mortalité était inégalement réparti puisque 24/25 (96%) enfants étaient hospitalisés à l'hôpital de Befelatanana et seulement un à l'hôpital de Soavinandriana.

A Befelatanana, parmi les 41 décès recensés, 24 soit 58,5% des NN sont décédés d'une infection néonatale bactérienne. En effet, 20 enfants ont présenté une IN certaine (hémocultures positives) et 4 une IN possible (culture du liquide gastrique positif et CRP augmentée). Par ordre de fréquence, les bactéries retrouvées dans les hémocultures 8 souches de *E. cloacae*, 4 souches de *K.pneumoniae*, et 2 souches de *Haemophilus influenzae* (10%). Les souches d'*E.cloacae* et de *K.pneumoniae* étaient des productrices de BLSE dans 100% des cas. Quatre hémocultures étaient positives à 2 germes : 2 d'entre elles à *E. cloacae* et *K.pneumoniae* productrices de BLSE et 2 hémocultures positives à *E. coli* et à un *E. faecalis*. Ainsi, 70% des NN décédés avaient une hémoculture positive à BLSE et le décès avaient eu lieu entre le 1^{er} et le 5^{ème} jour de vie. Parmi les 4 NN décédés d'infection probable, la culture du liquide gastrique était positive dans 2 cas avec un *E.coli*, dans un cas avec 1 de *K. pneumoniae* productrice de BLSE et 1 de *E.cloacae* de phénotype sauvage.

A Soavinandriana, seul 1 décès était relié à une IN probable. Le liquide gastrique était positif à *E. coli* et SGB.

	Befelatanana N = 41	Soavinandriana N = 6
Décès dus à des INN	24/41 = 58,5%	1/6 = 16.7%
Hémocultures positives	8 <i>E. cloacae</i> BLSE 4 <i>K. pneumoniae</i> BLSE 2 <i>E. cloacae</i> + <i>K. pneumoniae</i> BLSE 1 <i>Acinetobacter baumannii</i> 2 <i>H. influenzae</i> 2 <i>E.coli</i> + Entérocoques 1 <i>S. anginosus</i> n = 20 (50%) 83,3%	0
Liquide gastrique positif	2 <i>E.coli</i> 1 <i>K. pneumoniae</i> BLSE 1 <i>E. cloacae</i> sauvage N = 4 (CRP élevée) 16,7%	<i>E. coli</i> + SGB (CRP NF) n = 1

Tableau 4 : Répartition des bactéries responsables des décès associés à des INN selon les différents hôpitaux

5. Profil de résistance des bactéries isolées dans les deux hôpitaux

a. Phénotype de résistance des souches isolées

- Un taux élevé de bacilles à Gram négatif (65,7%) tels que *E.coli*, *E.cloacae*, *K.pneumoniae*, *Acinetobacter* ou encore *Pseudomonas* était retrouvé dans notre étude.

Les antibiogrammes pratiqués ont montré que les antibiotiques utilisés en première intention dans les suspicions d'IN tels l'ampicilline, le céfotaxime et la gentamicine étaient le plus souvent souvent inefficaces (Figure 14). A l'hôpital Befelatanana, 49/62 (79%) souches présentaient des résistances à l'ampicilline, 45/62 (72,5%) au cefotaxime et 41/62 (66%) à la gentamicine. Notre panel de souches dans cet hôpital est donc caractérisé par une homogénéité des profils de résistance avec plus de 66% de souches résistantes à au moins deux classes d'antibiotiques. Par ailleurs, à Soavinandriana, 5/14 (35,7%) des souches

présentaient des résistances à l'ampicilline, 3/14 (21,4%) au céfotaxime et 2/14 (14,3%) à la gentamicine. Le traitement probabiliste classique des IN associant ampicilline, céfotaxime n'est plus adapté dans ces deux hôpitaux.

	Befelatanana	Soavindrianana
Ampicilline	49/62 (79%)	5/14 (35.7%)
Céfotaxime	45/62 (72.5%)	3/14 (21.4%)
Gentamicine	41/62 (66%)	2/14 (14.3%)

Figure 15 : Résistance des souches aux antibiotiques utilisés

- Parmi les 51 souches d'entérobactéries isolées à partir d'infections néonatales bactériennes chez le NN (hémoculture, liquide gastrique), la majorité des bacilles à Gram négatif isolés à l'hémoculture étaient des souches productrices de BLSE. Leur sensibilité et résistance aux antibiotiques montre que :

- 28/28 (100%) souches de *E. cloacae* étaient porteuses de BLSE. Elles étaient porteuses de deux mécanismes de résistance aux β-lactamines, TEM et CTX-M15. Ces souches étaient isolées d'hémocultures prélevées à J0 pour 12 (42,9%) d'entre elles, à J1 pour 13 (46,4%), à J7 pour une hémoculture. Pour deux hémocultures, aucune date n'était précisée.
- 12/14 (85,7%) souches de *K. pneumoniae* étaient également porteuses de BLSE. Elles étaient porteuses de deux ou trois mécanismes de résistance aux β-lactamines, TEM et CTX-M15 et SHV. Deux souches étaient donc de phénotype sauvage. Au total, sur les 14 hémocultures, 5 ont été prélevées à J0, 7 à J1, une à J2 et une à J6.
- Seule 1 souche de *E.coli* était de phénotype sauvage et 6/7 des souches présentaient un phénotype de résistance de type TEM.
- 2 *Acinetobacter baumannii* étaient toto-résistantes 'un dans chaque hôpital.

L'antibiothérapie reçue dans les 3 derniers mois de grossesse à une grande influence sur la présence ou non de BLSE chez le nouveau-né. En effet seul 1/35 (2,8%) enfant dont la mère a reçu des ATB est porteur de bactéries à BLSE alors que 19/176 (10,8%) nouveau-nés dont la mère n'a pas reçu d'ATB sont porteurs de bactéries à BLSE ($p=0.01$).

b. Typage des souches bactériennes par la méthode Diversilab®

Devant une telle prédominance de *E.cloacae* et *K.pneumoniae* porteuses de BLSE, nous avons rechercher une éventuelle clonalité entre les différentes souches isolées.

En effet, la majorité des souches de *E. cloacae* et *K. pneumoniae* productrices de BLSE étaient isolés à l'hôpital de Befelatanana. La recherche d'une éventuelle transmission croisée s'imposait. Les souches de *E. cloacae* et *K. pneumoniae* productrices de BLSE de l'hôpital de Soavinandriana étaient incluses et utilisées comme témoin afin de préciser si ces souches étaient spécifiques de l'hôpital de Befelatanana ou si il s'agissait de souches qui circulent dans la communauté malgache.

Nous avons utilisé la méthode Diversilab® en raison de ses performances déjà décrites pour ces bactéries.

Nous avons choisi un seuil de similarité de 95% comme recommandé par le fabricant pour classifier les isolats comme indistinguables. Les isolats étaient considérés différents lorsqu'ils présentaient un index de similarité $< 95\%$ et plus de 2 bandes de différences, similaires lorsqu'ils présentaient un index de similarité $>95\%$ et une bande de différence et non distincts lorsqu'ils présentaient un index de similarité $> 95\%$ et aucune bande de différence. Les différences d'intensité globale (sur l'ensemble des pics) entre 2 tracés n'étaient pas prises en compte car elles indiquaient des différences de concentration et/ou d'amplification des échantillons lors de la PCR (inhibition non spécifique) et non des différences génétiques, pour peu que le nombre, la distance de migration et la proportionnalité des pics fussent respectées.

Au total, 30 souches ont été étudiées:

- 20 souches de *E.cloacae*, BLSE et sensibles aux fluoroquinolones
- 10 souches de *E.cloacae*, BLSE et résistants aux aux fluoroquinolones
- 16 souches de *K. pneumoniae* résistants aux fluoroquinolones

Les dendrogrammes obtenus à partir de l'analyse de différentes souches de *E. cloacae* et *K. pneumoniae* que nous venons de décrire sont présentés en annexe 5 et 6. Dans les paragraphes qui suivent nous désignerons par le terme « Profils (P) » les groupements de souches (1 ou plusieurs) opérées par le Diversilab[®] lors de l'analyse des profils.

A partir de l'arbre phylogénétique, ont été individualisée 10 profils (nommés de P1 à P10) différents sur la base de similarité de 95% de *K. pneumoniae* résistants aux fluoroquinolones, et 7 profils (nommés de P1 à P7) différents de *E. cloacae*. Il existe deux clones de *E. cloacae* dans l'étude, 1 sensible aux fluoroquinolones et 1 résistant.

➤ Description du dendrogramme des souches de *K.pneumoniae*

Les 10 différents profils de *K.pneumoniae* identifiés sur la base de l'indice de similarité de 98% sont mis en évidence par le dendrogramme de l'annexe 5. Certains profils correspondent à plusieurs souches, d'autres à une seule.

Le dendrogramme obtenu se divise en 3 branches principales B1, B2 et B3 dont le pourcentage de similarité entre elles est inférieur à 75%. Les images virtuelles des gels illustrent cette différence : le nombre et l'intensité des bandes sont différentes.

- a) La branche supérieure B1 constituée des souches 1 à 4, se divise en 3 profils :
- **Les profils 1 et 2** sont constitués chacun d'une seule souche correspondent respectivement aux souches KP 290, BLSE et KP 249 de phénotype sauvage.
 - **Le profil 3** contient 2 souches de profils similaires (même nombre et même intensité de bandes) provenant de l'hôpital de Soavinandriana. Elles sont considérées comme des témoins de l'étude. Parmi ces 2 souches, l'une était isolée d'hémoculture et l'autre d'un liquide gastrique. Ce profil possède une bande supplémentaire dans la zone des hauts poids moléculaires par rapport aux souches des profils 1 et 2.
- b) La branche médiane B2 (5 à 11) se divise en 6 profils :
- **Les profils 4, 5, 7, 8 et 9** ne sont constitués chacun que d'une souche. Toutes étaient isolées d'hémocultures sauf la souche KP 100 du profil 8 qui était isolée d'un liquide gastrique. Ces profils possèdent une bande supplémentaire dans la zone de poids moléculaires intermédiaires.

- **Le profil 6** contient les souches 2 souches isolées d'hémocultures à l'hôpital de Befelatanana
- c) La branche inférieure B3 ne contient qu'une seule souche, KP 298, et constitue le **profil 10**. Elle se distingue des autres profils par l'absence des certaines bandes dans la zone de faibles et hauts poids moléculaires.

➤ Description du dendogramme des souches de *E.cloacae*

L'étude effectuée par la méthode "Diversilab[®]" a permis de classer les souches de *E. cloacae* en 7 profils sur la base d'un seuil de similarité inférieur à 90%.

Le dendogramme obtenu (annexe 6) se divise en 2 branches B1 et B2 dont le pourcentage de similarité entre elles est inférieur à 60%.

- a) La branche supérieure B1 regroupe les profils P1 à P6. Ils comprennent 18 souches :
- **Le profil 1** contient 11 souches (1 à 11) de profils similaires de même nombre et intensité de bandes) parmi lesquelles 5 étaient sensibles aux fluoroquinolones et 6 (54,4%) résistantes aux fluoroquinolones. La plupart des souches de ce profil étaient isolées dans des hémocultures sauf la E 157 isolée dans un liquide gastrique.
 - **Le profil 2** contient 1 souche de phénotype sauvage isolée dans un liquide gastrique à l'hôpital de Befelatanana. Le profil de cette souche est caractérisé par l'absence d'une bande dans la zone des hauts poids moléculaires par rapport au profil 1.
 - **Le profil 3** contient les souches 13 et 14 similaires entre elles mais possédant deux bandes supplémentaires dans la zone des bas poids moléculaires. Parmi ces souches d'*E. cloacae* productrices de BLSE, 1 est résistante aux fluoroquinolones et 1 est sensible.
 - **Le profil 4** contient 2 souches sensibles aux fluoroquinolones. Ce profil se distingue des autres profils par la présence de deux bandes très proches l'une de l'autre entre les zones de hauts et bas poids moléculaires.

- **Le profil 5** contient la souche 17 appartenant au clone E 180 constitué d'intensités plus marquées au niveau des bandes de hauts poids moléculaires.
 - **Le profil 6** contient la souche individualisée 18 provenant de l'hôpital de Soavinandriana et qui correspond au clone témoin.
- b) La branche inférieure B2 met en évidence **le profil 7** qui contient 11 souches (19 à 29) toutes sensibles aux fluoroquinolones. Le profil de ces souches est caractérisée par la présence de toutes les bandes des autres profils.

➤ Variation des profils en fonction du temps

L'étude de la répartition des profils des souches de *K. pneumoniae* et *E. cloacae* de l'hôpital de Befelatanana nous a permis de mettre en évidence l'existence d'une transmission croisée entre les enfants (souches reliées) mais aussi la présence d'autres souches non reliées entre elles.

Les résultats du typage des souches de *K.pneumoniae* montrent une hétérogénéité des différents profils des clones en fonction du temps. D'avril 2010 à mars 2011, seuls les profils 1 et 4 des souches de *K.pneumoniae* ont été retrouvés à deux moments de l'année : en avril 2010 et février 2011 pour le profil 1 et en mai 2010 et février 2011 pour le profil 4. Par conséquent, ces bactéries restent présentes dans l'environnement hospitalier. Cependant, un même nouveau-né, hospitalisé à l'hôpital de Soavandriana, possède deux clones différents de *K. pneumoniae* de phénotype sauvage : une souche isolée de dans l'hémoculture appartenant au profil 3 et une souche retrouvée dans le liquide gastrique appartenant au profil 8.

Par ailleurs, les résultats du typage des souches de *E. cloacae* montrent une prédominance des profils 1 et 7. Le profil 7, constitué uniquement de souches sensibles aux fluoroquinolones, est retrouvé d'avril 2010 à septembre 2010 à l'hôpital de Befelatanana en en avril 2010 à Soavandrianana. Le profil 1 est retrouvé tout au long de l'année pour les souches résistantes aux fluoroquinolones et de décembre 2010 à février 2010 pour les souches sensibles aux fluoroquinolones.

Cette étude démontre donc une importante transmission croisée des souches de *E. cloacae* à l'hôpital de Befelatanana mais aussi vraisemblablement une circulation dans la communauté malgache puisque deux souches identiques étaient retrouvées dans deux hôpitaux différents.

	<i>E.cloacae</i>	<i>E.cloacae</i>	<i>K.pneumoniae</i>
	BLSE, FQS n = 20	BLSE, FQR n = 10	BLSE, FQR n = 16
avr-10	n = 5 P4 (2)*, B** P5 (1), B P7 (2), B et S****	n = 2 P1 (2), B	n = 3 P3 (2) , S P1 (1), B P 8 (1), S
mai-10	n = 2 P7 (2), B		n = 2 P2 (1), B P4 (1), B
juin-10	n= 1 P7 (1), B		
juil-10	n = 2 P1 (1), B P3 (1), B	n = 2 P1 (2), B	n = 1 P9 (1), B
août-10	n = 4 P7 (4), B	n = 2 P1 (2), B	n = 2 P5 (1), B P6 (1), B
sept-10	n = 2 P7 (2), B	n = 2 P1 (1), B P3 (1), B	
oct-10			n = 2 P6 (1), B P7 (1), B
déc-10	n = 1 P1 (1), B		
janv-11	n = 1 P1 (1), B		n=1 P 10 (1), B
févr-11	n = 2 P1 (2), B	n = 1 P1 (1), B	n = 3 P1 (1), B P4 (1), B P 11 (1), B

Tableau 5 : Répartition en fonction du temps des différents profils de *E. cloacae* et *K. pneumoniae*

*P 1.....7 : Profil obtenu (n) : Nombre de souches appartenant au même profil

**Souches provenant de l'hôpital de Befelatanana

*** Souches provenant de l'hôpital de Soavandriana

IV. Discussion

La méthode Diversilab® utilisée nous a permis d'identifier les différents clones de *E.cloacae* et *K. pneumoniae* circulants dans les deux hôpitaux et de mettre en évidence des transmissions croisées. Toutefois, la méthode présente deux écueils d'interprétation: la comparaison des profils et le choix du seuil de similarité. En ce qui concerne la comparaison des profils, il n'existe actuellement pas de consensus concernant les critères d'interprétations des profils de rep-PCR et seuls les critères du fournisseur (établis à partir d'études réalisées sur un petit nombre d'espèces : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Neisseria meningitidis*, *Enterococcus faecium*) sont à ce jour disponibles.

Les discordances d'un seul fragment entre deux profils étaient jugées suffisantes pour classer les souches en deux types distincts.

Afin d'étudier les profils de résistance des bactéries en cause et de mettre en évidence la clonalité des souches de l'hôpital de Befelatanana, la méthode Diversilab® a été utilisée pour typer les bactéries à Gram négatif, en particulier *E.cloacae* et *K.pneumoniae* dans cette étude.

En étudiant le dendogramme et le tracé électrophorétique des *K. pneumoniae*, on constate une grande hétérogénéité des profils. En effet, 11 profils différents ont été individualisés pour 16 souches. Le profil P1 a été retrouvé chez deux enfants en avril 2010 et en février 2011, le profil P4 en en mai 2010 et février 2011 (2 enfants) et le profil P6 en aout 2010 et octobre 2010 (2 enfants). Ceci n'est pas en faveur d'une transmission croisée entre les NN, mais plutôt d'une circulation des souches dans la communauté (personnel hospitalier y compris). Malheureusement, il n'a pas été possible des pratiquer des prélèvements vaginaux chez les mères. Il est donc impossible de trancher entre infection materno-fetale d'origine maternelle ou contamination de l'enfant dès la naissance lors des soins donnés aux NN par le personnel en charge de l'enfant. La positivité des hémocultures dès J0 évoque une contamination précoce et massive. A noter qu'un nouveau né était porteur d'une souche de *K. pneumoniae* BLSE différentes dans l'hémoculture et le liquide gastrique, mettant en évidence cette contamination massive. Ces souches productrices de BLSE circulent dans la communauté malgache et seraient responsables d'infections nosocomiales liées à une transmission croisée.

Les tracés électrophorétiques de *E.cloacae* confirment l'idée de la transmission croisée. La présence de deux profils prédominants présents tout au long de l'année met en évidence une circulation de ces souches dans l'hôpital. En effet, le profil P1 regroupant 12

souches a circulé d'avril 2010 chez les souches résistantes aux fluoroquinolones puis de décembre 2012 à février 2011 pour les souches sensibles. Le profil P7 regroupait 8 souches d'avril 2010 à Septembre 2010. Bien que ces données confirment l'idée d'une épidémie à l'hôpital de Befelatanana, on ne peut exclure une circulation dans la communauté puisqu'en avril 2010, deux souches de profil P7 étaient isolées l'une à Befelatanana, l'autre à l'hôpital de Soavandrianana.

Pour illustrer ces données, voici des résultats de deux études menées par l'Institut Pasteur de Madagascar et concernant la circulation des entérobactéries BLSE dans la communauté malgache. Dans une première étude, Andriatahina *et al.* retrouvaient 49 patients adultes sur 484 admis à l'hôpital, soit 10,1% porteurs d'entérobactéries à BLSE. IL s'agissait de 31 souches d'*E.coli* de phénotype CTX-M, 14 souches de *K. pneumoniae*, 3 souches d'*E. cloacae* et 3 souches de *Citrobacter freundii* (Andriatahina T *et al.*, 2010). Le facteur de risque principal de ce portage communautaire d'entérobactéries porteuses de BLSE était le faible statut économique des patients. La deuxième étude a été conduite chez les enfants admis dans le service de pédiatrie. Lors de leur admission, 21% des enfants étaient porteurs d'entérobactéries BLSE, essentiellement *E. coli* et *K.pneumoniae* (37%). Seuls 25% de ces enfants avaient été hospitalisés, ce qui signifie que les autres étaient porteurs asymptomatique d'entérobactéries BLSE dans la communauté. Ce taux important de portage asymptomatique dans la communauté favorise la propagation des gènes de résistance par la transmission d'homme à homme ou par la contamination de l'environnement. Les enfants étaient à nouveau été prélevés à leur sortie de l'hôpital. Parmi les 154 enfants reprélevés, 57% étaient porteurs d'entérobactéries BLSE avec une prédominance de *K. pneumoniae* (57%.), dont 62% avaient reçu une antibiothérapie pendant leur hospitalisation. De plus, 48% du personnel médical était aussi porteur d'entérobactéries BLSE. Des prélèvements d'environnement étaient positifs dans 22% des cas. Plusieurs hypothèses ont été soulevées pour expliquer ce phénomène : la promiscuité accentuée par l'effectif trop élevé des nouveau-nés malades, la longueur du séjour des nouveau-nés dans le service, l'absence d'isolement adéquat faute de moyen et le non respect des consignes d'hygiène pendant les actes médicaux ou les soins de l'enfant. A la lumière des ces études, on peut mieux comprendre, que la contamination de ces nouveau nés puisse être d'origine nosocomiale bien que l'origine maternelle ne pourra jamais être exclue en l'absence de prélèvements vaginaux.

Le but principal de ce travail était d'étudier la pertinence du traitement antibiotique de première intention habituellement recommandé lors d'une suspicion d'infection néonatale bactérienne (ampicilline, céftriaxone et gentamicine) en fonction de l'épidémiologie locale.

Toute réflexion sur le choix de l'antibiothérapie probabiliste en période néonatale nécessite de disposer de données solides concernant l'épidémiologie locale. Malheureusement, dans les pays en développement particulièrement en Afrique, très peu d'études épidémiologiques concernant les infections néonatales sont rapportées. De ce fait, l'incidence des infections bactériennes chez le nouveau-né est largement sous-estimée, l'écologie bactérienne est imprécise et le traitement antibiotique non adapté : ces pays ont tendance à s'inspirer et se reposer sur le traitement des pays industrialisés alors que le profil épidémiologique est différent, entraînant une forte mortalité. Des études épidémiologiques complémentaires sont souhaitables dans les pays en voie de développement afin de préciser les bactéries principalement responsables de ces infections néonatales, déterminer leur niveau de la résistance aux antibiotiques afin d'adapter l'antibiothérapie probabiliste à l'épidémiologie locale (Thaver D *et al.*, 2009).

Nous retrouvons un taux de mortalité très différent entre les deux hôpitaux variant de 4,3% à 25%. Le niveau socioéconomique très faible réduisant l'accès aux soins, les coutumes locales, l'insuffisance du budget alloué à la santé, le manque d'infrastructures sanitaires ou peu équipées et difficiles d'accès sont autant de facteurs qui alourdissent le bilan. A Antananarivo, tous ces facteurs entraînent une relativement forte proportion d'accouchements à domicile, une arrivée tardive en néonatalogie pour une prise en charge adéquate et une absence de suivi des grossesses (12,2% des grossesses à l'hôpital de Befelatanana). L'absence de couverture sociale ne permet le plus souvent pas d'effectuer des prélèvements biologiques. Devant la fréquence et la gravité des infections néonatales bactériennes d'un grand nombre de pays en voie de développement, qui restent préoccupantes, l'OMS a lancé un programme : « l'OMD 4 ». Ce programme a pour but la réduction de deux tiers du taux de mortalité des enfants de moins de cinq ans en 2015. Dans le monde, le taux de mortalité des enfants de moins de 5 ans a chuté de 159 pour mille naissances vivantes en 1990 à 62 pour mille naissances vivantes en 2010 et le taux de mortalité infantile des enfants de moins de 1 an est passé de 97 à 43 pour mille naissances vivantes entre 1990 et 2010 (UNICEF, 2010). En 2004, le taux de mortalité infantile à Madagascar était de 58%. Ces progrès enregistrés semblaient prometteurs mais malheureusement la crise sociopolitique dans laquelle le pays est plongé depuis la fin de l'année 2008 a brisé l'élan de progrès vers l'atteinte de l'OMD 4 et sérieusement compromis les efforts réalisés entre 2005 et 2008. Ainsi, la cible qui semblait

pourtant être à la portée du pays ne sera vraisemblablement pas atteinte en 2015 : le taux de mortalité devrait atteindre 31%.

Traditionnellement, l'infection néonatale se divise en deux catégories : les infections néonatales précoces qui surviennent dans les 72 premières heures de vie et souvent liée à une infection materno-fœtale ; et les infections néonatales tardives survenant après 3 jour de vie pouvant être liée à un autre mode de contamination. Les bactéries responsables de ces infections dans les pays développés sont le plus souvent : SGB, *E. coli* et *Listeria monocytogenes* (par ordre de fréquence) pour les infections précoces. SGB et *E. coli* sont aussi responsables d'infections tardives. Nous montrons dans cette étude, que l'épidémiologie des IN à Madagascar est différente.

En effet, dans cette étude, les bactéries responsables d'infection néonatale bactérienne certaines étaient dans une large majorité des cas des bacilles à Gram négatif (60,8%), essentiellement des entérobactéries (*Enterobacter cloacae* et *Klebsiella pneumoniae*), suivi des cocci à Gram positif (21,6%). Ces résultats contrastent avec les données occidentales mais sont en accord avec les travaux issus de la grande majorité des PED (Zaidi, Lancet, 2005

*StollB, Pediatrics, 2011, **Références à rajouter**).

A Antananarivo, on observe un profil étiologique bactérien différent selon les deux hôpitaux. A l'hôpital de Befelatanana, une prédominance de *E.cloacae* (31,1%) et de *K.peumoniaie* (12,1%) étaient retrouvée, suivi des entérocoques et une faible proportion de *E.coli*. A l'hôpital de Soavinandriana, *E. coli* et *S. aureus* étaient les bactéries les plus fréquemment retrouvés. Cette différence peut s'expliquer par la fréquentation de ces hôpitaux. En effet, l'hôpital de Befelatanana assure près de 7000 accouchements par an et accueille toute population confondue, alors que l'hôpital Soavinandriana est fréquenté majoritairement par des particuliers et des fonctionnaires et assure seulement 2000 accouchements par an. Les bactéries majoritairement retrouvées à Befelatanana sont des bactéries classiquement responsables d'infection nosocomiale. La faible incidence du SGB dans cette étude pourrait être expliquée en partie par la prescription d'antibiothérapie *per partum* (ampicilline le plus souvent), bien que plus faible à Befelatanana (3,7%) qu'à Soavinandriana (51,1%). De plus, les hémocultures et les prélèvements gastriques ne connaissent pas la même répartition de micro-organismes. En effet, *E. coli* est la bactérie la plus fréquemment retrouvée dans les prélèvements gastriques des nouveau-nés, alors que *E.cloacae* est le micro-organisme majoritairement retrouvé dans les hémocultures. Une des caractéristiques de cette étude est la multirésistance des *E. cloacae* et *K. pneumoniae* et leur production de BLSE. La majorité des

E. coli sécrétaient une pénicillinase de type TEM. Ils restaient donc sensibles aux céphalosporines de 3^{ème} génération.

Dans les PED, la charge élevée des infections bactériennes invasives chez les nouveau-nés et le diagnostic souvent difficile à établir imposent que la prise en charge et les lignes directrices de l'antibiothérapie soient efficaces et disponibles (Downie L *et al.*, 2013), et dépendent souvent d'algorithmes cliniques conduisant au traitement antibiotique empirique. Cela aboutit souvent à l'utilisation d'antibiotiques inutiles conduisant à l'émergence de résistance aux antibiotiques (Meem M *et al.*, 2011). Le choix de l'antibiothérapie probabiliste proposée dans le protocole, basé sur une bithérapie antibiotique inspirée des recommandations de l'OMS (OMS, 2004) était discutable. Devant le contexte anamnestique infectieux et/ou la présence des signes cliniques à l'admission, une antibiothérapie probabiliste associant Ampicilline (50 mg/kg toutes les 12 heures en IVL), ceftriaxone (50 mg/kg une fois par 24H) et gentamicine (4 à 5 mg/kg une fois par 24H) était instaurée précocement sans attendre les résultats des examens biologiques, afin de traiter une éventuelle infection néonatale bactérienne et d'éviter toute dissémination systémique. Ces traitements probabilistes ne sont pas adaptés à l'épidémiologie de Madagascar, mais ce sont malheureusement ceux qui sont disponibles à Madagascar. Le développement de nouveaux médicaments génériques dans les pays défavorisés pourrait permettre la mise en œuvre de traitements adaptés (imipénème par exemple). Néanmoins, cette proposition utilisant des antibiotiques à large spectre présente un risque plus élevé d'émergence de résistance par rapport à des antibiotiques de spectre plus étroits et doit être évalué par une surveillance épidémiologique. Des études complémentaires seraient donc souhaitables dans les hôpitaux de Madagascar. Une alternative à moindre coût et présentant l'avantage d'un spectre plus étroit serait de choisir : l'association d'une céphalosporine de première génération (C1G) à la gentamicine en cas d'examen direct du liquide gastrique négatif ou montrant un cocci à Gram positif, et l'association de ceftriaxone et gentamicine en présence d'un bacille à Gram négatif à l'examen direct du liquide gastrique. Les C1G sont très efficaces sur les staphylocoques dorés sensibles à la méticilline mais l'efficacité vis à vis des entérobactéries est moindre que celle des C3G et leur spectre ne couvre pas les *Enterobacter* sp.

Quel que soit la stratégie choisie, il est fondamental d'insister sur l'adaptation secondaire à l'antibiogramme. Malheureusement, cette adaptation est souvent mise à mal dans les pays défavorisés par l'indisponibilité de la technique de laboratoire ou le manque de formation du personnel.

Dans les pays à faible revenu, les études sur la prévalence des bacilles à Gram négatif porteurs de BLSE sont rares, tandis que le fardeau des infections liés à l'émergence de ces bactérie ne cesse de s'accroître en raison de l'utilisation excessive d'antibiotiques inutiles et/ou l'absence d'antibiotiques onéreux de seconde intention (Bloomberg B *et al.*, 2005). Les quelques études disponibles rapportent la fréquence des bactéries responsables d'infection mais ne précisent pas les profils de résistance. Ces données limitées ne permettent pas de conclusions définitives et indiquent l'urgente nécessité d'autres études sur la prévalence des bactéries à BLSE ainsi que la mise en place d'une surveillance des infections et des résistances aux antibiotiques dans les pays en développement (Thaver D *et al.*, 2009).

L'émergence significative des entérobactéries multirésistantes productrices de BLSE dans les hôpitaux malgaches soulève l'inquiétude de la multirésistance à Madagascar, et est associée à une prévalence très élevée d'entérobactéries résistantes aux aminopénicillines (Andrianarivelo AM *et al.*, 2010). Ceci pose une menace pour la santé, d'autant plus que la présence d'entérobactéries productrices de BLSE complique le choix des antibiotiques utilisés pour le traitement empiriques des infections néonatales communautaires. Les seuls antibiotiques efficaces pour ces souches, à savoir l'amikacine, la colistine et l'imipenème, ne sont pas disponibles à Madagascar.

Le mésusage des antibiotiques, explique la forte pression de sélection et l'émergence de bactéries résistantes.

Dans notre étude, un taux élevé de bacilles à Gram négatif (60,8%), *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae* et *E. coli* était retrouvé. Une épidémie de bactéries porteuses de BLSE a été mise en évidence dans l'hôpital de Befelatanana. Les souches d'*E.cloacae* isolées d'hémoculture étaient à 100% des productrices de BLSE et celles de *K. pneumoniae* étaient à 85,7% des productrices de BLSE. En 2007, l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM) retrouvait une fréquence de 9% de *Staphylococcus aureus* résistant à la Mécicilline (SARM) parmi 54 souches isolées (IPM, 2007). Nous n'avons pas isolé de SARM dans cette étude. Les streptocoques retrouvés dans notre étude représentaient 4,1% des bactéries isolés à partir des hémocultures.

Au total, cette étude met en évidence le fait que des mesures telles que la détection et la mise en isolement des personnes porteuses d'entérobactéries BLSE ne sont plus adaptées si un taux important de bactéries BLSE circule dans la communauté. Ainsi, une collaboration internationale est nécessaire pour aider les pays en voie de développement à répondre à la menace d'infection par des bactéries multirésistantes.

V. Conclusion

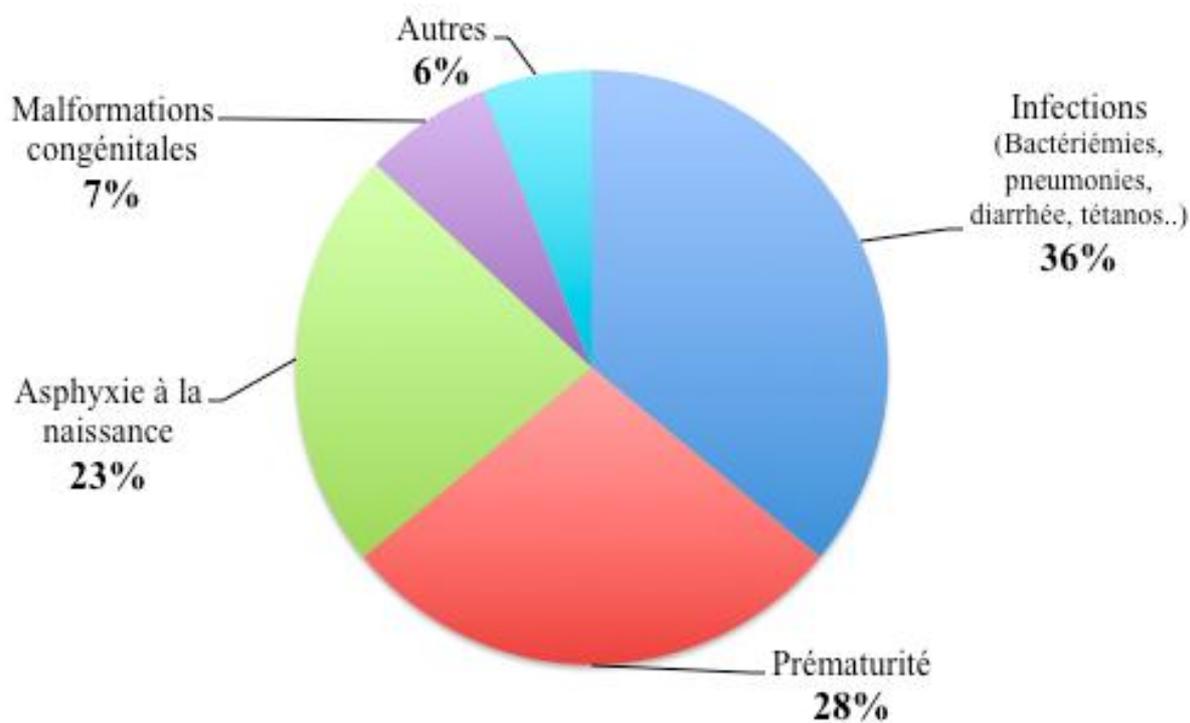
Les infections néonatales demeurent particulièrement fréquentes dans les pays en voie de développement. Leur mortalité est toujours élevée du fait du retard diagnostique, mais aussi du traitement antibiotique souvent inadapté à l'écologie bactérienne locale et aux profils de résistance en l'absence d'étude épidémiologique spécifique pour chaque pays. Chaque institution, chaque région et chaque pays doit définir sa propre épidémiologie et des priorités pour lutter contre ce problème dévastateur et la hausse résultante de la morbidité et la mortalité.

Cette étude a permis de mettre en évidence une épidémie d'entérobactéries porteuses de BLSE dans une maternité de la province d'Antananarivo à Madagascar. Les BGN isolés et responsables d'infection néonatales étaient porteurs de BLSE dans 95% des cas. Ce taux très élevé attire l'attention sur la fréquence des souches multirésistances bactériennes dans les pays en développement. Ces bactéries multirésistantes sont présentes partout, aussi bien à l'hôpital que dans la communauté malgache, et sont responsables d'infections nosocomiales liées à une transmission croisée. De plus, la détermination du moment de contamination des nouveau-nés aurait permis d'identifier s'il s'agissait d'une infection néonatale bactérienne ou d'une infection nosocomiale. Malheureusement, les prélèvements vaginaux n'ont pu être effectués chez la mère..

Une sonnette d'alarme doit être tirée en ce qui concerne le respect des règles d'utilisation des antibiotiques et la nécessité de mettre en place une surveillance épidémiologique des infections néonatales bactériennes et nosocomiales dans les hôpitaux de Madagascar. La diminution de la morbidité et mortalité de l'infection néonatale bactérienne et l'infection nosocomiale nécessite donc une approche multidisciplinaire réunissant obstétriciens, pédiatres, biologistes et épidémiologistes avec la participation de la communauté pour la mise en place de mesures de lutte ciblées et efficaces : amélioration des conditions de vie et de l'état sanitaire du pays, disponibilité de matériel (kits d'accouchement) à usage unique, formation du personnel, lavage des mains, éducation des patientes, intérêt du suivi rigoureux des femmes enceintes, politique de commercialisation et d'usage des antibiotiques. Ainsi, assurer l'utilisation rationnelle des antibiotiques et prévenir la propagation de l'antibiorésistance sont une préoccupation importante dans la mise en œuvre de stratégies de prise en charge des infections néonatales. Ces différentes stratégies ne sont pas directement transposables d'un pays à l'autre ou d'un service à l'autre ; leur efficacité est liée à leur adaptation aux spécificités locales.

ANNEXES

**Annexe 1 : Causes de décès néonataux dans le monde (reference à inclure Kidney, Plos
medecine 2010)**



Annexe 2 : Formulaire de consentement

FORMULAIRE DE CONSENTEMENT POUR UNE RECHERCHE AVEC BENEFICE INDIVIDUEL DIRECT

Formulaire de consentement pour les enfants mineurs

CONSENTEMENT DE PARTICIPATION

De M (nom, prénom) :

Titre de la recherche : Epidémiologie des Infections materno-foetales

Promoteur : Association JEREMI Rhône-Alpes

Coordinateur : Dr Josette Raymond

Investigateurs principaux : Pr Annick Robinson, Dr Domohina Rakotovao

Le Dr _____ m'a proposé de participer à une recherche coordonnée par le Laboratoire de Bactériologie de l'hôpital Cochin concernant l'étude de l'épidémiologie des infections materno-foetales bactériennes chez mon enfant.

Il m'a précisé que je suis libre d'accepter ou de refuser.

J'ai reçu et j'ai bien compris les informations suivantes :

Une étude est menée afin de mieux connaître les bactéries responsables d'infection materno-foetale à Madagascar. Les perspectives de cette étude sont de préciser la nature des bactéries les plus fréquemment en cause afin d'adapter au mieux le traitement antibiotique probabiliste. Cette étude consiste pour moi en un entretien médical et pour mon enfant un prélèvement de liquide gastrique et une prise de sang à la naissance, puis une hémoculture et une ponction lombaire avant de débiter les antibiotiques en cas de suspicion d'infection. Je sais que si une bactérie est isolée, le traitement antibiotique pourra être adapté en fonction de l'antibiogramme.

L'avis favorable du Comité d'éthique de _____

a été reçu le _____

Fait à _____, le _____

Nom de l'enfant :

Prénom de l'enfant :

Date de naissance de l'enfant :

Nom de l'investigateur ou du médecin qui

le représente :

Lieu d'exercice :

Adresse de la famille :

Signature des parents

Mère : _____ Père : _____

Signature du médecin :

NUMERO PATIENT

Situation à risque infectieux	OUI	NON
<i>Fièvre maternelle > 38°C en péri-partum</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>Prématurité < 35 S.A. ou poids de naissance < 2 kg</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>Liquide amniotique teinté ou méconial</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>Rupture des membranes > 18 h</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>Infection utérine maternelle</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>Apgar < 7 à 5 minutes</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>Travail > 12 heures</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>Tachycaride foetale ou anomalie du RCF</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>LA fétide ou en purée de pois</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>Réanimation prolongée</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>Prématurité inexplicite [35-37SA]</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>Infection urinaire maternelle</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

EXAMENS BIOLOGIQUES MATERNELS

ECBU Non fait : Négatif : Positif :

Nature de la bactérie :

Antibiogramme : Non Oui (joindre l'antibiogramme si possible)

RÉSULTATS DES SCORES D'INFECTION

(J0 = jour de l'accouchement)

SCORE n°1 évalué à H1

si heure différente de H1, préciser : H

Signes cliniques	Absent	Présent
	(Points)	(Points)
Température > 37,8°C	<input type="checkbox"/> (0)	<input type="checkbox"/> (2)
Geignements	<input type="checkbox"/> (0)	<input type="checkbox"/> (1)
Fréquence respiratoire > 50/minute	<input type="checkbox"/> (0)	<input type="checkbox"/> (1)
Cyanose en air ambiant	<input type="checkbox"/> (0)	<input type="checkbox"/> (1)
Fréquence cardiaque > 180/minute	<input type="checkbox"/> (0)	<input type="checkbox"/> (1)
Teint gris ou marbré	<input type="checkbox"/> (0)	<input type="checkbox"/> (1)
Éruption cutanée suspecte	<input type="checkbox"/> (0)	<input type="checkbox"/> (1)
Total des points		<input type="text"/> <input type="text"/>

NUMERO PATIENT

SCORE n°2 évalué à H12, J1 et J2
si heure différente de H1, préciser :

Signes cliniques	H12		J1		J2	
	Absent	Présent	Absent	Présent	Absent	Présent
Température >37,8°C	<input type="checkbox"/> (0)	<input type="checkbox"/> (2)	<input type="checkbox"/> (0)	<input type="checkbox"/> (2)	<input type="checkbox"/> (0)	<input type="checkbox"/> (2)
Geignements	<input type="checkbox"/> (0)	<input type="checkbox"/> (1)	<input type="checkbox"/> (0)	<input type="checkbox"/> (1)	<input type="checkbox"/> (0)	<input type="checkbox"/> (1)
Fréquence respiratoire >50/min	<input type="checkbox"/> (0)	<input type="checkbox"/> (1)	<input type="checkbox"/> (0)	<input type="checkbox"/> (1)	<input type="checkbox"/> (0)	<input type="checkbox"/> (1)
Cyanose en air ambiant	<input type="checkbox"/> (0)	<input type="checkbox"/> (1)	<input type="checkbox"/> (0)	<input type="checkbox"/> (1)	<input type="checkbox"/> (0)	<input type="checkbox"/> (1)
Teint gris ou marbré	<input type="checkbox"/> (0)	<input type="checkbox"/> (1)	<input type="checkbox"/> (0)	<input type="checkbox"/> (1)	<input type="checkbox"/> (0)	<input type="checkbox"/> (1)
Éruption cutanée suspecte	<input type="checkbox"/> (0)	<input type="checkbox"/> (1)	<input type="checkbox"/> (0)	<input type="checkbox"/> (1)	<input type="checkbox"/> (0)	<input type="checkbox"/> (1)
Hypotonie, mauvaise prise du sein	<input type="checkbox"/> (0)	<input type="checkbox"/> (1)	<input type="checkbox"/> (0)	<input type="checkbox"/> (1)	<input type="checkbox"/> (0)	<input type="checkbox"/> (1)
Ictère	<input type="checkbox"/> (0)	<input type="checkbox"/> (1)	<input type="checkbox"/> (0)	<input type="checkbox"/> (1)	<input type="checkbox"/> (0)	<input type="checkbox"/> (1)
Total des points	<input type="text"/> <input type="text"/>		<input type="text"/> <input type="text"/>		<input type="text"/> <input type="text"/>	

ANTIBIOTHÉRAPIE

Antibiotique	H1	H12	J1	J2
Fait	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Non fait	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Nom des produits, posologie par injection et nombre d'injections par jour :

Ampicilline : mg/injection fois/jour pendant jours

Ceftriaxone : mg/injection fois/jour pendant jours

Gentalline : mg/injection fois/jour pendant jours

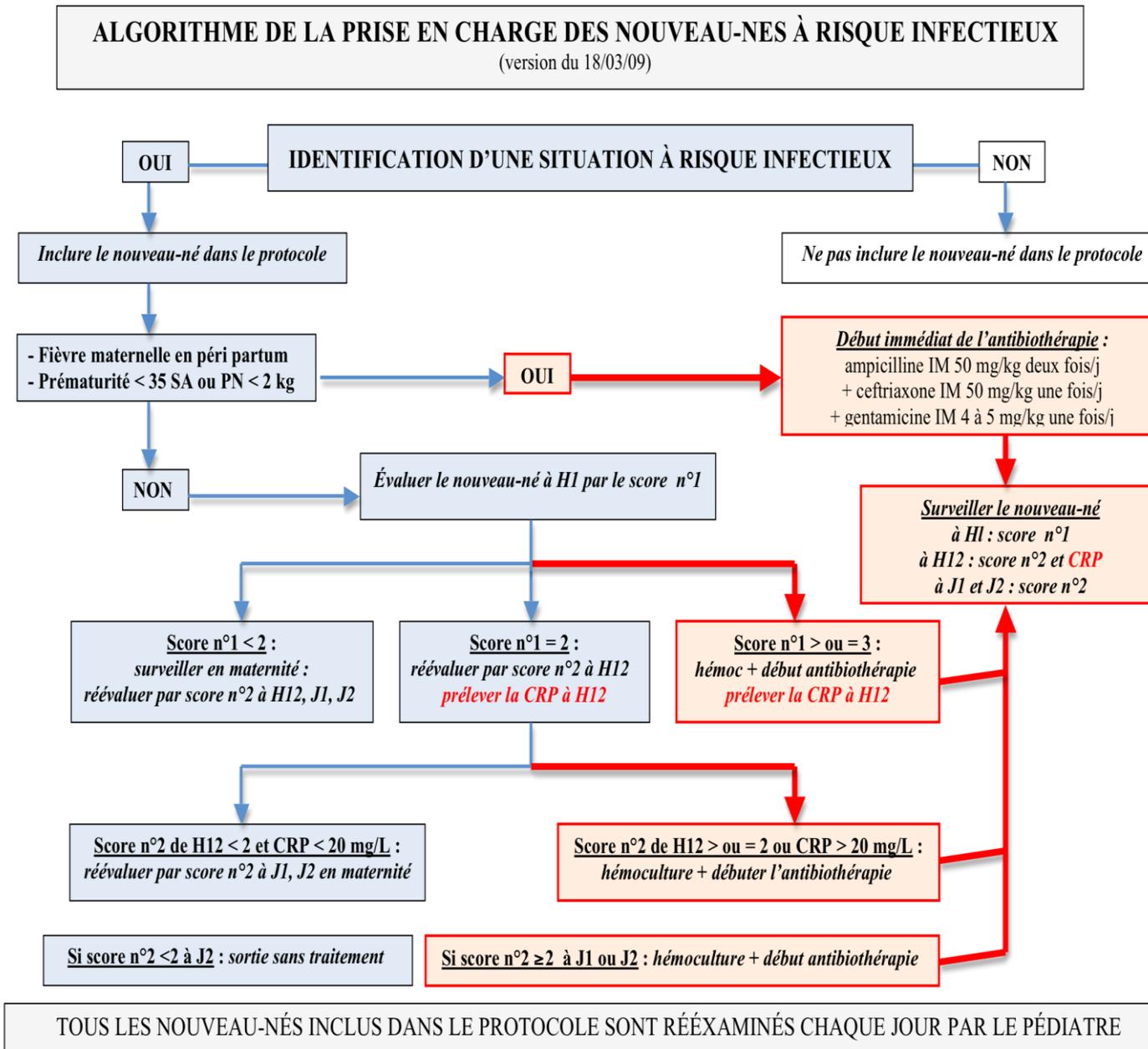
Autre : mg/injection fois/jour pendant jours

(Préciser)

Relais : Non Oui (préciser) : mg/injection fois/jour x jours

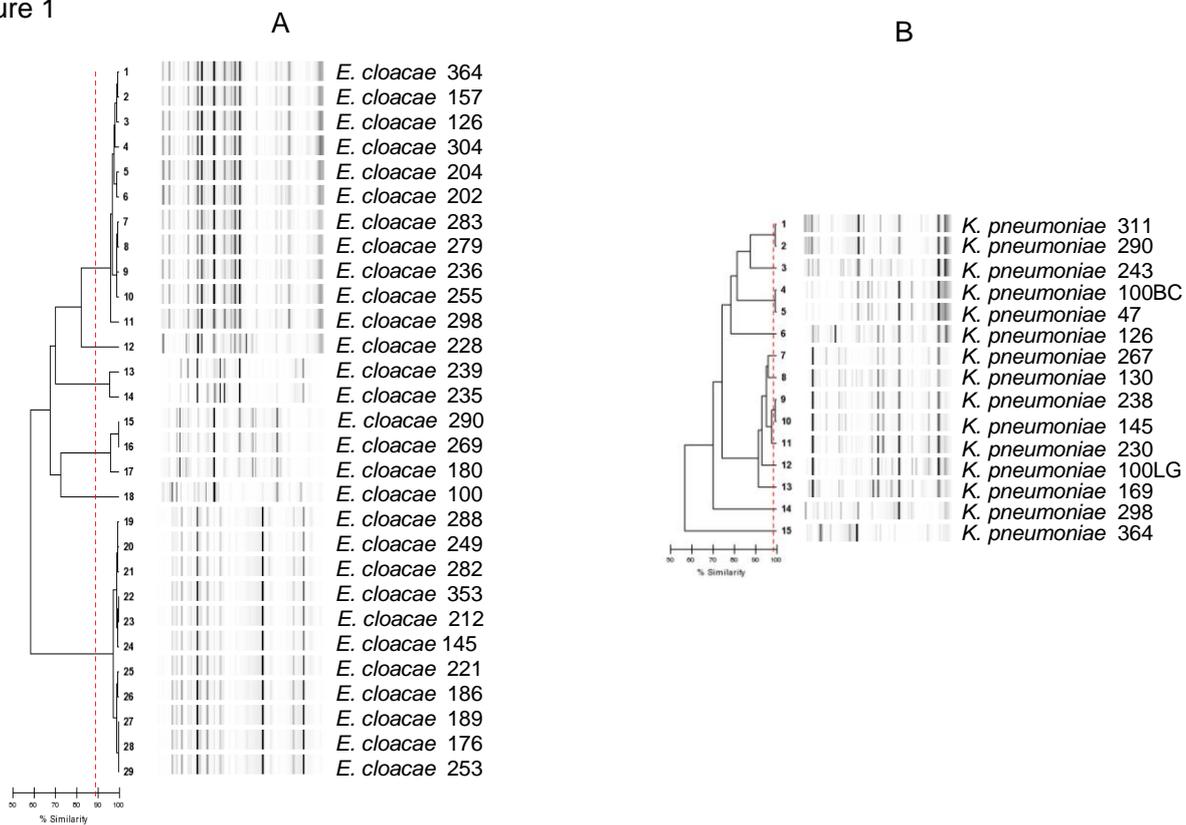
■■■■■ ■■■■■■■■■■

Annexe 4 : Algorithme de la prise en charge des nouveau-né à risque infectieux



Annexe 5 : Dendrogramme Diversilab® des souches de *K. pneumoniae*

Figure 1



Bibliographie

Adam T, Lim SS, Mehta S, *et al.*, **2005**. Cost effectiveness analysis of strategies for maternal and neonatal health in developing countries. *BMJ* 331: 1107

Agence Nationale d'Accréditation et d'Évaluation en Santé ANAES, **2001**. Prévention anténatale du risque infectieux bactérien néonatal précoce. Recommandation pour la pratique clinique. Paris

Agence Nationale d'Accréditation et d'Évaluation en Santé ANAES., **2002**. Recommandations pour la pratique clinique : diagnostique et traitement curatif de l'infection bactérienne précoce du nouveau-né.

ANAES, **2002**. Diagnostic et traitement curatif de l'infection bactérienne précoce du nouveau-né. Recommandations pour la pratique clinique. (<http://www.anaes.fr>)

Andrianarivelo AM, Rafaravavy NE *et al.*, **2010**. Profil bactériologique des infections néonatales à l'unité de réanimation néonatale de la Maternité de Befelatanana. *Revue d'anesthésie-réanimation et de médecine d'urgence* ; 2(2) ; 1-4.

Andriatahina T, Randrianirina F *et al.*, **2010**. High prevalence of fecal carriage of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* et *Klebsielle pneumoniae* in a pediatric unit in Madagascar. *BMC infectious diseases*, 10 : 204

Baltimore RS, **2003**. Neonatal Sepsis: epidemiology and Management. *Pediatric Drugs*, vol. 5, no. 11, pp. 723–740.

Bang A, Bang R, Baitule S, Deshmukh M, Reddy M., **2001**. Burden of morbidities and the unmet need for health care in rural neonates – a prospective observational study in Gadchiroli, India. *Indian Pediatrics*; 38:952–965.

Beck S, Wojdyla D, Say L, Betran AP, Merialdio M, Requejo JH, Rubens C, Menon R, Van Look PFA, **2010**. The worldwide incidence of preterm birth: a systematic review of maternal mortality and morbidity. *Bull World Health Organ*; 88:31–38.

Bhutta ZA, Zaidi AK, Thaver D, Humayun Q, Ali S, Darmstadt GL, **2009**. Management of newborn infections in primary care settings: A review of the evidence and implications for policy? *Pediatr Infect Dis J*; 28:S22–S30.

Black RE, Cousens S, Johnson HL, Lawn JE, Rudan I *et al.*, **2010**. Global, regional, and national causes of child mortality in 2008 : a systematic analysis. *Lancet* 375 :1969-1987.

Blomberg B, Jureen R, Manji KP, Tamim BS, Mwakagile DSM, Urassa WK, Fataki M, Msangi V, Tellevik MG, Maselle SY, Langeland N, **2005**. High rate of fatal cases of pediatric septicemia caused by gram-negative bacteria with extended-spectrum beta-lactamases in Dar es Salaam, Tanzania. *J Clin Microbiol* 43:745-749.

Bomela HN, Ballot DE, Cory BJ, and Cooper PA, **2000**. “Use of C-reactive protein to guide duration of empiric antibiotic therapy in suspected early neonatal sepsis,” *Pediatric Infectious Disease Journal*, vol. 19, no. 6, pp. 531–535, 2000.

Borghesi A, Tzialla C, Decembrino L, Manzoni P, Stronati M., **2011**. New possibilities of prevention of infection in the newborn. *The journal of maternal-fetal and neonatal medicine*; 24(S(2)) : 28-30

Bradford PA, **2001**. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *ClinMicrobiolRev*2001,14:933-51.

Bryce J, Boschi-Pinto C, Shibuya K, Black RE, **2005**. WHO estimates of the causes of death in children. *Lancet* 2005; 365(9465) :1147-52

Buck C, Bundschu J, Gallati H, Bartmann P, Pohlandt F, **1994**. Interleukin-6: a sensitive parameter for the early diagnosis of neonatal bacterial infection. *Pediatrics*; 93:54–58.

Communiqués CA-SFM 2012. www.sfm-microbiologie.org

Carretto, E, *et al.*, **2008**. Use of the DiversiLab semiautomated repetitive-sequence-based polymerase chain reaction for epidemiologic analysis on *Acinetobacter baumannii* isolates in different Italian hospitals. *Diagn. Micro- biol. Infect. Dis.* 60:1–7.

Carole C, Magny JF, Voyer M., **1999**. Antibiothérapie et infections materno-foetales. *MPT; Pédiatrie*; 2(1): 55-64

CDC and Prevention, **2002**. Prevention of perinatal group B streptococcal disease: revised guidelines from CDC *MMWR*; 51(RR-11): 1-22.

Chirico G, Loda C, **2011**. Laboratory aid to the diagnosis and therapy of infection in the neonate. *Pediatrics Reports*; volume 3:e1

Darmstadt GL, Bhutta ZA, Cousens S, *et al.*, **2005**. Evidence-based, cost-effective interventions : how many newborn babies can we save ? *Lancet* 365 :977-988.

Darmstadt GL, Zaidi AK *et al.*, **2009 (a)**. Oral antibiotics in the management of serious neonatal infections in developing country communities. *Pediatr Infect Dis J* 2009;28: S31–S36

Darmstadt GL, Batra M, Zaidi AK, **2009 (b)**. Parenteral antibiotics for the treatment of serious neonatal bacterial infections in developing countries. (*Pediatr Infect Dis J* 2009;28: S37–S42)

Deplano A., Denis O. *et al.*, **2011**. Controlled performance evaluation of the Diversilab repetitive-sequence-based genotyping system for typing multidrug-resistant health care-associated bacterial pathogens. Microbiology Laboratory, Hôpital Erasme—Université Libre de Bruxelles (ULB), Brussels, Belgium

Desinor OY, Silva JL, Menos MJ, **2004**. Neonatal sepsis and meningitis in Haiti. *J Trop Pediatr*; 50(1):48-50

Didrik SO, **2011**. Reducing global neonatal mortality is possible, S.Karger AG, Basel. Neonatology; 99 : 250-257.

Doléans-Jordheim, A., B. Cournoyer, E. Bergeron, J. Croizé, H. Salord, J. André, M. A. Mazoyer, F. N. Renaud, and J. Freney, **2009**. Reliability of *Pseudomonas aeruginosa* semi-automated rep-PCR genotyping in various epidemiological situations. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 28:1105–1111.

Downie L, Armiento R, Subhi R, Kelly J, Clifford V, Duke T, **2013**. Community-acquired neonatal and infant sepsis in developing countries: efficacy of WHO's currently recommended antibiotics—systematic review and meta-analysis. Arch Dis Child 2013;98:146–154. doi:10.1136/archdischild-2012-302033

Fluit A.C, Terlingen A.M, Abdiessen L., et al., 2010. Evaluation of the DiversiLab System for Detection of Hospital Outbreaks of Infections by Different Bacterial Species. Journal of clinical microbiology, p. 3979–398

Ganatra HA, Stoll BJ, Zaidi AK, **2010**. International perspective on early-onset neonatal sepsis. Clin Perinatol. 37(2):501-23. doi: 10.1016/j.clp.2010.02.004.

Gendrel D, Raymond J, Assicot M, Moulin F, Francoual C, Badoual J, Bohuon C, **1996**. Procalcitonin as a marker for the early diagnosis of neonatal infection. The journal of pediatrics.

Gilson GJ, Christensen F, Romero H, Bekes K, Silva L, Qualls CR, **2000**. Prevention of group B streptococcus early-onset neonatal sepsis: comparison of the Center for Disease Control and Prevention screening-based protocol to a risk-based protocol in infants at greater than 37 weeks' gestation. J Perinatol 2000;20:491-5.

Gordon A, Isaacs D, **2004**. Late-onset infection and the role of antibiotic prescribing policies. Curr Opin Infect Dis; 17(3):231-6.

Grisold, A. J., G. Zarfel, V. Strenger, G. Feierl, E. Leitner, L. Masoud, M. Hoenigl, R. B. Raggam, V. Dosch, and E. Marth, **2010**. Use of automated repetitive-sequence-based PCR for rapid laboratory confirmation of nosocomial outbreaks. *J. Infect.* 60:44–50.

Hengten V, Cohen R, **2012**. Antibioprophylaxie maternelle et infection à bacille Gram négatif chez le nouveau-né. Service de Pédiatrie, Centre hospitalier de Versailles. Elsevier Masson SAS.

Institut Pasteur de Madagascar (IPM), **2007**. Ministère de la Santé et du Planning Familial (MIN/SAN/P-F), coopération Française. Résistance bactérienne aux antibiotiques.

Institut National de la statistique, **2002**. Rapport principal de l'enquête auprès des ménages 2001.

Isaacs D, **2006**. Unnatural selection: reducing antibiotic resistance in neonatal units. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* ; 91(1) : F72-4

Kashima S, Suzuki E, Okayasu T, Jean Louis R, Eboshida A, *et al.*, **2012**. Association between Proximity to a Health Center and Early Childhood Mortality in Madagascar. *PLoS ONE* 7(6): e38370. doi:10.1371/journal.pone.0038370

Keller M, Felderhoff-Mueser U, Lagercrantz H, Dammann O, Marlow N, Hüppi P, Buonocore G, Poets C, Simbruner G, Guimaraes H, Mader S, Merialdi M, Saugstad OD, **2010**. Policy benchmarking report on neonatal health and social policies in 13 European countries. *Acta Paediatr*; 99:1624–1629.

Kerber KJ, de Graft-Johnson JE, Bhutta ZA, *et al.*, **2007**. Continuum of care for maternal, newborn, and child health: from slogan to service delivery. *Lancet* 370:1358-1369.

Klein JO, Remington JS, **2006**. Bacterial sepsis and meningitis, in *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant*. Eds., pp. 247–295, WB Saunders, Philadelphia, Pa, USA, 6th edition.

Lau, S. H. *et al.*, **2009**. Rapid identification of uropathogenic *Escherichia coli* of the O25:H4-ST131 clonal lineage using the DiversiLab repetitive sequence-based PCR system. *Clin. Microbiol. Infect.* 16:232–237.

Lawn JE, Cousens S, Zupan J, **2005**. 4 million neonatal deaths : When ? Where ? Why ? *lancet*; 36559462) :891-900

Lawn JE, Cousens S, Kerber K, Enweronu-Laryea C, **2010 (a)**. 3.6 Million Neonatal Deaths – What is progressing and what is not ? *Semin Perinatol* 34 :371-386 Elsevier

Lawn JE, Mwansa-Kambafwile J, Horta BL, *et al.*, **2010 (b)**. Kangaroo Mother Care to prevent neonatal deaths due to preterm birth complications. *Int J Epidemiol* i1-i10

Levy O, **2007**. Innate immunity of the newborn : basic mechanisms and clinical correlates. *Nat Rev Immunol* 7 :379-390

Lozano R., Wang H., Foreman KJ, Rajaratnam JK, Naghavi M., Marcus JR, Dwyer-Lindgren L., Lofgren KT, **2011**. Progress towards Millennium Development Goals 4 and 5 on maternal and child mortality: an updated systematic analysis. *Lancet*; 378: 1139–6

LRW Plano, **2010**. The changing spectrum of neonatal infectious disease. *Journal of perinatology*. 30 S16-S20 ; doi :10.1038/jp. 2010. 92

Meem M, Modak JK, Mortuza R, Morshed M *et al.*, **2011**. Biomarkers for diagnosis of neonatal infections: A systematic analysis of their potential as a point-of-care diagnostics. *Journal of global health*. Vol. 1 No. 2

Mirelis B, Navarro F, Miro E, Mesa RJ, Coll P, Prats G, **2003**. Community transmission of extended-spectrum beta-lactamase. *Emerg Infect Dis* 2003, 9:1024-1025.

Newton O, English M, **2007**. Young infant sepsis: aetiology, antibiotic susceptibility and clinical signs. *Trans Royal Soc Trop Med Hyg.* 101:959–966.

OMS, **2004**. Prise en charge des complications de la grossesse et de l'accouchement : guide destiné à la sage-femme et au médecin. IN : Département Santé et Recherche.

OMS, **2005**. Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale.

Orsin D, Vergnano S, Costello A, **2004**. Serious bacterial infections in newborn infants in developing countries. *Curr Opin Infect Dis*; 17(3) :217-24.

Ottolini MC, Lundgren K, Mirkinson L, Cason S, Ottolini MG, **2003**. Utility of complete blood count and blood culture screening to diagnose neonatal sepsis in the asymptomatic at risk newborn. *Pediatr Infect Dis J*; 22:430-4.

Perspectives économiques en Afrique. Madagascar **2012**. www.africaneconomicoutlook.org

Philip AGS, **1994**. The changing face of neonatal infection: experience at a Regional Medical Center. *Pediatr Infect Dis J*; 413: 1098-102

Pitout JDD, Laupland KB, **2008**. Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. *Lancet Infect Dis* 2008, 8:159-166.

Poncin X, Le Mentec R, **2009**. [Politiques d'Exemption pour les soins de santé à Madagascar : le cas des Fonds d'Equité de l'Agence Européenne pour le Développement et la Santé]. Bruxelles, Belgium: Agence Européenne Pour le Développement Et la Santé.

Qazi SA, Stoll BJ, **2009**. Neonatal sepsis: A major global public health challenge. *Pediatr Infect Dis J*; 28:S1-S2.

Rajaratnam JK, Marcus JR, Flaxman AD, *et al.*, **2010**. Neonatal, postneonatal, childhood, and under-5 mortality for 187 countries, 1970-2010: a systematic analysis of progress towards millennium development goal 4. *Lancet* 375:1988-2008.

Rohde J, Cousens S, Chopra M, *et al.*, **2008**. 30 Years after Alma-Ata: has primary health care worked in countries? *Lancet* 372:950-961.

Schrag SJ, Gorwitz R, Fultz-Butts K, Schuchat A, **2002**. Prevention of perinatal group B streptococcal disease. Revised guidelines from CDC. *MMWR Recomm Rep*; 51:1-22

Schrag SJ, Global Group B Streptococcal Vaccine Working Group, **2011**. Group B streptococcal vaccine for resource- □poor countries. *Lancet*; 378:11–12

Sivanandan S *et al.*, **2011**. Choice and Duration of Antimicrobial Therapy for Neonatal Sepsis and Meningitis. Volume 2011, Article ID 712150, 9 pages doi:10.1155/2011/712150

Stoll BJ, **2006**. Neonatal infections : a global perspective, in Remington JS, Klein JO (ed 6). Philadelphia, PA, W B Saunders.

Stoll BJ, Hansen NI, Sánchez PJ, Faix RG, Poindexter BB, Van Meurs KP, Bizzarro MJ *et al.*, **2011**. Early onset neonatal sepsis : the burden of group B Streptococcal and E.coli disease continue. *Pediatrics*. 2011 May;127(5):817-26. doi: 10.1542/peds.2010-2217.

Système des Nations Unies, **2003**. Bilan commun de pays Madagascar.

Tenover, F. C., E. A. Gay, S. Frye, S. J. Eells, M. Healy, and J. E. McGowan, Jr. **2009**. Comparison of typing results obtained for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates with the DiversiLab system and pulsed-field gel electrophoresis. *J. Clin. Microbiol.* 47:2452–2457.

Te Witt, R., V. Kanhai, and W. B. van Leeuwen, **2009**. Comparison of the DiversiLab system, pulsed-field gel electrophoresis and multi-locus sequence typing for the characterization of epidemic reference MRSA strains. *Micro- biol. Methods* 77:130–133.

Thaver D, Zaidi AK, **2009**. Burden of neonatal infections in developing countries : a review of evidence from community-based studies. *Pediatr Infect Dis J* ; 28 :S3-9

Thaver D, Ali SA, Zaidi AK, **2009**. Antimicrobial resistance among neonatal pathogens in developing countries. *Pediatr Infect Dis J* ; 28:S19–S21.

UNICEF/WHO, **2004**. Low Birthweight: Country, Regional and Global Estimates. UNICEF, New York.

UNICEF, **2009**. Tracking progress on child and maternal nutrition: a survival and development priority. New York.

UNICEF, **2010**. http://www.unicef.org/french/infobycountry/madagascar_statistics.html

Vain NE, Farina D, Vasquez L.N, **2012**. Neonatology in the emerging countries: the strategies and health-economics related to prevention of neonatal and infant infections. Early Human Development 88S2 Elsevier S53-S59.

Vergnano S, Sharland M, Kazembe P, Mwansambo C, Heath PT, **2005**. Neonatal sepsis: an international perspective. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed; 90(3):F220-4.

Waters D, Jawad I, Ahmad A, Luksic I, Nair H, Zgaga L, Theodoratou E, Rudan I, Zaidi AK, Campbell H, **2011**. Aetiology of community-acquired neonatal sepsis in low- and middle-income countries. Journal of global health, Dec ;1(2):154-70.

WHO, **1996**. Management of the sick newborn. Report of a Technical Working Group, Ankara June 5–8, 1995. Geneva. WHO/FRH/MSM/96.12.

WHO, **2003 (b)**. Managing newborn problems : a guide for doctors, nurses, and midwives (Integrated management of pregnancy and childbirth). World Health Organization Editions, Geneva, 338 p.

WHO, **2008**. Department of Reproductive Health and Research : Proportion of Births, Attended by a Skilled Health Worker. Geneva, World Health Organization.

WHO, **2009 (a)**. Madagascar. <http://www.who.int/countries/mdg/fr/>

WHO, **2009 (b)**. Stratégie de Coopération de l’OMS avec les Pays, 2008-2013 République de Madagascar. http://www.who.int/countryfocus/cooperation_strategy/ccs_mdg_fr.pdf

WHO, **2011 (b)**. <http://www.who.int/countries/mdg/fr/index.html>. Madagascar

World Bank, Sharp M, Kruse I, **2011**. Health, nutrition, and population in Madagascar, 2000–09. Washington D.C.: International Bank for Reconstruction and Development/World Bank.

Young Infants Clinical Signs Study Group, **2006**. Clinical signs that predict severe illness in children under age 2 months: a multicentre study. *Lancet* 371: 135–142.

Yu Z, Liu J, Sun Q, *et al.*, **2010**. The accuracy of the procalcitonin test for the diagnosis of neonatal sepsis : a meta-analysis. *Scand J Infect Dis*; 42;723-33

Zaidi AK, Huskins WC, Thaver D, Bhutta ZA, Abbas Z, Goldmann DA, **2005**. Hospital acquired neonatal infections in developing countries. *Lancet*; 365(9465):1175-88.

Zaidi AK, Thaver D, Ali SA, Khan TA, **2009**. Pathogens associated with sepsis in newborns and young infants in developing countries. *Pediatr Infect Dis J*. Jan;28 (1 Suppl):S10-8. doi: 10.1097/INF.0b013e3181958769.