



**HAL**  
open science

# Les infections néonatales tardives chez les enfants nés grands prématurés : rôle de la cause de prématurité et de l'exposition précoce aux antibiotiques

Mathilde Letouzey

► **To cite this version:**

Mathilde Letouzey. Les infections néonatales tardives chez les enfants nés grands prématurés : rôle de la cause de prématurité et de l'exposition précoce aux antibiotiques. Pédiatrie. Université Paris Cité, 2022. Français. NNT : 2022UNIP5042 . tel-04698878

**HAL Id: tel-04698878**

**<https://theses.hal.science/tel-04698878v1>**

Submitted on 16 Sep 2024

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# Université Paris Cité

## Ecole doctorale Pierre Louis de Santé Publique - ED 393

UMR1153 Centre de Recherche en Epidémiologie et Statistiques (CRESS)

Equipe de recherche en Epidémiologie périnatale, obstétricale et pédiatrique (EPOPé)

## **Les infections néonatales tardives chez les enfants nés grands prématurés : rôle de la cause de prématurité et de l'exposition précoce aux antibiotiques**

Par Mathilde Letouzey

Thèse de doctorat en épidémiologie

Dirigée par Laurence Foix-L'Hélias et co-encadrée par Elsa Lorthe

Présentée et soutenue publiquement le 27 juin 2022

Devant un jury composé de :

Valérie BRIAND	DR, MD, PhD, HDR	Université de Bordeaux	Rapporteur
Pierre TOURNEUX	PU-PH, MD, PhD, HDR	Université d'Amiens	Rapporteur
Valérie BIRAN	PU-PH, MD, PhD, HDR	Université Paris Cité	Examinatrice
Corinne DUPONT	PU, RM, PhD, HDR	Université Lyon 1	Examinatrice
Benoît MARIN	PU-PH, MD, PhD, HDR	Université de Limoges	Examinateur
Christophe VAYSSIERE	PU-PH, MD, PhD, HDR	Université de Toulouse	Examinateur
Laurence FOIX-L'HELIAS	PU-PH, MD, PhD, HDR	Sorbonne université	Directrice de thèse
Elsa LORTHE	PhD, RM	Université Paris Cité	Co-encadrante

## RÉSUMÉ EN FRANÇAIS

Les infections néonatales tardives chez les enfants nés grands prématurés : rôle de la cause de prématurité et de l'exposition précoce aux antibiotiques.

Les infections néonatales tardives sont des infections qui surviennent après 72 heures de vie chez les nouveau-nés. Elles touchent 10 à 30% des enfants grands prématurés, c'est à dire nés avant 32 semaines d'aménorrhée. Elles sont responsables d'une mortalité élevée et elles pourraient également avoir des conséquences à plus long terme en augmentant le risque de survenue de troubles du neuro-développement. Certains facteurs de risque d'infection néonatale tardive sont bien identifiés, tels que le faible âge gestationnel de naissance et le petit poids de naissance. En revanche, le rôle des facteurs périnataux dans la survenue des infections néonatales tardives a été peu étudié. L'objectif de cette thèse était d'étudier l'association entre les facteurs de risque potentiels de la période périnatale, en particulier la cause de prématurité et les antibiothérapies néonatales précoces, et les infections néonatales tardives chez les enfants nés grands prématurés.

Nous avons utilisé les données de la cohorte française en population EPIPAGE 2 qui a inclus toutes les naissances entre 22 et 34 semaines d'aménorrhée en 2011.

Nous avons tout d'abord mis en évidence une association entre la cause de prématurité et les infections néonatales tardives. Les enfants nés dans un contexte de pathologie hypertensive maternelle et/ou de retard de croissance intra-utérin présentaient un risque augmenté d'infection néonatale tardive par rapport aux enfants nés après mise en travail spontané. En revanche, il n'y avait pas de différence pour les enfants nés dans un contexte de rupture prématurée des membranes avant terme ou d'hématome rétro-placentaire. Nous nous sommes ensuite intéressés aux antibiothérapies néonatales précoces, administrées précocément (J0 ou J1 de vie) à une population d'enfants nés grands prématurés ne présentant pas de facteur de risque d'infection précoce. Nous avons montré que ces antibiothérapies étaient instaurées à des enfants avec des présentations cliniques initiales plus sévères. L'antibiothérapie précoce n'était pas associée à une augmentation du risque de décès, d'infection néonatale tardive ou d'entéocolite ulcéro-nécrosante, mais elle était associée à un risque augmenté de lésions cérébrales sévères et de dysplasie broncho-pulmonaire, ce qui persistait après prise en compte de l'état clinique à l'instauration du traitement.

En conclusion, ces résultats apportent de nouveaux arguments pour une meilleure individualisation de la prise en charge des grands prématurés, en ne tenant plus compte seulement de l'âge gestationnel et du poids de naissance, mais également du contexte de la naissance prématurée.

Mots clés : Prématurité, Cause de prématurité, infections néonatales, antibiothérapies néonatales

## RÉSUMÉ EN ANGLAIS

Late-onset sepsis in very preterm infants : role of the cause of preterm birth and of early antibiotic exposure.

Late-onset sepsis (LOS) occurs in newborns after 72 hours of life. LOS affects 10 to 30% of very premature babies, i.e. those born before 32 weeks of gestation. It is associated with a high risk of mortality and could also have longer-term consequences by increasing the risk of neurodevelopmental disorders. Some late-onset sepsis risk factors are well identified, such as low gestational age at birth and low birth weight. However, the role of perinatal factors in the occurrence of LOS has received little attention.

The objective of this thesis was to investigate the association between potential risk factors in the perinatal period, in particular the cause of preterm birth and early neonatal antibiotic treatment, and late-onset sepsis in very preterm infants.

We used data from the French population-based EPIPAGE 2 cohort , which included all births between 22 and 34 weeks of gestation in 2011.

We began by underlining an association between the cause of preterm birth and late-onset sepsis. Neonates born in a context of maternal hypertensive disorders or intrauterine growth retardation had an increased risk of late-onset sepsis compared to neonates born after preterm labor. In contrast, there was no difference with neonates born after preterm premature rupture of membranes or after placental abruption.

We then looked at early neonatal antibiotic treatment, administered at Day 0 or Day 1 of life in a population of very preterm infants with no risk factor for early infection. We showed that these antibiotic treatments were initiated in neonates with more severe initial clinical presentations. In this study, early antibiotic treatment was not associated with an increased risk of death, late-onset sepsis, or necrotizing enterocolitis, but was associated with an increased risk of severe cerebral lesions and bronchopulmonary dysplasia.

In conclusion, our results provide new arguments for the individualization of the management of very preterm infants, by not only focusing on gestational age and birth weight, but by also taking into account the context of the prematurity.

Keywords: Preterm birth, cause of preterm birth, neonatal sepsis, late-onset sepsis, neonatal antibiotic treatment

## REMERCIEMENTS

Je remercie vivement Madame Valérie Biran, Madame Valérie Briant, Madame Corinne Dupont, Monsieur Benoît Marin, Monsieur Christophe Vayssière, Monsieur Pierre Tourneux de me faire l'honneur de juger ce travail. Nous avons souhaité constituer un jury regroupant les différentes spécialités de l'épidémiologie, de la santé publique et de la médecine périnatale, je vous remercie tous très sincèrement d'avoir accepté de faire partie de ce jury.

Ces presque quatre années ont été extrêmement riches de rencontres, je tiens à remercier toutes les personnes qui m'ont permis de faire aboutir ce travail :

A mes deux directrices tout d'abord, ce duo si complémentaire. Vous avez été à mes côtés à chaque instant, répondant sans relâche à mes questions et mes sollicitations de dernière minute, à mon écoute, suivant mon tempo à chaque étape, quelle chance j'ai de vous avoir...

Elsa, merci pour la rigueur que tu m'apportes, tous tes conseils aux différents moments clés, tu me montres le chemin de l'excellence scientifique !

Laurence, merci pour nos échanges très réguliers et nos petits appels du mercredi, pour ton écoute bienveillante, ton humilité, tes conseils dans tous les domaines pour « remplir mon panier », pour tout ce que j'apprends à tes côtés : tu es un modèle pour moi, j'espère être à la hauteur.

A Pierre-Yves Ancel et tous les membres d'EPOPé : j'ai eu la chance d'intégrer cette équipe de recherche, j'apprends beaucoup à vos côtés. J'aime la pluridisciplinarité qui y règne, les échanges sont toujours très passionnants. Aux jeunes chercheurs de l'équipe, pour les bons moments à Saint Malo et les conseils qui aident à avancer.

Un mot spécial pour l'équipe de Tenon qui m'a si bien accueillie, pour toutes nos discussions, et nos moments de convivialité. Merci à toute l'équipe d'EPIPAGE pour ce travail extraordinaire de l'ombre, en particulier Laetitia, Valérie, Héroïse, Marie-Jo, Véronique D, Véronique P. Je remercie les cliniciens qui m'ont aidée à retrouver des données manquantes... et surtout aux enfants et aux familles qui participent à l'étude, et sans qui nous ne sommes rien...

A Monique Kaminski : merci pour vos nombreux conseils, pour vos relectures toujours très attentives. Merci de passer dans chaque bureau et de prendre le temps de discuter avec chacun. J'ai beaucoup d'admiration pour votre capacité à trouver les bonnes questions et à chercher les solutions.

A Sabrina : quel plaisir de partager le bureau avec toi... pour nos longues discussions, nos questionnements sur nos parcours, sur notre place à trouver... et pour l'impression que tu me donnes de savoir parler anglais 😊

Aux membres de l'école doctorale, merci pour les journées de Saint Malo, et en particulier à Magali Moulié pour toutes ses réponses !

A Pascal, tu m'as mise sur les rails de ce parcours, je t'en suis profondément reconnaissante.

A mes collègues hospitaliers, sages-femmes, infirmières, puéricultrices, auxiliaires de puériculture, obstétriciens et pédiatres. J'aime tellement cette pluridisciplinarité au quotidien. Une pensée particulière pour Christine et pour Françoise.

Aux étudiants que j'ai eu la chance de rencontrer et pour certains encadrer, à qui j'essaie de transmettre mes deux passions, la médecine périnatale et l'épidémiologie.

A Anne (Rousseau), pour tous tes conseils, pour nos projets, pour nos échanges, mes inlassables questionnements sur comment équilibrer vies de femme, enseignante, clinicienne, chercheuse sans renoncer aux fondamentaux et à ce qu'on croit, merci pour tout ça...

A mes parents pour leur soutien sans faille. A ma famille et mes amis

A Stéphane, Paul et Roxane, parce que l'essentiel est là.

*« La pierre n'a point d'espoir d'être autre chose que pierre.  
Mais de collaborer, elle s'assemble et devient temple. »  
Antoine de Saint-Exupéry*

# TABLE DES MATIÈRES

<b>RÉSUMÉ EN FRANÇAIS</b> .....	<b>2</b>
<b>RÉSUMÉ EN ANGLAIS</b> .....	<b>4</b>
<b>REMERCIEMENTS</b> .....	<b>5</b>
<b>TABLE DES MATIÈRES</b> .....	<b>7</b>
<b>ABREVIATIONS</b> .....	<b>9</b>
<b>UNITÉ DE RECHERCHE</b> .....	<b>10</b>
<b>FINANCEMENT</b> .....	<b>10</b>
<b>VALORISATION SCIENTIFIQUE</b> .....	<b>11</b>
PUBLICATIONS ISSUES DU TRAVAIL DOCTORAL.....	11
COMMUNICATIONS ISSUES DU TRAVAIL DOCTORAL.....	11
AUTRES PUBLICATIONS.....	11
<b>ACTIVITÉS D'ANIMATION ET D'ENCADREMENT</b> .....	<b>12</b>
<b>Liste des tableaux</b> .....	<b>13</b>
<b>Liste des figures</b> .....	<b>14</b>
<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>15</b>
<b>ÉTAT DES CONNAISSANCES</b> .....	<b>18</b>
1. LA GRANDE PREMATURITE.....	18
1.1 Définition et fréquence de la grande prématurité.....	18
1.2 Cause de la prématurité.....	19
1.3 Conséquences néonatales de la grande prématurité.....	22
2. LES INFECTIONS NEONATALES TARDIVES.....	31
2.1 Définitions et épidémiologie.....	31
2.2 Physiopathologie et facteurs de risque.....	34
2.3 Conséquences.....	38
2.4 Prévention.....	39
3. LES ANTIBIOTHERAPIES EN NEONATOLOGIE.....	41
3.1 Fréquence et indications.....	41
3.2 Conséquences des antibiothérapies en néonatalogie.....	43
4. OBJECTIFS DE LA THESE.....	47
<b>METHODES</b> .....	<b>48</b>
1. SOURCE DES DONNEES : LA COHORTE EPIPAGE-2.....	48
2. CRITERE DE JUGEMENT PRINCIPAL : LES INFECTIONS NEONATALES TARDIVES.....	50
3. EXPOSITIONS.....	50
3.1. La cause de naissance prématurée.....	50
3.2. Antibiothérapie néonatale précoce.....	51
4. METHODOLOGIE STATISTIQUE.....	52
4.1. Pondération.....	52
4.2. La prise en compte du risque compétitif.....	53
4.3. Choisir les facteurs d'ajustement : les graphiques acycliques orientés ou Directed Acyclic Graph (DAG).....	54
4.4. Score de propension.....	56
4.5. Gestion des données manquantes : les imputations multiples.....	61
<b>RESULTATS</b> .....	<b>63</b>
1. LES INFECTIONS NEONATALES TARDIVES CHEZ LES GRANDS PREMATURES DANS LA COHORTE EPIPAGE 2.....	63
Incidence des infections néonatales tardives.....	63
Description des infections néonatales tardives.....	65
Caractéristiques maternelles et néonatales.....	65
Caractéristiques des centres.....	67
2. CAUSE DE PREMATURITE ET INFECTIONS NEONATALES TARDIVES.....	69
3. CONSEQUENCES NEONATALES DES ANTIBIOTHERAPIES INITIALES EMPIRIQUES.....	83



<b>DISCUSSION</b> .....	<b>98</b>
1. SYNTHÈSE DES RESULTATS .....	98
2. FORCES, LIMITES ET QUESTIONS SOULEVEES .....	99
3. IMPLICATIONS POUR LA PRATIQUE CLINIQUE.....	102
4. PERSPECTIVES .....	103
<b>CONCLUSION</b> .....	<b>109</b>
<b>RÉFÉRENCES</b> .....	<b>110</b>
<b>ANNEXES</b> .....	<b>116</b>
ANNEXE 1 : LETTRE A L'ÉDITEUR PUBLIÉE DANS THE JOURNAL OF PEDIATRICS .....	116
ANNEXE 2 : ARTICLE PUBLIÉ DANS L'EMC PÉDIATRIE .....	117

## ABREVIATIONS

CLABSI : Central line-associated bloodstream infections

CRP : Protéine C réactive

DAG : Directed Acyclic Graph

DBP : Dysplasie broncho-pulmonaire

DS : Déviation standard

ECUN : Entérocolite ulcéro-nécrosante

EPICE : Effective Perinatal Intensive Care in Europe

EPIPAGE : Etude épidémiologique sur les petits âges gestationnels

GM-CSF : Granulocyte-Macrophage colony stimulating factor

HR : hazard ratio

IC95% : Intervalle de confiance à 95%

INBP : Infection néonatale bactérienne précoce

INT : Infection néonatale tardive

IPTW : Inverse Probability of treatment weighting

IQR : interquartile range

Jx : Jour x depuis la naissance

LOS : Late-onset sepsis

M-ABC : Movement assessment battery for children

MAP : Menace d'accouchement prématuré

MAR : missing at random.

MCAR : missing completely at random

MICE : multiple imputation by chained equations

MNAR : Missing Not At Random

NEPSY : a developmental neuropsychological assessment

NICHHD : National Institute of Child Health and Human Development

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

OR : odds ratio

QI : Quotient intellectuel

RPMAT : Rupture prématurée des membranes avant terme

RCIU : Retard de croissance intra-utérin

SA : Semaines d'aménorrhée

SFN : Société Française de Néonatalogie

SDQ : Strengths and difficulties questionnaire

STROBE : The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology

WPPSI : Wechsler preschool and primary scale of intelligence

## UNITÉ DE RECHERCHE

Cette thèse a été préparée dans l'Equipe de recherche en Epidémiologie Périnatale, Obstétrique et Pédiatrique (EPOPé), dirigée par le Professeur Pierre-Yves Ancel, au sein de l'unité Inserm UMR 1153, Centre de Recherche en Epidémiologie et Statistiques (CRESS), dirigée par le Professeur Philippe Ravaud.

Hôpital Tenon, Bâtiment recherche, 4 rue de la Chine 75020 PARIS

## FINANCEMENT

Cette thèse a été financée pendant 3 ans par l'obtention d'un poste d'accueil Inserm (2018-2021).

La 4ème année de thèse a été réalisée à temps partiel, après reprise d'une activité clinique dans le service de Médecine et réanimation néonatales du CHI Poissy Saint Germain dirigé par le Pr Pascal Boileau.

## VALORISATION SCIENTIFIQUE

### PUBLICATIONS ISSUES DU TRAVAIL DOCTORAL

**M.Letouzey**, E.Lorthe, L.Marchand-Martin, G.Kayem, C.Charlier, M.Butin, A.Mitha, M.Kaminski, V.Benhammou, PY.Ancel, P.Boileau, L.Foix-L'Hélias. Early antibiotic exposure and adverse outcomes in very preterm infants at low risk of early-onset sepsis: the EPIPAGE-2 cohort study *J Pediatr.* 2022 Apr;243:91-98.e4

**M.Letouzey**, L.Foix-L'Hélias, H.Torchin, A.Mitha, A.Morgan, J.Zeitlin, G.Kayem, E.Maisonneuve, P.Delorme, B.Khoshnood, M.Kaminski, PY.Ancel, P.Boileau, E.Lorthe. Cause of preterm birth and late-onset sepsis in very preterm infants: EPIPAGE-2 cohort study. *Pediatr Res.* 2021 ;Feb (24):1-9

**M.Letouzey**, L.Foix-L'Hélias, P.Boileau, E.Lorthe. Association of early antibiotic exposure and necrotizing enterocolitis: causality or confounding bias? *J Pediatr.* 2020 ;226:315-316 (Lettre à l'éditeur)

**M.Letouzey**, P.Boileau, L.Foix-L'Hélias. Infections néonatales bactériennes précoces et tardives. EMC – Pédiatrie – Volume 41, n°3 – juillet 2021

### COMMUNICATIONS ISSUES DU TRAVAIL DOCTORAL

**M.Letouzey**, E.Lorthe, P.Boileau, L.Foix-L'Hélias. Antibiothérapie néonatale précoce et infections néonatales tardives chez les grands prématurés dans l'étude de cohorte EPIPAGE2. *Après-midi Jeunes chercheurs FHU Préma*, 2020, Paris.

**M.Letouzey**, E.Lorthe, P.Boileau, L.Foix-L'Hélias. Antibiothérapie néonatale et infections néonatales tardives chez les grands prématurés. *Journées Nationales de la Société Française de Médecine Périnatale (SFMP)*, 2019, La Baule.

**M.Letouzey**, E.Lorthe, P.Boileau, L.Foix-L'Hélias. Antibiothérapie néonatale précoce et infections néonatales tardives chez les grands prématurés dans l'étude de cohorte EPIPAGE2. *Journées Francophones de Recherche en Néonatalogie (JFRN)*, 2019, Paris.

**M.Letouzey**, L.Foix-L'Hélias, P.Boileau, E.Lorthe. Cause de prématurité et infections néonatales tardives chez les grands prématurés. *Congrès de la Société Française de Pédiatrie*, 2019, Paris

### AUTRES PUBLICATIONS

E.Lorthe, **M.Letouzey**, H.Torchin, L.Foix-L'Hélias, C.Gras-Le Guen, V.Benhammou, P.Boileau, C.Charlier, G.Kayem. Antibiotic prophylaxis in preterm premature rupture of membranes at 24-31 weeks' gestation: perinatal and 2-year outcomes in the EPIPAGE-2 cohort. *BJOG*, 2021 Dec 26. Online ahead of print.

T.Chapron, V.Pierrat, G.Caputo, **M.Letouzey**, E.Kermorvant-Duchemin, Y.Abdelmassih, W.Beaumont, A.Barjol, G.Le Meur, V.Benhamou, L.Marchand-Martin, PY.Ancel, H.Torchin. Ophthalmological Impairments at Five and a Half Years after Preterm Birth: EPIPAGE-2 Cohort Study. *J.Clin. Med.* 2022, 11, 2139.

## ACTIVITÉS D'ANIMATION ET D'ENCADREMENT

### ANIMATION

- Depuis 2017 : Coordinatrice du groupe Infectieux – EPIPAGE 2 – UMR1153, Equipe EPOPé
- Depuis 2017 : Membre du groupe Obstétrique – EPIPAGE 2 – UMR1153, Equipe EPOPé
- 2020 : Membre du comité de pilotage de l'étude COROPREG (cohorte COVID et grossesse - UMR1153, Equipe EPOPé - Inserm, AHP, Financement PHRC)
- 2019-2021 : Représentante élue des doctorants et post-doctorants au Conseil de laboratoire de l'UMR1153 (CRESS)
- 2019-2021 : Coordinatrice du groupe Jeunes Chercheurs – UMR1153, Equipe EPOPé

### ENCADREMENT

- 2021 : Co-encadrement du stage de Master 2 de Fanny Salmon, sage-femme, avec Gilles Kayem. Thématique : association entre la chorioamniotite clinique et les troubles du neuro-développement à 5 ans ½ dans la cohorte EPIPAGE 2.
- 2021 : Co-Encadrement du mémoire de fin d'étude de Tiphaine Biaggi, sage-femme et du mémoire de Diplôme d'Etudes Spécialisées en Néonatalogie de Elisabeth Outier, pédiatre, avec Laurence Foix-L'Hélias. Enquête sur la mise en place des recommandations de la Haute Autorité de Santé/Société Française de Néonatalogie sur la prise en charge des nouveau-nés à risque d'infection néonatale bactérienne précoce dans les maternités d'Ile de France (Prix mémoire 2022 du Collège national des Sages-femmes).
- 2019 : Direction de la thèse de Doctorat en médecine de Ludivine Lecoq, pédiatre. Association entre le petit poids pour l'âge gestationnel et les infections néonatales tardives chez les grands prématurés : à partir des données de l'étude Neocat (Prix du poster commenté au congrès de la Société Française de Pédiatrie)

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Incidence des principales complications néonatales selon l'âge gestationnel de naissance.....	29
Tableau 2 : Prévalence des infections néonatales tardives dans les principales études de la littérature .....	33
Tableau 3 : Morbi-mortalité associée à l'utilisation d'antibiotiques dans la littérature .....	44
Tableau 4 : Incidence des infections néonatales tardives en fonction de la semaine d'âge gestationnel de naissance.....	64
Tableau 5 : Incidence des principales complications néonatales selon l'âge gestationnel de naissance.....	64
Tableau 6 : Caractéristiques maternelles et néonatales selon la présence ou non d'au moins un épisode d'infection néonatale tardive .....	66

## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Evolution de la survie à la sortie d'hospitalisation entre 1997 et 2011 selon l'âge gestationnel de naissance.....	23
Figure 2 : Évolution de la survie sans morbidité néonatale sévère entre 1997 et 2011 selon l'âge gestationnel de naissance .....	29
Figure 3 : Évolution du taux d'infection néonatale tardive selon la semaine d'âge gestationnel de naissance.....	34
Figure 4 : Nombre de maternités dans chaque région participant à EPIPAGE-2.....	48
Figure 5 : Exemple d'un graphique acyclique orienté réalisé grâce au site daggity.net.....	55
Figure 6 : Distribution du score de propension issu de notre travail sur les antibiothérapies. ....	58
Figure 7 : Différences standardisées des covariables avant et après pondération inverse sur le score de propension .....	60
Figure 8 : Incidence des infections néonatales tardives selon le centre dans lequel a été hospitalisé le nouveau-né dans les 48 premières heures de vie. ....	67

## INTRODUCTION

Les infections néonatales sont au cœur de la pratique clinique quotidienne des néonatalogistes. Les infections néonatales sont dites précoces lorsqu'elles surviennent chez les nouveau-nés au cours de leurs trois premiers jours de vie, et tardives quand elles débutent après le 3ème jour de vie. Les infections néonatales précoces touchent 5 à 10% des enfants nés grands prématurés, c'est à dire nés avant 32 semaines d'aménorrhée (SA), alors que les infections néonatales tardives touchent 10 à 30% d'entre eux. Les infections néonatales sont responsables d'une mortalité importante et d'une augmentation de la morbidité à court et long terme de ces enfants particulièrement vulnérables.

La faible spécificité des signes cliniques des infections néonatales rend leur diagnostic difficile. Leur traitement repose sur les antibiotiques, débutés de manière probabiliste devant les signes cliniques, sans attendre la confirmation diagnostique obtenue par la culture des prélèvements bactériologiques. Les antibiothérapies initiées dans ces situations permettent de sauver des vies, mais elles ont aussi des conséquences sur le microbiote et la sélection de bactéries multi-résistantes notamment. Les enjeux pour les néonatalogistes sont multiples : poser le diagnostic au bon moment alors que la symptomatologie est très variée, de paucisymptomatique à une symptomatologie fulminante conduisant parfois au décès en quelques heures, mais aussi prescrire le bon antibiotique tout en s'abstenant de traiter lorsque ce n'est pas nécessaire.

Afin d'illustrer les questions auxquelles nous sommes confrontés, voici deux situations cliniques d'enfants grands prématurés, nés dans des contextes très différents.

*Tom est né à 26 SA dans un contexte de rupture prématurée des membranes avant terme. L'accouchement a lieu par voie basse, après un travail spontané et une durée de rupture des membranes de 42 heures. Sa maman est apyrétique, les prélèvements bactériologiques maternels faits à l'admission sont stériles. L'adaptation à la vie extra-utérine est bonne, Tom a une ventilation non invasive et est stable à l'entrée en réanimation.*

Devant cette naissance extrêmement prématurée, avec un risque infectieux important compte tenu du travail spontané et de la durée prolongée de rupture des membranes, le néonatalogiste en charge de Tom doit décider de la mise en route ou non d'une antibiothérapie, sachant que Tom présente un état clinique rassurant.



*Emma est née à 26 SA dans un contexte de pré-éclampsie sévère avec un retard de croissance intra-utérin. L'accouchement a lieu par césarienne d'indication maternelle. Emma est âgée de 10 jours, stable en ventilation non invasive depuis la naissance. Elle reçoit une nutrition entérale en cours d'introduction et une nutrition parentérale sur un cathéter central. Elle présente une discrète majoration des besoins en oxygène et a fait quatre épisodes d'apnées suivie d'une bradycardie au cours des 6 dernières heures. Elle est apyrétique, ne présente pas de troubles hémodynamiques et l'alimentation entérale est bien tolérée.*

Dans le cas d'Emma, la dégradation clinique peut faire évoquer une infection néonatale tardive mais cette symptomatologie est non spécifique : ces apnées sont fréquentes chez les grands prématurés et peuvent témoigner d'une dégradation respiratoire isolée par exemple. Le néonatalogiste doit décider de l'instauration ou non d'une antibiothérapie, en tenant compte de l'incertitude diagnostique, des conséquences potentielles des antibiotiques sur le microbiote et du risque de sélection de germes résistants.

Durant ces dix dernières années, j'ai été confrontée quotidiennement à ces questions dans ma pratique clinique de néonatalogiste. En prenant en charge des enfants nés grands prématurés dès la salle de naissance, j'ai mesuré l'importance de prendre en compte dans ma réflexion clinique non seulement l'âge gestationnel de naissance mais aussi le contexte de la naissance prématurée. J'ai également dû faire face aux nombreuses complications de la grande prématurité parmi lesquelles les infections néonatales tardives. Mes problématiques cliniques ont suscité des questions de recherche, et m'ont conduite à mener ce travail dont l'objectif était d'étudier l'association entre des facteurs de risque périnataux et les infections néonatales tardives chez les enfants nés grands prématurés. Le travail présenté rassemble les travaux menés sur cette thématique depuis mon arrivée dans l'équipe EPOPé (INSERM U1153, Equipe de recherche en Epidémiologie Obstétricale, Périnatale et Pédiatrique).

Après avoir présenté le contexte de cette thèse en synthétisant l'état des connaissances sur la grande prématurité, les infections néonatales et les antibiothérapies en néonatalogie, nous présenterons l'étude EPIPAGE 2 ainsi que les principales méthodes statistiques utilisées. Le premier chapitre décrira les infections néonatales tardives dans l'étude EPIPAGE 2. Nous décrirons ensuite l'association entre la cause de prématurité et les infections néonatales tardives. Enfin, le chapitre suivant abordera les conséquences néonatales des antibiothérapies

probabilistes précoces chez des nouveau-nés grands prématurés sans facteur de risque d'infection néonatale précoce. Enfin, nous discuterons les forces et les faiblesses de l'ensemble de cette thèse et les implications de nos résultats pour la pratique clinique et pour la recherche.

# ÉTAT DES CONNAISSANCES

## 1. La grande prématurité

### 1.1 Définition et fréquence de la grande prématurité

Au cours de la grossesse, les huit premières semaines aboutissent à la mise en place des différents organes (organogenèse), puis la période foétale s'étend jusqu'à la fin du 9<sup>ème</sup> mois. Durant cette période, le développement du fœtus se déroule selon un continuum qui correspond à la phase de croissance et de maturation de ses organes. Ainsi, l'âge gestationnel à la naissance est étroitement lié à la capacité du fœtus à s'adapter à la vie extra-utérine. C'est un des éléments essentiels du pronostic à court et long terme de l'enfant (1).

Selon les critères définis par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), toute naissance qui survient à partir de 22 semaines d'aménorrhée (SA) ou avec un poids supérieur à 500 grammes doit faire l'objet d'une déclaration. L'OMS définit une naissance prématurée comme toute naissance survenue entre 22 et 36 SA révolues et la naissance est considérée à terme à partir de 37 SA (2). Même s'il n'y pas de définition consensuelle internationale de la grande prématurité, on distingue classiquement différents degrés de prématurité selon l'âge gestationnel à la naissance : la prématurité tardive (entre 34 et 36 SA révolues), la prématurité modérée (32-33 SA), la grande prématurité (entre 28 et 31 SA) et la très grande prématurité avant 28 SA (3,4). Les extrêmes prématurés nés avant 26 SA constituent un sous-groupe à risque particulièrement élevé.

Chaque année dans le monde, 15 millions d'enfants naissent prématurément ce qui représente environ 11% des naissances vivantes (5). Les variations sont très importantes d'une région du monde à l'autre, avec des taux de prématurité allant de 5 à 7% en Europe, 10 à 12% en Amérique du Nord et jusqu'à 18% dans certains pays d'Afrique (5). En France en 2016, 7,5% des enfants étaient nés prématurés et 1,2% grands prématurés (6). La prématurité concerne donc environ 60 000 enfants dont 12 000 sont nés avant 32 SA, pour 800 000 naissances annuelles (6).

Après avoir régulièrement diminué durant les années 1980 (de 8,2% en 1972 à 5,6% en 1981), le taux de prématurité a augmenté ces dernières années, passant de 5,9% en 1995, à 7,2% en 2003 puis 7,5% en 2016, avec une part de plus en plus importante de la grande prématurité (6). Cette augmentation est d'origine multi-factorielle mais peut être expliquée en partie par l'augmentation de la fréquence des grossesses multiples, de l'augmentation de

l'âge moyen des femmes lors des grossesses ainsi que par l'augmentation de la prématurité induite ou consentie par les équipes obstétricales (4).

## 1.2 Cause de la prématurité

La prématurité peut survenir dans deux circonstances majeures : la prématurité spontanée et la prématurité induite, responsables chacune globalement de la moitié des naissances prématurées.

La prématurité spontanée survient après une mise en travail spontanée, le travail étant défini par la présence de contractions utérines associées à des modifications du col de l'utérus. Cette mise en travail spontanée peut faire suite soit à une menace d'accouchement prématuré à membranes intactes, soit à une rupture prématurée des membranes avant terme. Elle peut également survenir dans le cadre de grossesses multiples, due notamment à la surdistension utérine, ou dans certains contextes pathologiques comme les malformations utérines, les hémorragies ou les infections.

La prématurité induite ou consentie est provoquée par l'équipe obstétricale. La naissance est la conséquence d'une décision médicale, en raison d'un risque important pour la santé de la mère et/ou du fœtus. Ce risque peut être lié à la présence d'une pathologie hypertensive maternelle, d'une pré-éclampsie ou d'un retard de croissance intra-utérin du fœtus notamment. En cas de prématurité induite, l'accouchement peut avoir lieu soit par voie basse après déclenchement du travail, soit par césarienne, généralement réalisée avant travail.

Cette classification binaire de la cause de prématurité, spontanée vs induite, a été largement utilisée dans la littérature (3,7). Elle a l'avantage d'être facilement réalisable à partir des données rétrospectives. En effet, si un déclenchement ou une césarienne avant travail est réalisé, la prématurité est classée comme induite. Cette classification est donc simple et reproductible. Cependant, elle regroupe dans chaque catégorie des causes très hétérogènes alors que ces mécanismes physiopathologiques peuvent avoir des conséquences différentes sur le pronostic de l'enfant : la naissance prématurée peut avoir lieu dans un contexte d'inflammation, d'infection, d'insuffisance placentaire chronique, d'hypoxie aiguë, ou encore de pathologies maternelles. Dans cette classification binaire, certaines causes de prématurité peuvent être classées comme spontanée ou induite selon le mode de début de travail : c'est le cas de la rupture prématurée des membranes avant terme. La prématurité

sera classée spontanée en cas de mise en travail avec un accouchement par voie basse, alors qu'elle sera induite en cas de césarienne avant travail devant des saignements ou des anomalies du rythme cardiaque fœtal par exemple. Pourtant la cause de la prématurité et les mécanismes physiopathologiques sont les mêmes dans les deux situations.

Il semble donc nécessaire d'avoir une classification précise des causes de la naissance prématurée afin de mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques et les conséquences sur le pronostic de l'enfant à naître. Plusieurs chercheurs internationaux en périnatalité ont justifié la nécessité d'avoir une classification des causes de la prématurité en faisant une analogie avec la mort prématurée de l'adulte (8). Selon eux, la naissance prématurée est une entité inhabituelle puisqu'elle est définie par le temps (naissance avant 37 SA) et non par un phénotype clinique. Leur analogie avec la mort prématurée, c'est à dire survenant à un âge plus précoce qu'attendu, est la suivante : les causes les plus fréquentes de décès prématurés sont les cancers, les coronaropathies, les accidents et les suicides. L'étude des mécanismes physiopathologiques et des facteurs de risque serait sans signification et ininterprétable sans faire référence à l'étiologie du décès.

Une classification des causes de naissance prématurée a ainsi été établie par ces chercheurs en 12 groupes phénotypiques à partir des symptômes et signes cliniques (9). Mais cette classification s'appuie sur certaines données qui ne sont disponibles qu'après la naissance (histologie du placenta, données néonatales), ce qui ne permet pas de l'utiliser en anténatal pour estimer le pronostic de l'enfant à naître et décider de la prise en charge (9).

Afin d'être utile en pratique clinique, une classification de la cause de la naissance prématurée doit se fonder sur des éléments cliniques disponibles au moment de l'accouchement. A partir de ce postulat, une classification précise de la cause d'accouchement prématuré a été établie pour les grossesses uniques à partir des données de la cohorte EPIPAGE-2. Elle comporte 6 classes mutuellement exclusives, homogènes d'un point de vue des mécanismes physiopathologiques (10) :

- le travail prématuré consécutif à une menace d'accouchement prématuré (les ruptures des membranes de moins de 24 heures sont incluses dans cette catégorie puisqu'il est difficile de faire la distinction entre une rupture des membranes rapidement suivie par la mise en travail et une rupture des membranes survenant au tout début du travail),

- la rupture prématurée des membranes avant terme (RPMAT), d'une durée supérieure ou égale à 24 heures,
- les pathologies vasculaires gravidiques sans retard de croissance intra-utérin (RCIU) : hypertension artérielle, pré-éclampsie, HELLP syndrome (Hemolysis, Elevated Liver enzyme, Low Platelets – il s'agit d'une microangiopathie sévère associant une atteinte hématologique et hépatique),
- les pathologies vasculaires gravidiques associées à un retard de croissance intra-utérin,
- le retard de croissance intra-utérin isolé, c'est à dire sans pathologie vasculaire maternelle diagnostiquée,
- l'hématome rétro-placentaire survenant spontanément au cours d'une grossesse sans qu'aucune pathologie obstétricale n'ait été diagnostiquée au préalable.

Cette classification précise permet d'étudier les conséquences directes pour l'enfant à naître en fonction des mécanismes physiopathologiques propres à chaque cause de naissance prématurée. Des travaux récents ont montré que le petit âge gestationnel mais aussi la cause de prématurité étaient associés à des risques différents de mortalité et de morbidités pendant la période néonatale (10–16). En effet, la cause de naissance prématurée peut être associée à des phénomènes biologiques comme l'inflammation ou l'hypoxie pouvant modifier le pronostic (3). De plus, les prises en charge varient en fonction de la cause de naissance prématurée, comme la césarienne avant travail, la corticothérapie anténatale ou la naissance inborn (c'est à dire dans un centre périnatal de type 3) qui peuvent également influencer le pronostic de l'enfant à naître (15).

Nous allons maintenant détailler les principales complications de la prématurité, en précisant l'effet de la cause de la naissance prématurée pour chacune d'entre elles lorsque des données sont disponibles.

### 1.3 Conséquences néonatales de la grande prématurité

La grande prématurité constitue à elle seule un facteur pronostique pour l'enfant, tant sur le plan vital (mortalité néonatale et infantile) que sur le plan des séquelles à court, moyen et long terme (1,17–19). Le risque de morbi-mortalité est d'autant plus élevé que l'âge gestationnel de naissance est faible (10) mais d'autres facteurs interviennent, comme la cause de la naissance prématurée. Nous allons détailler ici les principales complications de la grande prématurité.

#### La mortalité néonatale

Les complications liées aux naissances prématurées demeurent la première cause de mortalité infantile avant l'âge de 5 ans (20). En 2013, l'Organisation Mondiale de la Santé a estimé que la prématurité était responsable de 15% des décès néonataux au niveau mondial (21), avec une variation importante entre les régions du monde en fonction du niveau d'accès aux soins. Cependant, même dans les pays industrialisés disposant de standards de soins comparables, la mortalité est également variable, notamment pour les naissances aux plus petits âges gestationnels. A 24 SA par exemple, la survie était de 31% pour les naissances vivantes en France en 2011 (18), alors qu'elle était de 55% entre 2003 et 2007 aux Etats-Unis (19).

Le principal facteur pronostique de mortalité est le petit âge gestationnel de naissance. Chaque semaine supplémentaire *in utero* est associée à une augmentation de la survie. Dans EPIPAGE-2, la survie à la sortie d'hospitalisation était de 52% pour les enfants nés vivants entre 22 et 26 SA alors qu'elle était de 93% pour ceux nés entre 27 et 31 SA (18). Entre 1997 (cohorte EPIPAGE-1) et 2011 (cohorte EPIPAGE-2), les taux de survie n'ont pas évolué pour les enfants nés entre 22 et 24 SA, alors que la survie a augmenté pour les enfants de plus de 25 SA (Figure 1).

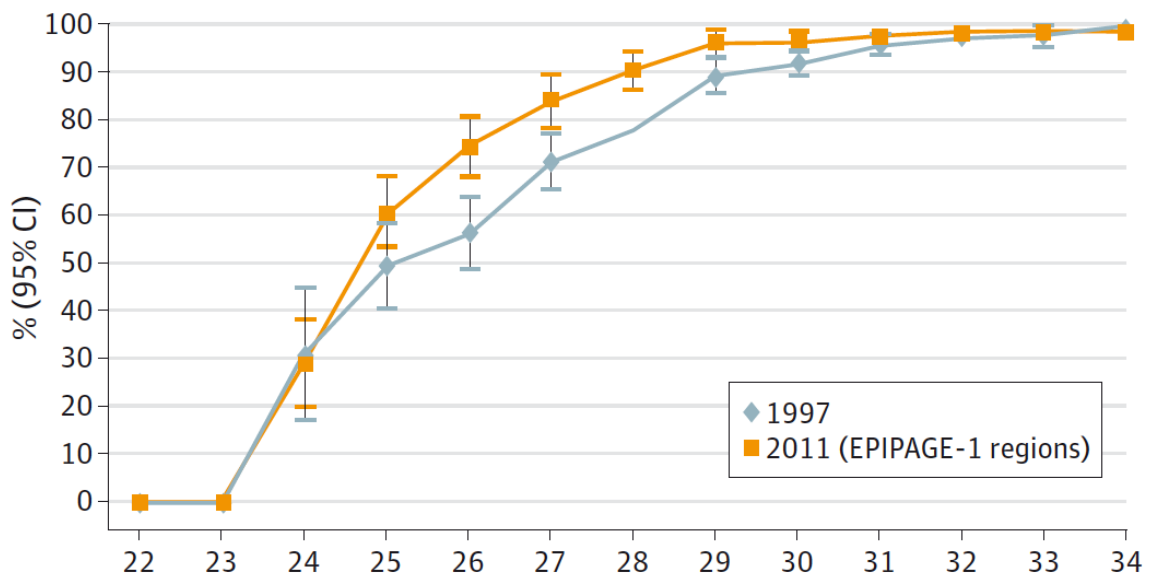


Figure 1 : Evolution de la survie à la sortie d'hospitalisation entre 1997 (EPIPAGE-1) et 2011 (EPIPAGE-2) selon l'âge gestationnel de naissance (en SA). D'après Ancel et al. (18).

Outre le petit âge gestationnel, la cause de prématurité est également associée à la mortalité des nouveau-nés grands prématurés. En effet, Delorme *et al* ont montré à partir des données de l'étude EPIPAGE-2 que le retard de croissance intra-utérin, isolé ou associé à une pathologie hypertensive maternelle, était associé à un risque augmenté de décès néonatal par rapport aux naissances après mise en travail spontané (10). En revanche, les enfants grands prématurés nés après une rupture prématurée des membranes avant terme, une pathologie hypertensive maternelle isolée, ou après un hématome rétro-placentaire présentaient un risque de mortalité néonatale similaire à ceux nés après mise en travail spontané.



## La morbidité néonatale

De nombreuses complications peuvent survenir pendant l'hospitalisation initiale : respiratoires (maladie des membranes hyalines, dysplasie broncho-pulmonaire), neurologiques (hémorragie intra-ventriculaire, leucomalacie périventriculaire), sensorielles (auditives ou visuelles comme la surdité ou la rétinopathie du prématuré), digestives (dont la plus redoutée est l'entérocolite ulcéro-nécrosante) mais aussi infectieuses (infection néonatale précoce et tardive).

### *Les complications respiratoires*

Les enfants nés grands prématurés sont à risque élevé de développer des pathologies respiratoires.

La **maladie des membranes hyalines** est une complication de la période néonatale immédiate. Elle se caractérise par un syndrome de détresse respiratoire lié à un défaut de synthèse endogène du surfactant pulmonaire, témoignant ainsi de l'immaturation pulmonaire de ces enfants. Les signes cliniques sont marqués par une insuffisance respiratoire présente dès la naissance et qui va augmenter progressivement (cyanose sous air, apnées ou bradycardies, geignement expiratoire, signes de lutte). L'aspect radiologique et surtout l'évolution clinique permettent d'affirmer le diagnostic.

La **dysplasie broncho-pulmonaire** résulte d'un développement alvéolaire et vasculaire anormal au niveau pulmonaire (22). La forme modérée à sévère est définie par l'association d'une supplémentation en oxygène pendant au moins 28 jours et la présence d'un soutien ventilatoire (ventilation invasive ou non invasive) et/ou d'une oxygéno-dépendance au-delà de 36 semaines d'âge corrigé (l'équivalent post-natal des semaines d'aménorrhée) (22). Elle constitue la principale complication respiratoire de la grande prématurité et peut être associée à des troubles du neuro-développement dans les premières années de vie, et ce d'autant plus que la dysplasie broncho-pulmonaire est sévère (23). L'âge gestationnel est un facteur pronostique majeur de dysplasie broncho-pulmonaire. Dans EPIPAGE-2, 1 enfant sur 4 né entre 22 et 26 SA présente une dysplasie broncho-pulmonaire sévère, alors que cela concerne seulement 1 enfant sur 20 né entre 27 et 31 SA (18).

La cause de la naissance prématurée est également associée au risque de dysplasie broncho-pulmonaire à l'âge de 36 SA. Les enfants grands prématurés nés dans un contexte de

pathologie vasculaire avec un RCIU présentent un risque augmenté de dysplasie broncho-pulmonaire modérée à sévère par rapport aux enfants nés sans contexte de pathologie vasculaire (Odds Ratio, OR=4,2 [Intervalle de confiance à 95%, IC95%=2,1-8,6]) (16).

### *Les complications neurologiques*

Les enfants nés grands prématurés peuvent également développer des lésions neurologiques décelées par les échographies transfontanellaires réalisées au cours de la période néonatale. Elles regroupent les hémorragies intra-ventriculaires sévères et les lésions de leucomalacie périventriculaire.

Les **hémorragies intra-ventriculaires** surviennent au cours des premières semaines de vie au niveau des plexus choroïdes, zones richement vascularisées à l'intérieur des ventricules latéraux. Ces saignements sont la conséquence d'une fragilité vasculaire et d'anomalies du flux sanguin cérébral. Les hémorragies sont classées en 4 grades selon leur gravité d'après la classification de Papile (24). Les formes considérées comme sévères sont les hémorragies de grade 3 (hémorragie intra-ventriculaire associée à une dilatation ventriculaire) et les hémorragies de grade 4 (extension de l'hémorragie en intra-parenchymateux). Dans la cohorte EPIPAGE-2, parmi les enfants vivants à la sortie de néonatalogie, les taux d'hémorragies intra-ventriculaires sévères étaient de 12% pour les enfants nés entre 22 et 26 SA et de 3% entre 27 et 31 SA (18).

La **leucomalacie périventriculaire** est définie par la présence de lésions de nécrose de la substance blanche périventriculaire, éventuellement associée à des lésions kystiques. Elle est moins fréquente, et touchait entre 1 et 2% des nouveau-nés grands prématurés en France en 2011 (18).

L'association entre la cause de naissance prématurée et les lésions neurologiques sévères a également été étudiée dans l'étude EPIPAGE-2 (15). Les enfants nés dans un contexte d'hématome rétro-placentaire ou de mise en travail spontané avec un syndrome inflammatoire présentaient un risque augmenté de lésions neurologiques sévères par rapport aux enfants nés dans un contexte de pathologie vasculaire (15).

Les lésions cérébrales sévères vont fortement conditionner le pronostic immédiat mais surtout à plus long terme du nouveau-né grand prématuré. En effet, leur présence est associée à une augmentation des troubles du neuro-développement, moteurs et cognitifs, dans l'enfance :

- La paralysie cérébrale (de l'anglais « cerebral palsy ») est définie comme tout déficit moteur permanent résultant d'une lésion non évolutive d'un cerveau immature. Elle regroupe : les diplégies, les hémiplegies et quadriplégies spastiques, parfois associées à des troubles de la coordination ou des mouvements involontaires. La prévalence des paralysies cérébrales à l'âge de 5 ans est de près de 6% chez les enfants nés entre 27 et 31 SA et 12% chez ceux nés entre 22 et 26 SA dans EPIPAGE-2 (25).
- Le pronostic intellectuel est aussi une source d'inquiétude chez ces enfants. On estime que 15 à 25% des enfants nés grands prématurés présentent un déficit intellectuel à l'âge de 5 ans, défini par un score de quotient intellectuel (QI) < -2 DS (déviations standards) (25).

D'autres complications néonatales moins fréquentes peuvent survenir, telles que les complications neurosensorielles et les pathologies digestives.

#### *Les complications neurosensorielles*

La **rétinopathie du prématuré** (ROP) est une anomalie du développement des vaisseaux sanguins de la rétine, pouvant entraîner un décollement de la rétine et donc une baisse de l'acuité visuelle, voire une cécité (1). La rétinopathie touche surtout les enfants nés à un petit âge gestationnel et sa prévalence en France en 2011 était de 6% pour les enfants nés avant 26 SA et de seulement 0,3% pour ceux nés entre 27 et 31 SA (18). La prématurité et le faible poids de naissance sont également des facteurs de risque de **déficit auditif** voire de **surdité**, pouvant nécessiter un appareillage auditif (1).

### *La complication digestive*

L'**entérocolite ulcéro-nécrosante** est une complication digestive sévère de la prématurité. Elle est caractérisée par une inflammation de la muqueuse intestinale qui conduit à l'apparition de lésions de nécrose, pouvant évoluer vers une perforation digestive. L'évolution clinique peut être fulminante, avec un risque de défaillance multi-viscérale. La gravité est établie à partir du score de Bell (26) : le stade 1 associe une instabilité clinique et une distension abdominale, avec parfois des rectorragies ; le stade 2 est associé à la présence d'une pneumatose pariétale et le stade 3 à un pneumopéritoine attestant l'existence d'une perforation digestive. L'entérocolite ulcéro-nécrosante est sévère en cas de stade 2 ou 3 de la classification de Bell. En France en 2011, les taux d'entérocolite ulcéro-nécrosante étaient de 5% pour les enfants nés entre 22 et 26 SA et de 3% entre 27 et 31 SA (18).

### *Les complications infectieuses*

Les infections néonatales concernent par définition les nouveau-nés au cours de leurs 28 premiers jours de vie. Le diagnostic positif de ces infections repose sur la mise en évidence d'un germe unique et pathogène dans un site normalement stérile : le sang ou le liquide céphalo-rachidien (27).

Les infections néonatales sont classiquement divisées en 2 catégories : l'infection néonatale précoce quand les signes surviennent dans les 3 premiers jours de vie ; l'infection néonatale tardive quand les signes surviennent après le 3<sup>ème</sup> jour de vie (27). Cette différenciation entre infections précoces et tardives selon l'âge de survenue permet de distinguer deux voies de contamination différentes : une transmission verticale pour les infections précoces (c'est à dire une transmission materno-fœtale) et une transmission horizontale pour les infections tardives (transmission depuis l'environnement du nouveau-né, par les soignants, les parents, ou le matériel). Cette distinction permet également d'adapter l'antibiothérapie empirique basée sur les germes pathogènes les plus souvent impliqués pour chaque type d'infection.

L'incidence des infections néonatales précoces est estimée entre 0,7 et 1,0‰ naissances vivantes aux Etats-Unis, avec des taux d'autant plus élevés que l'âge gestationnel ou le poids de naissance sont bas : 0,6‰ pour les nouveau-nés de poids de naissance supérieur à 2500g,

1,4‰ pour un poids de naissance entre 1500 et 2500g et jusqu'à 11‰ naissances vivantes pour les nouveau-nés dont le poids de naissance est inférieur à 1500g (28). Les conséquences des infections néonatales précoces sont potentiellement graves, puisqu'elles peuvent conduire au décès. Cette mortalité varie en fonction de l'âge gestationnel du nouveau-né : de 2 à 3% chez le nouveau-né à terme, elle s'élève à plus de 20% chez l'enfant prématuré (28).

Les infections néonatales tardives chez le nouveau-né grand prématuré sont des infections nosocomiales, également appelées infections associées aux soins. Les infections néonatales tardives touchent environ 20% des enfants grands prématurés. Elles sont responsables d'une augmentation de la morbidité des nouveau-nés concernés et de la mortalité (qui varie de 18 et 36% dans cette population) (29,30). Thème central de cette thèse, cette partie sera détaillée dans la partie 2.

#### *La survie sans morbidité néonatale sévère*

Des critères composites comme la **survie sans morbidité sévère** sont aujourd'hui utilisés pour apprécier plus finement le pronostic de ces enfants. Dans l'étude EPIPAGE-2, la morbidité néonatale sévère était définie comme la présence d'au moins un des critères suivants (18) : lésions neurologiques sévères, entérocolite ulcéro-nécrosante sévère, rétinopathie du prématuré sévère, et/ou dysplasie broncho-pulmonaire sévère.

Les taux de survie sans morbidité sévère à la sortie de néonatalogie variaient de 59% pour les enfants nés entre 22 et 26 SA à 87% entre 27 et 31 SA (18). Entre 1997 (cohorte EPIPAGE-1) et 2011 (cohorte EPIPAGE-2), les taux de survie sans morbidité sévère n'ont pas évolué pour les enfants nés entre 22 et 24 SA, alors que la survie sans morbidité sévère s'est améliorée pour les enfants de plus de 25 SA (Figure 2).

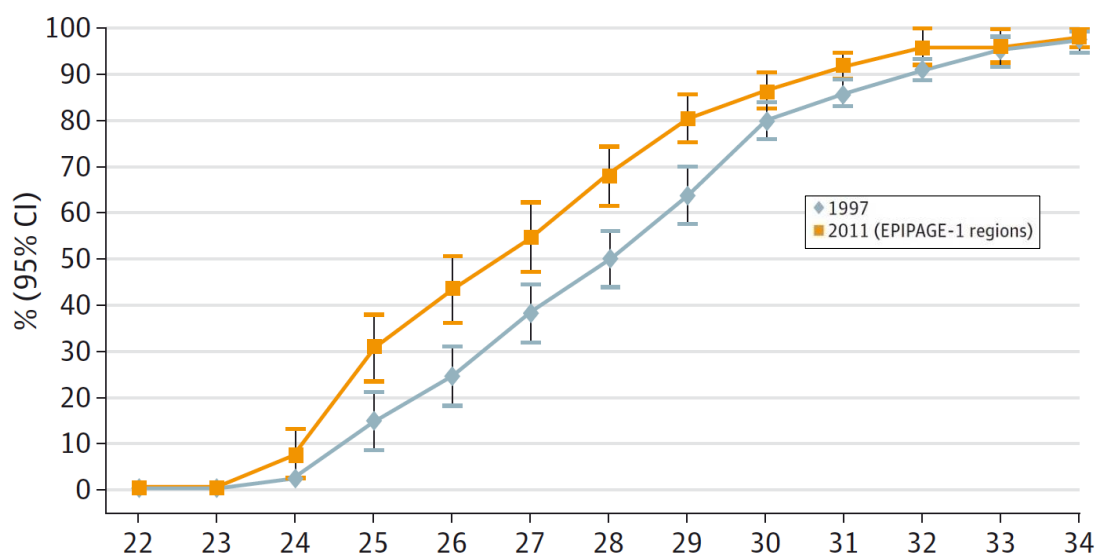


Figure 2 : Évolution de la survie sans morbidité néonatale sévère entre 1997 (EIPAGE-1) et 2011 (EIPAGE-2) selon l'âge gestationnel de naissance (en SA). D'après Ancel *et al* (18)

En synthèse, le tableau 1 rappelle les fréquences des principales complications néonatales selon l'âge gestationnel de naissance dans la cohorte EIPAGE-2.

Tableau 1 : Incidence des principales complications néonatales selon l'âge gestationnel de naissance.

	<b>22-26 SA</b>	<b>27-31 SA</b>
<b>Décès</b>	47,6%	6,4%
<b>Dysplasie broncho-pulmonaire modérée à sévère</b>	25,6%	4,6%
<b>Lésions neurologiques sévères</b>		
<b>Hémorragies intraventriculaires sévères</b>	12,9%	3,7%
<b>Leucomalacie périventriculaire</b>	2,4%	0,8%
<b>Rétinopathie sévère du prématuré</b>	6,0%	0,3%
<b>Entérocolite ulcéro-nécrosante</b>	5,1%	3,5%

- En France, chaque année, environ 12000 enfants naissent grands prématurés avant 32SA, soit 1,2% des naissances.
- La survie des grands prématurés s'est améliorée entre 1997 et 2011, tout comme la survie sans morbidité néonatale sévère, pour les âges gestationnels de naissances supérieurs à 25SA.
- L'âge gestationnel est un facteur pronostique majeur pour la mortalité et les morbidités néonatales.
- La cause de prématurité est également associée à des profils de complications néonatales différents.

## 2. Les infections néonatales tardives

Malgré les progrès techniques et médicaux majeurs réalisés ces dernières décennies dans la prise en charge des enfants nés grands prématurés, les infections néonatales tardives restent une préoccupation majeure des équipes soignantes en réanimation et soins intensifs néonataux. Elles ne sont pourtant le plus souvent pas prises en compte dans l'évaluation de la morbidité néonatale considérée comme sévère. Or les infections néonatales tardives sont fréquentes, et associées à une morbidité et une mortalité importante comme nous allons le présenter dans cette partie.

### 2.1 Définitions et épidémiologie

Les infections néonatales tardives (INT) ou late-onset sepsis en anglais (LOS) sont définies comme des infections survenant après le 3<sup>ème</sup> jour de vie chez le nouveau-né. Ces infections chez le nouveau-né grand prématuré hospitalisé sont également appelées infections associées aux soins ou infections nosocomiales.

Le terme de sepsis est plutôt utilisé lorsque l'infection met en jeu le pronostic vital, suite à une dysrégulation de la réponse inflammatoire de l'hôte, avec un tableau clinique évoluant vers une défaillance multi-viscérale (31). Cependant, contrairement aux recommandations internationales sur le sepsis pédiatrique ou adulte, il n'existe pas de définition consensuelle du sepsis néonatal (32). Cette absence de définition du sepsis néonatal doit conduire à la prudence dans l'interprétation et la comparaison des résultats des études internationales.

Les signes cliniques d'infection néonatale tardive sont nombreux et aspécifiques, parfois frustrés ou isolés : troubles de la régulation thermique (fièvre ou hypothermie), troubles hémodynamiques (pâleur, allongement du temps de recoloration cutanée), tachycardie ou bradycardie, signes respiratoires (apnées, détresse respiratoire), troubles neurologiques (hypotonie, irritabilité) (33). Les marqueurs de l'inflammation tels que la CRP (Protéine C réactive) ont beaucoup été étudiés, mais les faibles performances de ces tests (sensibilité, spécificité...) ne permettent pas de les utiliser comme aide fiable au diagnostic des infections néonatales tardives (34,35).

Il est donc souvent difficile de distinguer un symptôme lié à une infection de celui lié à la pathologie initiale (prématurité, pathologie respiratoire...). Par conséquent, les cliniciens sont



confrontés à la problématique d'identifier les patients relevant d'un traitement antibiotique et de ne pas méconnaître une infection qui non traitée mettrait en jeu le pronostic vital de l'enfant.

Le diagnostic de certitude repose sur la mise en évidence d'un germe unique et pathogène dans un site normalement stérile : le sang ou plus rarement le liquide céphalo-rachidien (27). Pourtant, dans la littérature, les infections néonatales tardives sont souvent définies par l'association d'une bactériémie et d'une durée d'antibiothérapie de plus de 5 jours. En effet, en néonatalogie, une seule hémoculture est généralement prélevée (contrairement à l'adulte, pour limiter la spoliation sanguine), ce qui implique un risque plus élevé de contamination du flacon d'hémoculture en raison des difficultés de prélèvements chez le nouveau-né prématuré (36). La présence de l'antibiothérapie comme critère semble permettre de différencier les infections certaines des simples contaminations : la durée prolongée de l'antibiothérapie permet de confirmer que le clinicien a retenu le diagnostic d'infection puisqu'il a poursuivi l'antibiothérapie.

Les infections néonatales tardives touchent entre 10 et 30% des nouveau-nés grands prématurés (30,37–40). La prévalence des infections néonatales tardives varie selon la population étudiée, en fonction notamment de l'âge gestationnel : de 61% chez les enfants nés avant 25 SA à 4% chez ceux nés après 32 SA (38). Etant donné qu'il n'existe pas de définition consensuelle de l'infection néonatale tardive, les comparaisons entre les études sont difficiles. Le tableau 2 reprend les caractéristiques de plusieurs études sur les infections néonatales tardives, avec leur population d'étude et la définition retenue.

Tableau 2 : Prévalence des infections néonatales tardives dans les principales études de la littérature

Pays	Type d'étude	Années de naissance	Population étudiée	Définition retenue	Fréquence des infections
Allemagne (German Neonatal Network) (40)	Registre hospitalier regroupant des services de réanimation néonatale	2003-2011	<32SA et <1500g	Hémoculture positive et ≥2 signes cliniques ou biologiques*	15,0% (883/5886)
Norvège (39)	Cohorte en population	1999-2000	<1000g ou < 28SA	Hémoculture positive après J6 de vie avec signes cliniques compatibles (sans autre précision dans l'article)	19,7% (80/405)
USA (NICHD) (30)	Registre hospitalier regroupant des services de réanimation néonatale	1998-2000	<1500g survivants à J3	Hémoculture positive après J3 de vie et antibiothérapie ≥5 jours ou moins si décès	21,0% (1313/6215)
USA (38)	Registre hospitalier regroupant des services de réanimation néonatale	2002-2008	<1500g ou <29 SA	Hémoculture positive et antibiothérapie ≥5 jours ou moins si décès	25,0% (3797/15178)

\* 2 signes parmi les suivants : température >38°C ou <36.5°, tachycardie ou bradycardie, apnées, allongement du temps de recoloration cutanée, acidose métabolique, hyperglycémie, hypotonie.

## 2.2 Physiopathologie et facteurs de risque

Les mécanismes physiopathologiques des infections néonatales tardives chez le nouveau-né prématuré sont complexes et multifactoriels. Nous allons présenter les principaux facteurs de risque des infections néonatales tardives, liés aux caractéristiques individuelles des nouveau-nés, à l'immaturation de leurs systèmes de défense, et à leur environnement. La particulière susceptibilité des nouveau-nés grands prématurés aux infections tardives peut s'expliquer en partie par la présence simultanée et synergique de ces différents facteurs de risque ou de prédisposition.

Le principal facteur de risque des infections néonatales tardives est le **petit âge gestationnel**. La fréquence des infections néonatales tardives est d'autant plus élevée que l'âge gestationnel est faible. Dans une étude américaine à partir du registre hospitalier du NICHD (National Institute of Child Health and Human Development) incluant plus de 20 000 enfants, la prévalence des infections néonatales tardives était de 62% pour les <25SA, 30% pour les 25-28SA et 10% pour les 29-32SA (38). Tröger *et al* ont pu mettre en évidence la diminution du taux d'infection tardive pour chaque semaine d'âge gestationnel supplémentaire à partir des données d'un registre hospitalier allemand (Figure 3) (40).

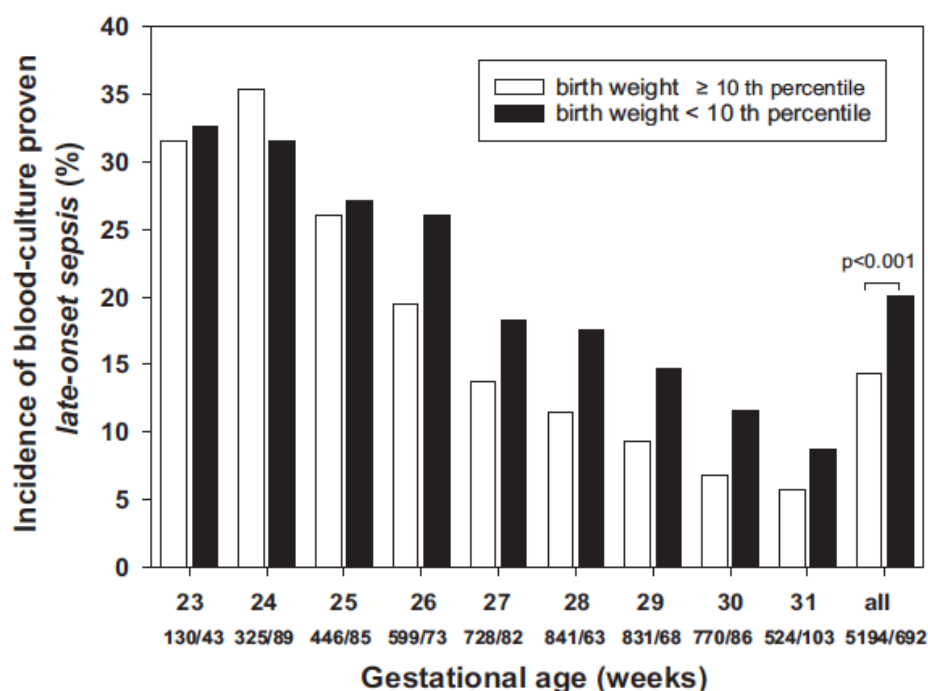


Figure 3 : Évolution du taux d'infection néonatale tardive selon la semaine d'âge gestationnel de naissance, selon que les enfants soient eutrophes ou avec un petit poids pour l'âge gestationnel (poids de naissance <10ème percentile). D'après Tröger *et al* (40)

Le taux d'infection néonatale tardive est également d'autant plus élevé que le **poids de naissance** est faible. Dans l'étude citée précédemment sur le registre du NICHD, la prévalence des infections néonatales tardives était de 51% pour les enfants de poids de naissance compris entre 500 et 750 grammes, de 32% pour ceux de 750-1000g et 15% pour ceux de 1000-1250g (38).

Les enfants nés grands prématurés avec un **petit poids pour l'âge gestationnel**, c'est à dire un poids de naissance inférieur au 10<sup>ème</sup> percentile pour leur âge gestationnel, présentent également un risque augmenté d'infection tardive par rapport aux enfants eutrophes (Figure 3) (40).

Les nouveau-nés grands prématurés présentent une immaturité de leurs capacités de défense face aux micro-organismes, à différents niveaux. Tout d'abord, le nouveau-né prématuré présente une **immaturité de la barrière cutanée et muqueuse**. Cette barrière est extrêmement fragile chez ces enfants. En effet, la peau est très fine avec une couche cornée peu développée. Les nombreuses procédures invasives nécessaires à leur prise en charge médicale, comme l'intubation endo-trachéale, la ponction veineuse pour prélèvement sanguin, la pose de voie veineuse périphérique ou de cathéter central, conduisent à des ruptures répétées des barrières cutanées et muqueuses, alors que ces barrières sont les premières lignes de défense dans la lutte contre l'infection.

De plus, le nouveau-né prématuré présente une **immaturité des défenses immunitaires**. Pendant la période fœtale, *in utero*, la règle est la « tolérance » : le système immunitaire fœtal doit tolérer les antigènes maternels. Brusquement, après la naissance, le nouveau-né est exposé à une très grande quantité d'antigènes que le système immunitaire doit reconnaître comme étrangers. La naissance nécessite donc une adaptation rapide du système immunitaire. Les nouveau-nés ont une réponse immunitaire innée et adaptative altérée par rapport aux adultes, avec notamment une diminution de la quantité et de l'activité fonctionnelle des polynucléaires neutrophiles et un faible taux d'anticorps circulants (41). Le faible taux d'anticorps est particulièrement marqué chez les nouveau-nés grands prématurés puisque les anticorps d'origine maternelle sont transmis par voie placentaire à partir de la 32<sup>ème</sup> semaine d'aménorrhée. Les enfants grands prématurés ne disposent donc pas de cette protection transmise par la mère.

Il en résulte que le risque d'infection est plus élevé à la naissance qu'à toute autre période de la vie (41). Cette vulnérabilité immunitaire est encore plus marquée chez le nouveau-né grand prématuré, pour lequel l'**environnement** hospitalier joue en plus un rôle dans la survenue des infections. Ces enfants sont particulièrement exposés à des germes hospitaliers potentiellement pathogènes et résistants aux antibiotiques. La transmission manuportée des germes est la principale source d'infection des nouveau-nés hospitalisés, d'où l'importance d'une hygiène scrupuleuse des mains et des surfaces.

Le rôle du **microbiote intestinal** semble également important dans la prévention des infections néonatales. Le microbiote intestinal, plus communément appelé flore intestinale, est l'ensemble des micro-organismes (bactéries, levures, virus) qui vit à la surface du tube digestif. Le microbiote intestinal est déjà présent pendant la vie fœtale mais son développement se poursuit après la naissance. Plusieurs facteurs peuvent influencer son implantation et être à l'origine d'une altération de ce microbiote, appelée dysbiose : une rupture prolongée des membranes, une antibiothérapie ou antibioprophylaxie maternelle, une naissance par césarienne notamment (42,43). Une antibiothérapie chez le nouveau-né dont l'indication ne serait pas optimale pourrait également être délétère pour l'établissement de son microbiote (44). D'autres facteurs liés aux pratiques médicales de chaque unité de réanimation néonatale pourraient également être associés au type de microbiote (pratique du peau à peau, sédation dans la première semaine, rapidité d'augmentation de la nutrition entérale par exemple) (45). Le bon équilibre du microbiote intestinal est important pour ses actions de protection contre les pathogènes (rôle barrière) et de développement du système immunitaire (activation des cellules immunitaires). La perturbation de cet équilibre pourrait être associée à des épisodes d'infection néonatale tardive ou d'entérocolite ulcéro-nécrosante (46,47).

La **fragilité du tube digestif** est probablement également impliquée dans la physiopathologie des infections néonatales. En effet, la majorité des bactéries impliquées dans les infections néonatales tardives chez les nouveau-nés prématurés, y compris les Staphylocoques, sont originaires du tube digestif du nouveau-né (48). Plusieurs études ont mis en évidence la présence de la bactérie impliquée dans les selles avant ou au moment de la survenue du sepsis (48–51). La translocation est facilitée par l'immaturation du tube digestif

chez le nouveau-né grand prématuré, en raison d'une plus grande perméabilité, d'une moindre sécrétion de mucus et une moins bonne protection immune (52). La septicémie peut donc survenir au décours d'une translocation bactérienne à point de départ digestif.

Enfin, d'autres facteurs liés à la prise en charge réanimatoire ont pu être identifiés comme associés à un risque augmenté d'infection néonatale tardive. Les **gestes invasifs** comme l'intubation trachéale ou les ponctions veineuses ont pu être identifiés comme des facteurs de risque d'infection néonatale tardive. En effet, ces gestes conduisent à des effractions des barrières cutanées et muqueuses et sont donc des potentielles portes d'entrée pour les bactéries (27), mais leur nécessité reflète également l'immaturation globale du nouveau-né le rendant plus susceptibles aux infections.

Des facteurs comme la **durée de ventilation mécanique** ou la **nutrition parentérale prolongée** ont également été évoqués. La question complexe de prendre en compte ou non la durée de cathéter central et donc la durée de nutrition parentérale dans nos analyses a été au cœur de notre réflexion pour ce travail de thèse.

En effet, les infections néonatales tardives regroupent différentes entités, dont les infections associées aux cathéters centraux (Central line-associated bloodstream infections [CLABSI] en anglais) qui sont des bactériémies pouvant être imputées à la présence du cathéter central. Cette définition est bien codifiée et largement utilisée chez l'adulte. Elle nécessite le prélèvement de plusieurs hémocultures (sur le cathéter central et en périphérie) pour affirmer le diagnostic. En raison des difficultés de prélèvements sanguins et de l'épargne transfusionnelle chez le nouveau-né grand prématuré, une seule hémoculture est le plus souvent prélevée devant une suspicion d'infection néonatale tardive ne permettant pas un diagnostic étiologique précis.

La nécessité d'une voie d'abord centrale prolongée dépend chez le nouveau-né prématuré de son âge gestationnel de naissance, de son poids de naissance et du degré de sévérité de la morbidité néonatale : pathologie respiratoire, intolérance digestive nécessitant la poursuite d'une alimentation parentérale, entérocolite ulcéro-nécrosante... Pour la très grande majorité des enfants nés grands prématurés, la pose d'un cathéter central est nécessaire dès la naissance, au moins pour la nutrition parentérale, expliquant que 95% des enfants de notre population d'étude ait eu au moins un cathéter central pendant leur séjour.

Enfin, la durée de cathéter central prolongée est souvent évoquée comme étant la cause de l'épisode d'infection néonatale tardive. Cependant, l'infection néonatale tardive peut être associée à une aggravation de la morbidité néonatale (dégradation sur le plan respiratoire, troubles hémodynamiques, mauvaise tolérance de l'alimentation) qui conduit à la prolongation de l'utilisation du cathéter central. L'administration du traitement antibiotique est également responsable d'une augmentation de la durée de cathéter central. Ainsi, il n'est pas possible d'intégrer la durée de cathéter central dans les analyses puisque cette durée allongée peut également être la conséquence d'un épisode d'infection néonatale tardive.

### 2.3 Conséquences

Les infections néonatales tardives peuvent avoir des conséquences à court, moyen et long terme. La **mortalité** associée aux infections néonatales tardives est élevée, environ 10% et elle est d'autant plus élevée que l'âge gestationnel et le poids de naissance sont faibles (53).

Comme évoqué précédemment, les infections néonatales tardives sont associées à une **intensification de la prise en charge réanimatoire** pendant le séjour hospitalier (recours à la ventilation non invasive ou invasive, arrêt de la nutrition entérale, ou encore augmentation de la durée de nutrition parentérale) conduisant à une **augmentation de la durée d'hospitalisation** (54).

Enfin, les infections néonatales tardives pourraient également avoir des conséquences à plus long terme, en augmentant le risque de survenue de **troubles du neuro-développement**. Cependant, les conséquences précises des infections néonatales tardives sur le développement moteur et cognitif sont encore discutées (55,56).

Dans ce contexte, il semble essentiel d'améliorer le diagnostic précoce de ces infections, de limiter la pression de sélection antibiotique en néonatalogie et ses conséquences délétères sur l'écologie microbienne des services ainsi que sur le microbiote des enfants nés prématurés.

## 2.4 Prévention

La prévention des infections néonatales tardives repose sur différents types de mesures complémentaires.

**L'hygiène des mains** reste fondamentale car la transmission manuportée des germes est une voie importante de contamination (57,58), par les soignants mais aussi par les parents (59).

**L'hygiène des surfaces** est également primordiale. Des prélèvements réalisés dans un service français de réanimation néonatale ont mis en évidence une colonisation de nombreuses surfaces par un clone de *Staphylocoque capitis* (incubateurs, paillasses, scope, ordinateurs) avec une inefficacité partielle des mesures de décontamination du matériel (58). Les incubateurs peuvent être un réservoir important de germes : certaines bactéries pathogènes peuvent persister après l'étape de la décontamination, avec une recolonisation précoce des surfaces par une flore similaire à celle identifiée avant décontamination (60). De nouvelles techniques de décontamination des incubateurs par des pulvérisateurs de vapeur seraient plus efficaces pour l'hygiène des surfaces (61,62).

La **stimulation du système immunitaire** est également une piste évoquée pour la prévention des infections néonatales tardives. Les hypothèses sont nombreuses mais aucune intervention n'a encore prouvé son efficacité. L'administration de GM-CSF (Granulocyte-Macrophage colony stimulating factor) permet d'augmenter le nombre de polynucléaires neutrophiles circulants mais ne permet pas une diminution du taux d'infections néonatales tardives (63). La lactoferrine est une glycoprotéine impliquée dans la réponse immunitaire innée à l'infection. Son administration a été évoquée dans les pistes pour la prévention des infections, ou encore la perfusion d'immunoglobulines polyvalentes pour compenser le faible taux d'immunoglobulines circulants chez le nouveau-né grand prématuré. Mais ces interventions n'ont pas permis de diminuer l'incidence des infections néonatales tardives (64,65).

Enfin, la **préservation du microbiote intestinal** et de sa diversité semble importante, notamment par l'utilisation raisonnée des antibiotiques, par la limitation de l'utilisation des antibiotiques à large spectre, et par la réduction de la durée des antibiothérapies. La surveillance de l'épidémiologie des infections néonatales tardives dans les unités de soins et



de l'écologie bactérienne ainsi que la rédaction de protocoles de service pour la prise en charge des infections néonatales tardives sont autant de procédures primordiales pour limiter le recours inutile à de multiples antibiothérapies.

- Les infections néonatales tardives sont des infections survenant après 3 jours de vie, correspondant à une transmission horizontale depuis l'environnement.
- Elles touchent 10 à 30% des nouveau-nés grands prématurés.
- Les mécanismes physiopathologiques sont multiples et peuvent impliquer des facteurs propres à l'enfant mais aussi des facteurs liés à son environnement.
- Mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques des infections néonatales tardives pour essayer de prévenir les infections, identifier les typologies de patients les plus à risque et ainsi limiter leurs conséquences sur le développement des enfants constitue un défi pour les années à venir.

### 3. Les antibiothérapies en néonatalogie

Les antibiotiques sont parmi les thérapeutiques les plus fréquemment prescrites dans les unités de réanimation et soins intensifs néonataux (66). Du fait des limites des critères cliniques listés plus haut (section 2.1), le diagnostic d'infection néonatale tardive est fréquemment évoqué, entraînant une exposition importante aux antibiotiques avec une forte proportion d'antibiothérapie en « excès » dont les conséquences sont multiples.

#### 3.1 Fréquence et indications

L'exposition des enfants nés grands prématurés aux antibiotiques est très fréquente durant leur hospitalisation initiale. En 2006, l'ampicilline et la gentamicine étaient les deux médicaments les plus prescrits dans 220 unités de soins intensifs néonataux américains (67). D'après l'analyse d'une base de données médico-administrative regroupant plus de 300 unités de soins intensifs néonataux aux Etats-Unis entre 2005 et 2010, 68% des nouveau-nés hospitalisés, et plus de 80% de ceux dont le poids de naissance était inférieur à 1000g recevaient de l'ampicilline et de la gentamicine pendant leur séjour (66). En France, d'après une analyse rétrospective des prescriptions de plus de 5000 enfants grands prématurés nés entre 2017 et 2018 (représentant environ 40% des enfants nés avant 32 SA en France), 79% d'entre eux ont reçu pendant leur séjour un aminoside, 64% de la cefotaxime, 26% de l'amoxicilline et 35% de la vancomycine (68).

Cependant, il existe une grande variation dans le taux de prescription d'antibiotiques entre les unités de réanimation néonatale. Parmi 127 unités de soins intensifs néonataux en Californie, une variation d'un facteur 40 a été mise en évidence dans les taux de prescription d'antibiotiques, sans corrélation avec les taux d'infections néonatales ou d'entérococolite ulcéro-nécrosante, le volume d'activité chirurgicale ou encore la mortalité dans ces centres (69). Dans une autre étude américaine, la proportion d'enfants recevant une antibiothérapie de plus de 5 jours durant la première semaine de vie variait entre 16 et 77% selon les unités, alors que l'incidence des infections néonatales précoces variait de 0 à 7% dans ces mêmes centres (70). Cette grande variabilité du taux d'antibiothérapie entre les centres peut s'expliquer par plusieurs points : l'absence de consensus sur la définition du sepsis néonatal, les signes cliniques aspécifiques des infections néonatales et la faible performance des

biomarqueurs dans l'aide au diagnostic (71). Les habitudes et protocoles de chaque service expliquent aussi probablement une partie de cette variabilité.

En néonatalogie, les antibiotiques peuvent être administrés dans plusieurs situations :

- au moment de la naissance, en cas de facteurs de risque d'infection néonatale précoce, même en l'absence de signes cliniques. La prématurité est souvent considérée comme un facteur de risque en soi, sans toujours tenir compte de la cause de la naissance prématurée.

- en cas d'entérocolite ulcéro-nécrosante : les antibiotiques sont initiés en raison du risque élevé de translocation bactérienne.

- devant la présence de signes cliniques évocateurs d'infection néonatale précoce ou tardive. Cependant, comme nous l'avons vu précédemment (section 2.1), ces signes cliniques sont très peu spécifiques. Les antibiotiques sont donc souvent initiés devant une instabilité clinique du nouveau-né grand prématuré : instabilité hémodynamique, respiratoire, ou digestive. L'infection étant une cause potentiellement curable de cette instabilité clinique et le risque de décès étant élevé dans certaines infections, les antibiotiques sont initiés en urgence, sans certitude diagnostique (70).

Les antibiothérapies sont donc le plus souvent empiriques ou probabilistes, c'est à dire que les traitements sont débutés sans attendre la confirmation bactériologique de l'infection et l'identification de son agent causal.

Les progrès techniques en bactériologie permettent de détecter des bactériémies avec un faible inoculum ( $< 10$  colony-forming units [CFU] par millilitre de sang). Lorsque l'hémoculture a été faite dans de bonnes conditions et qu'elle est stérile après un délai de 48 heures, le clinicien pourrait donc arrêter l'antibiothérapie (72). Pourtant, les antibiotiques sont initiés à la naissance chez une majorité des nouveau-nés grands prématurés et sont souvent poursuivis malgré des hémocultures stériles (73). Cotten *et al* ont souligné que la moitié des enfants de poids de naissance inférieur à 1000g de leur registre hospitalier américain recevaient des antibiotiques plus de 5 jours malgré le fait que les hémocultures prélevées à la naissance soient stériles (74).

Il semble donc nécessaire d'optimiser la stratégie de prescription des antibiotiques dans les services de réanimation néonatale. Un enjeu majeur est de réduire l'utilisation des antibiothérapies à large spectre, pouvant conduire à la sélection et l'émergence des bactéries multi-résistantes.

### 3.2 Conséquences des antibiothérapies en néonatalogie

Si les antibiotiques sont indispensables en cas d'infection, leur utilisation inappropriée ou excessive expose les nouveau-nés à des risques qu'il ne faut pas sous-estimer (71).

Tout d'abord, il existe un **risque iatrogène** propre aux molécules antibiotiques utilisées, avec par exemple un risque d'insuffisance rénale liée à l'utilisation de la vancomycine ou des aminosides.

De plus, à court terme, l'antibiothérapie néonatale pourrait être impliquée dans la **sélection de certaines bactéries résistantes aux antibiotiques**. Cette augmentation de la résistance aux antibiotiques, notamment des bacilles à Gram négatif, peut entraîner la constitution d'un réservoir potentiel pour des épidémies hospitalières lorsque ces bacilles colonisent le tractus digestif du nouveau-né (75).

Ensuite, les antibiothérapies néonatales pourraient avoir un **effet sur l'implantation du microbiote** chez le nouveau-né grand prématuré. Le microbiote des enfants nés à terme, par voie basse avec un allaitement maternel exclusif est considéré comme le microbiote standard. La colonisation du microbiote intestinal des enfants nés grands prématurés est différente de celle des enfants nés à terme, avec une plus faible diversité de la flore et une colonisation retardée par les bactéries commensales, une augmentation de la proportion des Entérobactéries, et une plus grande fréquence de bactéries pathogènes comme les *Klebsiella sp* (48). Dans l'étude de Arboleya *et al* sur la composition du microbiote, l'effet de la voie d'accouchement était moins marqué chez l'enfant né grand prématuré que chez le nouveau-né à terme (76). En revanche, les antibiotiques administrés pendant le travail ou après l'accouchement étaient associés à une composition différente du microbiote, avec notamment plus d'Entérobactéries (76).

Les effets de l'antibiothérapie néonatale pourraient persister au-delà de l'arrêt du traitement. Ainsi, des modifications de la flore fécale ont été observées à l'âge d'un mois chez les enfants exposés aux antibiotiques à la naissance (43).

Etudier précisément les conséquences des antibiothérapies néonatales en termes de mortalité et de morbidités néonatales est complexe. La méthodologie utilisée varie dans la littérature, rendant les comparaisons entre les études difficiles (Tableau 3).

Tableau 3 : Morbi-mortalité associée à l'utilisation d'antibiotiques dans la littérature

<b>Auteurs et année</b>	<b>Population</b>	<b>Exposition aux antibiotiques</b>	<b>Critère de jugement</b>	<b>Odds ratio [IC95%]</b>
Cotten 2009 (74)	<1000g vivants ≥5 jours, sans INBP	Initiés dans les 3 premiers jours de vie avec une durée ≥5 jours malgré hémoculture stérile	Décès ou ECUN	1,30 [1,10-1,54]
Cantey 2017 (77)	≤32 SA et ≤1500g vivants à J14, sans INT et ECUN	Dans les 14 premiers jours de vie	Décès ou DBP	1,80 [1,65-1,96] par jour d'antibiothérapie
Cantey 2018 (78)	≤32 SA et ≤1500g vivants à J14, sans INT et ECUN	Dans les 14 premiers jours de vie	Décès ou INT ou ECUN	1,47 [1,32-1,64] par jour d'antibiothérapie
Ting 2019 (72)	≤1500g vivants à J7 sans INT et ECUN	Dans les 7 premiers jours de vie	Décès ou morbidité majeure*	1,47 [1,26-1,68] par jour d'antibiothérapie
Li 2020 (79)	≤1500g	Initiés dans les 3 premiers jours de vie	ECUN	0,25 [0,12-0,47]

INBP : infection néonatale bactérienne précoce ; SA : semaines d'aménorrhée ; DBP : dysplasie broncho-pulmonaire ; INT : infection néonatale tardive ; ECUN : entérocolite ulcéro-nécrosante

\* lésions neurologiques sévères, entérocolite ulcéro-nécrosante, rétinopathie du prématuré, dysplasie broncho-pulmonaire, infection néonatale tardive

Une des premières études sur les conséquences des antibiothérapies a été publiée par Cotten *et al* en 2009 (74). Dans cette étude portant sur 3883 enfants de très petit poids de naissance, l'antibiothérapie initiée dans les 3 premiers jours de vie et administrée pendant plus de 5 jours sans hémoculture positive était associée à un risque augmenté de décès ou d'entérocolite ulcéro-nécrosante. Néanmoins les résultats doivent être interprétés avec une certaine prudence compte tenu du nombre important de données manquantes et des biais de sélection possibles.

D'autres études ont évalué les conséquences des antibiothérapies administrées dans les 14 premiers jours de vie, chez des enfants toujours vivants à J14 et n'ayant pas présenté d'infection néonatale tardive ni entérocolite ulcéro-nécrosante pendant cette période (77,78). Ces études montrent une augmentation du risque de décès, entérocolite ou infection néonatale tardive pour chaque jour d'antibiothérapie supplémentaire mais aussi une augmentation du risque de dysplasie broncho-pulmonaire.

Ting *et al* ont mis en évidence une augmentation de risque de décès ou de morbidité majeure (lésions neurologiques sévères, entérocolite ulcéro-nécrosante, rétinopathie du prématuré, dysplasie broncho-pulmonaire, infection néonatale tardive) pour chaque jour d'antibiothérapie dans les 7 premiers jours de vie (72). La population d'étude comprenait les enfants de poids de naissance inférieur à 1500g, vivants à J7 et n'ayant pas présenté d'infection néonatale tardive ni d'entérocolite ulcéro-nécrosante pendant cette période. L'augmentation de risque était retrouvée pour les enfants recevant entre 4 et 7 jours d'antibiotiques au cours de la première semaine de vie par rapport aux enfants ne recevant pas d'antibiothérapie. Cette augmentation était plus marquée dans un sous-groupe d'enfants à bas risque d'infection néonatale précoce (nés par césarienne avant travail et sans diagnostic de chorioamniotite) (72). En revanche, ces associations n'étaient pas observées pour les durées courtes d'antibiothérapie, entre 1 et 3 jours.

Plus récemment, Li *et al* ont mis en évidence, au contraire, une réduction du risque d'entérocolite ulcéro-nécrosante dans une population d'enfants de poids de naissance inférieur à 1500g. Dans cette étude incluant 2831 enfants, le taux d'antibiothérapie dans les 3 premiers jours était très élevé, entre 70 et 99%, avec pour conséquence un groupe contrôle sans antibiotique de faible effectif et très sélectionné. En effet, les caractéristiques des enfants des deux groupes étaient très différentes, notamment le taux de naissance par césarienne, l'âge gestationnel de naissance et la proportion d'enfants petits pour l'âge gestationnel. Ces caractéristiques sont prises en compte dans le choix d'initier ou non une antibiothérapie dans les 3 premiers jours de vie, mais sont également des facteurs de risque d'entérocolite ulcéro-nécrosante. Nous avons rédigé une lettre à l'éditeur de The Journal of Pediatrics afin d'alerter sur le risque de biais d'indication dans cette étude. Celle-ci a été publiée en 2020 (Annexe 1). L'utilisation d'un score de propension par exemple, prenant en compte les variables disponibles au moment de la mise en route du traitement antibiotique, pourrait permettre de limiter le biais d'indication.

Cependant, les conséquences des antibiothérapies initiées à la naissance doivent être interprétées de façon différente selon l'indication de mise en place du traitement. En effet, dans une population d'enfants présentant des facteurs de risque d'infection néonatale précoce, en particulier en cas de naissance dans un contexte de travail spontané à membranes intactes ou après rupture prématurée des membranes, l'indication des antibiotiques est claire avec une balance bénéfice/risque en faveur de l'initiation du traitement. En revanche, la question se pose pour les populations à bas risque d'infection néonatale précoce.

Puopolo *et al* ont cherché à identifier les nouveau-nés grands prématurés à bas risque d'infection néonatale précoce (70). En effet, l'identification des nouveau-nés à bas risque pourrait aider à la décision pour l'initiation et/ou l'arrêt des antibiothérapies empiriques des premiers jours de vie, et pourrait être une étape importante pour diminuer l'exposition aux antibiotiques dans cette population. A partir des données disponibles dans le registre du NICHD, les auteurs ont défini un groupe à bas risque d'infection néonatale précoce, incluant les enfants présentant les caractéristiques suivantes : naissance par césarienne, rupture des membranes au moment de la naissance et absence de chorioamniotite clinique maternelle. Parmi plus de 15 000 enfants nés avant 28 SA, 37% étaient à bas risque d'infection néonatale précoce. L'incidence des infections néonatale précoce était plus faible dans le groupe d'enfants à bas risque par rapport au groupe de comparaison (0,5% versus 2,5%, RR ajusté=0,24 [IC95%=0,16-0,36]) (70). Cette incidence plus faible d'infection néonatale précoce n'était pourtant pas associée à une diminution proportionnelle des antibiothérapies de plus de 5 jours (34% dans le groupe à bas risque d'infection précoce contre 48% dans le groupe de comparaison). Cette population à bas risque d'infection précoce ne présente donc pas d'indication à une antibiothérapie dans les 3 premiers jours de vie : étudier les conséquences de ces antibiothérapies empiriques semble donc primordial.

- Les antibiotiques font partie des médicaments les plus prescrits dans les unités de réanimation néonatale.
- La majorité des enfants nés grands prématurés reçoit des antibiotiques au cours de la première semaine de vie.
- Un biais d'indication est souvent retrouvé dans les études sur les conséquences des antibiothérapies précoces en raison de la non prise en compte du contexte de naissance.

#### 4. Objectifs de la thèse

Les données de la littérature nous montrent donc que les principaux facteurs de risque des infections néonatales tardives sont l'âge gestationnel et le petit poids de naissance. Notre hypothèse est qu'il existe d'autres facteurs de risque en anténatal et en post-natal immédiat. L'étude des facteurs de risque périnataux des infections néonatales tardives devrait permettre d'identifier les enfants nés grands prématurés les plus à risque afin d'améliorer leur surveillance, ainsi que le diagnostic et la prise en charge précoce de ces infections nosocomiales pendant le séjour en réanimation ou en soins intensifs néonataux.

Les objectifs de cette thèse étaient d'étudier l'association entre des facteurs de risque potentiels de la période périnatale, en particulier la cause de prématurité et les antibiothérapies néonatales précoces, et les infections néonatales tardives chez les grands prématurés.

La première partie des résultats de cette thèse sera consacré à décrire les infections néonatales tardives dans la cohorte EPIPAGE 2.

La deuxième partie des résultats présentera l'étude de l'association entre la cause de prématurité et les infections néonatales tardives chez les enfants nés grands prématurés.

Enfin, la troisième partie de nos résultats sera consacrée aux conséquences néonatales des antibiothérapies néonatales précoces administrées aux enfants grands prématurés ne présentant aucun facteur de risque d'infection néonatale précoce.



## METHODES

Les travaux présentés dans cette thèse sont issus des données de la cohorte EIPAGE-2. Dans cette partie, nous allons tout d'abord présenter la cohorte EIPAGE-2 puis décrire les principales méthodes statistiques utilisées pour ce travail doctoral.

### 1. Source des données : la cohorte EIPAGE-2

L'Étude épidémiologique sur les Petits Âges Gestationnels 2 (EIPAGE-2) est une étude de cohorte prospective nationale en population (80,81). La cohorte a été constituée entre le 28 mars et le 31 décembre 2011, dans tous les établissements de 25 des 26 régions françaises. Seule la région Poitou-Charentes, représentant 2% des naissances vivantes en France en 2011, n'a pas participé pour des raisons organisationnelles. Plus de 540 maternités et 280 services de néonatalogie ont participé (Figure 4).

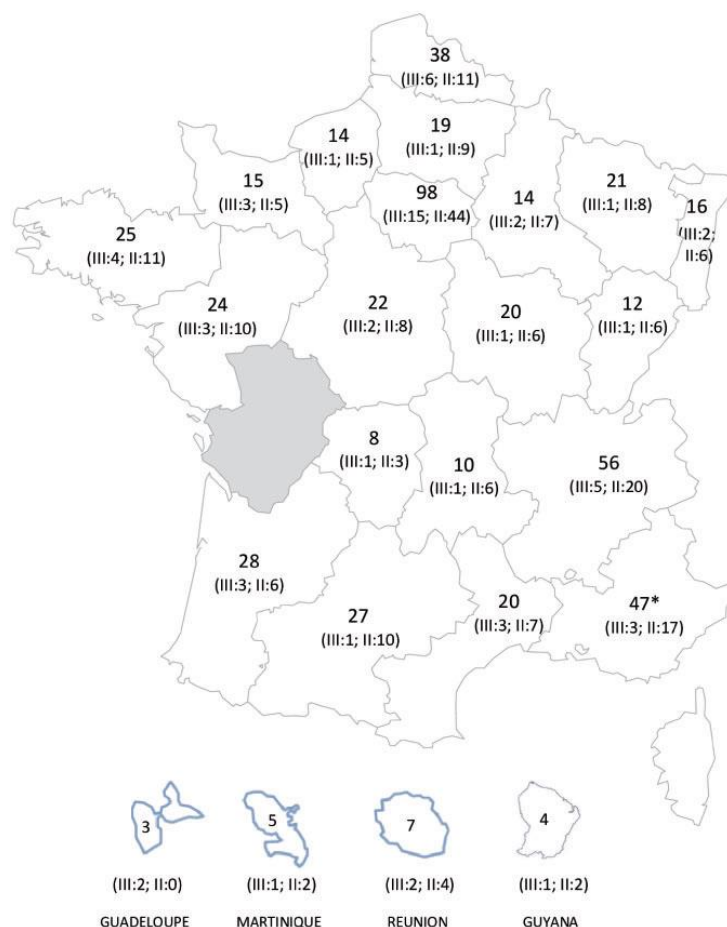


Figure 4 : Nombre de maternités dans chaque région participant à EIPAGE-2.

Entre parenthèses le nombre de maternités de type II et III pour chaque région. Reproduit d'après Lorthe *et al* (81) \* Incluant les maternités de Corse.

Toutes les naissances (interruptions médicales de grossesse, enfants mort-nés et naissances vivantes) survenant entre 22 et 34 SA étaient éligibles, et étaient incluses en cas de non-opposition des parents. La durée de recrutement était différente selon l'âge gestationnel de naissance : 8 mois pour les naissances entre 22<sup>+0</sup> et 26<sup>+6</sup> SA, 6 mois pour les naissances entre 27<sup>+0</sup> et 31<sup>+6</sup> SA et 5 semaines pour celles entre 32<sup>+0</sup> et 34<sup>+6</sup> SA. Le seul critère de non inclusion était l'opposition des parents.

Au total, 8400 naissances étaient éligibles et 7804 ont été incluses, soit un taux de participation de 93%. Pour les enfants éligibles mais non inclus, des données minimales étaient recueillies avec l'accord des comités d'éthique. Ces données correspondaient à celles du certificat de santé du 8<sup>ème</sup> jour : âge gestationnel, poids de naissance, sexe de l'enfant, statut vital.

Nous disposons de données obstétricales et néonatales détaillées, recueillies de façon standardisée. Les données maternelles et obstétricales ont été recueillies à partir des dossiers obstétricaux. Elles comprenaient les caractéristiques socio-démographiques, les antécédents maternels, les informations sur le déroulement et les complications éventuelles de la grossesse, les traitements médicamenteux reçus, les examens cliniques et para-cliniques réalisés lors de la dernière hospitalisation, ainsi que les informations sur l'accouchement et la période du post-partum.

Les données néonatales ont également été collectées à partir des dossiers médicaux, obstétricaux ou pédiatriques. Elles concernaient la prise en charge en salle de naissance, le parcours hospitalier de l'enfant dans les différentes unités de soins incluant les complications respiratoires, hémodynamiques, digestives, neurologiques, infectieuses et sensorielles, les traitements reçus, et lorsque cela était le cas, les discussions de limitation des thérapeutiques actives ainsi que la cause du décès le cas échéant.

## 2. Critère de jugement principal : les infections néonatales tardives

Comme nous l'avons vu précédemment (partie 2.2), il n'existe pas de définition consensuelle des infections néonatales tardives. Nous avons donc choisi la définition du NICHD qui est souvent utilisée dans la littérature sur le sujet, afin de pouvoir comparer nos résultats avec les données internationales (30).

Les infections néonatales tardives ont été définies par la présence d'une bactériémie après 3 jours de vie, c'est à dire une hémoculture positive, associée à :

- soit une antibiothérapie d'au moins 5 jours,
- soit un décès dans les 5 jours suivant une bactériémie traitée par antibiotiques.

## 3. Expositions

### 3.1. La cause de naissance prématurée

La cause de la prématurité peut être définie comme la pathologie qui a entraîné la naissance prématurée, directement ou par l'intermédiaire d'une complication. A partir des données de la cohorte EPIPAGE-2, une classification précise de la cause d'accouchement prématuré a été établie pour les grossesses uniques, avec 6 classes homogènes d'un point de vue des mécanismes physiopathologiques et mutuellement exclusives (10) :

- le travail prématuré à membranes intactes consécutif à une menace d'accouchement prématuré
- la rupture prématurée des membranes avant terme
- les pathologies vasculaires gravidiques sans retard de croissance intra-utérin : hypertension artérielle, pré-éclampsie, HELLP syndrome, éclampsie
- les pathologies vasculaires gravidiques associées à un retard de croissance intra-utérin
- le retard de croissance intra-utérin isolé, c'est à dire sans pathologie vasculaire maternelle diagnostiquée
- l'hématome rétro-placentaire survenant spontanément au cours d'une grossesse sans qu'aucune pathologie obstétricale n'ait été diagnostiquée au préalable.

Cette classification permet d'étudier les conséquences directes pour l'enfant à naître en fonction des mécanismes physiopathologiques propres à chaque cause de prématurité.

### 3.2. Antibiothérapie néonatale précoce

L'antibiothérapie néonatale précoce a été définie comme une antibiothérapie débutée à J0 ou J1 de vie, quels que soient la durée de l'antibiothérapie ou le type d'antibiotiques utilisé.

## 4. Méthodologie statistique

### 4.1. Pondération

Comme nous l'avons vu précédemment, la durée de recrutement dans la cohorte EPIPAGE-2 était différente selon l'âge gestationnel de naissance :

- 8 mois soit 35 semaines pour les naissances entre 22<sup>+0</sup> et 26<sup>+6</sup> SA,
- et 6 mois soit 26 semaines pour les naissances entre 27<sup>+0</sup> et 31<sup>+6</sup> SA

Un coefficient de pondération est attribué à chaque enfant en fonction de la durée de recrutement par rapport à la durée totale de recrutement de la cohorte (35 semaines) :

- les enfants nés entre 22 et 26 SA ont été inclus pendant 35 semaines, et ont donc un poids de  $35/35=1$  ;
- les enfants nés entre 27 et 31 SA ont été inclus pendant 26 semaines et ont donc un poids de  $35/26=1,346$  ;

La pondération selon l'âge gestationnel permet de « redresser l'échantillon », afin de surreprésenter les enfants inclus pendant une période plus courte. L'objectif est d'avoir des distributions équivalentes à celles qu'on observerait sur un échantillon qui aurait été recruté réellement pendant une période de 35 semaines. La méthode de pondération permet donc d'obtenir des estimations représentatives de l'ensemble des naissances prématurées entre 22 et 31 SA révolues en France sur la période de recrutement.

L'ensemble des analyses descriptives et les mesures d'association prennent en compte cette pondération, sauf si les modèles sont ajustés sur l'âge gestationnel.

#### 4.2. La prise en compte du risque compétitif

Il existe un risque compétitif entre le décès et les différentes morbidités néonatales puisque la survenue du décès « empêche » la survenue d'autres morbidités néonatales. Ce risque est particulièrement important à prendre en compte lorsque l'on étudie les infections néonatales tardives. En effet, les infections néonatales tardives et le décès surviennent dans la même temporalité, et l'incidence élevée de la mortalité dans cette population pourrait conduire à sous-estimer l'incidence des infections néonatales tardives. Dans la population des enfants nés grands prématurés inclus dans la cohorte EPIPAGE-2, le taux d'infection néonatale tardive était de 21% et la mortalité après le 3<sup>ème</sup> jour de vie concernait 8,5% des enfants. L'âge médian au premier épisode d'infection tardive était de 12 jours [intervalle interquartile (IQR) = 8-20], alors que l'âge médian au décès était de 11 jours [IQR = 5-22].

Dans le premier article de ce travail doctoral portant sur l'association entre la cause de prématurité et les infections néonatales tardives, nous avons pris en compte ce risque compétitif en réalisant une analyse de survie. La simple exclusion des enfants décédés de l'analyse pourrait en effet conduire à un biais de sélection, d'autant plus que la proportion d'enfants décédés est importante. Nous avons ainsi comparé les durées avant la survenue d'une infection néonatale tardive, censurées par le décès. Ainsi, chaque enfant de la population de l'étude est pris en compte dans l'analyse. Pour les enfants décédés, leur « exposition » au risque d'infection néonatale tardive avant le décès a été prise en compte. L'analyse multivariée a ensuite été réalisée avec un modèle de régression de Cox.

Une autre façon de prendre en compte ce risque compétitif est d'étudier un critère composite, associant le critère étudié au décès. C'est le choix que nous avons fait dans l'article sur les conséquences des antibiothérapies néonatales, en étudiant le critère composite « décès ou infection néonatale tardive ». Nous avons procédé de la même façon pour les autres morbidités néonatales en étudiant les critères composites : décès ou entérocolite ulcéro-nécrosante, décès ou lésions neurologiques sévères, décès ou dysplasie broncho-pulmonaire.

#### 4.3. Choisir les facteurs d'ajustement : les graphiques acycliques orientés ou Directed Acyclic Graph (DAG)

Le DAG (Directed Acyclic Graph) ou graphique acyclique orienté est une représentation graphique des liens de causalité supposés entre variables d'intérêt. Il est utilisé pour comprendre les phénomènes de biais de confusion et pour sélectionner les bonnes variables d'ajustement (82).

La réalisation d'un tel graphique nécessite d'établir préalablement des hypothèses sur les relations causales, à partir de connaissances cliniques et d'une analyse précise de la littérature.

Ce graphique obéit aux règles de construction suivantes :

- les nœuds (ronds) représentent des variables ou des évènements,
- les flèches orientées représentent un lien causal entre deux variables,
- les flèches sont orientées chronologiquement : elles pointent depuis la « cause » vers la « conséquence »,
- aucun chemin orienté ne forme de boucle : le graphique est acyclique.

Pour simplifier la lecture de ces graphiques, seules les variables d'intérêt pour l'association étudiée sont représentées. Il ne s'agit donc pas d'une représentation exhaustive. Certains logiciels permettent de construire ces graphiques et aident au choix des variables d'ajustement, comme par exemple le site [dagitty.net](http://dagitty.net) (Figure 5).

Dans les travaux présentés dans cette thèse, nous avons étudié les associations entre une exposition (la cause de prématurité, les antibiothérapies néonatales précoces) et la survenue d'un événement (les infections néonatales tardives ou autres complications néonatales). Le choix des variables d'ajustement pour les analyses multivariées a été réalisé après construction d'un DAG. Nous allons présenter comme exemple le DAG réalisé pour le travail sur l'association entre la cause de prématurité et les infections néonatales tardives (Figure 5).

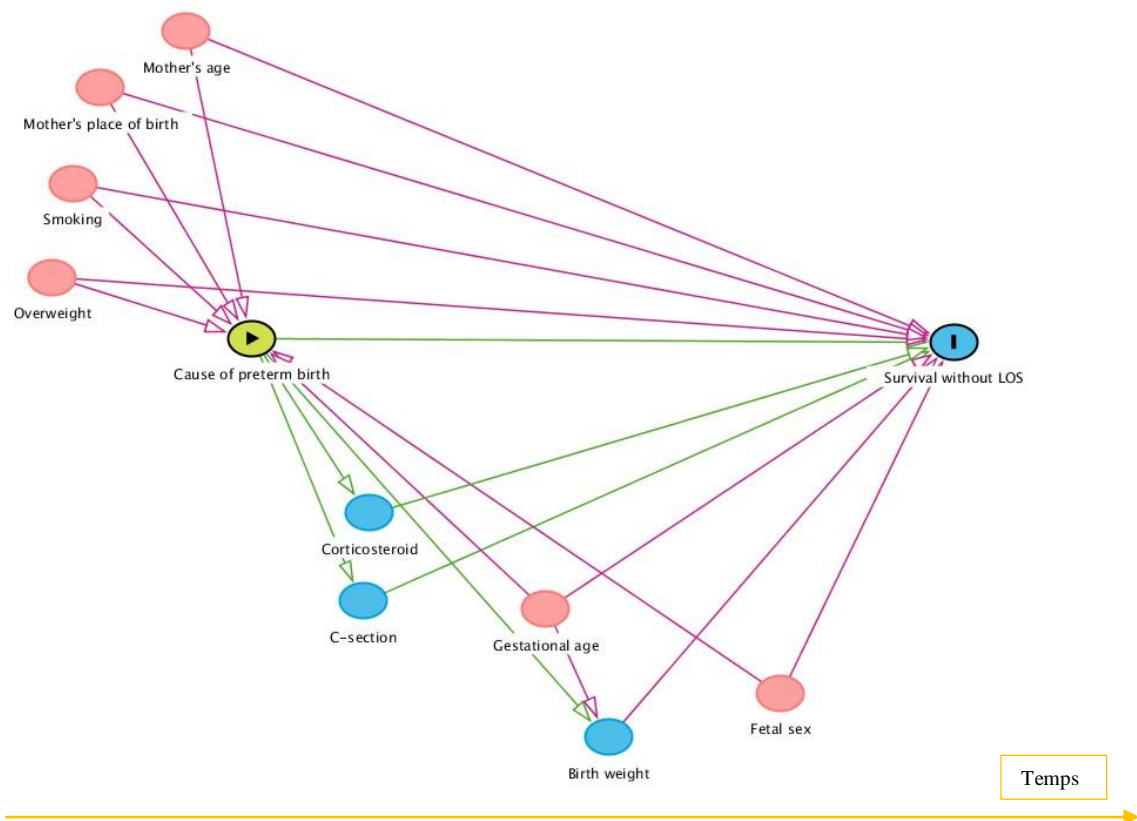






Figure 5 : Exemple d'un graphique acyclique orienté réalisé grâce au site dagitty.net

-  Exposition
-  Événement
-  Variable de confusion
-  Autres variables

Nous étudions la relation entre la cause de prématurité (exposition) et la survie sans infection néonatale tardive (événement ou outcome). Les variables représentées par des ronds roses sont des variables de confusion : ces variables sont à la fois liées à l'exposition et à l'événement et elles sont antérieures à ces deux événements. Leur non prise en compte entraînerait un biais de confusion. Dans l'analyse multivariée, il est donc nécessaire d'ajuster sur ces facteurs.

Les variables représentées par des ronds bleus sont des facteurs intermédiaires : ces variables se situent sur le chemin causal entre l'exposition et l'événement, sans pour autant déterminer l'exposition. Elles peuvent expliquer une partie de l'association entre l'exposition et l'événement.



Les recommandations STROBE (The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology) éditent les bonnes pratiques pour présenter des résultats issus de données observationnelles, et de cohorte en particulier (83). Elles insistent sur l'importance d'explicitier les variables étudiées, et de justifier les choix de facteurs d'ajustement. Le DAG est une représentation graphique permettant de présenter clairement ces choix.

#### 4.4. Score de propension

Les essais randomisés contrôlés sont considérés comme la méthode de référence pour estimer l'effet d'un traitement : la randomisation permet d'équilibrer les caractéristiques des sujets, qu'elles soient connues ou inconnues, dans les deux groupes de traitement qui ne diffèrent que par l'intervention reçue. Cependant, certains essais ne peuvent pas être réalisés en raison de leur coût ou de leur non acceptabilité par les personnels et les patients.

L'effet causal d'un traitement sur un critère de jugement peut également être étudié à partir de données observationnelles, à condition de prendre en compte les biais d'indication. Le plus souvent, les patients qui reçoivent un traitement n'ont pas les mêmes caractéristiques que les patients qui ne le reçoivent pas (84,85). Selon les équipes et les caractéristiques individuelles, certains nouveau-nés seront traités ou non par antibiotiques, sachant que ces caractéristiques néonatales sont en elles-mêmes des facteurs pronostiques du devenir des enfants (86). Pour contrôler ces biais, les modèles de régression logistique multivariés sont généralement utilisés avec un ajustement classique sur les facteurs de confusion liés à la maladie et à l'exposition au traitement. Seulement, cette approche ne permet pas de s'affranchir complètement du biais d'indication. En 1983, Rosenbaum et Rubin ont proposé une approche pour contrôler ce biais d'indication : le **score de propension** (87).

Le score de propension correspond à la probabilité d'un sujet d'être exposé (à un traitement par exemple), conditionnellement à ses caractéristiques initiales observables. Il s'agit d'une valeur quantitative qui résume les caractéristiques initiales observables des sujets. Cette valeur étant une probabilité, elle varie entre 0 et 1. Deux individus ayant un même score de propension ont la même probabilité d'être exposés, malgré des caractéristiques individuelles différentes. En moyenne dans l'ensemble de la population étudiée, toutes les variables prises en compte dans le calcul du score de propension sont

équilibrées entre le groupe des individus exposés et le groupe des individus non exposés, comme dans une étude randomisée (87). La principale limite du score de propension vient donc par définition du fait qu'il inclut uniquement les variables observables recueillies.

La construction et l'utilisation d'un score de propension reposent sur plusieurs étapes successives. La première étape consiste en la **création du score de propension**. Le score est estimé à partir d'un modèle de régression logistique en fonction des variables observables et de l'exposition. Les variables à inclure sont choisies après analyse de la littérature, en incluant en premier lieu les facteurs de confusion. En effet, ces facteurs de confusion doivent être répartis de manière équilibrée dans les deux groupes. Il est également possible d'inclure des variables influençant uniquement l'exposition ou l'événement étudié, mais ces variables doivent être disponibles avant l'exposition sur le plan chronologique.

Il faut ensuite **évaluer la qualité du score**, en vérifiant l'équilibre des covariables entre les 2 groupes, traités et non-traités, au sein de chaque strate de score. Il faut également déterminer la zone de support commun, c'est-à-dire la zone de superposition des deux groupes sur l'ensemble des valeurs du score de propension. Ce support commun permet de s'assurer qu'il est possible, pour chaque sujet traité, de trouver au moins un sujet non-traité ayant les mêmes caractéristiques initiales. Pour ce faire, on peut comparer visuellement la distribution du score dans les deux groupes (Figure 6).

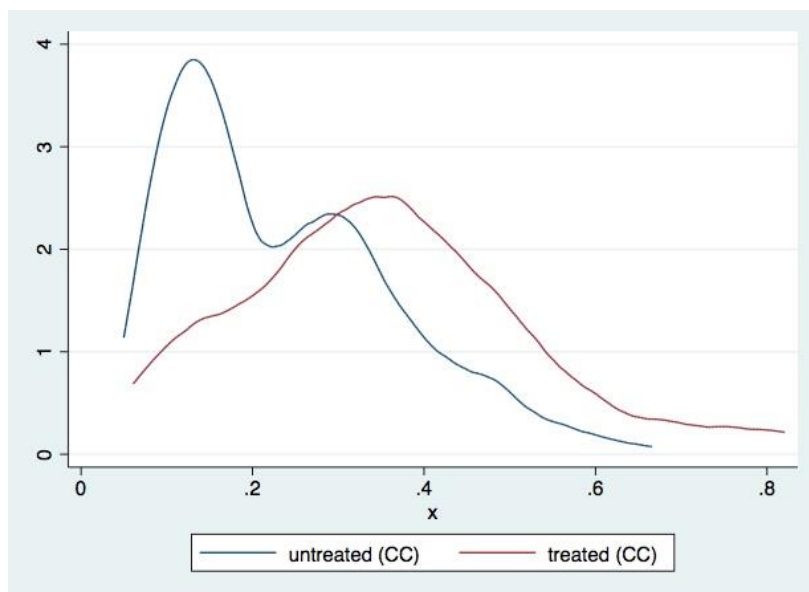


Figure 6 : Distribution du score de propension issu de notre travail sur les antibiothérapies.

L'axe des abscisses présente les valeurs du score de propension. En bleu, les patients non traités, en rouge les traités.

La deuxième étape consiste à **choisir la méthode pour utiliser le score de propension**. Quatre méthodes ont été décrites, mais les deux premières sont peu utilisées (86) :

- l'ajustement : le score de propension sert de variable d'ajustement dans un modèle de régression.
- la stratification sur les quantiles du score : la régression est estimée dans chaque strate, la strate étant définie par un intervalle déterminé de valeurs du score de propension. L'effet moyen est ensuite mesuré pour l'ensemble de la population.
- l'appariement ou matching : la technique de l'appariement consiste à créer des paires d'individus (un traité et un non traité) ayant le même score de propension.
- la pondération sur l'inverse de la probabilité de traitement ou inverse probability of treatment weighting (IPTW) : nous avons choisi cette méthode pour notre analyse de l'association entre antibiothérapie précoce et morbidités néonatales. Cette technique consiste à appliquer à chaque individu une pondération qui est l'inverse de son score de propension, c'est à dire l'inverse de sa probabilité à recevoir le traitement. Les patients qui reçoivent le traitement sont pondérés par l'inverse du score de propension ( $1/\text{score de propension}$ ), et ceux qui ne reçoivent pas le traitement, le groupe « contrôle », par la valeur  $1/(1-\text{score de propension})$ . L'échantillon pondéré permet de se rapprocher au plus près de l'échantillon d'un essai randomisé qui aurait la même population cible. Les critères de

jugement sont ensuite mesurés dans l'échantillon pondéré. Avec la méthode de l'IPTW, tous les individus de l'échantillon sont conservés, aucun n'est exclu au contraire de l'analyse avec appariement. En effet, dans une analyse avec appariement, s'il n'est pas possible de trouver un patient non traité avec le même score de propension, le patient traité sera exclu. De plus, dans les études observationnelles, les groupes traités/non traités sont souvent déséquilibrés en termes d'effectifs, résultant en l'exclusion des patients non appariés. Cette perte d'information importante liée aux exclusions peut conduire à un biais de sélection, en particulier dans notre population d'enfants à bas risque d'infection néonatale précoce puisque seulement 26% de la population a reçu une antibiothérapie précoce. L'IPTW permet l'étude de l'effet moyen du traitement (Average treatment effect -ATE) sur l'échantillon total, permettant de limiter la perte de puissance liée à la perte de l'effectif (88,89).

La dernière étape consiste à **vérifier la qualité de l'IPTW** par la comparaison des différences standardisées des variables du score dans les deux groupes (Figure 7). Il n'existe pas de règle absolue sur le maximum de différences standardisées acceptable, mais l'usage fréquent établit le seuil à 10% (90). Dans notre travail sur antibiothérapie précoce et morbidités néonatales, certaines semaines d'âge gestationnel (25, 27 et 28 SA), n'étant pas parfaitement équilibrées après IPTW, nous avons ajusté sur l'âge gestationnel dans les analyses multivariées.

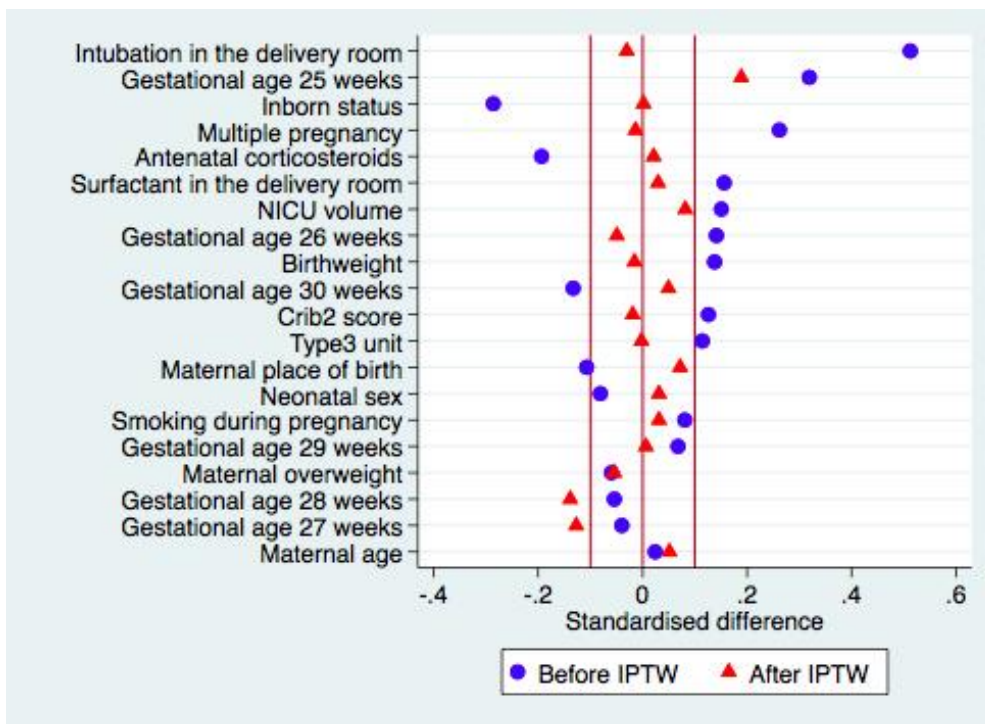


Figure 7 : Différences standardisées des covariables avant (ronds bleus) et après (triangles rouges) pondération inverse sur le score de propension (IPTW).

Issu de notre travail sur les antibiothérapies précoces.

#### 4.5. Gestion des données manquantes : les imputations multiples

La présence de données manquantes est inhérente aux larges études de cohorte en population comme EPIPAGE-2. Ces données manquantes représentent un véritable challenge dans l'analyse et l'interprétation des résultats des études observationnelles. La non considération ou non gestion de ces données manquantes, surtout lorsque le nombre de cas incomplets devient important, peut conduire à des estimations biaisées ainsi qu'à une perte de précision et de puissance dans les analyses statistiques (91). Les recommandations de bonne pratique dans la rédaction des résultats à partir de données observationnelles STROBE enjoignent à expliquer comment les données manquantes ont été prises en compte dans les analyses (83).

Plusieurs méthodes ont été développées pour gérer les données manquantes mais nous ne présenterons que les plus fréquemment utilisées (92). **L'analyse en cas complets** consiste en l'exclusion des sujets présentant au moins une donnée manquante pour au moins une variable du modèle (exposition, critère de jugement principal et toutes les variables d'ajustement). Cette technique peut être valide dans les échantillons de très grande taille avec peu d'observations manquantes. Cependant, les sujets avec des données manquantes peuvent différer des sujets sans données manquantes pour le critère de jugement principal. Lorsqu'il y a une corrélation entre la valeur de la variable d'intérêt et la probabilité qu'elle soit manquante, les données sont dites MNAR (Missing Not At Random). Dans ce cas, l'exclusion de ces sujets avec données manquantes peut être associée à un risque élevé de biais (91), qui peut être évalué en comparant les caractéristiques des sujets avec et sans données manquantes.

La méthode des **imputations multiples** permet d'utiliser les informations des sujets avec données incomplètes afin de réduire les biais et améliorer la précision des résultats. Cette méthode permet de reconstituer les données manquantes à partir des informations disponibles dans une base de données, en créant plusieurs jeux de données plausibles. Elle ne peut s'appliquer que sous deux conditions :

- si les données sont manquantes de façon complètement aléatoire (MCAR : missing completely at random) : la valeur de la variable manquante et la probabilité que cette variable soit manquante sont complètement indépendantes. Cette situation est rare en pratique.

- ou si les données sont manquantes de façon aléatoire (MAR : missing at random). La valeur de la variable manquante et la probabilité que cette variable soit manquante sont indépendantes conditionnellement à certaines caractéristiques observées du sujet jusqu'à sa non-participation.

Les variables utilisées dans le modèle d'imputation doivent inclure le critère de jugement, les variables explicatives qui seront utilisées dans le modèle final, mais également toutes les variables permettant de prédire soit le caractère manquant de la variable d'intérêt soit sa valeur. Le choix de la méthode d'imputation dépend de la nature des variables à imputer (régression logistique pour les variables binaires par exemple, régression linéaire ou predictive mean matching pour les variables continues...). On parle alors d'imputation multiple par équations chaînées (ou MICE – multiple imputation by chained equations) (93).

Le nombre d'imputations à réaliser doit être pour certains auteurs supérieur à 5, et pour d'autres au moins égal au pourcentage de cas présentant au moins une donnée manquante (93). Chaque imputation permet de construire un jeu de données complet en remplaçant les données manquantes par une valeur plausible d'après les informations disponibles par ailleurs. L'analyse finale est réalisée sur chaque jeu de données imputé, puis les résultats sont poolés selon la règle de Rubin (94). L'estimation de la variance prend en compte la variabilité intra-imputation (au sein de chaque jeu de données complété) et inter-imputation (entre les jeux complets).

Il est recommandé de présenter les résultats obtenus dans l'analyse en cas complets et après imputations multiples car l'imputation multiple dépend fortement de l'hypothèse de données manquantes de façon aléatoire, qui n'est en pratique pas souvent vérifiable (91).

## RESULTATS

### 1. Les infections néonatales tardives chez les grands prématurés dans la cohorte EPIPAGE 2

L'objectif de cette première partie des résultats est de présenter une description générale des infections néonatales tardives dans la cohorte EPIPAGE-2. Ces résultats n'ont pas fait l'objet d'une publication mais cette description des infections néonatales tardives a été la première étape de ce travail doctoral et permet de bien comprendre les problématiques explorées dans cette thèse. Nous décrivons dans un premier temps l'incidence et les caractéristiques des infections néonatales tardives dans la cohorte EPIPAGE-2. Ensuite, nous décrivons les principales caractéristiques maternelles et néonatales des enfants qui ont présenté au moins un épisode d'infection néonatale tardive pendant leur séjour en néonatalogie.

Nous avons étudié les données de 3535 enfants grands prématurés, issus de grossesse unique ou multiple, sans malformation congénitale sévère et toujours vivants au 3<sup>ème</sup> jour. En effet, les infections néonatales tardives étant définies comme des infections survenant au-delà du 3<sup>ème</sup> jour de vie, les enfants décédés avant J3 ont donc été exclus de l'analyse.

#### Incidence des infections néonatales tardives

L'information sur la présence ou non d'une infection néonatale tardive n'était pas disponible pour 46/3535 enfants. L'incidence des infections néonatales tardives était de 21,0% des enfants nés grands prématurés (779/3489).

Le principal facteur de risque des infections néonatales tardives est le petit âge gestationnel. L'incidence des infections néonatales tardives diminuait quand l'âge gestationnel augmentait, passant de 50% pour les enfants nés entre 23 et 25 SA à 7,3% pour les enfants nés à 31 SA ( $p < 0.001$ ) (Tableau 4).



Tableau 4 : Incidence des infections néonatales tardives en fonction de la semaine d'âge gestationnel de naissance

	n/N	%
<b>23 SA</b>	2/4	50,0
<b>24 SA</b>	45/97	46,4
<b>25 SA</b>	120/249	48,2
<b>26 SA</b>	161/364	44,2
<b>27 SA</b>	111/367	30,2
<b>28 SA</b>	115/432	26,6
<b>29 SA</b>	83/487	17,0
<b>30 SA</b>	81/653	12,4
<b>31 SA</b>	61/836	7,3

Le tableau 5 rappelle les incidences des principales complications néonatales selon l'âge gestationnel de naissance dans l'étude EPIPAGE-2, comme présenté dans la section 1.3, mais complété avec l'incidence des infections néonatales tardives. Les infections néonatales tardives sont donc une pathologie fréquente de la période néonatale, avec une incidence qui reste élevée pour les enfants nés entre 27 et 31 SA.

Tableau 5 : Incidence des principales complications néonatales selon l'âge gestationnel de naissance.

	<b>22-26 SA</b>	<b>27-31 SA</b>
<b>Décès</b>	47,6%	6,4%
<b>Dysplasie broncho-pulmonaire modérée à sévère</b>	25,6%	4,6%
<b>Lésions neurologiques sévères</b>		
<b>Hémorragies intra-ventriculaires sévères</b>	12,9%	3,7%
<b>Leucomalacie périventriculaire</b>	2,4%	0,8%
<b>Entérocolite ulcéro-nécrosante</b>	5,1%	3,5%
<b>Infection néonatale tardive</b>	45,9%	16,3%

## Description des infections néonatales tardives

Nous avons vu que 779 enfants nés grands prématurés ont présenté au moins un épisode d'infection néonatale tardive. Ce premier épisode est survenu à un âge médian de 12 jours (intervalle interquartile 8-20). Parmi ces 779 enfants, 645 ont présenté un seul épisode d'infection néonatale tardive, 119 ont présenté deux épisodes et 15 enfants ont présenté trois épisodes pendant leur séjour en néonatalogie. Pour mémoire, trois épisodes au plus pouvaient être renseignés dans le questionnaire EPIPAGE-2. Il est donc possible qu'une très faible proportion d'enfants ait présenté 4 épisodes ou plus.

L'analyse microbiologique était disponible pour 733/779 épisodes d'infection néonatale tardive. Nous présenterons seulement les caractéristiques microbiologiques du premier épisode pour les enfants ayant présenté 2 ou 3 épisodes d'infection. Les Staphylocoques à coagulase négative étaient les bactéries les plus fréquemment impliquées dans ces infections néonatales tardives (72,4%, 539 cas). Par ordre de fréquence, les bactéries ensuite identifiées étaient les Staphylocoques dorés (12,5%, 92 cas), les bacilles à gram négatif (9,8%, 74 cas), les entérocoques (3%, 22 cas) et enfin le Streptocoque du groupe B (0,8%, 6 cas).

## Caractéristiques maternelles et néonatales

Les caractéristiques maternelles et néonatales selon la présence ou non d'au moins un épisode d'infection néonatale tardive pendant le séjour sont présentées dans le tableau 6. Les enfants ayant présenté au moins un épisode d'infection néonatale tardive avaient un âge gestationnel médian et un poids de naissance médian plus faibles que les enfants sans infection pendant le séjour en néonatalogie (27 SA [IQR 26-29] vs 30 SA [IQR 28-31] et 930 grammes [IQR 760-1150] vs 1250 grammes [IQR 1010-1510]). De plus, ces enfants étaient plus souvent nés dans un contexte de prématurité induite (52,7 vs 48,2%,  $p=0,03$ ). En revanche, les principales caractéristiques maternelles et la voie d'accouchement n'étaient pas différentes entre les deux groupes.

Tableau 6 : Caractéristiques maternelles et néonatales selon la présence ou non d'au moins un épisode d'infection néonatale tardive

	TOTAL (n=3484)	Infection néonatale tardive		p value
		Non (n=2710, 79.0%)	Oui (n=779, 21.0%)	
<b>Caractéristiques maternelles et obstétricales</b>				
Age maternel (N=3330)				0.79
< 25 ans	680 (20.1)	526 (20.2)	144 (19.4)	
25-34 ans	2076 (61.5)	1583 (61.2)	465 (62.6)	
≥ 35 ans	617 (18.4)	477 (18.6)	135 (18.0)	
Lieu de naissance de la mère (N=3425)				0.57
Europe	2705 (79.0)	2091 (78.6)	614 (80.5)	
Afrique du Nord	283 (8.3)	228 (8.6)	55 (7.1)	
Afrique autre	268 (7.6)	207 (7.6)	61 (7.8)	
Autre	174 (5.1)	140 (5.2)	34 (4.6)	
Primiparité (N=3452)	1858 (53.8)	1418 (52.8)	440 (57.3)	0.08
Tabagisme pendant la grossesse (N=3369)	739 (22.0)	584 (22.4)	155 (20.7)	0.34
Infection intra-utérine (N=3411)	115 (3.3)	93 (3.5)	22 (2.7)	0.28
Corticothérapie anténatale (N=3421)	2853 (83.6)	2196 (83.0)	657 (85.9)	0.06
Voie d'accouchement (N=3450)				0.32
Voie basse	1212 (34.0)	942 (34.4)	270 (32.6)	
Césarienne	2238 (66.0)	1738 (65.6)	500 (67.4)	
Type de prématurité (N=3287)				0.03
Spontanée	1708 (50.9)	1333 (51.9)	375 (47.3)	
Induite	1579 (49.1)	1204 (48.2)	375 (52.7)	
Type de grossesse (N=3489)				0.48
Simple	2368 (67.9)	1849 (68.2)	519 (66.8)	
Multiple	1121 (32.1)	861 (31.8)	260 (33.2)	
<b>Caractéristiques néonatales</b>				
Age gestationnel (SA) (N=3489)				<0.001
23-25	350 (7.8)	183 (5.2)	167 (17.9)	
26-28	1163 (32.3)	776 (27.7)	387 (49.8)	
29-31	1976 (59.5)	1751 (67.1)	225 (32.4)	
Sexe masculin (N=3489)	1837 (52.6)	1419 (52.3)	418 (53.9)	0.45
Poids de naissance (grammes) (N=3489)				<0.001
<1000	1194 (31.0)	703 (23.4)	491 (59.3)	
1000-1499	1567 (47.0)	1319 (50.2)	248 (35.0)	
>1500	728 (22.0)	688 (26.4)	40 (5.7)	

SA : semaines d'aménorrhée

## Caractéristiques des centres

Les enfants étaient hospitalisés pendant les 48 premières heures de vie dans 107 centres différents, de métropole et d'Outre-Mer, dont 4 centres de type 2A, 38 centres de type 2B et 65 centres de type 3. L'incidence des infections néonatales tardives variait de façon importante selon les centres dans lesquels étaient hospitalisés les nouveau-nés, sans lien apparent avec le volume d'activité estimé par le nombre total d'enfants hospitalisés par centre (Figure 8).

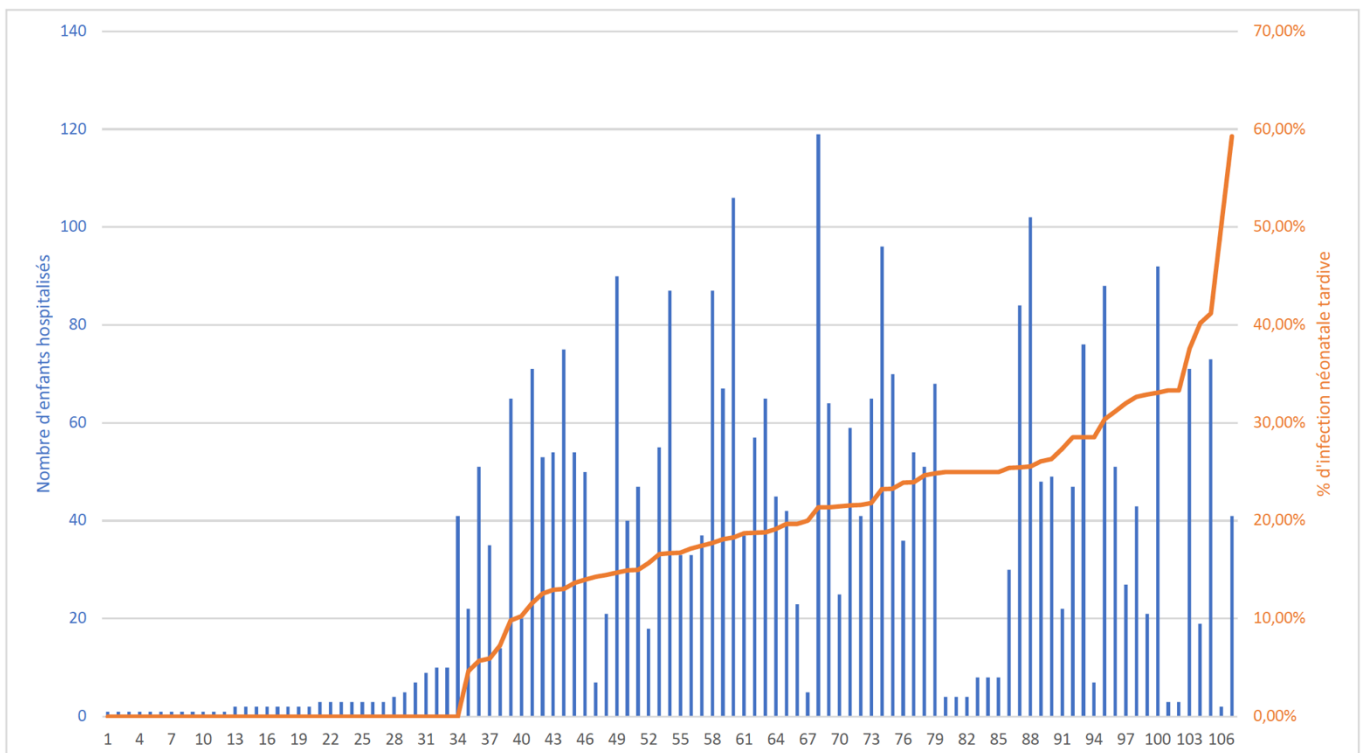


Figure 8 : Incidence des infections néonatales tardives selon le centre dans lequel a été hospitalisé le nouveau-né dans les 48 premières heures de vie.

Nombre d'enfants hospitalisés dans les 107 centres (barres bleues) et proportion (%) d'enfants dans chaque centre ayant présenté au moins un épisode d'infection néonatale tardive (ligne orange, de 0 à 100%)

En revanche, la proportion d'enfants ayant au moins un épisode d'infection était plus élevée dans les centres de type 3 (98,3% des enfants ayant présenté un épisode infectieux étaient hospitalisés dans un centre de type 3 vs 95,5% des enfants sans infection,  $p=0,003$ ). Elle était également plus élevée dans les centres avec un haut volume d'activité (les centres étaient séparés en terciles selon le nombre d'enfants inclus dans EPIPAGE-2, soit faible, moyen

et haut volume d'activité) (38,8% des enfants ayant présenté au moins un épisode infectieux étaient hospitalisés dans un centre avec haut volume d'activité vs 30,7% des enfants sans infection,  $p < 0,001$ ). Ces résultats montrent la nécessité de prendre en compte le centre dans les analyses multivariées.

En conclusion, les infections néonatales tardives sont une pathologie fréquente associée à la grande prématurité. Les enfants présentant des infections néonatales tardives semblent présenter un profil initial particulier, avec notamment un plus petit âge gestationnel et un contexte de naissance différent des enfants sans infection pendant le séjour. C'est pourquoi nous nous sommes intéressés à identifier des facteurs de risque de la période périnatale qui pourraient permettre de mieux repérer les enfants les plus à risque d'infection néonatale tardive.

## 2. Cause de prématurité et infections néonatales tardives

Une classification précise des causes de naissance prématurée a pu être établie pour les grossesses uniques à partir des données de la cohorte EPIPAGE-2. Cette classification comporte 6 classes : une mise en travail spontané, une rupture prématurée des membranes avant terme, une pathologie hypertensive maternelle isolée, une pathologie hypertensive maternelle associée à un retard de croissance intra-utérin, un retard de croissance intra-utérin isolé et un hématome rétro-placentaire. Notre objectif était d'évaluer l'association entre la cause de la naissance prématurée et les infections néonatales tardives chez les enfants nés grands prématurés. Ce travail a fait l'objet d'une publication en 2021 dans la revue *Pediatric research* (Cause of preterm birth and late-onset sepsis in very preterm infants: the EPIPAGE-2 cohort study *Pediatr Res.* 2021;Feb(24):1-9).

Pour ce travail, la population étudiée incluait tous les enfants nés vivants avant 32 SA, inclus dans l'étude EPIPAGE-2, issus d'une grossesse unique, sans malformation congénitale sévère et toujours vivants au 3<sup>ème</sup> jour. Les infections néonatales tardives étant définies comme des infections survenant après le 3<sup>ème</sup> jour de vie, les enfants décédés dans les 3 premiers jours ne pouvaient présenter l'événement étudié et ont donc été exclus. Les enfants issus de grossesse multiple ont été exclus de cette analyse. En effet, il est souvent difficile d'identifier une cause unique de naissance prématurée pour les grossesses multiples. Par exemple, la naissance prématurée peut être décidée suite à la découverte d'un retard de croissance intra-utérin sévère sur un seul des jumeaux. La naissance du 2<sup>ème</sup> jumeau est donc due dans ce cas à la naissance nécessaire de son co-jumeau, et ce 2<sup>ème</sup> jumeau n'est pas « exposé » au retard de croissance. De plus, dans le cas de l'analyse des grossesses gémellaires, il est nécessaire de prendre en compte la chorionicité puisque les conséquences physiopathologiques peuvent être différentes selon cette chorionicité : par exemple, la rupture prématurée des membranes peut avoir des conséquences différentes en fonction de la présence d'une seule ou de deux cavités amniotiques. Enfin, certaines complications sont spécifiques des grossesses multiples comme le syndrome transfuseur-transfusé, et devraient être prises en compte. Pour ces raisons, nous avons choisi pour ce travail de nous focaliser sur les grossesses uniques.

Afin de prendre en compte le risque compétitif entre le décès et les infections néonatales tardives (section méthodes), nous avons réalisé des analyses de survie et comparé les survies sans infection néonatale tardive selon la cause de la naissance prématurée selon la méthode de Kaplan Meier. Les analyses multivariées reposaient sur des régressions de Cox permettant de calculer des hazard ratio avec leurs intervalles de confiance à 95%.

Au total, 2052 enfants ont été inclus. La cause la plus fréquente de naissance prématurée était la mise en travail spontané (39,2%), puis la rupture prématurée des membranes avant terme (23,2%), la pathologie hypertensive maternelle avec retard de croissance intra-utérin (14,8%), la pathologie hypertensive sans retard de croissance (14,0%), le retard de croissance intra-utérin isolé (5,6%) et enfin l'hématome rétro-placentaire (3,2%).

L'incidence des infections néonatales tardives était de 20,1%. Elle différait selon la cause de prématurité : 17,1% pour les enfants nés après mise en travail spontané, 17,9% après rupture prématurée des membranes avant terme, 20,3% après hématome rétro-placentaire, 20,3% en cas de pathologie hypertensive maternelle sans retard de croissance, 27,5% en cas de pathologie hypertensive avec retard de croissance intra-utérin, et 29,4% pour les enfants nés dans un contexte de retard de croissance intra-utérin isolé. L'âge médian au moment du premier épisode d'infection était de 12 jours (IQR 8-20), sans différence selon la cause de prématurité.

Nous avons pu mettre en évidence que les enfants nés dans des contextes de pathologie hypertensive maternelle, isolée ou associée à un retard de croissance intra-utérin (hazard ratio HR=1,7 [IC95%=1,2-2,5] et HR=2,6 [IC95%=1,9-3,6], respectivement), ou les enfants nés dans un contexte de retard de croissance intra-utérin (HR=2,9 [IC95%=1,9-4,4]) présentaient un risque augmenté d'infection néonatale tardive par rapport aux enfants nés après mise en travail spontané. En revanche, il n'y avait pas de différence pour les enfants nés dans un contexte de rupture prématurée des membranes avant terme ou après un hématome rétro-placentaire (HR=1,2 [IC95%=0,9-1,5] et HR=1,8 [IC95%=0,9-3,7] respectivement).

**Full title:** Cause of preterm birth and late-onset sepsis in very preterm infants: the EPIPAGE-2 cohort study

**List of authors:** Mathilde LETOUZEY, Laurence FOIX-L'HÉLIAS, Héloïse TORCHIN, Ayoub MITHA, Andrei S. MORGAN, Jennifer ZEITLIN, Gilles KAYEM, Emeline MAISONNEUVE, Pierre DELORME, Babak KHOSHNOOD, Monique KAMINSKI, Pierre-Yves ANCEL, Pascal BOILEAU, Elsa LORTHE , and the EPIPAGE-2 Working group on infections.

Publication dans la revue Pediatric research en 2021





## CLINICAL RESEARCH ARTICLE

## Cause of preterm birth and late-onset sepsis in very preterm infants: the EPIPAGE-2 cohort study

Mathilde Letouzey<sup>1,2</sup>, Laurence Foix-L'Hélias<sup>1,3</sup>, Héloïse Torchin<sup>1,4</sup>, Ayoub Mitha<sup>1,5</sup>, Andrei S. Morgan<sup>1,6</sup>, Jennifer Zeitlin<sup>1</sup>, Gilles Kayem<sup>1,7</sup>, Emeline Maisonneuve<sup>1,8</sup>, Pierre Delorme<sup>1,7</sup>, Babak Khoshnood<sup>1</sup>, Monique Kaminski<sup>1</sup>, Pierre-Yves Ancel<sup>1,9</sup>, Pascal Boileau<sup>2</sup>, Elsa Lorthe<sup>1,10</sup> and The EPIPAGE-2 Working Group on Infections

**BACKGROUND:** The pathogenesis of late-onset sepsis (LOS) in preterm infants is poorly understood and knowledge about risk factors, especially prenatal risk factors, is limited. This study aimed to assess the association between the cause of preterm birth and LOS in very preterm infants.

**METHODS:** 2052 very preterm singletons from a national population-based cohort study alive at 72 h of life were included. Survival without LOS was compared by cause of preterm birth using survival analysis and Cox regression models.

**RESULTS:** 437 (20.1%) had at least one episode of LOS. The frequency of LOS varied by cause of preterm birth: 17.1% for infants born after preterm labor, 17.9% after preterm premature rupture of membranes, 20.3% after a placental abruption, 20.3% after isolated hypertensive disorders, 27.5% after hypertensive disorders with fetal growth restriction (FGR), and 29.4% after isolated FGR. In multivariate analysis, when compared to infants born after preterm labor, the risk remained higher for infants born after hypertensive disorders (hazard ratio HR = 1.7, 95% CI = 1.2–2.5), hypertensive disorders with FGR (HR = 2.6, 95% CI = 1.9–3.6) and isolated FGR (HR = 2.9, 95% CI = 1.9–4.4).

**CONCLUSION:** Very preterm infants born after hypertensive disorders or born after FGR had an increased risk of LOS compared to those born after preterm labor.

*Pediatric Research* (2021) 90:584–592; <https://doi.org/10.1038/s41390-021-01411-y>

**IMPACT:**

- Late-onset sepsis risk differs according to the cause of preterm birth.
- Compared with those born after preterm labor, infants born very preterm because of hypertensive disorders of pregnancy and/or fetal growth restriction display an increased risk for late-onset sepsis.
- Antenatal factors, in particular the full spectrum of causes leading to preterm birth, should be taken into consideration to better prevent and manage neonatal infectious morbidity and inform the parents.

**INTRODUCTION**

Very preterm infants, born before 32 weeks, are at a higher risk of mortality and morbidity in comparison to infants born at later gestational age. A growing body of research suggests that the increased risk of morbidity is not only secondary to gestational age but also associated with the underlying etiology of preterm birth.<sup>1,2</sup> Indeed, it has been shown that the causes of preterm birth are associated with different patterns of mortality,<sup>3–7</sup> intraventricular hemorrhage,<sup>8</sup> and bronchopulmonary dysplasia.<sup>6,9,10</sup> In particular, very preterm infants born after fetal growth restriction (FGR), with or without maternal hypertensive disorders, have a specific risk profile, with decreased susceptibility to severe intraventricular hemorrhage<sup>8</sup> but higher risks of neonatal death

and severe bronchopulmonary dysplasia compared to infants born after preterm labor.<sup>3,9</sup> Intra-uterine infection or inflammation, in case of preterm labor or preterm premature rupture of membranes (PPROM), is associated with lower mortality in very preterm infants but a higher risk of severe intraventricular hemorrhage and periventricular leukomalacia.<sup>6,8</sup>

Late-onset sepsis (LOS) occurs frequently among very preterm infants: from 10 to 30% experience at least one episode of LOS before discharge from the neonatal intensive care unit (NICU).<sup>11,12</sup> LOS is associated with short- and long-term adverse outcomes, such as neonatal death or neurodevelopmental impairment in childhood.<sup>11,13–15</sup> Despite its frequency and importance for later prognosis, the pathogenesis of LOS remains poorly understood

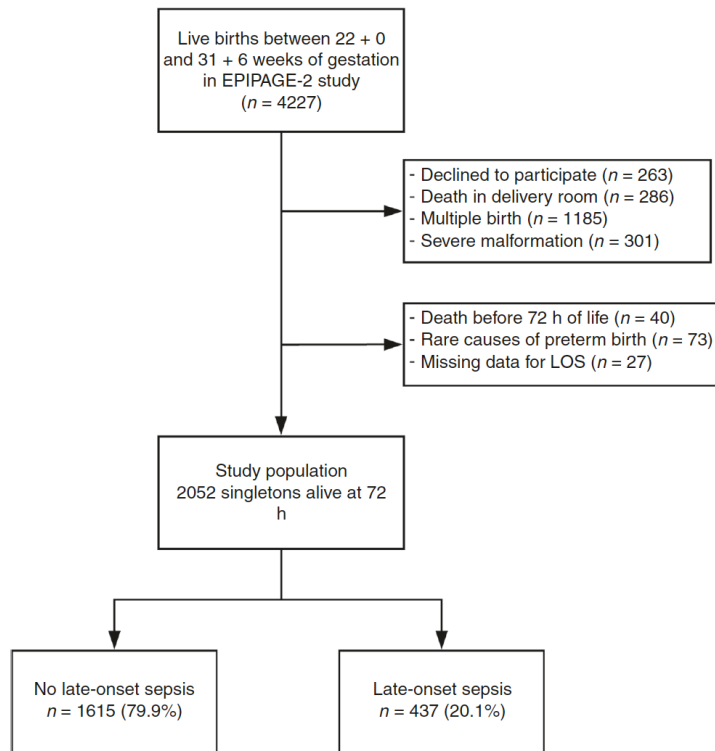
<sup>1</sup>Epidemiology and Statistics Research Center/CRESS, INSERM, INRA, Université de Paris, Paris, France; <sup>2</sup>Department of Neonatal Pediatrics, Poissy Saint Germain Hospital, Paris Saclay University, UVSQ, Paris, France; <sup>3</sup>Department of Neonatal Pediatrics, Trousseau Hospital, APHP, Sorbonne University, Paris, France; <sup>4</sup>Department of Neonatal Pediatrics, Cochin Port Royal Hospital, APHP, Paris, France; <sup>5</sup>Department of Neonatal Medicine, Jeanne de Flandre Hospital, CHRU Lille, Lille, France; <sup>6</sup>Institute for Women's Health, University College London, London, UK; <sup>7</sup>Department of Gynecology and Obstetrics, Trousseau Hospital, APHP, Sorbonne University, Paris, France; <sup>8</sup>Department of Fetal Medicine, Trousseau Hospital, APHP, Paris, France; <sup>9</sup>URC - CIC P1419, Cochin Hotel-Dieu Hospital, APHP, Paris, France and <sup>10</sup>Unit of Population Epidemiology, Department of Primary Care Medicine, Geneva University Hospitals, Geneva, Switzerland

Correspondence: Mathilde Letouzey (mathilde.letouzey@gmail.com)

A list of authors and their affiliations appears at the end of the paper.

Received: 31 July 2020 Revised: 1 February 2021 Accepted: 1 February 2021

Published online: 24 February 2021



**Fig. 1** Flow chart. Percentages are weighted according to the recruitment period. LOS late-onset sepsis.

and it has not been included in previous studies investigating the etiology of preterm birth and very preterm morbidity. Knowledge about risk factors for LOS is limited. Invasive procedures such as central venous catheter insertion or mechanical ventilation have been reported to be associated with increased risk for LOS.<sup>11</sup> Nevertheless, these postnatal risk factors are strongly dependent upon gestational age and birth weight. Neutropenia, the low plasma concentration of immunoglobulins, or even immunological immaturity have been suspected to participate in the pathogenesis of LOS.<sup>16</sup> Based on these hypotheses, many various postnatal interventions to prevent LOS have proved disappointing when evaluated.<sup>17–19</sup> It has recently been recommended that epidemiological studies be conducted on LOS to increase knowledge of risk factors beyond what is known about associations with low gestational age and low birth weight.<sup>16,18</sup> We aimed to assess the association between the cause of preterm birth and LOS in a cohort of very preterm infants.

## METHODS

### EPIPAGE-2 cohort study

EPIPAGE-2 (Etude Epidémiologique sur les Petits Ages Gestationnels 2) is a prospective, population-based cohort study, conducted in 25 French regions in 2011. All births were included from 22 to 31 completed weeks. Participants were recruited over different periods according to gestational age at birth: an eight-month period for births at 22–26 weeks, a six-month period for births at 27–31 weeks. Further details have been previously published elsewhere.<sup>20</sup> Maternal, obstetric, and neonatal data were collected from medical records. Consent for participation was provided by mothers at delivery. EPIPAGE-2 was approved by the National Data

Protection Authority (Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés, CNIL no. 911009) and by appropriate ethics committees (Consultative Committee on the Treatment of Data on Personal Health for Research Purposes (reference 10.626) and the Committee for the Protection of People participating in biomedical research (reference CPP SC-2873)).

### Study population

All infants enrolled in the EPIPAGE-2 cohort, born alive between 22 and 31 completed weeks and alive at 72 h of life, were included in this analysis (Fig. 1). Infants who died before 72 h of life were not included since LOS is defined as an infection occurring after 72 h of life. Other exclusion criteria were: multiple births (as the cause of preterm birth might differ between twins), severe congenital malformation, and rare causes of preterm birth related to maternal diseases such as lupus, cancer, or epilepsy. As there were only 27 preterm infants with missing data for diagnosis of LOS (1.4%), we chose to exclude them (Fig. 1). Maternal and neonatal characteristics of the study population and the population with missing data for LOS were similar, except for gestational age and birth weight which were significantly lower in case of missing outcome (Supplementary Material 1).

### Main exposure and outcome

Cause of preterm birth was classified into six mutually exclusive categories:<sup>3</sup> preterm labor with membranes either intact or ruptured for <24 h before delivery; preterm premature rupture of membranes with rupture of the membranes at least 24 h before delivery; isolated placental abruption; hypertensive disorders without FGR (pregnancy-induced hypertension, preeclampsia, HELLP [hemolysis, elevated liver enzymes and low platelet count]

syndrome); hypertensive disorders with FGR; and isolated FGR (without hypertensive disorders). FGR was defined by an estimated fetal weight below the 10th percentile (according to the reference curves used by the hospital where the antenatal ultrasound scans were performed), in conjunction with growth arrest and relevant fetal Doppler abnormalities. When several co-existing conditions were reported (between 5 and 10% of cases), the main cause leading to the preterm birth was identified according to strict decision rules.<sup>3</sup>

LOS was defined as positive blood culture, occurring after 72 h of life, associated with antibiotic administration for 5 days or more, or death within 5 days following positive blood culture.<sup>11</sup> We studied only the first episode of LOS. Infections such as ventilator-associated pneumonia, skin, or urinary infections without positive blood culture were not considered as LOS in this study.

#### Other variables

We studied the following socio-demographic and obstetric characteristics: maternal age, maternal place of birth, body mass index (BMI), smoking status during pregnancy, parity, intra-uterine infection, antibiotic administration during the last stay, antenatal steroid administration (defined as at least one injection administered before delivery), cesarean delivery, and delivery in a type III maternity unit. Neonatal characteristics were: gestational age at birth, sex, birth weight, antibiotic administration at birth, early-onset sepsis (defined by positive blood or cerebrospinal fluid cultures before 72 h of life), duration of the central catheter, neutropenia before the seventh day of life, and, if relevant, death and timing of death. Gestational age was based on the best estimate from early ultrasound assessment and/or last menstrual period. Duration of the central catheter was censored at the first episode of LOS.

#### Statistical analysis

We compared obstetrical and neonatal characteristics according to the cause of preterm birth. Categorical variables were compared using  $\chi^2$  or Fisher's exact tests, and medians of quantitative variables by Wilcoxon's test. All descriptive statistics were weighted according to the length of recruitment: infants born at 22–26 weeks were attributed a weight of 1 and infants born at 27–31 weeks were given a weight of 1.34 to account for the shorter recruitment time (8-month vs 6-month recruitment period, respectively) and ensure representativeness. Due to small numbers, we combined infants born at 23 ( $n = 4$ ) and 24 weeks ( $n = 55$ ) for the multivariable analyses.

Survival analysis was used to take into account the competing risk between LOS and death. The time elapsed from 72 h of life to the event of interest, i.e., the first episode of LOS, censored at death or at discharge home, was analyzed by cause of preterm birth. Survival curves by cause of preterm birth were plotted using the Kaplan–Meier method and compared with the log-rank test. Cox proportional hazard models were used to estimate and quantify the relationship between the cause of preterm birth and LOS. The Cox regression model extends survival analysis to assess simultaneously the effect of several risk factors on survival time without LOS and allows to consider both the risk of LOS and the risk of death. Results are reported as hazard ratios (HR) with 95% confidence intervals (95% CI) for LOS. Three models were constructed. The first model included only the exposure variable (cause of preterm birth) and the second model was adjusted for gestational age and neonatal sex. The third model additionally included risk factors of death or LOS, which were potential confounders, identified after analyzing the literature and drawing a directed acyclic graph (DAG):<sup>21</sup> maternal age, BMI over 25, mother's place of birth, smoking during pregnancy<sup>22–25</sup> (Supplemental Material 2).

We performed three sensitivity analyses. First, we restricted the population to infants born at 26–31 weeks, in order to avoid bias

due to practice differences that may occur at lower gestational ages. Second, we restricted the population to infants with at least one central catheter during hospitalization, to explore central line-associated bloodstream infections that are part of LOS. Then, we performed an analysis after multiple imputations for missing data. The proportion of missing data ranged from 0.0 to 10.3% for each covariate, and missing data were considered missing at random. We performed multiple imputations using chained equations with a logistic regression imputation model for missing binary data and a multinomial imputation model for missing categorical data. Outcomes were estimated within each of the 100 imputed data sets generated with 20 iterations, and results were pooled for a final analysis according to Rubin's rules. All tests were two-sided with  $p < 0.05$  considered statistically significant. Statistical analyses were performed using Stata (version 13, StataCorp-LP, College Station, TX) software.

#### RESULTS

Two thousand and fifty-two singletons born at 23–31 weeks and alive at 72 h of life were included (Fig. 1). All infants born at 22 weeks died before 72 h of life.

The most common cause of preterm birth was preterm labor (39.2%), followed by PPROM (23.2%), hypertensive disorders with FGR (14.8%), hypertensive disorders without FGR (14.0%), isolated FGR (5.6%), and placental abruption (3.2%).

Maternal and neonatal characteristics by cause of preterm birth are presented in Tables 1 and 2, respectively. Maternal characteristics differed strongly according to the cause of preterm birth. Women with hypertensive disorders (with or without FGR) were more often overweight than women with preterm labor. Smoking during pregnancy was more frequent if preterm delivery due to FGR (52.2%). Women with hypertensive disorders or FGR almost always had a cesarean section, vs 33% of women with preterm labor and 58% of women with PPROM.

Median gestational age at delivery was 29 weeks (interquartile range [IQR] 27–30) and median birth weight was 1150 g (IQR 900–1437). In-hospital deaths after 72 h of life accounted for 193 cases (8.5%), and occurred at a median age of 11 days (IQR = 5–22). Their frequency differed according to the cause of preterm birth: from 3.9% for infants born after hypertensive disorders without FGR to 12.6% for infants born after placental abruption. Neutropenia during the first week of life was more frequent in infants born after hypertensive disorders with or without FGR or after isolated FGR than those born after preterm labor (21.1%, 28.6%, and 21.2% vs 7.2%, respectively).

Among the 2052 infants, 437 (20.1%) had at least one episode of LOS. The first episode occurred at a median age of 12 days (IQR = 8–20). There was no difference in the median age of the first episode of LOS by cause of preterm birth. The frequency of LOS in very preterm infants varied according to the cause of preterm birth: 17.1% for infants born after preterm labor, 17.9% after PPROM, 20.3% after a placental abruption, 20.3% after hypertensive disorders without FGR, 27.5% after hypertensive disorders with FGR, and 29.4% for infants born after isolated FGR. If preterm birth was due to preterm labor and PPROM, the frequency of LOS significantly decreased with increasing gestational age at birth (from 41 and 50% at 23–24 WG to 3% and 2% at 31 weeks, respectively). However, the frequency of LOS decreased with increasing gestational age but remained over 10% at 31 weeks when preterm birth was due to placental abruption (from 50% at 23–24 weeks to 13% at 31 weeks), hypertensive disorders with or without FGR (from 42% or 66.7% at 25 weeks to 11% or 16.9% at 31 weeks, respectively), and over 20% if preterm birth was due to isolated FGR (from 60% at 26 weeks to 21% at 31 weeks) (Table 3).

Gram-positive organisms were the most common late-onset pathogens found in blood culture: coagulase-negative *Staphylococci* (66.4%), *Staphylococcus aureus* (11.9%), and *Enterococcus*

**Table 1.** Maternal characteristics by cause of preterm birth.

Maternal characteristics	Total (n = 2052)	Preterm labor (n = 824, 39.2%)	Cause of preterm birth				
			Preterm premature rupture of membranes (n = 481, 23.2%)	Placental abruption (n = 63, 3.2%)	Hypertensive disorders without FGR (n = 278, 14.0%)	Hypertensive disorders with FGR (n = 295, 14.8%)	Isolated FGR (n = 111, 5.6%)
Mother's age (n = 1968)							
<25 years	455 (23.0)	206 (25.9)	103 (22.3)	9 (14.3)	57 (21.5)	58 (20.5)	22 (20.6)
25–34 years	1159 (59.0)	472 (59.8)	267 (58.8)	42 (70.2)	155 (57.2)	154 (54.8)	69 (63.8)
≥35 years	354 (18.0)	113 (14.3)	88 (18.9)	10 (15.5)	57 (21.3)	69 (24.6)	17 (15.7)
BMI ≥ 25 (n = 1839)	868 (42.3)	324 (39.0)	177 (37.0)	24 (37.0)	140 (50.7)	169 (57.1)	34 (30.5)
Mother's place of birth (n = 2017)							
Europe	1571 (78.0)	648 (80.6)	360 (77.0)	54 (85.8)	206 (75.0)	213 (72.9)	90 (81.1)
Northern Africa	167 (8.3)	69 (8.7)	31 (6.5)	4 (8.5)	29 (10.3)	24 (8.3)	10 (9.1)
Subsaharian Africa	172 (8.4)	56 (6.6)	49 (10.2)	1 (1.2)	25 (9.3)	33 (11.3)	8 (7.1)
Other	107 (5.3)	34 (4.1)	29 (6.3)	4 (6.2)	15 (5.4)	22 (7.6)	3 (5.3)
Primiparous (n = 2027)	1050 (51.6)	433 (52.7)	199 (41.7)	22 (36.1)	156 (56.3)	180 (61.6)	60 (55.5)
Smoking during pregnancy (n = 1982)	502 (25.4)	190 (24.3)	141 (29.8)	28 (47.5)	39 (14.8)	48 (16.9)	56 (52.2)
Antibiotics treatment during last stay (n = 2033)	933 (45.0)	414 (50.2)	455 (95.4)	11 (17.1)	21 (7.5)	14 (4.8)	18 (16.3)
Intra-uterine infection (n = 2013)	74 (3.6)	28 (3.4)	43 (9.2)	1 (1.7)	0	2 (0.7)	0
Antenatal corticosteroids (n = 2013)	1632 (81.2)	578 (72.0)	439 (92.7)	26 (43.1)	222 (81.9)	267 (91.7)	100 (90.8)
Cesarean section (n = 2029)	1277 (64.1)	268 (33.5)	273 (58.2)	61 (98.3)	275 (100)	291 (100)	109 (99.1)
Delivery in type III maternity unit	1725 (84.0)	627 (76.0)	454 (94.1)	35 (55.7)	237 (85.2)	273 (92.3)	99 (89.1)

FGR fetal growth restriction, BMI body mass index.  
Data are shown as n (% weighted according to shorter recruitment time for infants born at 27–31 WG).  
Intra-uterine infection was defined as maternal fever ( $\geq 37.8^\circ\text{C}$ ) associated with at least two of the following criteria: maternal leukocytosis (white blood cell count  $> 15,000$  cells/ $\text{mm}^3$ ), maternal tachycardia (heart rate  $> 100$  beats/min), fetal tachycardia (heart rate  $> 160$  beats/min), uterine tenderness and foul-smelling vaginal discharge.

(3.9%). Gram-negative organisms accounted for 11.4%, and fungal organisms for 2.8% of the first episode of LOS.

Kaplan–Meier survival curves by cause of preterm birth are shown in Fig. 2. In very preterm infants, preterm birth due to placental abruption, hypertensive disorders with or without FGR, and isolated FGR was associated with lower survival without LOS as compared with the other causes of preterm birth. In multivariate analysis, the risk of LOS in very preterm infants was not different from preterm birth due to PPRM or placental abruption when compared with preterm labor (Table 4). However, the risk of LOS was significantly increased in preterm infants born after hypertensive disorders (HR = 1.7; 95% CI = 1.2–2.5), after hypertensive disorders with FGR (HR = 2.6; 95% CI = 1.9–3.6) and after isolated FGR (HR = 2.9; 95% CI = 1.9–4.4) compared to those with birth due to preterm labor. The three sensitivity analyses using a population restricted to 26–31 weeks, using a population restricted to infants with at least one central catheter during hospitalization and after multiple imputations gave similar results (Table 4).

To explore the role of central catheter duration, we divided the cohort into three groups of infants based on terciles of catheter duration (1st tercile  $< 10$  days, 2nd tercile 10–18 days, and 3rd tercile  $\geq 18$  days). The rate of LOS did not differ with central catheter duration (24.8% in the 1st tercile, 21.8% in the 2nd tercile, and 19.4% in the 3rd tercile) and still differed according to the cause of preterm birth, especially in the first tercile (Supplemental Material 3). Moreover, while the numbers of central line days

differed according to the cause of preterm birth, the incidence of LOS per 1000 catheter days varied from 12.6 per 1000 catheter days if preterm birth was due to preterm labor to 18.9 per 1000 catheter days if preterm birth was due to isolated FGR (Table 2).

## DISCUSSION

### Main findings

This study shows that the cause of preterm birth is associated with LOS in very preterm infants. Infants born following maternal hypertensive disorders had a 1.7-fold risk of LOS, infants born after hypertensive disorders associated with FGR had a 2.6-fold risk of LOS, and infants born after isolated FGR had a 2.9-fold risk of LOS compared with those born after preterm labor.

### Strengths and limitations

This study was based on data from the EPIPAGE-2 cohort, a large population-based study of very preterm infants with an accurate assessment of gestational age and a low rate of missing data. Data were collected from medical records following a common protocol ensuring high quality. Another strength relies on taking into account the competing risk between LOS and death. This is a key point in analyzing the association between the cause of preterm birth and the risk of LOS in infants. Dead infants are often excluded from analyses but this may introduce a selection bias, especially because some causes of preterm birth are known to be associated with increased neonatal mortality. This increased

**Table 2.** Neonatal characteristics by cause of preterm birth.

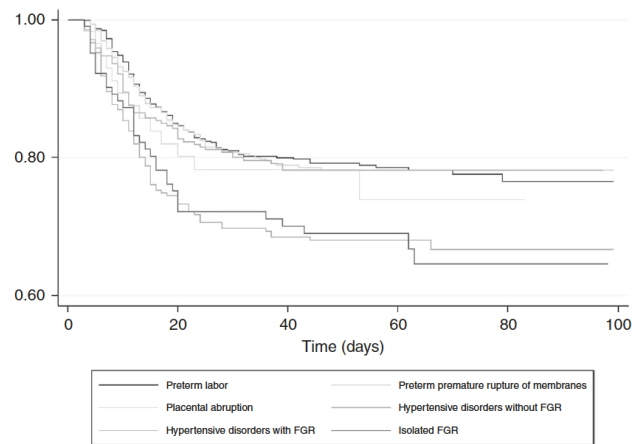
Neonatal characteristics	Total (n = 2052)	Cause of preterm birth					
		Preterm labor (n = 824, 39.2%)	Preterm premature rupture of membranes (n = 481, 23.2%)	Placental abruption (n = 63, 3.2%)	Hypertensive disorders without FGR (n = 278, 14.0%)	Hypertensive disorders with FGR (n = 295, 14.8%)	Isolated FGR (n = 111, 5.6%)
Gestational age (weeks) median (IQR)	29 (27–30)	29 (27–30)	29 (27–30)	30 (28–30)	30 (28–31)	29 (28–31)	30 (28–31)
Gestational age (weeks)							
23–25	191 (7.3)	125 (12.1)	49 (8.1)	4 (4.8)	6 (1.6)	7 (1.8)	0
26–28	689 (32.4)	284 (33.5)	172 (34.3)	22 (35.0)	74 (25.5)	104 (34.1)	33 (28.9)
29–31	1172 (60.3)	415 (54.5)	260 (57.6)	37 (60.2)	198 (72.9)	184 (64.1)	78 (71.1)
Male sex	1075 (52.3)	466 (56.7)	263 (53.8)	38 (59.7)	127 (45.7)	129 (44.0)	54 (49.2)
Birth weight (grams) median (IQR)	1180 (925–1458)	1300 (985–1575)	1277 (1000–1550)	1310 (1070–1575)	1190 (1000–1360)	950 (760–1110)	924 (780–1110)
Antibiotics treatment before day 3 of age (n = 1366)	1205 (87.7)	604 (93.6)	388 (96.2)	24 (76.3)	75 (63.6)	80 (64.4)	34 (70.4)
Early-onset sepsis (n = 1988)	47 (2.3)	15 (1.9)	19 (4.0)	0	7 (2.5)	5 (1.6)	1 (0.9)
Duration of central catheter (days) median (IQR) (n = 1865)	13 (8–21)	13 (8–21)	13 (7–20)	13 (7–22)	13 (9–20)	14 (10–24)	15 (10–20)
Neutropenia before day 7 of age (<1500/mm <sup>3</sup> ) (n = 1977)	267 (13.4)	58 (7.2)	32 (6.7)	11 (18.7)	59 (21.1)	82 (28.6)	25 (21.2)
Late-onset sepsis	437 (20.1)	155 (17.1)	95 (17.9)	13 (20.3)	57 (20.3)	84 (27.5)	33 (29.4)
Age at late-onset sepsis (days) median (IQR)	12 (8–20)	13 (9–21)	13 (8–21)	11 (7–17)	11 (8–20)	11 (6–15)	12 (5–18)
Number of catheter days	30,569	12,343	6694	974	4006	4805	1747
Incidence of late-onset sepsis (per 1000 catheter days)	14.3	12.6	14.2	13.3	14.2	17.5	18.9
Death after day 3	193 (8.5)	88 (9.4)	43 (7.8)	8 (12.6)	12 (3.9)	34 (11.1)	8 (6.8)
Age at death (days) median (IQR)	11 (5–22)	11 (6–20)	18 (10–28)	5 (3–16)	6.5 (3–12)	8 (5–16)	9 (4–31)

Data are shown as n (% weighted according to shorter recruitment time for infants born at 27–31 WG) or median (interquartile range).  
FGR fetal growth restriction, IQR interquartile range.

**Table 3.** Frequency of late-onset sepsis by cause of preterm birth and by week of gestational age at birth.

Gestational age (weeks)	Cause of preterm birth											
	Preterm labor (n = 824)		Preterm premature rupture of membranes (n = 481)		Placental abruption (n = 63)		Hypertensive disorders without FGR (n = 278)		Hypertensive disorders with FGR (n = 295)		Isolated FGR (n = 111)	
	n	LOS (%)	n	LOS (%)	n	LOS (%)	n	LOS (%)	n	LOS (%)	n	LOS (%)
23–24	41	41.5	16	50.0	2	50.0	0	0	0	0	0	0
25	84	39.3	33	51.5	2	50.0	6	66.7	7	42.9	0	0
26	113	39.8	68	44.1	2	0	19	15.8	23	73.9	5	60.0
27	78	20.5	43	20.9	7	28.6	25	24.0	32	34.4	12	66.7
28	93	20.4	61	22.9	13	23.1	30	26.7	49	32.7	16	31.3
29	117	7.7	63	14.3	5	20.0	54	20.4	48	31.3	18	16.7
30	131	7.6	87	6.9	17	17.7	67	17.9	52	25.0	27	25.9
31	167	3.6	110	1.8	15	13.3	77	16.9	84	10.7	33	21.2
p-value	<0.01		<0.01		0.17		0.08		<0.01		<0.01	

p-value for a test-for-trend between the rate of LOS and gestational age.  
FGR fetal growth restriction, LOS Late-onset sepsis.



Number at risk	0	20	40	60	80	100
Preterm labor	824	648	495	268	110	40
PPROM	481	393	283	126	55	20
Placental abruption	63	47	32	17	7	3
Hypertensive disorders without FGR	278	228	168	82	23	6
Hypertensive disorders with FGR	295	208	170	95	41	18
Isolated FGR	111	83	75	42	19	8

**Fig. 2 Comparison of survival without late-onset sepsis by cause of preterm birth in very preterm infants.** Log-rank:  $p < 0.001$ . PPRM preterm premature rupture of membranes, FGR fetal growth restriction.

mortality could artificially decrease the risk of LOS in preterm infants with FGR especially since the median ages at the occurrence of LOS and death were similar.

We used a strict definition of LOS. There is wide heterogeneity in the definition of LOS in neonatal research.<sup>26</sup> We assumed that choosing a strict definition combining the association of positive blood culture and administration of antibiotics for at least five days would limit the risk of including false-positive blood cultures. The NICHD Neonatal Research Network used the same definition

and found a rate of LOS of 21% in very preterm infants,<sup>11</sup> very similar to our rate of 20.1%.

A limitation of our study is the potential misclassification of the main cause of preterm birth. Several co-existing conditions were possible, such as PPRM and FGR. Strict decision rules were applied to determine the principal cause leading to preterm birth and were published elsewhere.<sup>3</sup> But this classification also allows to assess the respective roles of FGR and hypertensive disorders in the association between the cause of preterm birth and LOS.

**Table 4.** Association between the cause of preterm birth and late-onset sepsis in very preterm infants.

	Cause of preterm birth					
	Preterm labor	Preterm premature rupture of membranes	Placental abruption	Hypertensive disorders without FGR	Hypertensive disorders with FGR	Isolated FGR
<b>Main analyses (complete cases)</b>						
Crude HR (95% CI) (n = 2052)	1 [Reference]	1.0 (0.8–1.3)	1.3 (0.7–2.3)	1.2 (0.9–1.6)	1.8 (1.3–2.3)	1.8 (1.2–2.6)
HR adjusted for gestational age and sex (n = 2052)	1 [Reference]	1.1 (0.9–1.4)	1.7 (0.9–3.0)	1.8 (1.3–2.4)	2.6 (1.9–3.4)	2.9 (2.0–4.2)
HR adjusted for gestational age, sex and maternal characteristics <sup>a</sup> (n = 1705)	1 [Reference]	1.2 (0.9–1.5)	1.8 (0.9–3.7)	1.7 (1.2–2.5)	2.6 (1.9–3.6)	2.9 (1.9–4.4)
<b>Sensitivity analyses</b>						
Adjusted HR <sup>a</sup> , after multiple imputation <sup>b</sup> (n = 2052)	1 [Reference]	1.1 (0.9–1.5)	1.7 (0.9–3.0)	1.8 (1.3–2.5)	2.7 (2.0–3.6)	3.0 (2.0–4.4)
Adjusted HR <sup>a</sup> , restricted population at 26–31 WG, complete cases (n = 1551)	1 [Reference]	1.1 (0.8–1.6)	2.3 (1.1–4.5)	1.7 (1.2–2.5)	2.8 (2.0–3.9)	3.0 (2.0–4.6)
Adjusted HR <sup>a</sup> , restricted population, infants with at least one central catheter, complete cases (n = 1587)	1 [Reference]	1.2 (0.9–1.5)	1.9 (0.9–3.7)	1.7 (1.2–2.5)	2.5 (1.8–3.4)	2.7 (1.8–4.2)

FGR fetal growth restriction, HR Hazard ratio.

<sup>a</sup>Adjusted for gestational age, sex, and maternal characteristics: maternal age, overweight, mother's place of birth, smoking during pregnancy.

<sup>b</sup>Multiple imputation (100 imputed data sets).

We studied only singletons. The main reason is that it is often impossible to identify rigorously a single cause of preterm birth for multiples. For example, preterm birth might be secondary to PPROM in one twin and not in the other; the second twin is born preterm only because the birth of its co-twin was necessary. In this situation, the second twin is not (or less) directly exposed to PPROM, and analyzing its outcome as such would bias the results towards the null. Furthermore, if we wanted to accurately analyze the twins, we would have had to consider the chorionicity, as pathophysiological mechanisms might differ by chorionicity. Finally, there are complications specific to twin pregnancies such as twin-to-twin transfusion syndrome. We, therefore, considered only single pregnancies, which allowed us to analyze homogeneous causes of preterm birth and avoid additional methodological issues. So, we cannot generalize our results to the whole population of very preterm infants.

Another limitation may relate to the choice of a wide gestational age range, with infants born between 23 and 31 weeks. Practices for medically indicated births could differ for the lowest gestational ages and could lead to selective fetal mortality by cause of preterm birth. For example, most pregnancies with FGR resulted in a termination of pregnancy or stillbirth in France when diagnosis occurred before 26 weeks.<sup>27</sup> Therefore, we adjusted for gestational age and we performed a sensitivity analysis using a population restricted to 26–31 weeks; both found similar results thus confirming the robustness of our model.

**Interpretation**

We found a gradient in the risk of LOS with preterm birth caused by hypertensive disorders without FGR, hypertensive disorders with FGR, and isolated FGR. The risk of LOS was especially high in infants born prematurely after FGR with a hazard ratio almost three-fold higher than those born after preterm labor.

One reason for the higher risk for infants born after hypertensive disorders or FGR may be related to more frequent neutropenia or low plasma concentration of immunoglobulins, both are suspected of having a role in the pathogenesis of LOS<sup>16</sup> and are more frequent if preterm birth is due to placental dysfunction.<sup>28,29</sup> However, various postnatal interventions to prevent LOS, such as granulocyte-macrophage colony-stimulating factor or intravenous immunoglobulin, have proved disappointing when evaluated.<sup>17–19</sup>

More generally, FGR may be a marker of greater fragility, as shown by increased risks of mortality and other morbidities.<sup>3,4,6,8,9</sup> This fragility remains to be elucidated but some hypotheses have been developed such as epigenetic alterations secondary to placental dysfunction or a reduced capacity to adapt to the NICU environment. Further studies are needed to assess whether LOS could also partly explain this increased mortality and morbidity in the population of infants born after FGR.

We found no difference in the risk of LOS for infants born after PPROM compared with those born after preterm labor. It has been reported that chorioamnionitis, frequently found in cases of PPROM, could be associated with a decreased risk of LOS in very preterm infants.<sup>30</sup> The authors suggested that perinatal inflammation could stimulate the fetal immune system and decrease the risk of LOS. Our results do not support this hypothesis.

The prolonged duration of the central venous catheter has been described as a risk factor for LOS<sup>31</sup> but its role is discussed.<sup>32</sup> The duration of the catheter is an intermediate factor in the causal pathway between exposure and outcome (cause of preterm birth → catheter duration → LOS).<sup>33</sup> The duration of the catheter is a consequence of gestational age, birth weight, and neonatal morbidity. It is also the consequence of the duration of enteral feeding, which is longer in infants with low gestational age or low birth weight, and more difficult if preterm babies were born after fetal growth restriction. In a recent trial, an increased speed of increment in feeding volumes was associated with a lower median

duration of the central catheter but the rate of LOS was similar regardless of the speed of increment suggesting that duration of catheter is not a risk factor for LOS.<sup>34</sup> The duration of the catheter also increases in case of LOS (with parenteral antibiotics and discontinuation of enteral nutrition) or in case of prolonged respiratory distress (with the prolonged need of sedation analgesia) for example. Moreover, the identification of staphylococci in LOS in very preterm infants does not necessarily reflect central line-originated infections. Many of the organisms responsible for LOS in preterm infants, including *Staphylococci*, originate in the intestinal tract.<sup>35</sup> Several studies have demonstrated the presence of organisms in the feces before or at the moment of the onset of late-onset sepsis caused by the identical organism.<sup>36–38</sup> Our consistent results in several analyses (restricted population with at least one central catheter during hospitalization, with three groups of infants based on terciles of catheter duration and especially the rate of LOS per 1000 catheter days) added further supporting arguments to the risk of LOS depends on the cause of preterm birth, irrespectively of the duration of the central catheter.

The cause of preterm birth was associated with differences in medical interventions before, during, and after delivery, such as maternal or neonatal antibiotic exposure or cesarean section.<sup>39</sup> These practices were different according to the cause of preterm birth in our study and could modify the diversity in neonatal intestinal bacterial microbiome<sup>40</sup> leading to dysbiosis that could partly explain the difference in the risk of LOS.<sup>41</sup> This requires further evaluation.

Our results suggest that medical teams should adapt parental information and reinforce the perinatal management with increased monitoring of very preterm infants according to their cause of preterm birth. These results could help provide guidance in the planning of future clinical trials specifically designed to prevent LOS in this high-risk population and to understand the specific risk profile of very preterm infants born after hypertensive disorders and after FGR.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful for the participation of all families of preterm infants in the EPIPAGE-2 cohort study and for the cooperation of all maternity and neonatal units in France. The EPIPAGE-2 study has been funded with support from the French Institute of Public Health Research/Institute of Public Health and its partners the French Health Ministry, the National Institute of Health and Medical Research, the National Institute of Cancer, and the National Solidarity Fund for Autonomy; The French EQUIPEX Program of Investments in the Future (reference ANR-11-EQPX-0038). The PremUp Foundation. The Fondation de France (reference 00050329). M.L. has been supported by grants from the French Society of Pediatrics. The funding source had no role in the design and conduct of the study; collection, management, analysis, and interpretation of the data; preparation, review, or approval of the manuscript; and the decision to submit the manuscript for publication.

#### AUTHOR CONTRIBUTIONS

Substantial contributions to conception and design, acquisition of data, or analysis and interpretation of data: all authors. Drafting the article or revising it critically for important intellectual content: M.L., L.F., P.B., and E.L. Final approval of the version to be published: all authors

#### ADDITIONAL INFORMATION

**Supplementary information** The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1038/s41390-021-01411-y>.

**Competing interests:** The authors declare no competing interests.

**Consent statement:** Consent for participation was provided by mothers at delivery. EPIPAGE-2 was approved by the Committee for the Protection of People participating in biomedical research (reference CPP SC-2873).

**Publisher's note** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

#### REFERENCES

- McElrath, T. F. et al. Pregnancy disorders that lead to delivery before the 28th week of gestation: an epidemiologic approach to classification. *Am. J. Epidemiol.* **168**, 980–989 (2008).
- Basso, O. & Wilcox, A. Mortality risk among preterm babies: immaturity versus underlying pathology. *Epidemiology* **21**, 521–527 (2010).
- Delorme, P. et al. Cause of preterm birth as a prognostic factor for mortality. *Obstet. Gynecol.* **127**, 40–48 (2016).
- Kamath-Rayne, B. D., DeFranco, E. A., Chung, E. & Chen, A. Subtypes of preterm birth and the risk of postneonatal death. *J. Pediatr.* **162**, 28–34.e2 (2013).
- Stout, M. J. et al. Neonatal outcomes differ after spontaneous and indicated preterm birth. *Am. J. Perinatol.* **35**, 494–502 (2018).
- Gagliardi, L. et al. Pregnancy disorders leading to very preterm birth influence neonatal outcomes: results of the population-based ACTION cohort study. *Pediatr. Res* **73**, 794–801 (2013).
- Garite, T. J. et al. A multicenter prospective study of neonatal outcomes at less than 32 weeks associated with indications for maternal admission and delivery. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **217**, 72.e1 (2017).
- Chevallier, M. et al. Leading causes of preterm delivery as risk factors for intra-ventricular hemorrhage in very preterm infants: results of the EPIPAGE 2 cohort study. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **216**, 518.e1 (2017).
- Torchin, H. et al. Placental complications and bronchopulmonary dysplasia: EPIPAGE-2 Cohort Study. *Pediatrics* **137**, e20152163 (2016).
- Hanke, K. et al. Preterm prelabor rupture of membranes and outcome of very-low-birth-weight infants in the German Neonatal Network. *PLoS ONE* **10**, e0122564 (2015).
- Stoll, B. J. et al. Late-onset sepsis in very low birth weight neonates: the experience of the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics* **110**, 285–291 (2002).
- Olivier, F., Bertelle, V., Shah, P. S., Drolet, C. & Piedboeuf, B. Association between birth route and late-onset sepsis in very preterm neonates. *J. Perinatol.* **36**, 1083–1087 (2016).
- Stoll, B. J. et al. Neonatal outcomes of extremely preterm infants from the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics* **126**, 443–456 (2010).
- Mitha, A. et al. Neonatal infection and 5-year neurodevelopmental outcome of very preterm infants. *Pediatrics* **132**, e372–e380 (2013).
- Bright, H. R. et al. Neurocognitive outcomes at 10 years of age in extremely preterm newborns with late-onset bacteremia. *J. Pediatr.* **187**, 43–49 (2017).
- Shane, A. L., Sánchez, P. J. & Stoll, B. J. Neonatal sepsis. *Lancet* **390**, 1770–1780 (2017).
- Carr, R., Brocklehurst, P., Doré, C. J. & Modi, N. Granulocyte-macrophage colony stimulating factor administered as prophylaxis for reduction of sepsis in extremely preterm, small for gestational age neonates (the PROGRAMS trial): a single-blind, multicentre, randomised controlled trial. *Lancet* **373**, 226–233 (2009).
- ELFIN Trial Investigators Group. Enteral lactoferrin supplementation for very preterm infants: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* **393**, 423–433 (2019).
- Ohlsson, A. & Lacy, J. B. Intravenous immunoglobulin for preventing infection in preterm and/or low birth weight infants. *Cochrane Database Syst. Rev.* **7**, CD000361 (2013).
- Ancel, P.-Y. & Goffinet, F. EPIPAGE 2: a preterm birth cohort in France in 2011. *BMC Pediatr.* **14**, 97 (2014).
- Shrier, I. & Platt, R. W. Reducing bias through directed acyclic graphs. *BMC Med. Res. Methodol.* **8**, 70 (2008).
- Howell, E. A. et al. Differences in morbidity and mortality rates in black, white, and hispanic very preterm infants among New York City hospitals. *JAMA Pediatr.* **172**, 269–277 (2018).
- Dietz, P. M. et al. Infant morbidity and mortality attributable to prenatal smoking in the U.S. *Am. J. Prev. Med.* **39**, 45–52 (2010).
- Klemetti, R., Gissler, M., Sainio, S. & Hemminki, E. At what age does the risk for adverse maternal and infant outcomes increase? Nationwide register-based study on first births in Finland in 2005–2014. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* **95**, 1368–1375 (2016).
- Declercq, E., MacDorman, M., Cabral, H. & Stotland, N. Prepregnancy body mass index and infant mortality in 38 U.S. States, 2012–2013. *Obstet. Gynecol.* **127**, 279–287 (2016).
- McGovern, M. et al. Challenges in developing a consensus definition of neonatal sepsis. *Pediatr. Res.* **88**, 14–26 (2020).
- Monier, I. et al. Fetal and neonatal outcomes of preterm infants born before 32 weeks of gestation according to antenatal vs postnatal assessments of restricted growth. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **216**, 516.e1 (2017).



28. Ballou, M., Cates, K. L., Rowe, J. C., Goetz, C. & Desbonnet, C. Development of the immune system in very low birth weight (less than 1500 g) premature infants: concentrations of plasma immunoglobulins and patterns of infections. *Pediatr. Res.* **20**, 899–904 (1986).
29. Wirbelauer, J., Thomas, W., Rieger, L. & Speer, C. P. Intrauterine growth retardation in preterm infants  $\leq 32$  weeks of gestation is associated with low white blood cell counts. *Am. J. Perinatol.* **27**, 819–824 (2010).
30. Strunk, T. et al. Histologic chorioamnionitis is associated with reduced risk of late-onset sepsis in preterm infants. *Pediatrics* **129**, e134–e141 (2012).
31. Downey, L. C., Smith, P. B. & Benjamin, D. K. Risk factors and prevention of late-onset sepsis in premature infants. *Early Hum. Dev.* **86**(Suppl 1), 7–12 (2010).
32. Smith, P. B. et al. Is an increased dwell time of a peripherally inserted catheter associated with an increased risk of bloodstream infection in infants? *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* **29**, 749–753 (2008).
33. Ananth, C. V. & Schisterman, E. F. Confounding, causality, and confusion: the role of intermediate variables in interpreting observational studies in obstetrics. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **217**, 167–175 (2017).
34. Dorling, J. et al. Controlled trial of two incremental milk-feeding rates in preterm infants. *N. Engl. J. Med.* **381**, 1434–1443 (2019).
35. Underwood, M. A. & Sohn, K. The microbiota of the extremely preterm infant. *Clin. Perinatol.* **44**, 407–427 (2017).
36. Tarr, P. I. & Warner, B. B. Gut bacteria and late-onset neonatal bloodstream infections in preterm infants. *Semin. Fetal Neonatal Med.* **21**, 388–393 (2016).
37. Carl, M. A. et al. Sepsis from the gut: the enteric habitat of bacteria that cause late-onset neonatal bloodstream infections. *Clin. Infect. Dis.* **58**, 1211–1218 (2014).
38. Shaw, A. G. et al. Late-onset bloodstream infection and perturbed maturation of the gastrointestinal microbiota in premature infants. *PLoS ONE* **10**, e0132923 (2015).
39. Rutayisire, E., Huang, K., Liu, Y. & Tao, F. The mode of delivery affects the diversity and colonization pattern of the gut microbiota during the first year of infants' life: a systematic review. *BMC Gastroenterol.* **16**, 86 (2016).
40. Azad, M. B. et al. Impact of maternal intrapartum antibiotics, method of birth and breastfeeding on gut microbiota during the first year of life: a prospective cohort study. *BJOG* **123**, 983–993 (2016).
41. Cantey, J. B., Pyle, A. K., Wozniak, P. S., Hynan, L. S. & Sánchez, P. J. Early antibiotic exposure and adverse outcomes in preterm, very low birth weight infants. *J. Pediatr.* **203**, 62–67 (2018).

#### THE EPIPAGE-2 WORKING GROUP ON INFECTIONS

Pascal Boileau<sup>11,12</sup>, Laurence Foix-L'Hélias<sup>1,13</sup>, Christèle Gras-Le Guen<sup>14</sup>, Gilles Kayem<sup>1,15</sup>, Pierre Kuhn<sup>16</sup>,  
Mathilde Letouzey<sup>1,11</sup>, Elsa Lortholary<sup>1,10</sup>, Emeline Maisonneuve<sup>17</sup>, Ayoub Mitha<sup>1,18</sup> and Héloïse Torchin<sup>1,19</sup>

<sup>11</sup>Department of Neonatal Pediatrics, Poissy Saint Germain Hospital, Poissy, France. <sup>12</sup>Versailles Saint Quentin en Yvelines University, Versailles, France. <sup>13</sup>Department of Neonatal Pediatrics, Trousseau Hospital, AP-HP, Paris, France. <sup>14</sup>Department of Pediatrics, Pediatric Emergency, Clinical investigation Center 1413 INSERM1043, CHU Nantes, Nantes, France. <sup>15</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Trousseau Hospital, AP-HP, Paris, France. <sup>16</sup>Department of Neonatal Medicine, CHU Strasbourg, Strasbourg, France. <sup>17</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Trousseau Hospital, APHP, Paris, France. <sup>18</sup>Department of neonatal medicine, Jeanne de Flandres Hospital, CHRU Lille, Lille, France. <sup>19</sup>Neonatal Medicine and Resuscitation Service in Port-Royal, Cochin Hospital, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France.

Supplemental material 1: Comparison of maternal and neonatal characteristics between the study population and the population with missing data for late-onset sepsis

Characteristics	TOTAL (n=2079)	Study population (n=2052)	Population with missing data for late-onset sepsis (n=27)
<b>Maternal and birth characteristics</b>			
Mother's age (N=1993)			
< 25 years	461 (23.0)	455 (23.0)	6 (24.2)
25-34 years	1175 (59.1)	1159 (59.0)	16 (63.1)
≥ 35 years	357 (17.9)	354 (18.0)	3 (12.6)
Primiparous (N=2053)	1061 (51.5)	1050 (51.6)	11 (41.4)
Smoking during pregnancy (N=2009)	512 (25.6)	502 (25.4)	10 (38.3)
Intra-uterine infection (N=2040)	74 (3.6)	74 (3.6)	0
Antenatal corticosteroids (N=2040)	1655 (81.3)	1632 (81.2)	23 (86.3)
Cesarean section (N=2029)	1293 (64.0)	1277 (64.1)	16 (61.8)
Cause of preterm birth			
Preterm labor	830 (39.0)	824 (39.2)	6 (19.5)
Preterm premature rupture of membranes	491 (23.4)	481 (23.2)	10 (37.3)
Placental abruption	284 (14.1)	278 (14.0)	6 (23.6)
Hypertensive disorders without FGR	299 (14.8)	295 (14.8)	4 (15.7)
Hypertensive disorders with FGR	64 (3.2)	63 (3.2)	1 (3.9)
Isolated FGR	111 (5.6)	111 (5.6)	0
<b>Characteristics of neonates</b>			
Gestational age (weeks) median (IQR)	29 (27-30)	29 (27-30)	28 (27-29)
Male sex	1092 (52.5)	1075 (52.4)	17 (63.0)
Birth weight (grams) median (IQR)	1180 (925-1450)	1180 (925-1458)	1000 (920-1190)
Small-for-gestational-age (N=2077)	271 (13.3)	270 (13.2)	1 (3.7)
Early-onset sepsis (N=2015)	47 (2.3)	47 (2.3)	0
Neutropenia before day 7 of age (< 1,500/mm <sup>3</sup> ) (N=2003)	270 (13.4)	267 (13.4)	3 (11.1)
Death after day 3	193 (8.4)	193 (8.5)	0

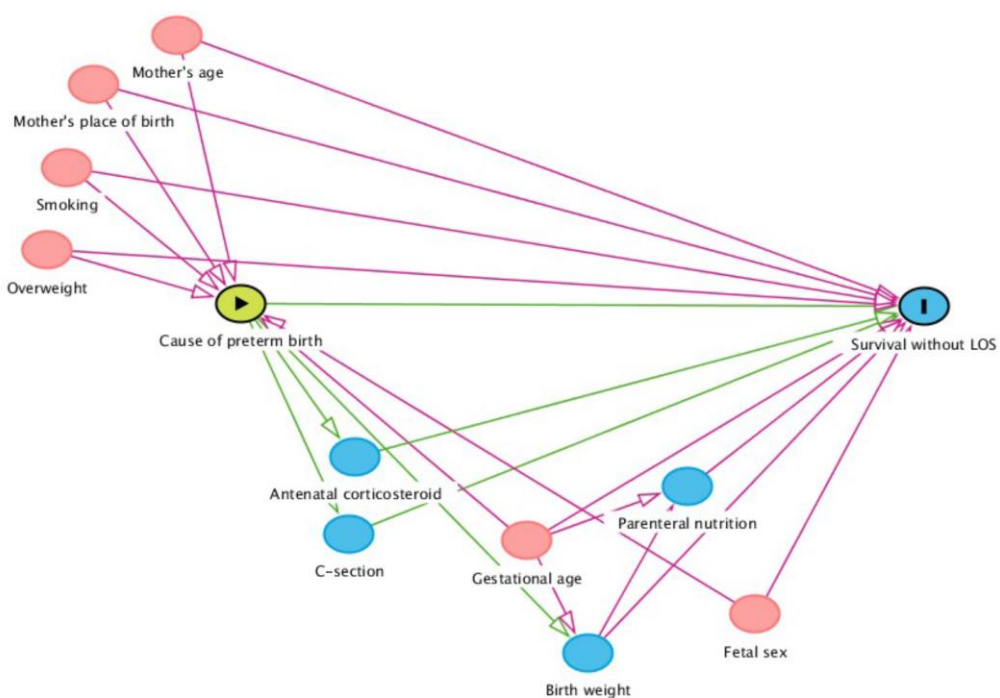
IQR interquartile range,

Data are shown as n (% weighted according shorter recruitment time for infants born at 27-31 WG) or median (interquartile range).

Small-for-gestational-age was defined as a birth weight below 10th percentile using French postnatal growth curves (Audipog).

Intra-uterine infection was defined as maternal fever ( $\geq 37.8^{\circ}\text{C}$ ) associated with at least two of the following criteria: maternal leukocytosis (white blood cell count  $> 15,000$  cells/mm<sup>3</sup>), maternal tachycardia (heart rate  $> 100$  beats/min), fetal tachycardia (heart rate  $> 160$  beats/min), uterine tenderness and foul-smelling vaginal discharge

Supplemental material 2: Directed acyclic graph



Exposure: Cause of preterm birth. Outcome: Survival without LOS.

Pink variables: confounding factors. Blue variables: intermediate factors

Supplemental material 3: Rate of late-onset sepsis and association between cause of preterm birth and late-onset sepsis in very preterm infants according to terciles of catheter duration.

	Preterm labor (n=747) n/N (%)	PPROM (n=431) n/N (%)	Placental abruption (n=59) n/N (%)	Hypertensive disorders without FGR (n=252) n/N (%)	Hypertensive disorders with FGR (n=282) n/N (%)	Isolated FGR (n=157) n/N (%)
1 <sup>st</sup> tercile (n=636) Rate of LOS Adjusted HR*	46/268 (15.7) 1[Ref]	34/152 (19.9) 1.3 [0.8-2.0]	6/21 (28.0) 2.7 [0.9-7.9]	28/89 (31.4) 2.9 [1.6-5.2]	28/89 (47.7) 3.7 [2.2-6.2]	39/80 (50.0) 4.5 [2.2-9.1]
2 <sup>nd</sup> tercile (n=619) Rate of LOS Adjusted HR*	57/238 (21.6) 1[Ref]	32/146 (19.8) 1.2 [0.8-1.9]	4/21 (18.0) 1.8 [0.5-7.0]	13/79 (16.1) 1.2 [0.6-2.5]	28/92 (29.5) 3.4 [1.9-6.1]	11/43 (25.1) 3.8 [1.9-6.1]
3 <sup>rd</sup> tercile (n=610) Rate of LOS Adjusted HR*	52/241 (20.1) 1[Ref]	29/133 (20.9) 1.0 [0.6-1.7]	3/17 (18.5) 1.5 [0.4-5.3]	16/84 (18.9) 1.3 [0.7-2.3]	17/101 (15.8) 1.0 [0.5-3.1]	8/34 (22.7) 1.3 [0.8-8.4]

PPROM: Preterm premature rupture of membranes, FGR: fetal growth restriction, LOS: late-onset sepsis, HR: Hazard ratio

\* Hazard ratios with 95% confidence interval adjusted for gestational age, neonatal sex and maternal characteristics (maternal age, overweight, mother's place of birth, smoking during pregnancy).

### 3. Conséquences néonatales des antibiothérapies initiales empiriques

Nous nous sommes ensuite attachés à identifier d'autres facteurs de la période périnatale associés aux infections néonatales tardives, dans la continuité de nos premiers résultats. Nous nous sommes donc intéressés aux antibiothérapies administrées pendant la période périnatale.

Nous avons tout d'abord décrit les antibiothérapies reçues par la mère et par les enfants selon la cause de prématurité, dans une population de nouveau-nés grands prématurés, sans malformation congénitale et issus de grossesses uniques. Nous avons pu constater que l'antibiothérapie maternelle était très dépendante de la cause de la naissance prématurée : près de 90% des femmes présentant une rupture spontanée des membranes avant terme reçoivent des antibiotiques à l'accouchement ou dans les 72 heures le précédant, environ 50% des femmes avec une mise en travail spontané, alors qu'elles sont environ 10% à en recevoir en cas d'accouchement dans un contexte de pathologie hypertensive ou de retard de croissance intra-utérin. De plus, l'antibiothérapie reçue par la mère est très liée à l'antibiothérapie reçue par l'enfant. En effet, lorsque la mère reçoit des antibiotiques, l'enfant reçoit très souvent lui aussi des antibiotiques à la naissance, avec des molécules à plus large spectre. Dans les contextes de mise en travail spontané et de rupture prématurée des membranes avant terme, plus de 90% des enfants ont reçu une antibiothérapie à la naissance. Il semble alors difficile d'étudier l'effet propre de l'antibiothérapie maternelle. De plus, la balance bénéfice-risque est en faveur de l'antibiothérapie néonatale en raison du risque élevé d'infection néonatale bactérienne précoce dans ces contextes de naissance.

Nous avons mis en évidence que les enfants nés dans un contexte de pathologie hypertensive et/ou de retard de croissance intra-utérin présentaient un risque plus élevé d'infection néonatale tardive que ceux nés après mise en travail spontané (95). En essayant de mieux comprendre ces résultats, nous avons identifié qu'un nombre important de ces enfants recevaient des antibiotiques à la naissance, alors qu'ils ne présentaient à priori pas de facteur de risque d'infection précoce. Nous avons donc décidé de nous concentrer sur les antibiothérapies reçues à la naissance par l'enfant grand prématuré, alors qu'il ne présentait aucun facteur de risque d'infection néonatale précoce, dans l'objectif d'évaluer le potentiel effet délétère de ces antibiothérapies « indues ». Ce travail a fait l'objet d'une publication en 2022 dans la revue *The Journal of Pediatrics* (Early antibiotic exposure and adverse outcomes

in very preterm infants at low risk of early-onset sepsis: the EPIPAGE-2 cohort study. *JPediatr* 2022 Apr;243:91-98.e4).

Pour ce travail, la population étudiée incluait les enfants nés vivants avant 32 SA et entrés en réanimation néonatale, issus de grossesse unique ou multiple, sans malformation congénitale sévère. Nous avons choisi d'analyser uniquement les enfants ne présentant aucun facteur de risque d'infection néonatale précoce : les enfants nés dans un contexte de mise en travail spontané, rupture prématurée des membranes ou hématome rétro-placentaire, d'infection intra-utérine, ou dont la mère avant reçu des antibiotiques dans les 72 heures précédant la naissance ont donc été exclus. En effet, dans cette population à bas risque, l'instauration d'un traitement antibiotique est questionnable et il est donc pertinent d'en étudier les conséquences potentielles.

Enfin, 151 enfants ont été exclus en raison de l'absence de données sur l'administration ou non d'antibiotiques à J0 ou J1 malgré un travail important de récupération de cette donnée auprès des centres (à partir des compte-rendus d'hospitalisation).

Initialement centré sur les infections néonatales tardives, le critère de jugement principal a évolué vers un critère composite associant la survenue du décès, d'une entérocolite ulcéro-nécrosante ou d'une infection néonatale tardive. En effet, ce critère composite est souvent utilisé dans les travaux sur les conséquences des antibiothérapies. Nous avons également fait le choix d'analyser les autres critères de morbidités néonatales sévères (lésions cérébrales, dysplasie broncho-pulmonaire sévère) afin d'avoir une description complète des complications néonatales possibles à court terme.

Les enfants qui recevaient le plus souvent une antibiothérapie initiale et qui avaient aussi le plus de risque de développer des morbidités néonatales sévères étaient ceux dont l'état clinique initial était le plus sévère, témoignant d'un biais d'indication que nous avons pris en compte en réalisant une analyse par score de propension.

Parmi les 648 nouveau-nés grands prématurés présentant un « bas risque » d'infection néonatale précoce, 26% d'entre eux ont reçu un traitement antibiotique à J0 ou J1 de vie. L'antibiothérapie précoce n'était pas associée à une augmentation ou une diminution du risque de décès, d'entérocolite ulcéro-nécrosante ou d'infection néonatale tardive. En revanche, l'antibiothérapie précoce était associée à un risque augmenté de lésions cérébrales sévères et de dysplasie broncho-pulmonaire modérée à sévère.

**Early antibiotic exposure and adverse outcomes in very preterm infants at low risk of early-onset sepsis: the EPIPAGE-2 cohort study**

Liste des auteurs : Mathilde Letouzey, Elsa Lorthe, Laetitia Marchand-Martin, Gilles Kayem, Caroline Charlier, Marine Butin, Ayoub Mitha, Monique Kaminski, Valérie Benhammou, Pierre-Yves Ancel, Pascal Boileau, Laurence Foix-L'Hélias+ EPIPAGE-2 Infectious diseases working group.

Publié dans la revue The Journal of Pediatrics en 2021.



## Early Antibiotic Exposure and Adverse Outcomes in Very Preterm Infants at Low Risk of Early-Onset Sepsis: The EPIPAGE-2 Cohort Study

Mathilde Letouzey, MD<sup>1,2</sup>, Elsa Lorthé, RM, PhD<sup>1,3</sup>, Laetitia Marchand-Martin, MSc<sup>1</sup>, Gilles Kayem, MD, PhD<sup>1,4</sup>, Caroline Charlier, MD, PhD<sup>5,6</sup>, Marine Butin, MD, PhD<sup>7</sup>, Ayoub Mitha, MD, PhD<sup>8</sup>, Monique Kaminski, MSc<sup>1</sup>, Valerie Benhammou, PhD<sup>1</sup>, Pierre-Yves Ancel, MD, PhD<sup>1,9</sup>, Pascal Boileau, MD, PhD<sup>2,10</sup>, and Laurence Foix-L'Hélias, MD, PhD<sup>1,11</sup>, the EPIPAGE-2 Infectious Diseases Working Group\*

**Objective** To assess the association between early empirical antibiotics and neonatal adverse outcomes in very preterm infants without risk factors for early-onset sepsis (EOS).

**Study design** This is a secondary analysis of the EPIPAGE-2 study, a prospective national population-based cohort that included all liveborn infants at 22-31 completed weeks of gestation in France in 2011. Infants at high risk of EOS (ie, born after preterm labor or preterm premature rupture of membranes or from a mother who had clinical chorioamnionitis or had received antibiotics during the last 72 hours) were excluded. Early antibiotic exposure was defined as antibiotic therapy started at day 0 or day 1 of life, irrespective of the duration and type of antibiotics. We compared treated and untreated patients using inverse probability of treatment weighting based on estimated propensity scores.

**Results** Among 648 very preterm infants at low risk of EOS, 173 (26.2%) had received early antibiotic treatment. Early antibiotic exposure was not associated with death or late-onset sepsis or necrotizing enterocolitis (OR, 1.04; 95% CI, 0.72-1.50); however, it was associated with higher odds of severe cerebral lesions (OR, 2.71; 95% CI, 1.25-5.86) and moderate-severe bronchopulmonary dysplasia (BPD) (OR, 2.30; 95% CI, 1.21-4.38).

**Conclusions** Early empirical antibiotic therapy administered in very preterm infants at low risk of EOS was associated with a higher risk of severe cerebral lesions and moderate-severe BPD. (*J Pediatr* 2022;243:91-8).

Early-onset sepsis (EOS) remains frequent in very preterm infants, with a prevalence of 18 per 1000 live births before 28 weeks, which is 10- to 30-fold higher than that in term infants, and infection-associated mortality is ~30% in these vulnerable infants.<sup>1</sup> When facing initial clinical instability in preterm infants, neonatologists are trained to suspect EOS and widely prescribe empirical antibiotic treatments on admission to the neonatal intensive care unit (NICU)<sup>2</sup>; however, the risk of EOS differs according to the cause of preterm birth. At birth, antibiotic administration is widely provided in the context of preterm labor or preterm premature rupture of membranes owing to the high risk of EOS. Nevertheless, these antibiotic treatments are questionable in the context of maternal hypertensive disorders or fetal growth restriction associated with a low risk of EOS.<sup>2,3</sup>

Promoting appropriate use of antibiotics in the NICU is a major concern in neonatology mainly because of these drugs' potential adverse impact on antibiotic resistance.<sup>4,5</sup> In addition, antibiotic exposure in early life disrupts gut microbiota colonization<sup>4,5</sup> and can have long-term effects on health, such as obesity, allergic diseases, and inflammatory bowel disease.<sup>6-8</sup>

Studies on early antibiotic treatment in very preterm infants with or without risk factors for EOS have shown that prolonged antibiotic exposure may be

BPD	Bronchopulmonary dysplasia
CRIB II	Clinical Risk Index for Babies II
EOS	Early-onset sepsis
IPTW	Inverse probability of treatment weighting
LOS	Late-onset sepsis
NEC	Necrotizing enterocolitis
NICU	Neonatal intensive care unit

From the <sup>1</sup>Université de Paris, Epidemiology and Statistics Research Center/CRESS, Obstetrical Perinatal and Pediatric Epidemiology Research Team (Epopé), Inserm, INRA, F-75004 Paris; <sup>2</sup>Department of Neonatal Pediatrics, Poissy Saint Germain Hospital, Poissy, France; <sup>3</sup>Unit of Population Epidemiology, Department of Primary Care Medicine, Geneva University Hospitals, Geneva, Switzerland; <sup>4</sup>Department of Gynecology and Obstetrics, Armand Trousseau Hospital, APHP, Paris Sorbonne University, Paris; <sup>5</sup>Division of Infectious Diseases and Tropical Medicine, Hôpital Universitaire Necker-Enfants Malades, Université de Paris, APHP, Paris; <sup>6</sup>Biology of Infection Unit, Institut Pasteur, French National Reference Center and WHO Collaborating Center for Listeria, Inserm U1117, Paris; <sup>7</sup>Department of Neonatal Pediatrics, Hôpital Femme Mère Enfant, Hospices Civils de Lyon, Lyon; <sup>8</sup>Department of Neonatal Medicine, Jeanne de Flandre Hospital, CHRU Lille, Lille; <sup>9</sup>URC-CIC P1419, Cochin Hotel-Dieu Hospital, APHP, Paris; <sup>10</sup>Université Paris-Saclay, UVSQ, UFR Simone Veil Santé, Montigny Le Bretonneux; and <sup>11</sup>Department of Neonatal Pediatrics, Armand Trousseau Hospital, APHP, Paris Sorbonne University, Paris, France

\*A list of additional members of the EPIPAGE-2 Infectious Diseases Working Group is available at [www.jpeds.com](http://www.jpeds.com) (Appendix).

The EPIPAGE-2 study was funded by the French Institute of Public Health Research/Institute of Public Health and its partners: the French Health Ministry, National Institute of Health and Medical Research (Inserm), National Institute of Cancer, and National Solidarity Fund for Autonomy (CNSA). Additional support for this study was provided by the National Research Agency through the French EquipEx "Investments in the Future" Program (ANR-11-EQPX-0038 and ANR-19-COHO-001), the PREMUP Foundation, Fondation de France (11779), and Fondation pour la Recherche Médicale (SPF20160936356). The funding sources had no role in the design and conduct of the study; collection, management, analysis, and interpretation of the data; preparation, review, or approval of the manuscript; or the decision to submit the manuscript for publication. The authors declare no conflicts of interest.

0022-3476/\$ - see front matter. © 2021 Elsevier Inc. All rights reserved.  
<https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2021.11.075>

associated with adverse neonatal outcomes, such as necrotizing enterocolitis (NEC), late-onset sepsis (LOS), bronchopulmonary dysplasia (BPD), and death.<sup>9-12</sup> However, these studies generally did not take into account the cause of preterm birth, which is associated with both early antibiotic exposure and certain adverse outcomes, such as death or LOS.<sup>11,13-16</sup> Moreover, many of these adverse outcomes occur in critically ill preterm infants who received antibiotics owing to their severe clinical status at birth. Therefore, controlling for the initial severity of illness would limit the indication bias.<sup>10,11</sup>

To better understand the impact of early antibiotic treatment and reduce the indication bias, one approach is to limit the study to very preterm infants at low risk of EOS (namely, those born after maternal hypertensive disorder and/or fetal growth restriction) and to control for severity of illness. Thus, the aim of our present study was to assess the association between early antibiotic exposure and adverse neonatal outcomes in very preterm infants at low risk for EOS.

## Methods

This is a secondary analysis of the EPIPAGE-2 (Etude épidémiologique sur les Petits Ages Gestationnels 2) cohort, a prospective national population-based cohort of preterm infants that included liveborn and stillborn infants as well as all terminations of pregnancy at 22-31 completed weeks of gestation in all maternity units from 25 regions in France in 2011.<sup>17</sup> Participants were recruited over different periods according to gestational age at birth: 8 months for births at 22-26 weeks and 6 months for births at 27-31 weeks. Maternal, obstetric, and neonatal data were collected from medical records following a standardized protocol as described previously.<sup>18</sup> Recruitment took place at birth after families received information and agreed to participate. During the recruitment period, 8400 births were eligible, among whom 7804 (93%) were enrolled in the study at baseline.<sup>17</sup> The EPIPAGE-2 study was approved by the National Data Protection Authority (Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés [CNIL]; 911009) and by appropriate Ethics Committees (Consultative Committee on the Treatment of Data on Personal Health for Research Purposes [reference 10.626] and the Committee for the Protection of People Participating in Biomedical Research [reference CPP SC-2873]).

All infants enrolled in the EPIPAGE-2 cohort who were born alive between 22 and 31 completed weeks of gestation were included in this analysis (Figure 1). Exclusion criteria were death in the delivery room or during the first day of life after antenatal decision of withholding care, severe congenital malformation, and twin pregnancies with twin-twin transfusion syndrome. Also excluded were infants at high risk for EOS and with well-defined indications for early antibiotic administration, including preterm onset of labor and preterm rupture of membranes as a clinical indicator of potential intrauterine infection and risk of

EOS<sup>3</sup> and clinical chorioamnionitis, defined as maternal fever ( $\geq 37.8^{\circ}\text{C}$ ) associated with at least 2 of the following criteria: maternal leukocytosis (white blood cell count  $>15\,000$  cells/ $\text{mm}^3$ ), maternal tachycardia (heart rate  $>100$  bpm), fetal tachycardia (heart rate  $>160$  bpm), uterine tenderness, and foul-smelling vaginal discharge.<sup>19</sup> Therefore, very preterm infants included in the present study were born after placental-mediated pregnancy complications (hypertensive disorders during pregnancy or fetal growth restriction)<sup>14</sup> and were at very low risk for EOS. Fetal growth restriction was defined by an estimated fetal weight below the 10th percentile (according to the reference curves used by the hospital where the antenatal ultrasound scans were performed), in conjunction with growth arrest and/or relevant fetal Doppler abnormalities.

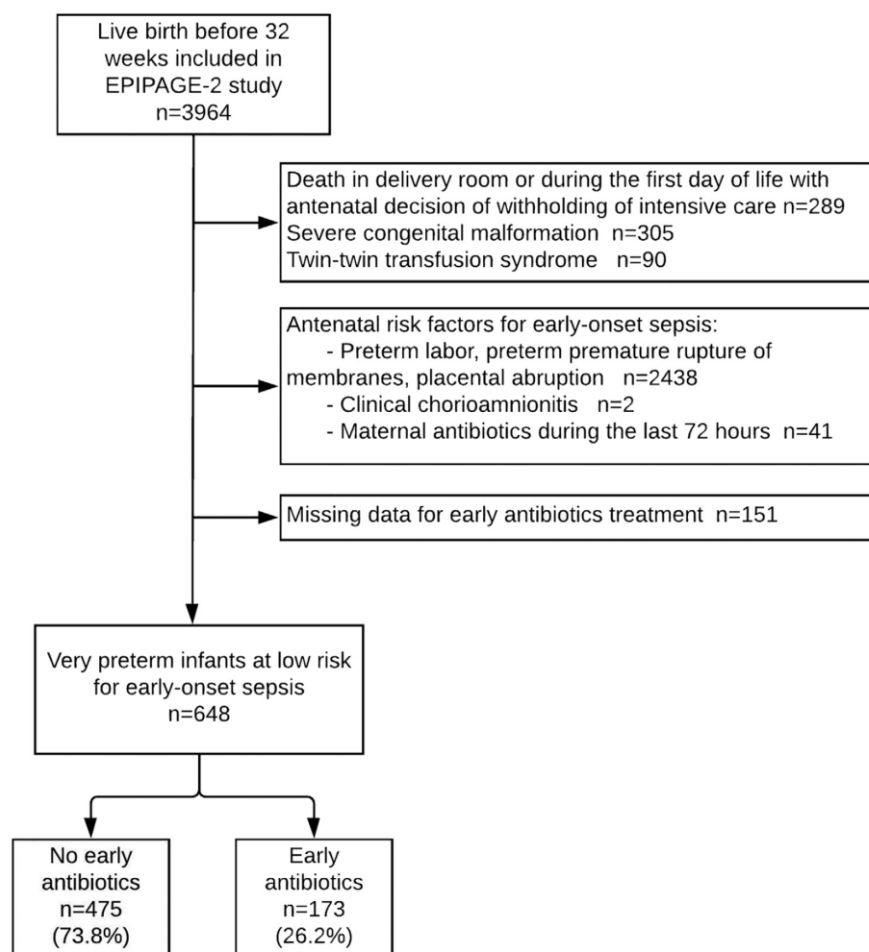
Early antibiotic exposure was defined as antibiotic therapy started at day 0 or day 1 of life, irrespective of the type and duration of antibiotics. We excluded infants with missing data for early antibiotic treatment ( $n = 151$ ). Maternal and neonatal characteristics of the study population and the population with missing data for early antibiotic treatment were similar except for the significantly higher rate of multiple pregnancy in those with missing data (Table I; available at [www.jpeds.com](http://www.jpeds.com)).

Neonatal outcomes included death, LOS, NEC, severe cerebral lesions, and moderate-severe BPD during initial hospitalization in the NICU. LOS was defined as a positive blood culture after 72 hours of life, associated with antibiotic administration for  $\geq 5$  days, or death within 5 days following a positive blood culture.<sup>20</sup> NEC was defined by the Bell classification of stage  $\geq 2$ .<sup>21</sup> Severe cerebral lesions were defined as intraventricular hemorrhage with ventricular dilatation or parenchymal hemorrhage or periventricular leukomalacia.<sup>22</sup> Moderate-severe BPD was defined as an oxygen requirement for at least 28 days and a persistent need for oxygen or ventilatory support (mechanical ventilation or positive-pressure ventilation) at 36 weeks postmenstrual age.<sup>23</sup> Severe neonatal complications was a composite outcome including any of the following: LOS, NEC, severe cerebral lesions, and moderate-severe BPD.

We defined the main outcome as a composite outcome accounting for the competing risk between death and adverse outcomes, including at least 1 of the following: death, LOS, and NEC. We also considered the following composite outcomes: death or severe neonatal complications, death or severe cerebral lesions, and death or moderate-severe BPD.

Gestational age at birth was determined as the best obstetrical estimate from early ultrasound assessment and/or last menstrual period.<sup>24</sup> The initial severity of illness was assessed in all infants using the Clinical Risk Index for Babies II (CRIB II) score.<sup>25</sup> The CRIB II score (range, 0-27) is based on gestational age, birth weight, neonatal sex, temperature at NICU admission, and initial base deficit. Higher CRIB II scores are predictive of higher mortality risk.<sup>25</sup> Newborns were considered small for gestational age if their birth weight was  $\leq 10$ th percentile according to French Epopé intrauterine growth curves adjusted for fetal sex and gestational age.<sup>26</sup>





**Figure 1.** Study flowchart.

EOS was defined by positive blood or cerebrospinal fluid cultures before 72 hours of life. Bacillus- and coagulase-negative staphylococci grown on blood cultures for <72 hours were considered contaminants instead of EOS and were found in 1 and 4 newborns, respectively.<sup>2</sup>

Maternity units were considered as type 3 when associated with a NICU. Inborn status was defined as delivery in a type 3 maternity unit. The volume of the NICU was defined by the number of infants included in the EPIPAGE 2 study in the unit, divided into terciles.

### Statistical Analysis

We first compared maternal, obstetric, and neonatal characteristics by early antibiotic treatment (yes vs no). Categorical variables were compared using the  $\chi^2$  or Fisher exact test as appropriate, and medians of quantitative variables were compared using the Wilcoxon test. All descriptive statistics were weighted according to the duration of recruitment. Infants born at 22-26 weeks were recruited over an 8-month period (ie, the equivalent of 35 weeks). Infants born at

27-31 weeks were recruited over a period of 6 months (ie, the equivalent of 26 weeks). We weighted the population of infants born at 27-31 weeks by a factor of 1.34 (35/26), to have a population equivalent to what a 35-week recruitment period would have generated. This weighting allowed us to account for the sampling scheme of the cohort and to ensure representativeness.<sup>18</sup> All tests were 2-sided, and  $P < .05$  was considered statistically significant.

We used a propensity score analysis to minimize the indication bias in estimating the antibiotic exposure effect.<sup>27</sup> The first step in the analysis consisted of estimating the propensity score, defined as the newborn's probability of receiving early antibiotic treatment based on their individual observed characteristics at admission to the NICU. The score was estimated using a logistic regression model with the administration of early antibiotic treatment as the dependent variable, regressed on baseline characteristics clinically associated with the exposure and/or the outcome, excluding covariates that might be a consequence of the treatment.<sup>28</sup> We included the following covariates: maternal age (<25, 25-34, or

≥35 years),<sup>29</sup> maternal place of birth,<sup>30</sup> overweight (body mass index ≥25),<sup>31</sup> smoking status during pregnancy,<sup>32</sup> antenatal corticosteroid use (at least 1 injection administered before delivery), single or multiple pregnancy, inborn status, gestational age at birth, birth weight (<1000, 1000-1499, or ≥1500 g), neonatal sex, CRIB II score, intubation in the delivery room, surfactant administration in the delivery room, and NICU characteristics (level and volume of activity of the unit where the infant was hospitalized during the first 48 hours of life).

The second step in the analysis involved inverse probability of treatment weighting (IPTW). IPTW uses estimated propensity scores to obtain a synthetic sample (IPTW sample) in which antibiotic treatment assignment is independent of measured baseline covariates.<sup>27,33,34</sup> Balance in the observed baseline covariates between treated patients and untreated patients in the initial and IPTW samples was assessed by examining standardized differences (Figure 2; available at [www.jpeds.com](http://www.jpeds.com)). Finally, we estimated the association between early antibiotic exposure and outcomes via a multilevel logistic regression within the weighted sample, with NICU as level 2 to account for the wide variation in the proportion of newborns who received early antibiotic treatment by center (Figure 3; available at [www.jpeds.com](http://www.jpeds.com)). We adjusted for gestational age because it was considered a confounding factor (a common ancestor of both the exposure and outcomes) and was not perfectly balanced in the propensity score (Figure 2). Results are presented as ORs with 95% CIs.

We performed a sensitivity analysis after multiple imputations for missing data. The proportion of missing data ranged from 0.0% to 8.9% for each covariate, and missing data were considered missing at random. Multiple imputations were used including all baseline variables and outcomes of the propensity score model. Categorical variables were imputed using logistic or multinomial regression as appropriate. We generated 50 independent imputed datasets. A propensity score was estimated for each of the 50 imputed data sets generated, and results were pooled for a final analysis according to Rubin's rules.<sup>35</sup>

All statistical analyses were performed with Stata version 16.1 (StataCorp).

## Results

Our study cohort comprised 648 very preterm infants at low risk for EOS, of whom 173 (26.2%) received early antibiotic treatment starting at day 0 or day 1 of life (Figure 1). Maternal, obstetric, and neonatal characteristics are presented in Table II. In this sample of pregnant women with hypertensive disorders and/or fetal growth restriction, the median maternal age was 30 years (IQR, 26-35 years), 45.5% were overweight at the beginning of pregnancy, 58.5% were primiparous, and 20.3% smoked during pregnancy. Antenatal corticosteroids were widely administered, and almost all babies were delivered by cesarean. Infants exposed

to early antibiotics were more frequently born from multiple pregnancies but less frequently born in a level 3 maternity unit. Other maternal and obstetric characteristics did not differ by early exposure to antibiotics.

The median gestational age at birth was 30.0 weeks (IQR, 28.4-31.0 weeks), and the median birth weight was 1040 g (IQR, 820-1260 g). Compared with infants without early antibiotic treatment, those who received early antibiotic treatment had a slightly lower median gestational age at birth (29.6 weeks vs 30.3 weeks) and lower median birth weight (1010 g v 1060 g). Delivery room intubation and surfactant administration were more frequent in the infants who received early antibiotics; however, the severity of the initial illness as measured by the CRIB II score at NICU admission did not differ significantly between the 2 groups (Table II).

Among the very preterm infants who received early antibiotics, 88.1% had treatment initiated at day 0. Details of the antibiotic treatment received were available for 165 infants. All infants received a combination of at least 2 molecules. Amoxicillin was used in 112 infants, third-generation cephalosporin in 129, and aminoglycosides in 140. Vancomycin also was used in combination in 11 patients, and metronidazole was used in combination in 5 infants. The median duration of antibiotic administration was 3 days (IQR, 2-6 days).

Four infants experienced an episode of EOS diagnosed on the second or third day of life. None had received antibiotic treatment on the first day of life. Identified bacteria were *Streptococcus agalactiae* in 1 infant and *Staphylococcus aureus* in 3 infants (including 1 who died on day 3).

Neonatal outcomes and their association with early exposure to antibiotics are described in Table III. After IPTW, standardized differences between treated and untreated patients were <0.10 for all covariates except for a few gestational age groups (Figure 2).

Mortality was more frequent in the early antibiotic exposure group (12.0% vs 6.3%). The frequency of NEC was similar in the 2 groups (5.9% vs 4.9%). In our cohort, 25.3% experienced at least 1 episode of LOS, at a median age of 12 days (IQR, 7-20 days), with no difference between the 2 groups. A total of 165 episodes of LOS occurred, including 41 in the early antibiotic exposure group and 124 in the no antibiotic exposure group. The most common pathogens found in blood cultures collected during LOS were coagulase-negative staphylococci (75.5%), *S aureus* (15.7%), *Enterococcus* spp (3.1%), and gram-negative organisms (2.6%), with no significant differences between the 2 groups. We did not identify any episode of LOS due to a bacterium resistant to the early antibiotics administered initially. Characteristics of LOS did not differ according to early neonatal antibiotic use (Table IV; available at [www.jpeds.com](http://www.jpeds.com)). The complete-cases analyses did not reveal any association between early antibiotic exposure and death (OR, 1.78; 95% CI, 0.82-3.88), LOS (OR, 0.93; 95% CI, 0.64-1.34), or NEC (OR, 1.47; 95% CI, 0.65-3.33). The results remained consistent after multiple imputations. The composite outcome (death or LOS or NEC) did not differ significantly between the 2 groups (35.8% in the early

**Table II. Maternal, obstetrical, and neonatal characteristics according to early neonatal antibiotic administration in very preterm infants**

Characteristics	Total (N = 648)	Early neonatal antibiotics		P value
		No (N = 475; 73.8%)	Yes (N = 173; 26.2%)	
<b>Maternal characteristics</b>				
Age, y, n (%) (N = 648)				.50
<25	117 (18.1)	87 (18.4)	30 (17.2)	
25-34	364 (56.0)	262 (55.0)	102 (58.9)	
≥35	167 (25.9)	126 (26.5)	41 (24.0)	
BMI ≥25, n (%) (N = 601)	274 (45.5)	206 (46.6)	68 (42.5)	.38
Place of birth, n (%) (N = 641)				.58
Europe	474 (73.9)	346 (73.8)	128 (74.3)	
Northern Africa	55 (8.6)	41 (8.7)	14 (8.3)	
Sub-Saharan Africa	69 (10.9)	54 (11.6)	15 (8.9)	
Other	43 (6.6)	28 (5.9)	15 (8.5)	
Primiparous, n (%) (N = 640)	375 (58.5)	278 (59.1)	97 (56.9)	.74
Smoking during pregnancy, n (%) (N = 621)	125 (20.3)	91 (19.9)	34 (21.6)	.65
Multiple pregnancy, n (%) (N = 648)	87 (12.9)	51 (10.9)	32 (17.5)	.006
Antenatal corticosteroids, n (%) (N = 639)*	561 (88.1)	419 (89.3)	142 (84.4)	.09
Cesarean delivery, n (%) (N = 641)	637 (99.4)	466 (99.6)	171 (98.8)	.29
Inborn, n (%) (N = 648)†	600 (92.7)	449 (94.6)	151 (87.4)	.002
<b>Neonatal characteristics</b>				
Gestational age, wk, n (%) (N = 648)				.09
25-27	127 (17.6)	84 (16.1)	43 (21.6)	
28-29	196 (31.0)	140 (30.0)	56 (33.8)	
30-31	325 (51.4)	251 (53.8)	74 (44.6)	
Male sex, n (%) (N = 648)	304 (47.1)	216 (45.6)	88 (51.5)	.18
Birth weight, g, n (%) (N = 648)				.14
<1000	286 (42.7)	199 (40.8)	87 (48.1)	
1000-1499	316 (50.0)	244 (52.3)	72 (43.4)	
≥1500	46 (7.3)	32 (6.9)	14 (8.4)	
SGA (<10th percentile), n (%) (N = 648)	521 (80.2)	386 (81.1)	135 (77.7)	.34
Apgar score <5 at 5 min, n (%) (N = 625)	54 (8.5)	34 (7.2)	20 (12.4)	.04
Intubation in delivery room, n (%) (N = 626)	329 (51.5)	213 (45.8)	116 (67.3)	<.001
Surfactant in delivery room, n (%) (N = 635)	195 (29.9)	132 (27.7)	63 (36.1)	.04
Chest compressions in delivery room, n (%) (N = 617)	28 (4.3)	18 (3.8)	10 (5.7)	.29
CRIB II score, n (%) (N = 555)	6 (4-9)	6 (4-9)	7 (4-9)	.18
EOS, n (%) (N = 648)	4 (0.6)	4 (0.9)	0 (0.0)	.23
<b>Neonatal unit characteristics‡</b>				
Level 3, n (%) (N = 648)	629 (97.0)	463 (97.4)	166 (95.8)	.29
Volume of activity, n (%) (N = 648)				.13
Low	203 (31.6)	145 (30.7)	58 (34.1)	
Medium	234 (35.9)	165 (34.5)	69 (39.8)	
High	211 (32.6)	165 (34.8)	46 (26.2)	

BMI, body mass index.

Percentages are weighted according to the differences in length of recruitment of gestational age groups. For each variable, percentages might not sum up to 100% owing to rounding.

\*Antenatal corticosteroids defined as at least 1 injection of corticosteroids before delivery.

†Inborn defined as birth in a hospital with a NICU.

‡Characteristics of the unit in which the newborn was hospitalized during the first 48 hours of life.

exposure group vs 32.5% in the no exposure group), and we did not find an association between early exposure to antibiotics and this composite outcome (OR, 1.04; 95% CI, 0.72-1.50).

Severe cerebral lesions, either isolated or in combination with death, were more frequent in the early antibiotic exposure group (9.1% vs 4.5% and 16.6% vs 9.9%, respectively). We found an association between severe cerebral lesions and early exposure to antibiotics (OR, 2.71; 95% CI, 1.25-5.86); the trend was the same, but at the limit of significance (OR, 2.99; 95% CI, 0.99-9.04), after multiple imputations. The association was less pronounced for the composite outcome death or severe cerebral lesions (Table III).

Moderate-severe BPD was also more frequent in the early antibiotic exposure group, both isolated and in combination with death (19.7% vs 10.2% and 28.6% vs 15.4%, respectively).

We found an association between moderate-severe BPD and early antibiotic exposure (OR, 2.30; 95% CI, 1.21-4.38); the trend was the same, but at the limit of significance (OR, 1.87; 95% CI, 0.96-3.65), after multiple imputations. The results were similar for the composite outcome death or moderate-severe BPD (Table III).

Finally, we found no association between early exposure to antibiotics and the composite outcome severe neonatal complication (which included any of the following: LOS, NEC, severe cerebral lesions, and moderate to severe BPD) (OR, 1.37; 95% CI, 0.94-1.98).

In a sensitivity analysis after multiple imputations for missing data, results were consistent for the composite outcome of death, LOS, or NEC (Table V). For severe cerebral lesions and severe BPD, the trends were the same as in the complete-cases analysis but at the limit of

**Table III. Neonatal outcomes according to early neonatal antibiotic use**

Outcomes	Total (N = 648), n (%)	Early neonatal antibiotic use, n (%)		P value	Complete-case analysis (N = 465), aOR (95% CI)
		No (N = 475; 73.8%)	Yes (N = 173; 26.2%)		
Death (N = 648)	55 (7.8)	32 (6.3)	23 (12.0)	.01	1.78 (0.82-3.88)
LOS (N = 641)	165 (25.4)	124 (26.0)	41 (23.3)	.35	0.93 (0.64-1.34)
NEC (N = 641)	33 (5.2)	23 (4.9)	10 (5.9)	.62	1.47 (0.65-3.33)
Severe cerebral lesions (N = 635)	38 (5.7)	21 (4.5)	17 (9.1)	.02	2.71 (1.25-5.86)
Moderate to severe BPD (N = 585)	78 (12.6)	47 (10.2)	31 (19.7)	<.01	2.30 (1.21-4.38)
Composite outcomes					
Severe neonatal complication* (N = 604)	252 (40.8)	174 (38.6)	78 (46.9)	.07	1.37 (0.94-1.98)
Death or severe neonatal complication (N = 647)	274 (41.3)	188 (38.9)	86 (48.0)	.04	1.33 (0.92-1.93)
Death or severe cerebral lesions (N = 640)	79 (11.7)	48 (9.9)	31 (16.6)	.02	2.16 (1.21-3.85)
Death or moderate to severe BPD (N = 634)	128 (18.9)	76 (15.4)	52 (28.6)	<.001	2.25 (1.31-3.87)
Death or LOS or NEC (N = 639)	218 (33.3)	154 (32.5)	64 (35.8)	.43	1.04 (0.72-1.50)

Percentages are weighted according to the differences the duration of recruitment of gestational age groups. For each variable, percentages might not sum to 100% owing to rounding. aOR was obtained from multilevel analysis with IPTW, adjusted for gestational age.

\*Severe neonatal complication was defined as any of the following outcomes: LOS; severe cerebral lesions (intraventricular hemorrhage with ventricular dilatation, parenchymal hemorrhage, and/or cystic periventricular leukomalacia); Bell stage ≥2 NEC; and/or moderate-severe BPD, defined as administration of oxygen for at least 28 days plus the need for ≥21% oxygen and/or mechanical ventilatory support or continuous positive airway pressure at 36 weeks postmenstrual age.

significance (OR, 2.99; 95% CI, 0.99-9.04 and OR, 1.87; 95% CI, 0.96-3.65, respectively).

### Discussion

Among 648 very preterm infants at low risk for EOS enrolled in the French EPIPAGE-2 study, 26% were exposed to antibiotics during the first day of life. This early antibiotic exposure was not associated with death, LOS, or NEC but was associated with an elevated risk of severe cerebral lesions and moderate-severe BPD.

The strengths of our study include the use of data from a national prospective population-based cohort study. Data on antibiotic exposure and neonatal outcomes were collected prospectively using a detailed and standardized questionnaire. We had a relatively small sample, but our study provided a unique opportunity to evaluate the impact of early antibiotic administration on neonatal outcomes independent of indication biases. First, we chose to study a homogeneous sample of very preterm infants at low risk

of EOS, excluding those born following spontaneous preterm labor, rupture of membranes, maternal antibiotic treatment within 72 hours of birth, placental abruption, or clinical chorioamnionitis. These infants had none of the EOS risk factors that would require empirical antibiotic treatment at birth, and only 4 (in the group without initial exposure to antibiotics) were finally diagnosed with EOS. Three of these 4 infants were infected with *S aureus*. The infection started on day 2 in 1 infant and on day 3 in the other 2 infants. In this context of preterm birth with cesarean delivery, we suggest that vertical transmission was unlikely, and that these were probably hospital-acquired infections.

The empirical administration of antibiotics in 26% of our population was probably due to standard local protocols, with wide variability among NICUs. This rate was consistent with previous reports and should be addressed with specific antibiotic stewardship interventions.<sup>2,11</sup> We controlled for the initial severity of illness by including the CRIB II score in the propensity score, a validated predictor of mortality in this population.<sup>25</sup> We also added intubation and

**Table V. Sensitivity analysis: association between neonatal outcomes and early neonatal antibiotics after multiple imputation**

Outcomes	Complete-case analysis (N = 465), aOR (95% CI)	Multiple imputation (N = 648), aOR (95% CI)
Death	1.78 (0.82-3.88)	1.51 (0.57-3.99)
LOS	0.93 (0.64-1.34)	1.12 (0.62-2.03)
NEC	1.47 (0.65-3.33)	*
Severe cerebral lesions	2.71 (1.25-5.86)	2.99 (0.99-9.04)
Moderate-severe BPD	2.30 (1.21-4.38)	1.87 (0.96-3.65)
Composite outcomes		
Any severe neonatal complication	1.37 (0.94-1.98)	1.54 (0.87-2.72)
Death or severe neonatal complication	1.33 (0.92-1.93)	1.53 (0.85-2.73)
Death or severe cerebral lesions	2.16 (1.21-3.85)	1.85 (0.82-4.18)
Death or moderate-to-severe BPD	2.25 (1.31-3.87)	1.76 (0.91-3.39)
Death or LOS or NEC	1.04 (0.72-1.50)	1.28 (0.72-2.28)

aOR was obtained from multilevel analysis with IPTW, adjusted for gestational age. Severe neonatal complication was defined as any of the following outcomes: LOS, severe cerebral lesions (intraventricular hemorrhage with ventricular dilatation, parenchymal hemorrhage, and/or cystic periventricular leukomalacia), Bell stage ≥2 NEC, and moderate-severe BPD.

\*Convergence not achieved owing to the low number of NEC cases.

surfactant administration in the delivery room to account for clinical severity at birth. The initial clinical severity is a key confounding factor, associated with both early antibiotic treatment (empirical treatment of possible sepsis) and neonatal adverse outcomes.<sup>2</sup> Finally, to limit the effect of the indication bias, we used a propensity score based on variables available at the time of decision to initiate or withhold early antibiotic treatment. Using IPTW enabled us to estimate the average treatment effect in the entire sample.<sup>34</sup> In contrast, using matching on propensity score excludes patients for whom no match existed, resulting in a significant loss of information and ultimately leading to selection bias, particularly in this population of infants with low risk of EOS at baseline. IPTW provided a way to balance measured covariates across exposed and nonexposed groups independent of the clinical status at NICU admission that may have influenced the decision to administer early antibiotic treatment.

In our study, early antibiotic exposure was not associated with an elevated risk of death, LOS, or NEC. Several studies found an association between early empirical exposure to antibiotics and these outcomes, either in isolation or combined<sup>9-11</sup>; however, those studies included preterm infants alive at day 5,<sup>9</sup> day 7,<sup>11</sup> or day 14,<sup>10</sup> to provide sufficient time for exposure to antibiotics, and focused on the consequences of the duration of antibiotic treatment. We chose to study morbidity and mortality from the first day of life to obtain a complete assessment of the putative consequences of early antibiotic exposure. In a subgroup of very low birth weight infants at low risk for EOS, Ting et al found an increased risk of a composite outcome (intraventricular hemorrhage, NEC, BPD, severe retinopathy of prematurity, hospital-acquired infections, or death) in infants with long antibiotic exposure (4-7 days) compared with infants with no exposure (aOR, 1.51; 95% CI, 1.22-1.87), but no statistically significant difference in infants with short antibiotic exposure (1-3 days) (aOR, 1.03; 95% CI, 0.84-1.26).<sup>11</sup> More recently, in an international cohort of 2831 preterm very low birth weight infants, Li et al found a lower incidence of NEC in those who received early antibiotic administration (aOR, 0.25; 95% CI, 0.12-0.47).<sup>16</sup> In that study, almost 90% of the infants received antibiotics within the first 3 days after birth; moreover, in the small comparison group that did not receive early antibiotic treatment (n = 269), baseline characteristics differed markedly, including older gestational age, a higher rate of cesarean delivery, and a higher proportion of small for gestational age infants. The relatively high NEC incidence in the control group (9%) could lead to potential confounding bias and requires caution in interpretation.<sup>16</sup>

In our study, early antibiotic exposure was associated with a higher risk of moderate-severe BPD and severe cerebral lesions despite adjustment for the severity of initial illness. Our findings are similar to those reported in some previous studies.<sup>11,12</sup> Furthermore, Puopolo et al reported that among 5334 extremely preterm infants at low risk for EOS, those

empirically treated with early prolonged antibiotic administration in the absence of culture-confirmed infection had a higher adjusted risk of severe cerebral lesions and higher adjusted risk of BPD compared with those who did not receive early prolonged antibiotic administration (adjusted for multiple predictors of illness severity).<sup>2</sup>

We acknowledge certain limitations to our study. We had a limited sample size owing to our choice of a study population at low risk for EOS. Moreover, the EPIPAGE-2 study data were collected in 2011 and might not reflect more recent advances in NICU practices. As a part of this epidemiologic study, we could not analyze the gut microbiota or the impact of early antibiotic exposure on subsequent colonization with multidrug-resistant organisms.

We cannot totally rule out a lack of power to explain our observed lack of associations between early antibiotic administration and death, LOS, and NEC. Nevertheless, we found an association between early antibiotic administration and severe cerebral lesions and BPD, although the underlying pathophysiologic mechanisms remain unclear. Consequences of early antibiotics should differ according to, for example, the type of antibiotics used and the number of courses during hospitalization. Studying the consequences of early antibiotic treatment in very preterm infants is complex and requires assessing not only neonatal mortality and morbidity, but also the effects on microbiota and later health. Postnatal exposure to antibiotics has been shown to impact the diversity of the gut microbiota.<sup>4</sup> Other concerns include a potential impact on host immunity and subsequent autoinflammatory disorders, according to the suggested consequence of microbiota on inflammation and in the pathogenesis of a wide variety of inflammatory disease processes.<sup>36</sup> Tracheal microbiota also may differ between infants who develop BPD and those who do not, and postnatal exposure to antibiotics could be involved in these differences.<sup>36</sup>

To allow for a more robust conclusion regarding the consequences of early antibiotics in preterm infants, a randomized controlled trial would be optimal. Such a study should include very preterm infants born between 26 and 31 weeks of gestation without risk factors for EOS, and the primary outcome would be the composite outcome of LOS, NEC, severe cerebral lesions, and BPD or death.

In conclusion, in our cohort, early exposure to antibiotics in very preterm infants at low risk for EOS was not associated with an increased risk of a composite outcome including death, LOS, and/or NEC. However, our results call into question whether early antibiotic treatment is warranted, given the associated higher risk of severe cerebral lesions and moderate-severe BPD. ■

*We are grateful for the participation of all families of preterm infants in the EPIPAGE-2 cohort study and for the cooperation of all the maternity and neonatal units in France.*

Submitted for publication Jul 25, 2021; last revision received Oct 6, 2021; accepted Nov 21, 2021.

## References

1. Stoll BJ, Puopolo KM, Hansen NI, Sánchez PJ, Bell EF, Carlo WA, et al. Early-onset neonatal sepsis 2015 to 2017, the rise of *Escherichia coli*, and the need for novel prevention strategies. *JAMA Pediatr* 2020;174:e200593.
2. Puopolo KM, Mukhopadhyay S, Hansen NI, Cotten CM, Stoll BJ, Sanchez PJ, et al. Identification of extremely premature infants at low risk for early-onset sepsis. *Pediatrics* 2017;140:e20170925.
3. Benitz WE, Gould JB, Druzin ML. Risk factors for early-onset group B streptococcal sepsis: estimation of odds ratios by critical literature review. *Pediatrics* 1999;103:e77.
4. Arbolea S, Sánchez B, Milani C, Duranti S, Solís G, Fernández N, et al. Intestinal microbiota development in preterm neonates and effect of perinatal antibiotics. *J Pediatr* 2015;166:538-44.
5. de Man P, Verhoeven BA, Verbrugh HA, Vos MC, van den Anker JN. An antibiotic policy to prevent emergence of resistant bacilli. *Lancet* 2000;355:973-8.
6. Bailey LC, Forrest CB, Zhang P, Richards TM, Livshits A, DeRusso PA. Association of antibiotics in infancy with early childhood obesity. *JAMA Pediatr* 2014;168:1063-9.
7. Hoskin-Parr L, Teyhan A, Blocker A, Henderson AJW. Antibiotic exposure in the first two years of life and development of asthma and other allergic diseases by 7.5 yr: a dose-dependent relationship. *Pediatr Allergy Immunol* 2013;24:762-71.
8. Kronman MP, Zaoutis TE, Haynes K, Feng R, Coffin SE. Antibiotic exposure and IBD development among children: a population-based cohort study. *Pediatrics* 2012;130:e794-803.
9. Cotten CM, Taylor S, Stoll B, Goldberg RN, Hansen NI, Sánchez PJ, et al. Prolonged duration of initial empirical antibiotic treatment is associated with increased rates of necrotizing enterocolitis and death for extremely low birth weight infants. *Pediatrics* 2009;123:58-66.
10. Cantey JB, Pyle AK, Wozniak PS, Hynan LS, Sánchez PJ. Early antibiotic exposure and adverse outcomes in preterm, very low birth weight infants. *J Pediatr* 2018;203:62-7.
11. Ting JY, Roberts A, Sherlock R, Ojah C, Cieslak Z, Dunn M, et al. Duration of initial empirical antibiotic therapy and outcomes in very low birth weight infants. *Pediatrics* 2019;143:e20182286.
12. Cantey JB, Huffman LW, Subramanian A, Marshall AS, Ballard AR, Lefevre C, et al. Antibiotic exposure and risk for death or bronchopulmonary dysplasia in very low birth weight infants. *J Pediatr* 2017;181:289-93.e1.
13. Esaiassen E, Fjalstad JW, Juvet LK, van den Anker JN, Klingenberg C. Antibiotic exposure in neonates and early adverse outcomes: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother* 2017;72:1858-70.
14. Delorme P, Goffinet F, Ancel PY, Foix-L'Hélias L, Langer B, Lebeaux C, et al. Cause of preterm birth as a prognostic factor for mortality. *Obstet Gynecol* 2016;127:40-8.
15. Letouzey M, Foix-L'Hélias L, Torchin H, Mitha A, Morgan AS, Zeitlin J, et al. Cause of preterm birth and late-onset sepsis in very preterm infants: the EPIPAGE-2 cohort study. *Pediatr Res* 2021;90:584-92.
16. Li Y, Shen RL, Ayede AI, Berrington J, Bloomfield FH, Busari OO, et al. Early use of antibiotics is associated with a lower incidence of necrotizing enterocolitis in preterm, very low birth weight infants: the NEOMUNE-NeoNutriNet cohort study. *J Pediatr* 2020;227:128-34.e2.
17. Lorthe E, Benhammou V, Marchand-Martin L, Pierrat V, Lebeaux C, Durox M, et al. Cohort profile: the Etude Epidémiologique sur les Petits Ages Gestationnels-2 (EPIPAGE-2) preterm birth cohort. *Int J Epidemiol* 2021;50:1428-9.
18. Ancel PY, Goffinet F, EPIPAGE 2 Writing Group. EPIPAGE 2: a preterm birth cohort in France in 2011. *BMC Pediatr* 2014;14:97.
19. Gibbs RS. Diagnosis of intra-amniotic infection. *Semin Perinatol* 1977;1:71-7.
20. Stoll BJ, Hansen N, Fanaroff AA, Wright LL, Carlo WA, Ehrenkranz RA, et al. Late-onset sepsis in very low birth weight neonates: the experience of the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics* 2002;110(2 Pt 1):285-91.
21. Bell MJ, Ternberg JL, Feigin RD, Keating JP, Marshall R, Barton L, et al. Neonatal necrotizing enterocolitis. Therapeutic decisions based upon clinical staging. *Ann Surg* 1978;187:1-7.
22. Volpe JJ. Brain injury in premature infants: a complex amalgam of destructive and developmental disturbances. *Lancet Neurol* 2009;8:110-24.
23. Jobe AH, Bancalari E. Bronchopulmonary dysplasia. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:1723-9.
24. Ancel PY, Goffinet F, EPIPAGE-2 Writing Group, Kuhn P, Langer B, Matis J, et al. Survival and morbidity of preterm children born at 22 through 34 weeks' gestation in France in 2011: results of the EPIPAGE-2 cohort study. *JAMA Pediatr* 2015;169:230-8.
25. Parry G, Tucker J, Tarnow-Mordi W, UK Neonatal Staffing Study Collaborative Group. CRIB II: an update of the clinical risk index for babies score. *Lancet* 2003;361:1789-91.
26. Ego A, Prunet C, Lebreton E, Blondel B, Kaminski M, Goffinet F, et al. Customized and non-customized French intrauterine growth curves, I: methodology. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)* 2016;45:155-64 (in French).
27. Austin PC. An introduction to propensity score methods for reducing the effects of confounding in observational studies. *Multivariate Behav Res* 2011;46:399-424.
28. Garrido MM, Kelley AS, Paris J, Roza K, Meier DE, Morrison RS, et al. Methods for constructing and assessing propensity scores. *Health Serv Res* 2014;49:1701-20.
29. Klemetti R, Gissler M, Sainio S, Hemminki E. At what age does the risk for adverse maternal and infant outcomes increase? Nationwide register-based study on first births in Finland in 2005-2014. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2016;95:1368-75.
30. Howell EA, Janevic T, Hebert PL, Egorova NN, Balbierz A, Zeitlin J. Differences in morbidity and mortality rates in Black, White, and Hispanic very preterm infants among New York City hospitals. *JAMA Pediatr* 2018;172:269-77.
31. Declercq E, MacDorman M, Cabral H, Stotland N. Prepregnancy body mass index and infant mortality in 38 U.S. states, 2012-2013. *Obstet Gynecol* 2016;127:279-87.
32. Dietz PM, England LJ, Shapiro-Mendoza CK, Tong VT, Farr SL, Callaghan WM. Infant morbidity and mortality attributable to prenatal smoking in the US. *Am J Prev Med* 2010;39:45-52.
33. Thomas L, Li F, Pencina M. Using propensity score methods to create target populations in observational clinical research. *JAMA* 2020;323:466-7.
34. Austin PC, Stuart EA. Moving towards best practice when using inverse probability of treatment weighting (IPTW) using the propensity score to estimate causal treatment effects in observational studies. *Stat Med* 2015;34:3661-79.
35. Rubin DB, Schenker N. Multiple imputation in health-care databases: an overview and some applications. *Stat Med* 1991;10:585-98.
36. Underwood MA, Sohn K. The microbiota of the extremely preterm infant. *Clin Perinatol* 2017;44:407-27.

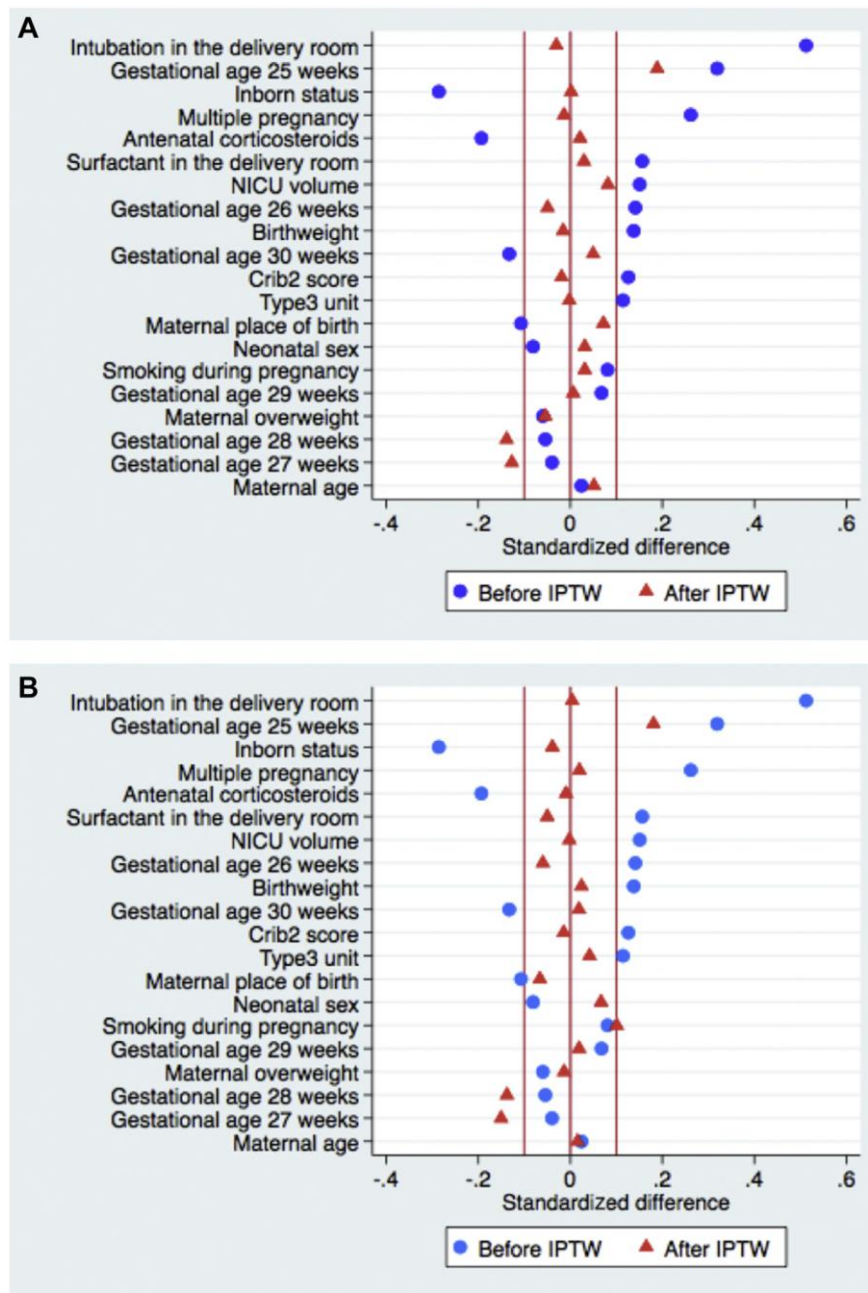
## Appendix

### Additional Members of the EPIPAGE-2 Infectious Diseases Writing Group and of the EPIPAGE-2 Study Group

Members of the EPIPAGE-2 Infectious Diseases Writing Group: Pascal Boileau, MD, PhD (Department of Neonatal Pediatrics, Poissy Saint Germain Hospital, UVSQ), Marine Butin, MD, PhD (Department of Neonatal Pediatrics, Hospices Civils de Lyon, Hôpital Femme Mère Enfant), Laurence Foix-L'Hélias, MD, PhD (Inserm UMR 1153, Obstetrical, Perinatal and Pediatric Epidemiology Research Team, Center for Epidemiology and Statistics and Department of Neonatal Pediatrics, Trousseau Hospital, AP-HP, Sorbonne University), Christèle Gras-Le Guen, MD, PhD (Department of Pediatrics, Pediatric Emergency, Clinical Investigation Center 1413, Inserm 1043, CHU Nantes), Gilles Kayem, MD, PhD (Inserm UMR 1153, Obstetrical, Perinatal and Pediatric Epidemiology Research Team, Center for Epidemiology and Statistics and Department of Obstetrics and Gynecology, Trousseau Hospital, AP-HP, Sorbonne University), Pierre Kuhn, MD, PhD (Department of Neonatal Medicine, CHU Strasbourg), Mathilde Letouzey, MD, MSc (Inserm UMR 1153, Obstetrical, Perinatal and Pediatric Epidemiology Research Team, Center for Epidemiology and Statistics and Department of Neonatal Pediatrics, Poissy Saint Germain Hospital), Elsa Lorthé, RM, PhD (Inserm UMR 1153, Obstetrical, Perinatal and Pediatric Epidemiology Research Team, Center for Epidemiology and Statistics), Emeline Maisonneuve, MD, MSc (Department of Obstetrics and Gynecology, Trousseau Hospital, APHP), Ayoub Mitha, MD PhD, (Inserm UMR 1153, Obstetrical, Perinatal and Pediatric Epidemiology Research Team, Center for Epidemiology and Statistics and Department of Neonatal Medicine, Jeanne de Flandres Hospital, CHRU Lille), Jeanne Sibiude MD, PhD (Department of Gynecology and Obstetrics, Hôpital Louis Mourier, APHP), Héloïse Torchin, MD, PhD (Inserm UMR 1153, Obstetrical, Perinatal and Pediatric Epidemiology Research Team, Center for Epidemiology and Statistics, Neonatal Medicine and Resuscitation Service in Port-Royal, Cochin Hospital, APHP).

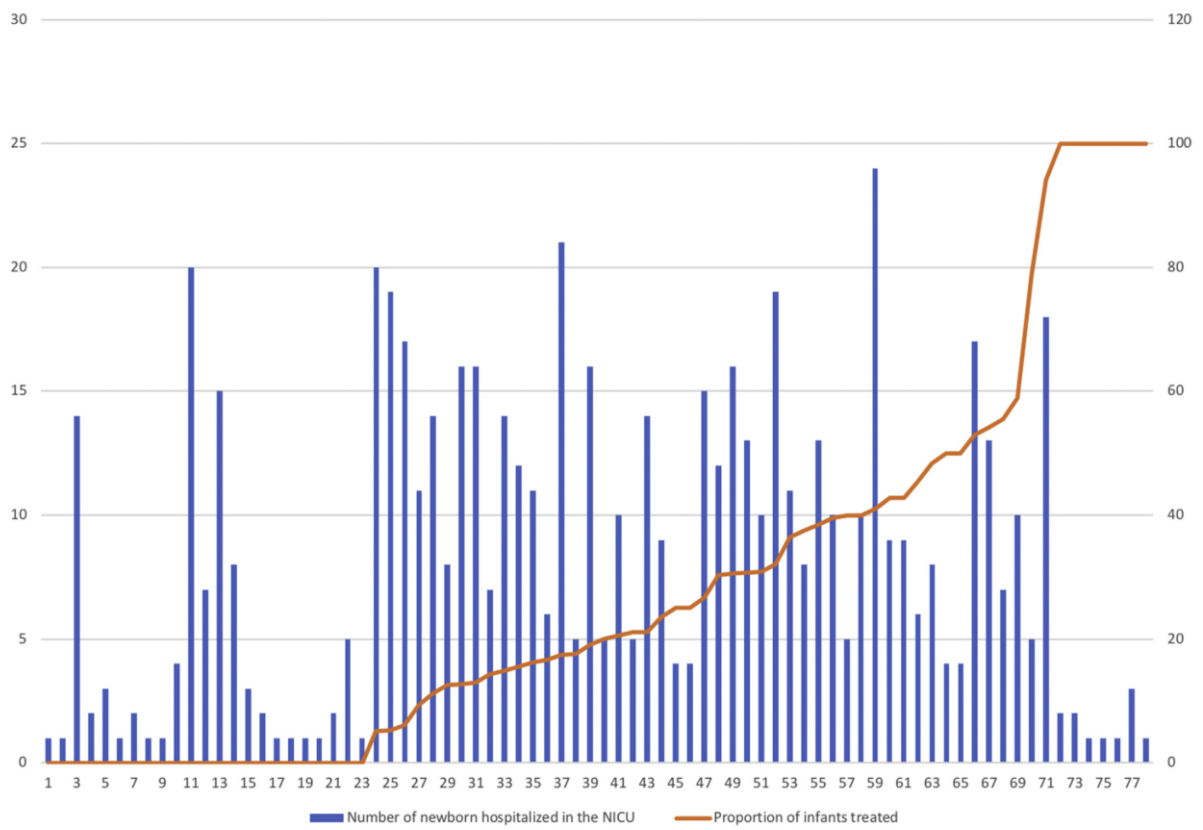
All the collaborators of the EPIPAGE-2 Infectious Diseases Writing Group have no conflict of interest or compensation in relation with this article to disclose. All consented to such acknowledgment.

The authors acknowledge the collaborators of the EPIPAGE-2 Study Group: Alsace: Dominique Astruc, Pierre Kuhn, Bruno Langer, Jacqueline Matis, Carole Ramoussset; Aquitaine: Xavier Hernandorena, Pierre Chabanier, Laurence Joly-Pedespan, Marie-José Costedoat, Annick Leguen; Auvergne: Bénédicte Lecomte, Didier Lemery, Françoise Vendittelli; Basse-Normandie: Gael Beucher, Michel Dreyfus, Bernard Guillois, Yacine Toure; Bourgogne: Antoine Burguet, Stéphanie Couvreur, Jean-Bernard Gouyon, Paul Sagot; Bretagne: Jacques Sizun, Alain Beuchée, Patrick Pladys, Florence Rouget, Renée-Pierre Dupuy, Dominique Soupre, Frédérique Charlotandrine; Centre: Amélie Favreau, Elie Saliba, Lucas Reboul; Champagne-Ardenne: Nathalie Bednarek, Patrice Morville, Virginie Verrière; Franche-Comté: Gérard Thiriez, Christian Balamou; Haute-Normandie: Loïc Marpeau, Stéphane Marret, Christiane Barbier; Ile-de-France: Gilles Kayem, Xavier Durrmeyer, Michèle Granier, Marc Ayoubi, Olivier Baud, Bruno Carbonne, Laurence Foix L'Hélias, François Goffinet, Pierre-Henri Jarreau, Delphine Mitanchez, Pascal Boileau, Carine Duffaut, Elsa Lorthé, Laure Cornu, Raphaëlle Moras; Languedoc-Roussillon: Pierre Boulot, Gilles Cambonie, Hubert Daudé, A. Badessi, Nathalie Tsaoussis; Limousin: Antoine Bédu, Fabienne Mons, Claire Bahans; Lorraine: Marine-Hélène Binet, Jeanne Fresson, Jean-Marie Hascoët, Alain Miton, Olivier Morel, Rachel Vieux, Lysiane Hilpert; Midi-Pyrénées: Corinne Alberge, Catherine Arnaud, Christophe Vayssière, Mireille Baron; Nord-Pas-de-Calais: Marie-Laure Charkaluk, Véronique Pierrat, Damien Subtil, Patrick Truffert, Samia Akowanou; PACA et Corse: Claude D'Ercole, Catherine Gire, Umberto Simeoni, André Bongain, M. Deschamps; Pays de Loire: Bernard Branger, Jean-Christophe Rozé, Norbert Winer, Valérie Rouger, Claire Dupont; Picardie: Jean Gondry, Gérard Krim, Béatrice Baby; Rhône-Alpes: Michel Debeir, Olivier Claris, Jean-Charles Picaud, Sophie Rubio-Gurung, Christine Cans, Anne Ego, Thierry Debillon, Hugues Patural, Anne Rannaud; Guadeloupe: Eustase Janky, Anne Poulichet, Jean-Marc Rosenthal, Eliane Coliné; Guyane: Anne Favre, Nicole Joly; Martinique: Serge Châlons, Jérôme Pignol, Pierre-Louis Laurence; La Réunion: Pierre-Yves Robillard, Sylvain Samperiz, Duksha Ramful; Inserm UMR 1153: Pierre-Yves Ancel, Valérie Benhammou, Béatrice Blondel, Mercedes Bonet, Anissa Brinis, Anelle Coquelin, Mélanie Durox, Monique Kaminski, Khalida Khemache, Babak Khoshnood, Cécile Lebeaux, Laetitia Marchand-Martin, Jessica Rousseau, Marie-Joseph Saurel-Cubizolles, Diep Tran, Jennifer Zeitlin.



**Figure 2.** Standardized differences in the initial and IPTW samples, **A**, in complete cases and **B**, after multiple imputation. Each covariate included in the propensity score is on the y-axis.





**Figure 3.** Variations among NICUs in the proportion of very preterm infants at low risk for EOS treated with early antibiotics: number of infants admitted to each NICU (blue bars, from 1 to 24) and proportion (%) of infants treated with early antibiotics (orange solid line, from 0 to 100%).

**Table I.** Comparison of maternal and obstetrical characteristics between the study population and the population with missing data for early neonatal antibiotics

Characteristics	Total (N = 799)	Early neonatal antibiotics		P value
		Complete cases (N = 648; 80.9%)	Missing data (N = 151; 19.1%)	
<b>Maternal characteristics</b>				
Age, y, median (IQR) (N = 799)	30 (26-35)	30 (26-35)	30 (26-33)	.95
Body mass index $\geq 25$ , n (%) (N = 740)	343 (46.3)	274 (45.5)	69 (49.6)	.39
Place of birth, n (%) (N = 790)				.07
Europe	595 (75.3)	474 (73.9)	121 (81.2)	
Northern Africa	70 (8.9)	55 (8.6)	15 (10.2)	
Sub-Saharan Africa	77 (9.9)	69 (10.9)	8 (5.4)	
Other	48 (5.9)	43 (6.6)	5 (3.2)	
Primiparous, n (%) (N = 791)	467 (59.0)	375 (58.5)	92 (61.0)	.19
Smoking during pregnancy, n (%) (N = 767)	151 (19.8)	125 (20.3)	26 (17.8)	.50
Multiple pregnancy, n (%) (N = 799)	131 (16.5)	83 (12.8)	48 (32.0)	<.001
Antenatal corticosteroids, n (%) (N = 799)	702 (87.7)	571 (88.3)	131 (85.6)	.38
Cesarean delivery, n (%) (N = 799)	801 (99.4)	647 (99.4)	154 (99.4)	.98
<b>Neonatal characteristics</b>				
Gestational age, wk, median (IQR) (N = 799)	30 (28-31)	30 (28-31)	30 (28-31)	.93
Male sex, n (%) (N = 799)	375 (47.2)	304 (47.1)	71 (47.3)	.96
Birth weight, g, median (IQR) (N = 799)	1040 (830-1255)	1040 (820-1260)	1050 (880-1250)	.79
CRIB II score, median (IQR) (N = 678)	6 (4-9)	6 (4-9)	6 (5-8)	.91
Intubation in delivery room, n (%) (N = 775)	396 (50.1)	329 (51.5)	67 (44.4)	.12
EOS, n (%) (N = 798)	5 (0.6)	4 (0.6)	1 (0.7)	.96
Death, n (%) (N = 799)	66 (7.6)	55 (7.8)	11 (6.8)	.62
LOS, n (%) (N = 783)	199 (25.0)	165 (25.4)	34 (23.2)	.59
NEC, n (%) (N = 786)	38 (4.8)	33 (5.2)	5 (3.5)	.40
Severe cerebral lesions, n (%) (N = 784)	44 (5.4)	38 (5.7)	6 (4.1)	.43
BPD, n (%) (N = 719)	99 (13.0)	78 (12.6)	21 (15.2)	.41

**Table IV.** Characteristics of LOS according to early neonatal antibiotics

Characteristics	Total (N = 648)	Early neonatal antibiotics		P value
		No (N = 475; 73.8 %)	Yes (N = 173; 26.2%)	
LOS, n (%) (N = 641)				.35
0	476 (74.6)	347 (74.0)	129 (76.7)	
1 episode	141 (21.7)	109 (22.9)	32 (18.6)	
2 or 3 episodes	24 (3.6)	15 (3.2)	9 (4.7)	
Age at first episode of LOS, d, median (IQR) (N = 164)	12 (7-20)	11 (7-18)	12 (8-20)	.86
Pathogens implicated in LOS, n (%)				.75
Coagulase-negative staphylococci	120 (75.5)	90 (75.6)	30 (75.0)	
<i>Staphylococcus aureus</i>	25 (15.7)	20 (16.6)	5 (12.9)	
<i>Enterococcus</i> spp	5 (3.1)	3 (2.6)	2 (4.7)	
Gram-negative organisms	4 (2.6)	2 (1.7)	2 (5.4)	
Others	4 (2.5)	3 (2.6)	1 (2.0)	

Percentages are weighted according to the differences in duration length of recruitment of gestational age groups. For each variable, percentages might not sum up to 100% owing to rounding.

## DISCUSSION

### 1. Synthèse des résultats

Les infections néonatales tardives sont fréquentes chez les nouveau-nés grands prématurés et elles ont des conséquences importantes à court terme. Pourtant, le plus souvent, elles ne sont pas étudiées dans le cadre des morbidités néonatales sévères. Leur origine est multifactorielle et les mécanismes physiopathologiques précis, en particulier dans la période périnatale, sont encore mal connus. Nos travaux de recherche avaient pour objectif d'étudier l'association entre des facteurs de risque périnataux et les infections néonatales tardives chez les nouveau-nés grands prématurés.

Nos premiers résultats ont mis en évidence que l'incidence des infections néonatales tardives variait fortement selon la cause de la prématurité (95). Les enfants dont la cause de naissance prématurée était une pathologie hypertensive maternelle et/ou un retard de croissance intra-utérin présentaient un risque augmenté d'infection néonatale tardive par rapport aux enfants nés après mise en travail spontané, indépendamment de l'âge gestationnel de naissance.

Ce premier travail nous a conduit à nous intéresser à ce groupe d'enfants nés dans un contexte de pathologie hypertensive maternelle et/ou de RCIU. Nous avons observé qu'un quart d'entre eux recevait des antibiotiques dans le premier jour de vie alors que ces enfants ne présentaient pas de facteur de risque d'infection néonatale précoce justifiant la mise en route de ce traitement (96). Cette antibiothérapie précoce empirique n'était pas associée à une modification du risque de décès, d'infection néonatale tardive ou d'entérocolite ulcéro-nécrosante, mais était en revanche associée à une augmentation du risque de lésions neurologiques sévères ou de dysplasie broncho-pulmonaire modérée à sévère à 36 semaines d'âge corrigé.

Nos résultats apportent des arguments supplémentaires pour que la prise en charge des nouveau-nés grands prématurés ne soit pas uniquement orientée selon les caractéristiques initiales des enfants (âge gestationnel et poids de naissance) mais soit individualisée, notamment en fonction du contexte de naissance et de la cause de naissance prématurée, et ce même à distance de la naissance.

## 2. Forces, limites et questions soulevées

Nous discutons ici d'aspects méthodologiques et de questions générales soulevées par ce travail doctoral, au-delà des aspects spécifiques développés pour chaque article.

### **Population d'étude**

La cohorte EPIPAGE-2 est une cohorte en population, représentative des enfants nés prématurément entre 22<sup>+0</sup> et 34<sup>+6</sup> SA au cours de la période d'inclusion. En effet, la cohorte a été constituée à partir de l'ensemble des centres périnataux (centres de type 1, 2 et 3) de la quasi-totalité du territoire français (25 des 26 régions françaises, soit 98% des naissances couvertes), avec une forte participation des familles (taux d'inclusion de 93% à la naissance) (81). Nous disposons donc d'un échantillon de grande taille nous permettant d'estimer des associations avec une puissance statistique satisfaisante.

Les données ont été collectées de manière prospective, à partir des dossiers médicaux, avec des questionnaires standardisés détaillés sur les caractéristiques des mères et des enfants, permettant d'assurer une grande qualité des données. Les études observationnelles permettent de fournir des données descriptives précises au sein de la population étudiée. Nous avons ainsi pu estimer l'incidence des infections néonatales tardives chez les nouveau-nés grands prématurés en France en 2011.

### **Intérêt des données observationnelles de cohorte**

Les études de cohorte permettent en théorie de proposer les meilleures conditions pour évaluer la plausibilité d'une association, puisque les données d'exposition (la cause de la naissance prématurée dans notre premier travail) sont recueillies avant la survenue des effets analysés (les infections néonatales tardives dans notre exemple). Cependant la mise en évidence d'une association ne permet pas nécessairement de conclure quant à la causalité des événements, puisque d'autres facteurs sont nécessaires (97). Néanmoins, nos résultats sur l'association entre cause de prématurité et infections néonatales tardives permettent d'élaborer des hypothèses physiopathologiques. Certaines hypothèses d'immaturation du système immunitaire dans la population des enfants nés dans un contexte de pathologie maternelle hypertensive et/ou de RCIU ont été évoquées.

Les études en population permettent également d'évaluer la grande diversité des pratiques en vie réelle. En effet, nous avons pu mettre en évidence la grande variabilité de pratiques pour l'antibiothérapie précoce entre les différents centres. Les résultats observés à travers les données d'EPIPAGE-2 reflètent la diversité des pratiques en soins réels au quotidien, qui ne sont pas toujours basées sur des preuves scientifiques. Prendre conscience de ces variations qui reflètent les particularités mais aussi les habitudes et protocoles de service est un premier pas pour agir sur les prescriptions des antibiotiques dans nos unités. Participer à des stratégies de benchmarking entre plusieurs services de néonatalogie, c'est à dire comparer entre plusieurs unités de réanimation néonatale des habitudes de prescription d'antibiotiques par exemple, pourrait également aider à la diminution de la prescription des antibiotiques dans nos unités (98).

Afin d'évaluer avec certitude les conséquences des antibiothérapies précoces, le « gold-standard » serait un essai randomisé dans lequel un tirage au sort déterminerait si un traitement antibiotique serait administré ou non. Cependant, la généralisation des résultats des essais randomisés est limitée par le biais de sélection lié à des critères d'inclusion souvent restrictifs mais aussi lié à l'acceptation des patients de participer à ces études. De plus, un essai randomisé sur l'administration précoce d'antibiotiques dans une population d'enfants grands prématurés sans facteur de risque d'infection précoce et donc sans indication médicale à recevoir un traitement pouvant avoir des conséquences délétères ne serait probablement pas éthique ni acceptable. Grâce à l'utilisation du score de propension, qui permet de se rapprocher des conditions d'un essai randomisé à partir de données observationnelles, nous avons pu traiter cette question.

### **Données manquantes**

L'étude des antibiothérapies reçues à l'entrée en réanimation n'était pas prévue initialement dans l'étude EPIPAGE-2. Le questionnaire n'était donc pas rédigé pour recueillir cette information de façon optimale et nous avons de nombreuses données manquantes sur l'administration ou non d'une antibiothérapie initiée à J0 ou J1. Nous avons essayé de récupérer cette information à partir des comptes-rendus d'hospitalisation grâce à l'aide de nombreux cliniciens. Cependant, l'information était toujours manquante pour près de 20% des enfants. Nous nous sommes toutefois efforcés d'estimer l'effet de sélection potentiel en comparant les caractéristiques des enfants analysés à celles des enfants éligibles mais non

analysés du fait de données manquantes. La seule différence retrouvée était le nombre plus élevé d'enfants issus de grossesse multiple dans le groupe des enfants avec données manquantes. L'hypothèse de données manquantes de façon aléatoire (missing at random) n'étant pas vérifiée (prérequis indispensable sur le plan statistique), nous avons choisi de ne pas imputer ces données manquantes sur l'antibiothérapie. Les enfants pour lesquels nous n'avions pas l'information sur le traitement par antibiotiques à J0 ou J1 ont donc été exclus.

### **Absence de définition consensuelle des infections néonatales tardives**

Comme nous l'avons vu, il n'existe aujourd'hui pas de définition consensuelle de l'infection néonatale tardive que ce soit en France ou au niveau international. Nous avons ainsi choisi une définition qui est largement utilisée dans la littérature afin de pouvoir comparer nos résultats avec d'autres cohortes ou bases de données internationales. La principale limite de cette définition est d'être basée sur le traitement de la pathologie que l'on cherche à définir et sa durée. Un groupe de travail issu de l'European Society for Paediatric Research (ESPR) dénonce cette absence de définition consensuelle, obstacle à une recherche de qualité pour améliorer le diagnostic, la prise en charge et les conséquences des infections néonatales (99). L'objectif de ce groupe est d'établir un « core outcomes set », c'est à dire une liste minimale de variables qu'il est indispensable de mesurer et de rapporter dans un essai clinique portant sur le sepsis néonatal (100). Après une première étape de revue systématique, la prochaine étape prévue est d'établir une liste de variables à partir d'un processus Delphi.

### 3. Implications pour la pratique clinique

Les résultats présentés dans cette thèse nous ont permis de souligner l'importance de l'individualisation de la prise en charge des nouveau-nés grands prématurés : deux enfants avec le même âge gestationnel et le même poids de naissance sont différents s'ils sont nés après une mise en travail spontané, une rupture prématurée des membranes avant terme, une pathologie hypertensive maternelle ou encore un retard de croissance intra-utérin. La nécessité de cette évaluation globale, tenant compte d'autres facteurs que le seul âge gestationnel, a récemment été rappelée par les recommandations émises pour la prise en charge périnatale en cas d'extrême prématurité en France (101). L'histoire anténatale et celle des premiers jours de vie semblent primordiales dans l'évaluation du risque infectieux, avec une individualisation de la prise en charge en fonction des « antécédents » de chaque nouveau-né. Alors que dans l'évaluation du risque d'infection néonatale précoce le contexte de naissance est souvent pris en compte, il doit en être de même pour les infections néonatales tardives, même si on est plus à distance de la naissance.

Connaître précisément les facteurs de risque périnataux peut permettre d'identifier des sous-groupes d'enfants à risque accru d'infection. Nos résultats sur l'association entre la cause de naissance prématurée et les infections néonatales tardives ont des conséquences multiples pour les patients et les équipes obstétrico-pédiatriques. Il s'agit de mieux informer les parents, en adaptant encore les informations sur les conséquences possibles pour l'enfant né ou à naître en fonction du contexte de naissance prématurée. Pour les équipes néonatales, identifier des sous-groupes d'enfants plus à risque peut permettre de maintenir une vigilance accrue quant à ce risque infectieux plus élevé quand les enfants sont nés dans un contexte de pathologies hypertensives ou de retard de croissance intra-utérin.

Nos résultats ouvrent également de nouvelles pistes de recherche ou d'essais randomisés où les interventions, comme par exemple l'utilisation de probiotiques pour stimuler la diversité du microbiote ou des injections d'immunoglobulines polyvalentes visant à stimuler le système immunitaire pourraient être réalisées uniquement dans cette sous-population à haut risque d'infection tardive.

De façon plus globale, mieux comprendre les effets des antibiothérapies administrées à la naissance est un enjeu majeur de santé publique, notamment en termes d'émergence de bactéries multi-résistantes, d'effets sur le microbiote avec risque de dysbiose, dont les conséquences sont multiples, à court et long terme, pendant l'enfance puis à l'âge adulte. Nos résultats apportent des informations supplémentaires sur les conséquences délétères des antibiothérapies et rappellent l'importance d'administrer des antibiotiques de façon raisonnable et raisonnée.

#### 4. Perspectives

Ce travail doctoral ouvre la voie à plusieurs axes de recherche, centrés d'une part sur les conséquences des antibiothérapies néonatales, et d'autre part sur les conséquences à long terme des infections de la période périnatale.

#### **Étude des conséquences des antibiothérapies précoces empiriques sur le microbiote**

Nos travaux ont mis en évidence que les antibiothérapies précoces empiriques étaient associées à un risque augmenté de lésions neurologiques et de dysplasie broncho-pulmonaire modérée à sévère.

La forte proportion d'enfants nés grands prématurés qui reçoivent des antibiotiques à la naissance alors qu'ils ne présentent pas d'indication évidente à en recevoir nous incitent logiquement à évaluer les autres conséquences potentielles des antibiothérapies. Les antibiothérapies précoces pourraient participer à une perturbation du microbiote intestinal ou dysbiose des enfants grands prématurés. La dysbiose est caractérisée par une diminution de la flore de barrière, mais également une perturbation des réponses immunitaires spécifiques et non spécifiques (48). De plus, les germes responsables des infections néonatales tardives sont originaires le plus souvent du tube digestif des prématurés ; les antibiothérapies précoces pourraient conduire à une sélection de germes résistants aux antibiotiques de première intention (102).

Pour répondre à ces questions, nous avons pu développer une collaboration avec le laboratoire de microbiologie du Pr Frédéric Barbut (UMR-S 1139 Physiopathologie et



Pharmacotoxicologie Placentaire Humaine, Microbiote pré et post-natal, Faculté de Pharmacie de Paris). Cette collaboration est réalisée en lien avec le Pr Julio Aires et le Pr Marie-José Butel (UMR 1139) à partir d'une étude ancillaire d'EIPAGE-2 sur le microbiote intestinal (EPIFLORE). Au cours de cette étude, les selles des nouveau-nés ont été recueillies pendant la première semaine de vie, puis à un mois de vie. Les prélèvements ont déjà été analysés, mêlant des techniques de culture et de biologie moléculaire. Notre objectif est d'étudier les conséquences des antibiothérapies « indues » sur le microbiote intestinal : hétérogénéité et abondance de la flore, émergence de germe pathogène, dysbiose... Dans notre population d'étude sur les antibiothérapies précoces, 107 enfants participaient à l'étude EPIFLORE. Parmi eux, 83 enfants ont eu une analyse moléculaire du prélèvement de microbiote à l'âge d'un mois, et 22% des enfants ont reçu une antibiothérapie précoce à J0 et J1. Les premiers résultats montrent que les enfants ayant reçu une antibiothérapie présentaient une plus faible diversité de leur microbiote, c'est à dire un nombre plus faible d'espèces identifiées. Mais ce travail est toujours en cours.

### **Évaluation des conséquences des infections néonatales tardives sur le neuro-développement des enfants**

Les infections néonatales tardives ont des conséquences importantes sur le pronostic néonatal (54,103). Elles pourraient également avoir des conséquences à plus long terme, en augmentant le risque de survenue de troubles du neuro-développement. Peu d'études ont porté sur les conséquences des infections néonatales tardives à plus long terme, et les conséquences précises sur le développement moteur et cognitif sont discutées (55,104–106). A partir de la première cohorte EIPAGE initiée en 1997, une étude s'est intéressée au devenir à 5 ans de 2665 enfants nés grands prématurés ayant présenté au moins une infection néonatale, précoce ou tardive (55). Ce travail a permis de mettre en évidence une association entre la survenue d'une infection néonatale et un risque augmenté de paralysie cérébrale, mais sans troubles cognitifs. En revanche, dans une population de très grands prématurés nés aux Etats-Unis (ELGAN study), les enfants ayant présenté un épisode d'infection néonatale avaient un quotient intellectuel plus faible à l'âge de 10 ans, par rapport aux enfants sans infection. Dans cette étude, les infections n'étaient pas associées à une augmentation des troubles moteurs (104).

Les enfants inclus dans ces études sont nés respectivement en 1997 et 2002-2004. Depuis, les pratiques en néonatalogie ont beaucoup évolué, avec une amélioration globale des prises en charge, se traduisant par une amélioration de la survie et de la survie sans morbidité sévère (25,107). Il semble donc nécessaire de réévaluer de manière précise l'impact de ces infections sur le devenir neuro-développemental des enfants. Notre objectif est d'étudier la présence de troubles du neuro-développement à l'âge de 5 ans des enfants nés grands prématurés ayant présenté au moins un épisode d'infection néonatale tardive pendant leur hospitalisation.

Cet objectif s'articule autour de deux projets :

- Le premier avec l'évaluation des enfants à l'âge de 5 ans ½ de la cohorte nationale française en population EPIPAGE-2 ;
- Le second au niveau européen, avec l'évaluation à 5 ans des enfants de la cohorte EPICE, nés dans 19 régions de 11 pays de l'Union Européenne.

La cohorte EPIPAGE 2, grâce à son effectif important et un taux de suivi de plus de 70% à 5 ans ½ permettra de répondre précisément à la question du pronostic (81). En effet, l'évaluation à 5 ans ½ comprenait un bilan médical et neuropsychologique très complet, réalisés par des équipes expérimentées et spécifiquement formées. Le neuro-développement a été évalué avec un examen clinique spécialisé et un bilan neuropsychologique standardisé. Nous disposons d'informations très détaillées sur la motricité fine et la coordination (échelle M-ABC - Movement assessment battery for children), le développement cognitif (test WPPSI IV- Wechsler preschool and primary scale of intelligence), les troubles des fonctions exécutives (échelles spécifiques de la NEPSY II - a developmental neuropsychological assessment), ainsi que des troubles du spectre autistique (questionnaire SDQ - Strengths and difficulties questionnaire). L'objectif est de décrire les éventuels troubles du neuro-développement possibles chez les enfants ayant présenté au moins un épisode infectieux : troubles moteurs, cognitifs et/ou comportementaux. Nous nous intéresserons également à un éventuel effet cumulatif (conséquences d'un, deux ou trois épisodes infectieux), et à des effets différentiels selon la bactérie mise en cause (staphylocoques à coagulase négative versus bacilles à gram négatif notamment).

Le projet EPICE (Effective Perinatal Intensive Care in Europe) est une cohorte qui a inclus toutes les naissances entre 22 et 31 semaines d'aménorrhée, dans toutes les maternités de

19 régions de 11 pays de l'Union Européennes en 2011 et 2012 (108). Ce projet vise à étudier la diversité des pratiques de prise en charge des enfants prématurés en Europe et identifier des stratégies thérapeutiques et préventives efficaces. Le projet EPICE étudie en particulier l'utilisation de soins de santé fondés sur des preuves, le suivi et les programmes de prévention pour les enfants nés grands prématurés. Plus de 10 000 naissances, dont 8000 naissances vivantes, ont été incluses dans l'étude. Les données obstétricales et néonatales ont été extraites des dossiers médicaux.

L'objectif du suivi à 5 ans était d'étudier le développement moteur et cognitif afin de faire des comparaisons standardisées du devenir des enfants nés grands prématurés en Europe, en termes de santé, de croissance et de neuro-développement. A l'âge de 5 ans, près de 4400 enfants ont été suivis via des questionnaires adressés aux parents. Des bilans complets ont également été réalisés pour plus de 1000 enfants nés avant 28 semaines d'aménorrhée (évaluation de troubles moteurs par l'échelle M-ABC, de troubles cognitifs avec la WPSSI et de troubles des fonctions exécutives avec la NEPSY). L'utilisation de ces données nous permettra d'évaluer le pronostic des infections néonatales tardives au niveau européen et de comparer les pratiques dans les unités de réanimation néonatales entre les pays.

### **Les infections néonatales tardives chez les extrêmes prématurés à partir de l'étude PREMEX**

L'essai PREMEX est un essai national randomisé en cluster dont l'objectif principal est d'évaluer l'impact d'une intervention de standardisation de la prise en charge des extrêmes prématurés (nés entre 22 et 26 SA) sur la survie sans morbidité sévère de l'enfant à la sortie d'hospitalisation. L'investigateur coordonnateur de l'étude est le Pr François Goffinet, gynécologue obstétricien et le responsable scientifique est le Pr Pierre-Henri Jarreau, pédiatre néonatalogiste, tous les deux chercheurs dans l'équipe EPOPé. Cet essai (financé par un PHRC national) inclura toutes les naissances entre 22 et 26 SA (naissances vivantes, interruptions médicales de grossesse et enfants mort-nés) dans une vingtaine de réseaux périnataux français à partir de mai 2022. L'étude prévoit l'inclusion sur deux ans de plus de 2000 enfants, dont 800 enfants vivants admis en réanimation. Une évaluation des enfants à l'âge de 2 ans est prévue.

Ce projet est également une occasion unique de recueillir des informations sur les conséquences de l'extrême prématurité sur la santé des enfants pendant le séjour en réanimation. J'ai été impliquée dans la rédaction du questionnaire néonatal. Forte de mon expérience sur l'analyse des données sur les infections néonatales et les antibiothérapies reçues pendant le séjour à partir de l'étude EPIPAGE-2, j'ai pu faire des propositions sur les variables à recueillir pour étudier ces thématiques.

Mon objectif est de pouvoir étudier les infections néonatales tardives dans cette population de nouveau-nés particulièrement vulnérables puisque plus de 40% d'entre eux présenteront au moins un épisode d'infection tardive pendant leur séjour. Nous disposerons également de données détaillées sur les antibiothérapies reçues (molécules, durée du traitement) pendant le séjour.

### **Évaluation des conséquences de l'inflammation périnatale**

Nous souhaitons nous intéresser à l'association entre l'inflammation pendant la période périnatale et les troubles du neuro-développement à l'âge de 5 ans chez les enfants nés prématurés.

L'inflammation anténatale, fréquente dans les causes de prématurité spontanée (à membranes intactes ou rompues), entraîne l'activation d'une cascade cytokinique (IL-6, TNF $\alpha$ ), la production de métalloprotéases et de prostaglandines qui aboutissent à des contractions utérines, des modifications cervicales voire une rupture des membranes (9). L'exposition anténatale à une inflammation est potentiellement délétère pour le fœtus et en particulier pour la maturation cérébrale (10). Elle peut stimuler la synthèse chez le fœtus de cytokines pro-inflammatoires, dont certaines sont capables de bloquer le développement de progéniteurs d'oligodendrocytes et de conduire à une hypomyélinisation (12). Ces effets sont d'autant plus délétères avant 32 SA du fait de la vulnérabilité de la substance blanche encore immature (stade des pré-oligodendrocytes) (13).

L'inflammation périnatale peut être étudiée à plusieurs niveaux :

- tout d'abord en anténatal, avec deux entités complémentaires
  - l'infection intra-utérine (ou chorioamniotite clinique) qui témoigne d'une réponse inflammatoire forte mais dont le diagnostic clinique n'est pas toujours facile à établir,
  - la chorioamniotite histologique, définie à postériori par l'examen histologique du placenta. Cette information n'est pas disponible à la

naissance mais constitue un diagnostic de certitude de la présence d'inflammation en anténatal.

- mais aussi en post-natal, avec les infections néonatales précoces qui sont la conséquence d'une transmission materno-foétale. Dans cette situation, l'inflammation est forte avec une exposition directe du nouveau-né.

L'exposition du cerveau fœtal et néonatal à l'inflammation doit être vue comme un continuum entre l'anténatal et le post-natal, avec des conséquences potentielles sur le neuro-développement qu'il est donc intéressant d'évaluer à chaque étape.

Ce travail entre dans le cadre d'un projet doctoral porté par Fanny Salmon à partir des données de la cohorte EIPAGE-2. Je vais assurer son co-encadrement dans l'équipe EPOPé avec le Pr Gilles Kayem, gynécologue obstétricien à partir de novembre 2022.

### **Les infections néonatales précoces dans l'Enquête Nationale Périnatale 2021**

L'infection néonatale bactérienne précoce (INBP) est une maladie de faible incidence (0,8-1 pour 1000 naissances) mais à haut risque de mortalité (2% chez les nouveau-nés à terme, plus de 20% chez le nouveau-né prématuré) et de morbidité néonatale (109). Même si l'INBP est rare, les nouveau-nés qui naissent dans un contexte à risque d'INBP sont nombreux. Cette suspicion clinique fréquente conduit à la réalisation de nombreux examens (prélèvements bactériologiques et biologiques dès la naissance) et concerne toutes les maternités, quel que soit leur type ou leur statut. En 2016, des prélèvements bactériologiques (liquide gastrique et / ou prélèvements périphériques) ont été réalisés à la naissance chez 56,0 % des nouveau-nés, fréquence comparable à celle rapportée dans une étude menée en Ile-de-France en 2013 (110). En 2017, la Société Française de Néonatalogie a diffusé des recommandations de bonnes pratiques, labellisées par la Haute Autorité de Santé, sur la prise en charge des nouveau-nés  $\geq 34$  SA à risque d'INBP. Les prélèvements bactériologiques de naissance (liquide gastrique, anus et conduit auditif externe) ne sont plus recommandés. Quatre ans après la diffusion de ces recommandations, il est intéressant d'évaluer la fréquence et les déterminants de la réalisation du liquide gastrique et de mesurer les variations de pratiques à l'échelle nationale.

Ce travail entre dans le cadre d'un projet de Master 2 pour l'année universitaire 2023-24, en co-encadrement avec le Pr Laurence Foix-L'Hélias dans l'équipe EPOPé.

## CONCLUSION

Les travaux issus de cette thèse ont exploré le rôle de facteurs de la période périnatale dans la survenue des infections néonatales tardives. Nos résultats soulignent l'importance de prendre en compte l'histoire anténatale des enfants grands prématurés dans leur prise en charge tout au long de leur hospitalisation

Nous avons également montré l'hétérogénéité importante des pratiques dans les unités de néonatalogie. Si l'homogénéisation des pratiques n'est pas obligatoirement nécessaire, la variabilité des taux d'infections néonatales tardives et de prescription d'antibiotiques entre les unités de soins suggère une marge de progression potentielle dans la prise en charge des grands prématurés, comme Tom et Emma.

Ce travail doctoral ouvre la voie à de nombreux travaux de recherche centrés sur les infections néonatales, précoces et tardives, chez le nouveau-né prématuré ou à terme. Nos résultats montrent la richesse de la périnatalité, avec un lien fort entre l'anténatal, le per-partum et le post-natal formant un vrai continuum. La recherche en épidémiologie périnatale nécessite une collaboration étroite entre épidémiologistes et cliniciens, qu'ils soient obstétriciens, pédiatres ou sages-femmes, avec pour objectif commun l'amélioration des pratiques et du devenir des enfants et des familles confrontés à la prématurité.

## RÉFÉRENCES

1. Saigal S, Doyle LW. An overview of mortality and sequelae of preterm birth from infancy to adulthood. *The Lancet*. 2008 Jan 19;371(9608):261–9.
2. WHO | Preterm birth [Internet]. WHO. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs363/en/>
3. Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. *The Lancet*. 2008 Jan 5;371(9606):75–84.
4. Torchin H, Ancel PY. [Epidemiology and risk factors of preterm birth]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 2016 Dec;45(10):1213–30.
5. Blencowe H, Cousens S, Oestergaard MZ, Chou D, Moller AB, Narwal R, et al. National, regional, and worldwide estimates of preterm birth rates in the year 2010 with time trends since 1990 for selected countries: a systematic analysis and implications. *Lancet*. 2012 Jun 9;379(9832):2162–72.
6. Blondel B, Coulm B, Bonnet C, Goffinet F, Le Ray C. Trends in perinatal health in metropolitan France from 1995 to 2016: Results from the French National Perinatal Surveys. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. 2017 Dec 1;46(10):701–13.
7. Chen A, Feresu SA, Barsoom MJ. Heterogeneity of preterm birth subtypes in relation to neonatal death. *Obstet Gynecol*. 2009 Sep;114(3):516–22.
8. Kramer MS, Papageorghiou A, Culhane J, Bhutta Z, Goldenberg RL, Gravett M, et al. Challenges in defining and classifying the preterm birth syndrome. *Am J Obstet Gynecol*. 2012 Feb 1;206(2):108–12.
9. Barros FC, Papageorghiou AT, Victora CG, Noble JA, Pang R, Iams J, et al. The distribution of clinical phenotypes of preterm birth syndrome: implications for prevention. *JAMA Pediatr*. 2015 Mar;169(3):220–9.
10. Delorme P, Goffinet F, Ancel PY, Foix-L'Hélias L, Langer B, Lebeaux C, et al. Cause of Preterm Birth as a Prognostic Factor for Mortality. *Obstet Gynecol*. 2016 Jan;127(1):40–8.
11. Kamath-Rayne BD, DeFranco EA, Chung E, Chen A. Subtypes of preterm birth and the risk of postneonatal death. *J Pediatr*. 2013 Jan;162(1):28-34.e2.
12. Stout MJ, Demaree D, Merfeld E, Tuuli MG, Wambach JA, Cole FS, et al. Neonatal Outcomes Differ after Spontaneous and Indicated Preterm Birth. *Am J Perinatol*. 2018 Apr;35(5):494–502.
13. Gagliardi L, Rusconi F, Da Frè M, Mello G, Carnielli V, Di Lallo D, et al. Pregnancy disorders leading to very preterm birth influence neonatal outcomes: results of the population-based ACTION cohort study. *Pediatr Res*. 2013 Jun;73(6):794–801.
14. Garite TJ, Combs CA, Maurel K, Das A, Huls K, Porreco R, et al. A multicenter prospective study of neonatal outcomes at less than 32 weeks associated with indications for maternal admission and delivery. *Am J Obstet Gynecol*. 2017;217(1):72.e1-72.e9.
15. Chevallier M, Debillon T, Pierrat V, Delorme P, Kayem G, Durox M, et al. Leading causes of preterm delivery as risk factors for intraventricular hemorrhage in very preterm infants: results of the EPIPAGE 2 cohort study. *Am J Obstet Gynecol*. 2017 May;216(5):518.e1-518.e12.
16. Torchin H, Ancel PY, Goffinet F, Hascoët JM, Truffert P, Tran D, et al. Placental Complications and Bronchopulmonary Dysplasia: EPIPAGE-2 Cohort Study. *Pediatrics*. 2016 Mar;137(3):e20152163.
17. Blencowe H, Cousens S, Chou D, Oestergaard M, Say L, Moller AB, et al. Born too soon: the global epidemiology of 15 million preterm births. *Reprod Health*. 2013;10 Suppl 1:S2.
18. Ancel PY, Goffinet F, EPIPAGE-2 Writing Group, Kuhn P, Langer B, Matis J, et al. Survival and morbidity of preterm children born at 22 through 34 weeks' gestation in France in 2011: results of the EPIPAGE-2 cohort study. *JAMA Pediatr*. 2015 Mar;169(3):230–8.
19. Stoll BJ, Hansen NI, Bell EF, Shankaran S, Laptook AR, Walsh MC, et al. Neonatal

- outcomes of extremely preterm infants from the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics*. 2010 Sep;126(3):443–56.
20. Liu L, Oza S, Hogan D, Chu Y, Perin J, Zhu J, et al. Global, regional, and national causes of under-5 mortality in 2000-15: an updated systematic analysis with implications for the Sustainable Development Goals. *Lancet*. 2016 17;388(10063):3027–35.
  21. Liu L, Oza S, Hogan D, Perin J, Rudan I, Lawn JE, et al. Global, regional, and national causes of child mortality in 2000-13, with projections to inform post-2015 priorities: an updated systematic analysis. *Lancet*. 2015 Jan 31;385(9966):430–40.
  22. Jobe AH, Bancalari E. Bronchopulmonary dysplasia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001 Jun;163(7):1723–9.
  23. Ehrenkranz RA, Walsh MC, Vohr BR, Jobe AH, Wright LL, Fanaroff AA, et al. Validation of the National Institutes of Health consensus definition of bronchopulmonary dysplasia. *Pediatrics*. 2005 Dec;116(6):1353–60.
  24. Papile LA, Burstein J, Burstein R, Koffler H. Incidence and evolution of subependymal and intraventricular hemorrhage: a study of infants with birth weights less than 1,500 gm. *J Pediatr*. 1978 Apr;92(4):529–34.
  25. Pierrat V, Marchand-Martin L, Marret S, Arnaud C, Benhammou V, Cambonie G, et al. Neurodevelopmental outcomes at age 5 among children born preterm: EPIPAGE-2 cohort study. *BMJ*. 2021 Apr 28;373:n741.
  26. Bell MJ, Ternberg JL, Feigin RD, Keating JP, Marshall R, Barton L, et al. Neonatal necrotizing enterocolitis. Therapeutic decisions based upon clinical staging. *Ann Surg*. 1978 Jan;187(1):1–7.
  27. Shane AL, Sánchez PJ, Stoll BJ. Neonatal sepsis. *Lancet*. 2017 Oct 14;390(10104):1770–80.
  28. Stoll BJ, Hansen NI, Sánchez PJ, Faix RG, Poindexter BB, Van Meurs KP, et al. Early onset neonatal sepsis: the burden of group B Streptococcal and E. coli disease continues. *Pediatrics*. 2011 May;127(5):817–26.
  29. Pammi M, Weisman LE. Late-onset sepsis in preterm infants: update on strategies for therapy and prevention. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2015 Apr;13(4):487–504.
  30. Stoll BJ, Hansen N, Fanaroff AA, Wright LL, Carlo WA, Ehrenkranz RA, et al. Late-onset sepsis in very low birth weight neonates: the experience of the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics*. 2002 Aug;110(2 Pt 1):285–91.
  31. Goldstein B, Giroir B, Randolph A, International Consensus Conference on Pediatric Sepsis. International pediatric sepsis consensus conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatr Crit Care Med*. 2005 Jan;6(1):2–8.
  32. McGovern M, Giannoni E, Kuester H, Turner MA, van den Hoogen A, Bliss JM, et al. Challenges in developing a consensus definition of neonatal sepsis. *Pediatr Res*. 2020 Mar 3;
  33. Bekhof J, Reitsma JB, Kok JH, Van Straaten IJLM. Clinical signs to identify late-onset sepsis in preterm infants. *Eur J Pediatr*. 2013 Apr;172(4):501–8.
  34. Brown JVE, Meader N, Cleminson J, McGuire W. C-reactive protein for diagnosing late-onset infection in newborn infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019 14;1:CD012126.
  35. Cantey JB, Bultmann CR. C-Reactive Protein Testing in Late-Onset Neonatal Sepsis: Hazardous Waste. *JAMA Pediatr*. 2020 01;174(3):235–6.
  36. McGovern M, Giannoni E, Kuester H, Turner MA, van den Hoogen A, Bliss JM, et al. Challenges in developing a consensus definition of neonatal sepsis. *Pediatr Res*. 2020 Mar 3;
  37. Greenberg RG, Kandefers S, Do BT, Smith PB, Stoll BJ, Bell EF, et al. Late-onset Sepsis in Extremely Premature Infants: 2000-2011. *Pediatr Infect Dis J*. 2017 Aug;36(8):774–9.
  38. Boghossian NS, Page GP, Bell EF, Stoll BJ, Murray JC, Cotten CM, et al. Late-onset sepsis in very low birth weight infants from singleton and multiple-gestation births. *J Pediatr*. 2013 Jun;162(6):1120–4, 1124.e1.
  39. Rønnestad A, Abrahamsen TG, Medbø S, Reigstad H, Lossius K, Kaaresen PI, et al. Late-onset septicemia in a Norwegian national cohort of extremely premature infants receiving



- very early full human milk feeding. *Pediatrics*. 2005 Mar;115(3):e269-276.
40. Tröger B, Göpel W, Faust K, Müller T, Jorch G, Felderhoff-Müser U, et al. Risk for late-onset blood-culture proven sepsis in very-low-birth weight infants born small for gestational age: a large multicenter study from the German Neonatal Network. *Pediatr Infect Dis J*. 2014 Mar;33(3):238–43.
  41. Simon AK, Hollander GA, McMichael A. Evolution of the immune system in humans from infancy to old age. *Proc R Soc B Biol Sci*. 2015 Dec 22;282(1821):20143085.
  42. Faa G, Gerosa C, Fanni D, Nemolato S, van Eyken P, Fanos V. Factors influencing the development of a personal tailored microbiota in the neonate, with particular emphasis on antibiotic therapy. *J Matern-Fetal Neonatal Med*. 2013 Oct;26 Suppl 2:35–43.
  43. Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, et al. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics*. 2006 Aug;118(2):511–21.
  44. Chang HY, Chiang Chiau JS, Ho YH, Chang JH, Tsai KN, Liu CY, et al. Impact of Early Empiric Antibiotic Regimens on the Gut Microbiota in Very Low Birth Weight Preterm Infants: An Observational Study. *Front Pediatr*. 2021;9:651713.
  45. Rozé JC, Ancel PY, Marchand-Martin L, Rousseau C, Montassier E, Monot C, et al. Assessment of Neonatal Intensive Care Unit Practices and Preterm Newborn Gut Microbiota and 2-Year Neurodevelopmental Outcomes. *JAMA Netw Open*. 2020 Sep 1;3(9):e2018119.
  46. Mai V, Torrazza RM, Ukhanova M, Wang X, Sun Y, Li N, et al. Distortions in development of intestinal microbiota associated with late onset sepsis in preterm infants. *PloS One*. 2013;8(1):e52876.
  47. Mai V, Young CM, Ukhanova M, Wang X, Sun Y, Casella G, et al. Fecal microbiota in premature infants prior to necrotizing enterocolitis. *PloS One*. 2011;6(6):e20647.
  48. Underwood MA, Sohn K. The Microbiota of the Extremely Preterm Infant. *Clin Perinatol*. 2017;44(2):407–27.
  49. Butin M, Rasigade JP, Subtil F, Martins-Simões P, Pralong C, Freydière AM, et al. Vancomycin treatment is a risk factor for vancomycin-nonsusceptible *Staphylococcus capitis* sepsis in preterm neonates. *Clin Microbiol Infect*. 2017 Nov;23(11):839–44.
  50. Costa SF, Miceli MH, Anaissie EJ. Mucosa or skin as source of coagulase-negative staphylococcal bacteraemia? *Lancet Infect Dis*. 2004 May 1;4(5):278–86.
  51. Soeorg H, Huik K, Parm U, Ilmoja ML, Metelskaja N, Metsvaht T, et al. Genetic relatedness of coagulase-negative *Staphylococci* from gastrointestinal tract and blood of preterm neonates with late-onset sepsis. *Pediatr Infect Dis J*. 2013 Apr;32(4):389–93.
  52. Weaver LT, Laker MF, Nelson R. Intestinal permeability in the newborn. *Arch Dis Child*. 1984 Mar 1;59(3):236–41.
  53. Bizzarro MJ, Raskind C, Baltimore RS, Gallagher PG. Seventy-five years of neonatal sepsis at Yale: 1928-2003. *Pediatrics*. 2005 Sep;116(3):595–602.
  54. Downey LC, Smith PB, Benjamin DK. Risk factors and prevention of late-onset sepsis in premature infants. *Early Hum Dev*. 2010 Jul;86 Suppl 1:7–12.
  55. Mitha A, Foix-L'Hélias L, Arnaud C, Marret S, Vieux R, Aujard Y, et al. Neonatal infection and 5-year neurodevelopmental outcome of very preterm infants. *Pediatrics*. 2013 Aug;132(2):e372-380.
  56. Bright HR, Babata K, Allred EN, Erdei C, Kuban KCK, Joseph RM, et al. Neurocognitive Outcomes at 10 Years of Age in Extremely Preterm Newborns with Late-Onset Bacteremia. *J Pediatr*. 2017;187:43-49.e1.
  57. Hira V, Sluijter M, Goessens WHF, Ott A, de Groot R, Hermans PWM, et al. Coagulase-negative staphylococcal skin carriage among neonatal intensive care unit personnel: from population to infection. *J Clin Microbiol*. 2010 Nov;48(11):3876–81.
  58. Butin M, Dumont Y, Monteix A, Raphard A, Roques C, Martins Simoes P, et al. Sources and reservoirs of *Staphylococcus capitis* NRCS-A inside a NICU. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2019;8:157.

59. Milstone AM, Voskertchian A, Koontz DW, Khamash DF, Ross T, Aucott SW, et al. Effect of Treating Parents Colonized With *Staphylococcus aureus* on Transmission to Neonates in the Intensive Care Unit: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2020 28;323(4):319–28.
60. Cadot L, Bruguière H, Jumas-Bilak E, Didelot MN, Masnou A, de Barry G, et al. Extended spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* outbreak reveals incubators as pathogen reservoir in neonatal care center. *Eur J Pediatr*. 2019 Apr;178(4):505–13.
61. Gillespie E, Tabbara L, Scott C, Lovegrove A, Kotsanas D, Stuart RL. Microfiber and steam for a neonatal service: An improved and safe cleaning methodology. *Am J Infect Control*. 2017 Jan 1;45(1):98–100.
62. Ory J, Cazaban M, Richaud-Morel B, Di Maio M, Dunyach-Remy C, Pantel A, et al. Successful implementation of infection control measure in a neonatal intensive care unit to combat the spread of pathogenic multidrug resistant *Staphylococcus capitis*. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2019;8:57.
63. Carr R, Brocklehurst P, Doré CJ, Modi N. Granulocyte-macrophage colony stimulating factor administered as prophylaxis for reduction of sepsis in extremely preterm, small for gestational age neonates (the PROGRAMS trial): a single-blind, multicentre, randomised controlled trial. *Lancet*. 2009 Jan 17;373(9659):226–33.
64. ELFIN trial investigators group. Enteral lactoferrin supplementation for very preterm infants: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet Lond Engl*. 2019 02;393(10170):423–33.
65. Ohlsson A, Lacy JB. Intravenous immunoglobulin for preventing infection in preterm and/or low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013 Jul 2;(7):CD000361.
66. Hsieh EM, Hornik CP, Clark RH, Laughon MM, Jr DKB, Smith PB, et al. Medication Use in the Neonatal Intensive Care Unit. *Am J Perinatol*. 2014 Oct;31(09):811–22.
67. Clark RH, Bloom BT, Spitzer AR, Gerstmann DR. Reported medication use in the neonatal intensive care unit: data from a large national data set. *Pediatrics*. 2006 Jun;117(6):1979–87.
68. Gouyon B, Martin-Mons S, Iacobelli S, Razafimahefa H, Kermorvant-Duchemin E, Brat R, et al. Characteristics of prescription in 29 Level 3 Neonatal Wards over a 2-year period (2017-2018). An inventory for future research. *PLOS ONE*. 2019 Sep 19;14(9):e0222667.
69. Schulman J, Dimand RJ, Lee HC, Duenas GV, Bennett MV, Gould JB. Neonatal Intensive Care Unit Antibiotic Use. *Pediatrics*. 2015 May 1;135(5):826–33.
70. Puopolo KM, Mukhopadhyay S, Hansen NI, Cotten CM, Stoll BJ, Sanchez PJ, et al. Identification of Extremely Premature Infants at Low Risk for Early-Onset Sepsis. *Pediatrics*. 2017 Nov;140(5).
71. Canteley JB, Patel SJ. Antimicrobial stewardship in the NICU. *Infect Dis Clin North Am*. 2014 Jun;28(2):247–61.
72. Ting JY, Roberts A, Sherlock R, Ojah C, Cieslak Z, Dunn M, et al. Duration of Initial Empirical Antibiotic Therapy and Outcomes in Very Low Birth Weight Infants. *Pediatrics*. 2019;143(3).
73. Cordero L, Ayers LW. Duration of empiric antibiotics for suspected early-onset sepsis in extremely low birth weight infants. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2003 Sep;24(9):662–6.
74. Cotten CM, Taylor S, Stoll B, Goldberg RN, Hansen NI, Sánchez PJ, et al. Prolonged duration of initial empirical antibiotic treatment is associated with increased rates of necrotizing enterocolitis and death for extremely low birth weight infants. *Pediatrics*. 2009 Jan;123(1):58–66.
75. Thibaudon Baveux C, Stroebel Noguier A, Boulard Mallet I, Djavadzadeh-Amini M, Kacet N, Truffert P, et al. [Prevention of early-onset group B streptococcus neonatal diseases. The 2005 experience of the Lille University Health Center]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 2008 Jun;37(4):392–9.
76. Arboleya S, Sánchez B, Milani C, Duranti S, Solís G, Fernández N, et al. Intestinal microbiota development in preterm neonates and effect of perinatal antibiotics. *J Pediatr*. 2015

Mar;166(3):538–44.

77. Cantey JB, Huffman LW, Subramanian A, Marshall AS, Ballard AR, Lefevre C, et al. Antibiotic Exposure and Risk for Death or Bronchopulmonary Dysplasia in Very Low Birth Weight Infants. *J Pediatr*. 2017 Feb;181:289-293.e1.
78. Cantey JB, Pyle AK, Wozniak PS, Hynan LS, Sánchez PJ. Early Antibiotic Exposure and Adverse Outcomes in Preterm, Very Low Birth Weight Infants. *J Pediatr*. 2018;203:62–7.
79. Li Y, Shen RL, Ayede AI, Berrington J, Bloomfield FH, Busari OO, et al. Early Use of Antibiotics Is Associated with a Lower Incidence of Necrotizing Enterocolitis in Preterm, Very Low Birth Weight Infants: The NEOMUNE-NeoNutriNet Cohort Study. *J Pediatr*. 2020 Dec;227:128-134.e2.
80. Ancel PY, Goffinet F, EPIPAGE 2 Writing Group. EPIPAGE 2: a preterm birth cohort in France in 2011. *BMC Pediatr*. 2014 Apr 9;14:97.
81. Lorthé E, Benhammou V, Marchand-Martin L, Pierrat V, Lebeaux C, Durox M, et al. Cohort Profile: The Etude Epidémiologique sur les Petits Ages Gestationnels-2 (EPIPAGE-2) preterm birth cohort. *Int J Epidemiol* [Internet]. 2021 Jun 24
82. Tennant PWG, Murray EJ, Arnold KF, Berrie L, Fox MP, Gadd SC, et al. Use of directed acyclic graphs (DAGs) to identify confounders in applied health research: review and recommendations. *Int J Epidemiol*. 2021 May 17;50(2):620–32.
83. Vandembroucke JP, von Elm E, Altman DG, Gøtzsche PC, Mulrow CD, Pocock SJ, et al. Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE): explanation and elaboration. *PLoS Med*. 2007 Oct 16;4(10):e297.
84. Little RJ, Rubin DB. *Causal Effects in Clinical and Epidemiological Studies Via Potential Outcomes: Concepts and Analytical Approaches*. *Annu Rev Public Health*. 2000;21(1):121–45.
85. Austin PC. An Introduction to Propensity Score Methods for Reducing the Effects of Confounding in Observational Studies. *Multivar Behav Res*. 2011 May;46(3):399–424.
86. Austin PC. An Introduction to Propensity Score Methods for Reducing the Effects of Confounding in Observational Studies. *Multivar Behav Res*. 2011 May 31;46(3):399–424.
87. ROSENBAUM PR, RUBIN DB. The central role of the propensity score in observational studies for causal effects. *Biometrika*. 1983 Apr 1;70(1):41–55.
88. Thomas L, Li F, Pencina M. Using Propensity Score Methods to Create Target Populations in Observational Clinical Research. *JAMA*. 2020 Feb 4;323(5):466–7.
89. Austin PC, Stuart EA. Moving towards best practice when using inverse probability of treatment weighting (IPTW) using the propensity score to estimate causal treatment effects in observational studies. *Stat Med*. 2015;34(28):3661–79.
90. Garrido MM, Kelley AS, Paris J, Roza K, Meier DE, Morrison RS, et al. Methods for Constructing and Assessing Propensity Scores. *Health Serv Res*. 2014;49(5):1701–20.
91. Sterne JAC, White IR, Carlin JB, Spratt M, Royston P, Kenward MG, et al. Multiple imputation for missing data in epidemiological and clinical research: potential and pitfalls. *BMJ*. 2009 Jun 29;338:b2393.
92. Pedersen AB, Mikkelsen EM, Cronin-Fenton D, Kristensen NR, Pham TM, Pedersen L, et al. Missing data and multiple imputation in clinical epidemiological research. *Clin Epidemiol*. 2017;9:157–66.
93. Hayati Rezvan P, Lee KJ, Simpson JA. The rise of multiple imputation: a review of the reporting and implementation of the method in medical research. *BMC Med Res Methodol* [Internet]. 2015 Apr 7;15.
94. Rubin DB, Schenker N. Multiple imputation in health-care databases: an overview and some applications. *Stat Med*. 1991 Apr;10(4):585–98.
95. Letouzey M, Foix-L'Hélias L, Torchin H, Mitha A, Morgan AS, Zeitlin J, et al. Cause of preterm birth and late-onset sepsis in very preterm infants: the EPIPAGE-2 cohort study. *Pediatr Res*. 2021;Feb(24):1–9.
96. Letouzey M, Lorthé E, Marchand-Martin L, Kayem G, Charlier C, Butin M, et al. Early

- Antibiotic Exposure and Adverse Outcomes in Very Preterm Infants at Low Risk of Early-Onset Sepsis: The EPIPAGE-2 Cohort Study. *J Pediatr*. 2022 Apr;243:91-98.e4.
97. Hill AB. The environment and disease: association or causation? *Proc R Soc Med*. 1965 May;58:295–300.
98. Martin-Mons S, Lorrain S, Iacobelli S, Gouyon B, Gouyon JB, B-PEN Study Group. Antibiotics Prescription Over Three Years in a French Benchmarking Network of 23 Level 3 Neonatal Wards. *Front Pharmacol*. 2020;11:585018.
99. Molloy EJ, Wynn JL, Bliss J, Koenig JM, Keij FM, McGovern M, et al. Neonatal sepsis: need for consensus definition, collaboration and core outcomes. *Pediatr Res*. 2020;88(1):2–4.
100. Henry CJ, Semova G, Barnes E, Cotter I, Devers T, Rafee A, et al. Neonatal sepsis: a systematic review of core outcomes from randomised clinical trials. *Pediatr Res [Internet]*. 2022 Jan 7
101. Ancel PY, Breart G, Bruel H, Debillon T, D’Ercole C, Deruelle P, et al. Propositions sur la prise en charge en cas d’extrême prématurité – Le groupe de travail « Extrême Prématurité » pour la SFMP, le CNGOF et la SFN. *Gynécologie Obstétrique Fertilité Sénologie*. 2020 Dec 1;48(12):850–7.
102. Tarr PI, Warner BB. Gut bacteria and late-onset neonatal bloodstream infections in preterm infants. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2016 Dec 1;21(6):388–93.
103. Rosenthal VD, Al-Abdely HM, El-Kholy AA, AlKhawaja SAA, Leblebicioglu H, Mehta Y, et al. International Nosocomial Infection Control Consortium report, data summary of 50 countries for 2010-2015: Device-associated module. *Am J Infect Control*. 2016 Dec 1;44(12):1495–504.
104. Bright HR, Babata K, Allred EN, Erdei C, Kuban KCK, Joseph RM, et al. Neurocognitive Outcomes at 10 Years of Age in Extremely Preterm Newborns with Late-Onset Bacteremia. *J Pediatr*. 2017 May 16;
105. van der Ree M, Tanis JC, Van Braeckel KNJA, Bos AF, Roze E. Functional impairments at school age of preterm born children with late-onset sepsis. *Early Hum Dev*. 2011 Dec;87(12):821–6.
106. Schlapbach LJ, Aebischer M, Adams M, Natalucci G, Bonhoeffer J, Latzin P, et al. Impact of sepsis on neurodevelopmental outcome in a Swiss National Cohort of extremely premature infants. *Pediatrics*. 2011 Aug;128(2):e348-357.
107. Pierrat V, Marchand-Martin L, Arnaud C, Kaminski M, Resche-Rigon M, Lebeaux C, et al. Neurodevelopmental outcome at 2 years for preterm children born at 22 to 34 weeks’ gestation in France in 2011: EPIPAGE-2 cohort study. *BMJ*. 2017 Aug 16;358:j3448.
108. Zeitlin J, Maier RF, Cuttini M, Aden U, Boerch K, Gadzinowski J, et al. Cohort Profile: Effective Perinatal Intensive Care in Europe (EPICE) very preterm birth cohort. *Int J Epidemiol*. 2020 Apr 1;49(2):372–86.
109. Stoll BJ, Hansen NI, Sánchez PJ, Faix RG, Poindexter BB, Van Meurs KP, et al. Early onset neonatal sepsis: the burden of group B Streptococcal and E. coli disease continues. *Pediatrics*. 2011 May;127(5):817–26.
110. Sikias P, Parmentier C, Imbert P, Rajguru M, Chavet MS, Coquery S, et al. [Early-onset neonatal infection: assessment of professional practices in 14 maternity wards in the Île-de-France region in 2013]. *Arch Pediatr*. 2015 Oct;22(10):1021–6.

### Association of early antibiotic exposure and necrotizing enterocolitis: causality or confounding bias?

#### To the Editor:

We read with great interest the report by Li et al that compared the incidence of necrotizing enterocolitis (NEC) in infants with very low birth weight according to early antibiotic treatment.<sup>1</sup> We would like to raise the question: association of early antibiotic exposure and NEC: causality or confounding bias?

Antibiotic use was different from one neonatal intensive care unit to another, resulting in a small and highly selected nonexposed group. Indeed, the 2 groups displayed different baseline characteristics (gestational age, proportions of small for gestational age, and cesarean delivery), which suggest that the causes of preterm birth (not analyzed and potentially a confounding factor, ie, a pre-exposure covariate independently associated with both the exposure and the outcome) differ between the groups. Moreover, small for gestational age status is not equal to fetal growth restriction. Although a crude positive association between no early antibiotics and NEC was found, adjusting for relevant confounders such as fetal growth restriction or causes of preterm birth may decrease the OR and support the concept of confounding by indication. We suggest that indication bias would have been handled better using appropriate statistical methods such as the propensity score, considering variables available at the decision time to initiate or not early antibiotic treatment.

The authors state that a clinical trial using early and short antibiotic treatment to prevent NEC could be considered. We want to emphasize that other studies found an increased risk of NEC, but also late-onset sepsis and death associated with early antibiotic use,<sup>2,3</sup> and that antibiotic treatment has short- and long-term consequences,<sup>4,5</sup> as mentioned by the authors. Thus, additional evidence and caution are required before concluding causality for the association between early antibiotic exposure and reduced rate of NEC.

**Mathilde Letouzey, MD**

Université de Paris  
Epidemiology and Statistics Research Center/CRESS,  
INSERM, INRA  
Paris

Department of Neonatal Pediatrics  
Poissy Saint Germain Hospital  
Poissy, France

**Laurence Foix-L'Hélias, MD, PhD**

Université de Paris  
Epidemiology and Statistics Research Center/CRESS,  
INSERM, INRA  
Sorbonne University

Department of Neonatal Pediatrics

Armand Trousseau Hospital  
APHP  
Paris, France

**Pascal Boileau, MD, PhD**

Department of Neonatal Pediatrics  
Poissy Saint Germain Hospital  
Poissy  
Université Versailles St Quentin en Yvelines  
Montigny le Bretonneux  
France

**Elsa Lorthe, RM, PhD**

Université de Paris  
Epidemiology and Statistics Research Center/CRESS,  
INSERM, INRA  
Paris, France

EPIUnit – Instituto de Saúde Pública

Universidade do Porto  
Porto, Portugal

<https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2020.07.060>

#### References

1. Li Y, Shen RL, Ayede AI, Berrington J, Bloomfield FH, Busari OO, et al. Early use of antibiotics is associated with a lower incidence of necrotizing enterocolitis in preterm, very low birth weight infants: NEOMUNE-NeoNutriNet cohort study. *J Pediatr* 2020. In press.
2. Canteley JB, Pyle AK, Wozniak PS, Hyman LS, Sánchez PJ. Early antibiotic exposure and adverse outcomes in preterm, very low birth weight infants. *J Pediatr* 2018;203:62-7.
3. Ting JY, Roberts A, Sherlock R, Ojah C, Cieslak Z, Dunn M, et al. Duration of initial empirical antibiotic therapy and outcomes in very low birth weight infants. *Pediatrics* 2019;143:e20182286.
4. Arbolea S, Sánchez B, Milani C, Duranti S, Solís G, Fernández N, et al. Intestinal microbiota development in preterm neonates and effect of perinatal antibiotics. *J Pediatr* 2015;166:538-44.
5. Faa G, Gerosa C, Fanni D, Nemolato S, van Eyken P, Fanos V. Factors influencing the development of a personal tailored microbiota in the neonate, with particular emphasis on antibiotic therapy. *J Matern-Fetal Neonatal Med* 2013;26(suppl 2):35-43.



# Infections néonatales bactériennes précoces et tardives

M. Letouzey, P. Boileau, L. Foix-L'Hélias

**Résumé :** Les infections sont une pathologie fréquente de la période néonatale, touchant entre 1 et 5 % des nouveau-nés. La mortalité de ces infections néonatales reste préoccupante malgré les progrès en néonatalogie. Les conséquences des infections sont possibles à court terme mais aussi à long terme, avec notamment des troubles du neurodéveloppement. Les caractéristiques et les conséquences des infections néonatales varient selon leur caractère précoce (dans les 3 premiers jours de vie) ou tardif (entre le 3<sup>e</sup> et le 28<sup>e</sup> jour de vie) et selon le terrain sur lequel elles surviennent (nouveau-né à terme ou prématuré notamment). Le diagnostic des infections néonatales est difficile en raison des signes cliniques aspécifiques. L'identification d'une bactérie dans le sang ou le liquide cébrospinal permet d'affirmer le diagnostic. Les infections néonatales bactériennes précoces sont majoritairement liées au streptocoque du groupe B et à *Escherichia coli*. Les infections néonatales bactériennes tardives sont à distinguer selon deux cadres nosologiques : les infections communautaires et les infections associées aux soins, fréquentes chez les nouveau-nés prématurés.

© 2021 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

**Mots-clés :** Infections néonatales ; Sepsis néonatal ; Nouveau-né ; Prématuré

## Plan

■ Introduction	1
Définition des infections néonatales	1
Épidémiologie des infections néonatales	1
■ Physiopathologie – susceptibilité des nouveau-nés aux infections	2
■ Diagnostic des infections néonatales	2
Signes cliniques	2
Diagnostic	2
Autres examens complémentaires	3
■ Infections néonatales bactériennes précoces	3
Microbiologie	3
Facteurs de risque d'INBP	3
Surveillance clinique des nouveau-nés de 34 SA et plus, asymptomatiques, avec facteurs de risque d'INBP	3
Antibiothérapie	3
Prévention des INBP	4
■ Infections néonatales bactériennes tardives	5
Infections néonatales bactériennes tardives communautaires	5
Infections néonatales bactériennes tardives nosocomiales	5
■ Conclusion	6

## ■ Introduction

### Définition des infections néonatales

Les infections néonatales concernent par définition les nouveau-nés dans leurs 28 premiers jours de vie. Le diagnostic positif et étiologique de ces infections repose sur la mise en évidence d'un germe unique et pathogène dans un site normalement

stérile : le sang ou le liquide cébrospinal <sup>[1]</sup>. Le terme de sepsis est plutôt utilisé lorsque l'infection met en jeu le pronostic vital, à la suite d'une dysrégulation de la réponse inflammatoire de l'hôte <sup>[2]</sup>. Cependant, contrairement aux recommandations internationales sur le sepsis pédiatrique ou adulte, il n'existe pas de définition consensuelle du sepsis néonatal <sup>[3]</sup>. Cette absence de définition du sepsis néonatal doit conduire à la prudence dans l'interprétation et la comparaison des résultats des études internationales.

Les infections néonatales sont classiquement divisées en deux catégories : l'infection néonatale précoce quand les signes surviennent dans les 3 premiers jours ou 72 premières heures de vie ; et l'infection néonatale tardive quand les signes surviennent après le troisième jour de vie <sup>[1]</sup>. Les pneumopathies bactériennes néonatales communautaires ou associées à la ventilation mécanique ne sont pas abordées ici.

### Épidémiologie des infections néonatales

Dans le monde, on estime que 22 enfants pour 1000 naissances vivantes développent un sepsis néonatal <sup>[4]</sup>. Malgré les progrès importants dans la prise en charge de ces infections, la mortalité des infections néonatales reste préoccupante. En effet, le taux de mortalité des infections néonatales varie de façon importante entre les pays en fonction du niveau de revenus et du niveau d'accès aux soins, mais il reste élevé, avec une estimation entre 11 et 19 % <sup>[4]</sup>.

L'incidence des infections néonatales, leurs caractéristiques et leurs conséquences dépendent de leur caractère précoce ou tardif, et du terrain sur lequel elles surviennent, notamment de l'âge gestationnel de naissance. Après la généralisation du dépistage par le prélèvement vaginal du portage du streptocoque du groupe B (SGB) et de son corollaire en cas de positivité l'antibioprophylaxie per partum, le nombre des infections néonatales précoces à SGB a diminué chez les nouveau-nés à terme <sup>[5]</sup>. L'incidence de

l'ensemble des infections néonatales bactériennes précoces (INBP) certaines (prouvées par une hémoculture ou par la culture du liquide céphalospinal) est estimée entre 0,7 et 1 pour 1000 naissances vivantes aux États-Unis, avec des taux d'autant plus élevés que l'âge gestationnel ou le poids de naissance sont bas (11 pour 1000 naissances vivantes pour les nouveau-nés de poids de naissance < 1500 g ; 1,4 pour 1000 pour un poids de naissance entre 1500 et 2500 g ; et 0,6 pour 1000 pour les nouveau-nés de poids de naissance > 2500 g) [6]. En France, l'incidence des infections néonatales précoces à SGB était inférieure à 0,20 pour 1000 naissances vivantes d'après les derniers chiffres rapportés par l'Institut national de veille sanitaire en 2014 [7].

Ainsi, l'INBP est une maladie de faible incidence dans les pays à haut niveau de revenus mais ses conséquences sont potentiellement graves. Elle constitue une cause évitable de mortalité. Cette mortalité varie en fonction de l'âge gestationnel du nouveau-né : de 2 à 3 % chez le nouveau-né à terme, elle s'élève à plus de 20 % chez le prématuré [6] et elle est encore plus élevée en cas de méningite : respectivement 10 et 26 % [8].

Les infections néonatales bactériennes tardives (INBT) surviennent dans deux cadres nosologiques bien distincts : les infections communautaires, essentiellement chez les nouveau-nés à terme, et les infections nosocomiales également appelées infections associées aux soins qui surviennent majoritairement chez les nouveau-nés prématurés. Les INBT touchent environ 20 % des grands prématurés, avec une mortalité qui varie entre 18 et 36 % dans cette population [9, 10].

## ■ Physiopathologie – susceptibilité des nouveau-nés aux infections

La naissance constitue un bouleversement immunologique. In utero, le système immunitaire fœtal doit tolérer les antigènes maternels. Après la naissance, le nouveau-né est exposé à une très grande quantité d'antigènes étrangers, nécessitant une adaptation rapide du système immunitaire.

Le risque d'infection bactérienne est plus élevé à la naissance qu'à toute autre période de la vie [11]. En effet, les nouveau-nés ont une réponse immunitaire innée et adaptative altérée par rapport aux adultes : diminution de la quantité et de l'activité fonctionnelle des polynucléaires neutrophiles et faible taux d'anticorps circulants notamment [11]. Cette vulnérabilité immunitaire est encore plus marquée chez le nouveau-né prématuré.

Le risque d'infection chez les prématurés est également élevé du fait de leur environnement. En effet, les nouveau-nés prématurés sont particulièrement exposés à des germes de l'environnement hospitalier potentiellement pathogènes et résistants aux antibiotiques. La transmission manuportée des germes est la principale source d'infection de ces nouveau-nés prématurés hospitalisés, d'où l'importance d'une hygiène scrupuleuse des mains et des surfaces. De plus, les nombreuses procédures invasives nécessaires à leur prise en charge médicale conduisent à des ruptures des barrières cutanées et muqueuses, qui sont les premières lignes de défense dans la lutte contre l'infection. Ces gestes (intubation endotrachéale, ponction veineuse pour prélèvement sanguin, pose de voie veineuse périphérique, pose de cathéter central) sont, d'une part, des portes d'entrée pour les bactéries et, d'autre part, reflètent l'immaturation globale du nouveau-né le rendant plus susceptible aux infections.

L'équilibre du microbiote intestinal semble également important dans la prévention des infections néonatales par ses actions de protection contre les pathogènes (rôle barrière) et de développement du système immunitaire. Plusieurs facteurs peuvent influencer l'implantation de la flore intestinale et être à l'origine d'une altération du microbiote : une rupture prolongée des membranes, une antibiothérapie ou antibioprophyllaxie maternelle, une naissance par césarienne notamment [12, 13]. Une antibiothérapie chez le nouveau-né dont l'indication ne serait pas optimale est également délétère pour l'établissement de son microbiote. À court terme, l'antibiothérapie néonatale pourrait être impliquée dans la prolifération de certaines bactéries résistantes aux antibiotiques. Cette augmentation de la résistance

aux antibiotiques, notamment des bacilles à Gram négatif, peut entraîner la constitution d'un réservoir potentiel pour des épidémies hospitalières lorsque ces bacilles colonisent le tractus digestif du nouveau-né [14]. Les effets de l'antibiothérapie néonatale pourraient persister au-delà de l'arrêt du traitement. Ainsi, des modifications de la flore fécale ont été observées à l'âge d'un mois chez les enfants exposés aux antibiotiques à la naissance [13]. Les perturbations du microbiote sont encore plus fréquentes chez le nouveau-né prématuré, avec une plus faible diversité de la flore, un nombre moins important de bactéries commensales et la présence de bactéries pathogènes [15].

## ■ Diagnostic des infections néonatales

### Signes cliniques

Les signes cliniques sont nombreux et aspécifiques. Ils peuvent être présents dans des situations non infectieuses, ce qui rend le diagnostic clinique d'infection souvent difficile. Les signes cliniques initiaux peuvent être minimes et isolés. L'évolution vers le sepsis peut entraîner une défaillance multiviscérale : détresse respiratoire sévère, troubles hémodynamiques avec insuffisance cardiaque, coagulation intravasculaire disséminée, atteinte hémato-logique (neutropénie, thrombopénie) et dysfonction d'organe (foie, rein).

### “ Point fort

#### Signes cliniques pouvant faire évoquer une infection néonatale

- Troubles de la régulation thermique : fièvre ou hypothermie.
- Troubles hémodynamiques (pâleur, allongement du temps de recoloration cutanée), tachycardie ou bradycardie.
- Signes respiratoires : apnées, détresse respiratoire, geignement.
- Troubles neurologiques : hypotonie, irritabilité, crises convulsives.
- Difficultés à l'alimentation.

### Diagnostic

Les prélèvements bactériologiques, hémoculture et ponction lombaire permettent d'affirmer le diagnostic positif et étiologique de l'infection néonatale.

L'hémoculture est l'examen de référence. Elle doit être prélevée systématiquement devant la présence de signes cliniques évocateurs et toujours avant l'instauration d'une antibiothérapie. La qualité de sa réalisation conditionne sa valeur diagnostique : un volume de sang minimal de 2 ml (1 ml chez le nouveau-né prématuré) doit être prélevé dans des conditions d'asepsie.

La ponction lombaire est réalisée devant un tableau clinique évocateur de méningite (altération de l'état général, signes neurologiques avec notamment somnolence, irritabilité ou convulsions) ou systématiquement en cas d'hémoculture positive à germe pathogène. Toutefois, la réalisation de la ponction lombaire ne doit pas retarder la mise en route de l'antibiothérapie.

Actuellement, des techniques de biologie moléculaire, notamment d'amplification des acides nucléiques, sont en cours d'évaluation pour améliorer le diagnostic des infections néonatales. La PCR (*polymerase chain reaction*) avec séquençage de l'ARN (acide ribonucléique) 16S permet de détecter plus rapidement, dans un plus petit volume et avec une grande sensibilité, la présence de bactéries dans le sang. Cependant, la possibilité de détecter des faux positifs nécessite aujourd'hui des informations

plus précises sur leur intérêt en pratique clinique [16]. Enfin, il existe des tests PCR pour détecter la présence d'ADN (acide désoxyribonucléique) de streptocoque du groupe B, dans le sang ou dans le liquide céphalorachidien, plusieurs heures ou jours après le début de l'antibiothérapie. Ces tests sont particulièrement intéressants dans le liquide cérébrospinal lorsque la ponction lombaire n'a pas été effectuée avant la mise en route de l'antibiothérapie.

### Autres examens complémentaires

La numération formule sanguine n'a pas sa place pour le diagnostic positif d'infection néonatale. En revanche, en cas d'infection sévère, notamment, l'hémogramme peut être utile pour rechercher une neutropénie ou une thrombopénie associée.

Les marqueurs de l'inflammation comme la CRP (protéine C réactive) et la PCT (procalcitonine) ne sont aujourd'hui pas recommandés pour le diagnostic positif de l'infection néonatale. La CRP est un test qui est peu sensible, non spécifique et qui nécessite le prélèvement d'une quantité de sang non négligeable chez les nouveau-nés, en particulier, grands prématurés [17,18]. Le dosage de ces marqueurs ne doit en aucun cas différer la mise en route de l'antibiothérapie en cas de suspicion clinique d'infection néonatale.

Les prélèvements du liquide gastrique et les prélèvements périphériques (anus et oreille) effectués à la naissance ne sont plus recommandés dans l'évaluation du risque d'INBP chez le nouveau-né de plus de 34 semaines d'aménorrhée (SA) [19]. Leur intérêt chez le prématuré reste discuté.

## ■ Infections néonatales bactériennes précoces

Les INBP sont la conséquence d'une transmission bactérienne verticale de la mère à l'enfant par trois voies de contamination possibles : transplacentaire par voie hématogène, par voie ascendante ou lors du passage dans la filière génitale [20]. La voie hématogène est moins fréquente que les deux autres, elle survient lors des pyélonéphrites gravidiques ou lors d'une listériose maternelle à *Listeria monocytogenes*. Lors de la contamination par voie ascendante à partir du portage vaginal ou au passage de la filière génitale, le nouveau-né va dans un premier temps se coloniser. Ainsi, en l'absence d'antibioprophylaxie chez la mère colonisée par SGB, la moitié des nouveau-nés naissent colonisés et environ 2 % d'entre eux développent une infection précoce [5].

Certains facteurs influencent ensuite le passage de la colonisation à l'infection : la prématurité, la réalisation de gestes invasifs, la quantité de l'inoculum bactérien initial, la virulence du germe impliqué, le système immunitaire néonatal (taux d'anticorps maternels présents chez le nouveau-né, par exemple).

Des recommandations sur la prise en charge du nouveau-né de plus de 34 SA à risque d'INBP ont été publiées en 2017 [19].

### Microbiologie

Actuellement, dans les pays à haut niveau de revenus, l'épidémiologie bactérienne des infections néonatales précoces chez le nouveau-né à terme ou proche du terme se répartit ainsi : 40 à 50 % sont dues au streptocoque du groupe B, 10 à 15 % à *Escherichia coli* et 30 à 40 % à des bactéries diverses (*Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, streptocoque du groupe A ou *Listeria monocytogenes*) [6,21]. Le SGB reste donc la bactérie majoritaire des infections précoces du nouveau-né à terme ou proche du terme [22]. En revanche, chez le nouveau-né prématuré de moins de 34 SA, *E. coli* est la bactérie la plus fréquemment identifiée dans les INBP [22].

Enfin, lors des deux dernières décennies, l'incidence de la listériose néonatale est passée de 5,5 à 2,4 cas pour 100 000 naissances vivantes, mais plus de neuf fois sur dix, il s'agit d'une infection précoce [23]. La très faible prévalence de la listériose néonatale ne justifie pas un pari probabiliste initial, mais il convient de ne pas l'oublier en cas de facteurs de risque spécifique (fièvre maternelle, essentiellement) car la maladie est particulièrement sévère [24].

## Facteurs de risque d'INBP

Les facteurs de risque démontrés d'INBP sont [25] :

- une colonisation maternelle à streptocoque du groupe B pendant la grossesse en cours ;
- un antécédent d'infection néonatale à streptocoque du groupe B pour un enfant lors d'une précédente grossesse ;
- une rupture des membranes de plus de 12 heures ;
- une prématurité spontanée et inexplicquée ;
- une fièvre maternelle supérieure à 38 °C.

Les deux premiers facteurs de risque sont des indications à une antibioprofylaxie per partum tout comme la rupture des membranes prolongée ou la prématurité spontanée et inexplicquée en l'absence de résultat du PV disponible. Enfin, la fièvre maternelle constitue une indication à une antibiothérapie maternelle qui permet également de prévenir l'INBP. L'antibiothérapie peut être considérée comme étant adéquate si la molécule est efficace à 100 % sur le SGB (pénicilline G, amoxicilline ou ampicilline, ou céfazoline), si la voie intraveineuse a été utilisée pour l'administration et si un délai supérieur à 4 heures avant la naissance a été respecté.

## Surveillance clinique des nouveau-nés de 34 SA et plus, asymptomatiques, avec facteurs de risque d'INBP

Les recommandations de bonne pratique de 2017 proposent une surveillance clinique rapprochée et standardisée des nouveau-nés asymptomatiques présentant des facteurs de risque d'INBP [19]. Il existe trois niveaux de surveillance (A, B, C) du groupe au risque infectieux le plus faible (A) au plus important (C). Ces groupes de surveillance sont définis à l'aide d'un algorithme selon la présence de facteurs de risque per partum (antibiothérapie ou antibioprofylaxie maternelle inadéquate ou fièvre maternelle), qui eux-mêmes découlent de facteurs de risque ante partum décrits précédemment (Fig. 1).

La surveillance clinique standardisée des nouveau-nés repose sur cinq paramètres cliniques, évalués pendant 48 heures : la température, la fréquence cardiaque, la fréquence respiratoire, les signes de lutte respiratoire et la coloration. Ces paramètres doivent être évalués toutes les 4 heures pendant les 24 premières heures de vie, puis toutes les 6 heures pendant 24 heures, et doivent être consignés dans une grille de surveillance clinique (Fig. 2). La présence de certains signes cliniques survenant lors de la surveillance des nouveau-nés à risque d'INBP doit conduire à un appel de la sage-femme ou du pédiatre.

### “ Point fort

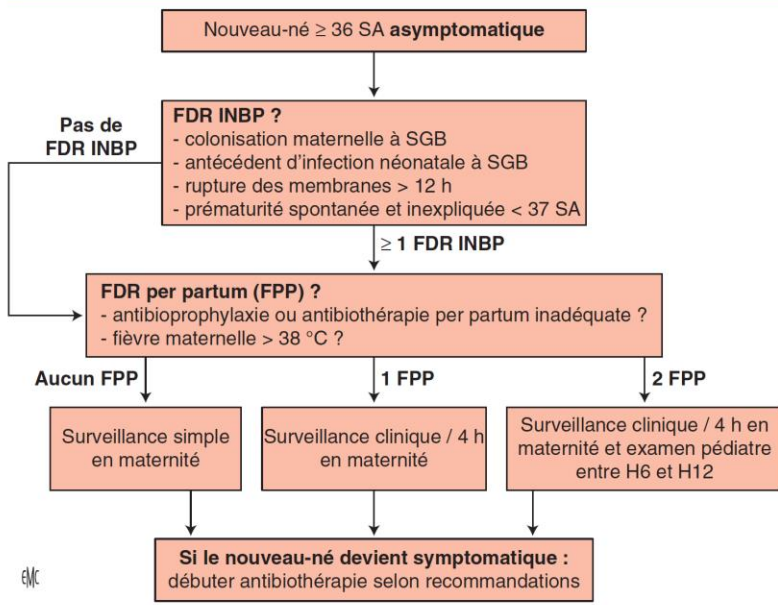
#### Signes cliniques devant conduire à un appel de la sage-femme ou du pédiatre, lors de la surveillance des nouveau-nés à risque d'INBP

- Température  $\geq 38$  °C ou  $< 36$  °C.
- Fréquence cardiaque  $> 160$ /min au calme ou  $< 80$ /min.
- Fréquence respiratoire  $> 60$ /min.
- Signes de lutte respiratoire.
- Coloration anormale : pâleur, cyanose, teint gris ou marbrures.

## Antibiothérapie

Le choix de l'antibiothérapie de première intention est détaillée dans les recommandations de bonne pratique (Fig. 3) [19]. Une antibiothérapie probabiliste doit être débutée en urgence chez tout nouveau-né symptomatique en maternité, après prélèvement d'une hémoculture. L'antibiothérapie probabiliste





**Figure 1.** Arbre décisionnel pour l'identification du groupe de surveillance des nouveau-nés asymptomatiques selon leurs facteurs de risque (FDR) d'infection néonatale bactérienne précoce (INBP). SA : semaine d'aménorrhée ; SGB : streptocoque du groupe B.

Âge (heures)	H4	H8	H12	H16	H20	H24	H30	H36	H42	H48
Date et heure										
Température ≥ 38 °C ou < 36 °C										
Fréquence cardiaque > 160 (au calme) ou < 80/min										
Fréquence respiratoire > 60/min										
Signes de lutte respiratoire (tirage, geignement)										
Aspect de la peau anormal (pâleur, cyanose, marbrures, teint gris)										

**Figure 2.** Grille de surveillance des nouveau-nés de plus de 34 semaines d'aménorrhée, asymptomatiques, avec des facteurs de risque d'infection néonatale bactérienne précoce.

recommandée en première intention est la bithérapie amoxicilline (50 mg/kg/12 h) et aminoside (gentamicine 5 mg/kg/24 h pour le nouveau-né ≥ 37 SA, 6 mg/kg/24 h pour le nouveau-né de 34–36 SA) par voie intraveineuse. Devant la présence de signes de gravité (signes neurologiques ou troubles hémodynamiques avec expansion volémique ou utilisation de drogues vasoactives), l'antibiothérapie doit être adaptée avec de la céfotaxime et de la gentamicine. L'amoxicilline peut être ajoutée à cette bithérapie en cas de suspicion de listériose.

En cas d'infection maternelle documentée, l'antibiothérapie du nouveau-né doit être adaptée à l'antibiogramme de la bactérie isolée chez la mère. Si la mère présente une infection documentée à *E. coli* (examen cyto bactériologique des urines [ECBU] ou hémoculture), une bithérapie céfotaxime (50 mg/kg/12 h) et aminosides (gentamicine 5–6 mg/kg/24 h) est recommandée. Le céfotaxime doit être privilégié pour *E. coli* en raison d'une concentration minimale efficace plus favorable que l'amoxicilline et un taux de résistance à l'ampicilline entre 40 et 50 %.

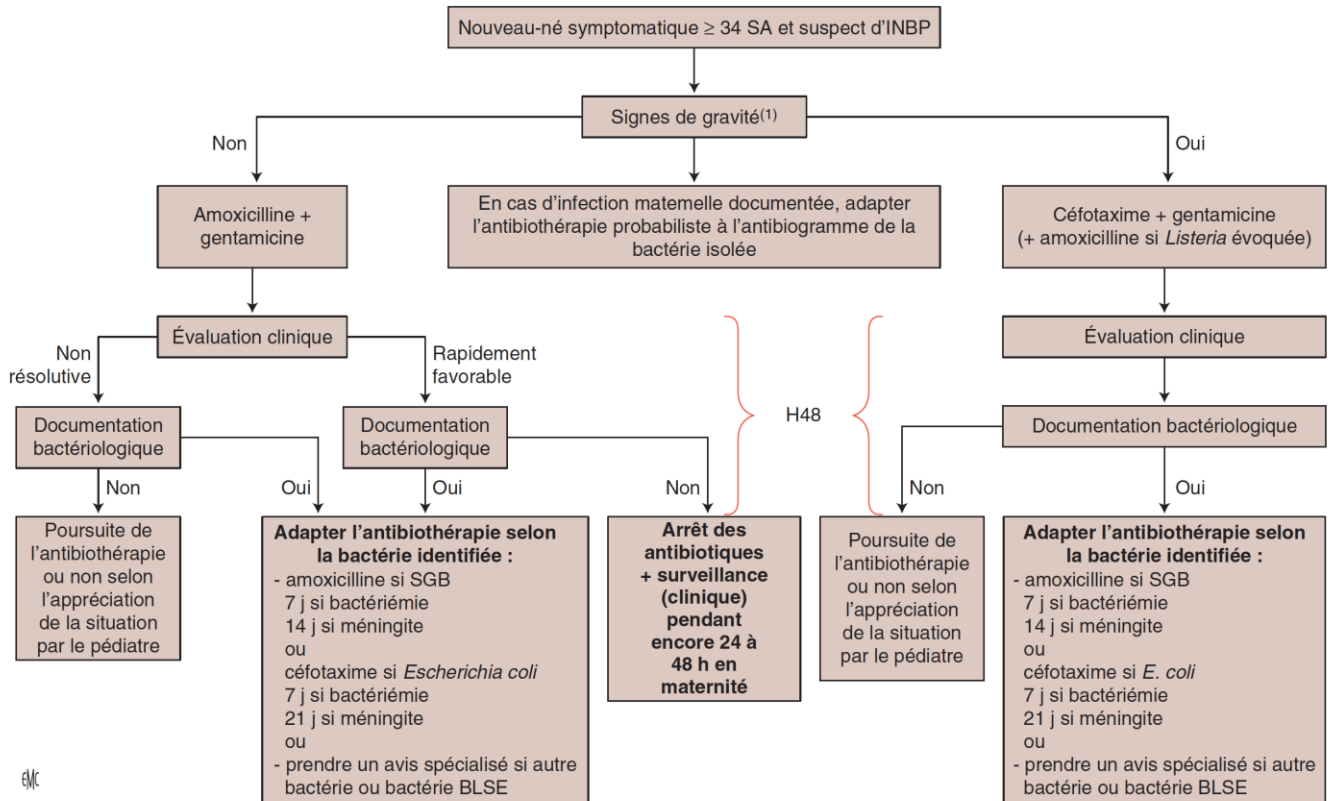
La poursuite ou non de l'antibiothérapie doit être discutée 48 heures après son instauration. L'antibiothérapie doit être arrêtée après 48 heures si l'hémoculture est négative et si l'examen clinique est normal, afin de limiter les effets délétères d'une antibiothérapie excessive chez le nouveau-né. Si l'infection est confirmée, la durée de l'antibiothérapie dépend du type d'infection et de la bactérie identifiée : 7 jours en cas

d'hémoculture positive, 14 jours si méningite à streptocoque du groupe B et 21 jours si méningite à *E. coli* [19].

Il n'existe pas à ce jour de recommandation concernant l'antibiothérapie initiale devant une suspicion d'INBP chez le nouveau-né prématuré. Cette antibiothérapie doit être choisie en tenant compte des bactéries les plus fréquentes, des résistances bactériennes aux antibiotiques et des bactéries éventuellement identifiées chez la mère.

### Prévention des INBP

L'incidence des INBP due au streptocoque du groupe B a nettement diminué depuis la mise en place du dépistage systématique du portage vaginal du streptocoque du groupe B et de l'antibioprophylaxie per partum [26]. Cependant, ces infections ne sont pas éradiquées. Une des raisons est que la colonisation vaginale à SGB chez les femmes enceintes est intermittente : 8 % des femmes avec un dépistage négatif pour le SGB au cours de la grossesse auraient un dépistage positif au moment de l'accouchement [27]. La détection de la présence de SGB au moment de l'accouchement, par des techniques de PCR dont le résultat est disponible en moins d'une heure, semble une piste d'amélioration et est aujourd'hui recommandée par une conférence de consensus européenne [28]. Par ailleurs, l'antibioprophylaxie per partum ne permet pas de prévenir les



**Figure 3.** Choix de l'antibiothérapie initiale en fonction des signes cliniques d'infection néonatale bactérienne précoce (INBP). SA : semaine d'aménorrhée ; SGB : streptocoque du groupe B ; BLSE : bêta-lactamases à spectre élargi. 1. Troubles hémodynamiques (remplissage vasculaire ou administration de drogues vasoactives), signes cliniques neurologiques (troubles de la conscience ou convulsions).

infections néonatales tardives à SGB, dont le taux stagne. Plusieurs vaccins dirigés contre des antigènes capsulaires du SGB sont en cours de développement et pourraient permettre de réduire les infections précoces et tardives à SGB [29].

## ■ Infections néonatales bactériennes tardives

Les INBT surviennent entre le troisième et le 28<sup>e</sup> jour de vie. Elles sont acquises par transmission horizontale, après interaction avec les germes de l'environnement, familial ou hospitalier. Ces infections sont de deux types : les infections communautaires et les infections nosocomiales ou associées aux soins. Dans une étude suisse en population, 22 % des INBT étaient communautaires et 78 % acquises à l'hôpital [30].

### Infections néonatales bactériennes tardives communautaires

Peu de données sont actuellement disponibles sur cette entité clinique particulière. Les INBT communautaires sont peu fréquentes (0,28 pour 1000 naissances vivantes) et regroupent des tableaux cliniques différents : bactériémies, primitives ou secondaires à des infections urinaires, ou plus rarement des méningites [30]. Ces infections sont possibles quel que soit l'âge gestationnel de naissance. Les bactéries les plus souvent isolées sont, comme pour les INBP, *E. coli* et le SGB. Les facteurs de risque identifiés d'INBT communautaires sont le sexe masculin et le petit poids de naissance pour l'âge gestationnel. Les moyens de prévention des infections à SGB (dépistage du portage vaginal, antibioprophyllaxie per partum) ont permis de diminuer de manière importante l'incidence des INBP, mais n'ont eu que très peu, voire pas d'effet sur les INBT à ce germe dont le taux reste stable au cours du temps [31].

### Infections néonatales bactériennes tardives nosocomiales

Malgré l'amélioration de la prise en charge des nouveau-nés prématurés et une meilleure connaissance de ces infections, l'incidence des INBT associées aux soins reste une préoccupation majeure des équipes soignantes en réanimation et soins intensifs néonataux. Dans l'étude de cohorte EPIPAGE-2 qui a inclus des enfants nés prématurés en France en 2011, plus de 20 % des enfants nés avant 32 SA ont présenté au moins un épisode d'INBT [32].

#### Facteurs de risque

Le principal facteur de risque des INBT associées aux soins est le petit âge gestationnel. Le taux d'INBT est inversement proportionnel à l'âge gestationnel : 44 % d'INBT pour les prématurés nés avant 26 SA, 30 % pour ceux nés entre 26 et 28 SA, et 12 % pour les 28–32 SA [32]. Le petit poids de naissance pour l'âge gestationnel ou la cause de prématurité (pathologies hypertensives maternelles ou retard de croissance intra-utérin) sont également associés à un risque d'INBT plus élevé [33]. D'autres facteurs ont également été rapportés comme la nutrition parentérale prolongée, la durée de ventilation mécanique, les gestes invasifs (intubation trachéale, ponctions veineuses) qui sont des portes d'entrée pour les bactéries [1].

La physiologie précise de ces INBT associées aux soins est encore mal connue. La majorité des bactéries impliquées dans les INBT associées aux soins chez les nouveau-nés prématurés, y compris les staphylocoques, sont originaires du tube digestif du nouveau-né [15]. Plusieurs études ont mis en évidence la présence de la bactérie impliquée dans les selles avant ou au moment de la survenue du sepsis [15]. La septicémie survient donc principalement au décours d'une translocation bactérienne à point de départ digestif.

## Diagnostic

L'hémoculture est l'examen de référence et doit être systématiquement prélevée devant une suspicion d'INBT avant la mise en route d'une antibiothérapie. Une grande rigueur dans ce prélèvement est nécessaire en raison du risque élevé de faux positif dans cette population lié aux difficultés de prélèvements et à la nécessité de limiter la quantité de sang prélevée pour limiter la spoliation sanguine.

Des outils d'aide à la décision seraient utiles dans cette population. En effet, le diagnostic d'INBT est particulièrement difficile en raison de la faible spécificité des signes cliniques et biologiques [18]. Des études portant sur l'analyse de la variabilité du rythme cardiaque ou de la motricité grâce à l'intelligence artificielle sont actuellement en cours [34].

## Microbiologie

Les bactéries à Gram positif sont les plus fréquemment identifiées dans les INBT associées aux soins [10]. Les staphylocoques à coagulase négative sont en cause dans environ 50 % des cas. Le staphylocoque doré est identifié dans 10 à 15 % des cas, avec un risque d'infection sévère et parfois extensive, notamment des atteintes pulmonaires, cutanées ou articulaires. Les bactéries à Gram négatif sont retrouvées dans 20 à 30 % des cas, notamment de la famille des *Klebsiell*es, des *Enterobacter* ou encore des *Pseudomonas* [10, 35]. Ces infections à bacilles à Gram négatif ont souvent une présentation clinique plus sévère avec une mortalité associée plus élevée par rapport aux INBT liées aux bactéries à Gram positif [36].

## Conséquences

Les conséquences des INBT sont importantes à court, moyen et long termes. La mortalité associée aux INBT est élevée, environ 10 %. Elles augmentent également les complications pendant le séjour (recours à la ventilation non invasive ou invasive, arrêt de la nutrition entérale, augmentation de la durée de nutrition parentérale, etc.) et augmentent donc la durée de séjour hospitalier [37]. Elles pourraient également avoir des conséquences à plus long terme, en augmentant le risque de survenue de troubles du neurodéveloppement, mais les conséquences précises sur le développement moteur et cognitif sont encore discutées [38, 39].

## Prévention

Le défi aujourd'hui et pour les années à venir est la prévention des INBT. L'hygiène des mains et des surfaces reste fondamentale car la transmission manuportée des germes est une voie importante de contamination [40, 41], par les soignants, mais aussi par les parents [42]. Les incubateurs peuvent être un réservoir important de germes et nécessitent des protocoles de désinfection rigoureux [43].

La stimulation du système immunitaire est également une piste évoquée pour la prévention des INBT. Les hypothèses sont nombreuses mais, pour l'instant, aucune intervention n'a prouvé son efficacité : l'administration de GM-CSF (*granulocyte-macrophage colony stimulating factor*) permet d'augmenter le nombre de polynucléaires neutrophiles circulants mais ne permet pas une diminution du taux d'INBT [44] ; la perfusion d'immunoglobulines polyvalentes ou encore l'administration de lactoferrine n'ont pas permis non plus de diminuer l'incidence de ces infections [45, 46].

Enfin, la préservation du microbiote intestinal et de sa diversité semble importante, notamment par l'utilisation raisonnée des antibiotiques, par la limitation de l'utilisation des antibiotiques à large spectre, et par la réduction de la durée des antibiothérapies. La surveillance de l'épidémiologie des INBT dans les unités de soins et de l'écologie bactérienne, ainsi que la rédaction de protocoles de service pour la prise en charge des INBT, sont ainsi primordiales dans cet objectif de réduction des antibiothérapies néonatales.

## Conclusion

Les infections néonatales sont encore aujourd'hui un enjeu de la période néonatale en raison d'une susceptibilité augmentée

d'origine multifactorielle. Les conséquences des infections néonatales diffèrent selon leur caractère précoce ou tardif et selon le terrain sur lequel elles surviennent, notamment l'âge gestationnel de naissance. La mortalité associée aux infections néonatales reste élevée. Leurs conséquences sont non seulement importantes à court terme, mais également à long terme avec l'association à la survenue de troubles du neurodéveloppement.

Une meilleure compréhension de la physiopathologie précise des infections néonatales semble primordiale pour identifier les groupes les plus à risque, afin de cibler une meilleure prévention pour ces enfants.

## “ Points essentiels

- L'incidence des infections néonatales, leurs caractéristiques et leurs conséquences dépendent de leur caractère précoce ou tardif, du terrain sur lequel elles surviennent, et notamment de l'âge gestationnel de naissance.
- Malgré les progrès importants dans la prise en charge des infections néonatales, la mortalité des infections néonatales reste préoccupante.
- Les germes les plus fréquemment identifiés dans les infections néonatales bactériennes précoces sont le streptocoque du groupe B et *E. coli*.
- L'origine des infections néonatales tardives est multifactorielle. Les mécanismes physiopathologiques sont encore mal compris.

**Déclaration de liens d'intérêts :** les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts en relation avec cet article.

## Références

- [1] Shane AL, Sánchez PJ, Stoll BJ. Neonatal sepsis. *Lancet* 2017; **390**:1770–80.
- [2] Goldstein B, Giroir B, Randolph A, International Consensus Conference on Pediatric Sepsis. International Pediatric Sepsis Consensus Conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatr Crit Care Med J* 2005; **6**:2–8.
- [3] McGovern M, Giannoni E, Kuester H, Turner MA, van den Hoogen A, Bliss JM, et al. Challenges in developing a consensus definition of neonatal sepsis. *Pediatr Res* 2020; **88**(1):14–26.
- [4] Fleischmann-Struzek C, Goldfarb DM, Schlattmann P, Schlapbach LJ, Reinhart K, Kissoon N. The global burden of paediatric and neonatal sepsis: a systematic review. *Lancet Respir Med* 2018; **6**:223–30.
- [5] Prevention of perinatal group B streptococcal disease [Internet]. <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5910a1.htm>.
- [6] Stoll BJ, Hansen NI, Sánchez PJ, Faix RG, Poindexter BB, Van Meurs KP, et al. Early onset neonatal sepsis: the burden of group B streptococcal and *E. coli* disease continues. *Pediatrics* 2011; **127**:817–26.
- [7] Georges S, Lepoutre A, Laurent E, Levy Bruhl D. Le réseau Epibac, une surveillance des infections invasives d'origine communautaire par les biologistes [Internet]. <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/maladies-et-infections-respiratoires/infections-a-pneumocoque/articles/epibac>.
- [8] Gaschignard J, Levy C, Romain O, Cohen R, Bingen E, Aujard Y, et al. Neonatal bacterial meningitis: 444 cases in 7 years. *Pediatr Infect Dis J* 2011; **30**:212–7.
- [9] Pammi M, Weisman LE. Late-onset sepsis in preterm infants: update on strategies for therapy and prevention. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2015; **13**:487–504.
- [10] Stoll BJ, Hansen N, Fanaroff AA, Wright LL, Carlo WA, Ehrenkranz RA, et al. Late-onset sepsis in very low birth weight neonates: the experience of the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics* 2002; **110**(2 Pt 1):285–91.
- [11] Simon AK, Hollander GA, McMichael A. Evolution of the immune system in humans from infancy to old age. *Proc R Soc B Biol Sci* 2015; **282**:20143085.

- [12] Faa G, Gerosa C, Fanni D, Nemolato S, van Eyken P, Fanos V. Factors influencing the development of a personal tailored microbiota in the neonate, with particular emphasis on antibiotic therapy. *J Matern-Fetal Neonatal Med* 2013;**26**(Suppl. 2):35–43.
- [13] Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, et al. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics* 2006;**118**:511–21.
- [14] Thibaudon Baveux C, Stroebel Noguier A, Boulard Mallet I, Djavadzadeh-Amini M, Kacet N, Truffert P, et al. Prevention of early-onset group B streptococcus neonatal diseases. The 2005 experience of the Lille University Health Center. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 2008;**37**:392–9.
- [15] Underwood MA, Sohn K. The microbiota of the extremely preterm infant. *Clin Perinatol* 2017;**44**:407–27.
- [16] Molloy EJ, Wynn JL, Bliss J, Koenig JM, Keij FM, McGovern M, et al. Neonatal sepsis: need for consensus definition, collaboration and core outcomes. *Pediatr Res* 2020;**88**:2–4.
- [17] Brown JV, Meader N, Cleminson J, McGuire W. C-reactive protein for diagnosing late-onset infection in newborn infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2019;(1):CD012126.
- [18] Cantey JB, Bultmann CR. C-reactive protein testing in late-onset neonatal sepsis: hazardous waste. *JAMA Pediatr* 2020;**174**:235–6.
- [19] Label de la Haute Autorité de santé – Prise en charge du nouveau-né à risque d'infection néonatale bactérienne précoce ( $\geq 34$  SA) [Internet]. [https://www.has-sante.fr/jcms/c\\_2803349/fr/label-de-la-has-prise-en-charge-du-nouveau-ne-a-risque-d-infection-neonatale-bacterienne-precoce-34-sa](https://www.has-sante.fr/jcms/c_2803349/fr/label-de-la-has-prise-en-charge-du-nouveau-ne-a-risque-d-infection-neonatale-bacterienne-precoce-34-sa).
- [20] Boyer KM, Gotoff SP. Prevention of early-onset neonatal group B streptococcal disease with selective intrapartum chemoprophylaxis. *N Engl J Med* 1986;**314**:1665–9.
- [21] Weston EJ, Pondo T, Lewis MM, Martell-Cleary P, Morin C, Jewell B, et al. The burden of invasive early-onset neonatal sepsis in the United States, 2005–2008. *Pediatr Infect Dis J* 2011;**30**:937–41.
- [22] Schrag SJ, Farley MM, Petit S, Reingold A, Weston EJ, Pondo T, et al. Epidemiology of invasive early-onset neonatal sepsis, 2005 to 2014. *Pediatrics* 2016;**138**(6).
- [23] Lamont RF, Sobel J, Mazaki-Tovi S, Kusanovic JP, Vaisbuch E, Kim SK, et al. Listeriosis in human pregnancy: a systematic review. *J Perinat Med* 2011;**39**:227–36.
- [24] Charlier C, Perrodeau E, Leclercq A, Cazenave B, Pilmis B, Henry B, et al. Clinical features and prognostic factors of listeriosis: the MONALISA national prospective cohort study. *Lancet Infect Dis* 2017;**17**:510–9.
- [25] Mukhopadhyay S, Puopolo KM. Risk assessment in neonatal early onset sepsis. *Semin Perinatol* 2012;**36**:408–15.
- [26] Russell NJ, Seale AC, O'Sullivan C, Le Doare K, Heath PT, Lawn JE, et al. Risk of early-onset neonatal group B streptococcal disease with maternal colonization worldwide: systematic review and meta-analyses. *Clin Infect Dis* 2017;**65**(Suppl. 2):S152–9.
- [27] Lin F-YC, Weisman LE, Azimi P, Young AE, Chang K, Cielo M, et al. Assessment of intrapartum antibiotic prophylaxis for the prevention of early-onset group B streptococcal disease. *Pediatr Infect Dis J* 2011;**30**:759–63.
- [28] Di Renzo GC, Melin P, Berardi A, Blennow M, Carbonell-Estrany X, Donzelli GP, et al. Intrapartum GBS screening and antibiotic prophylaxis: a European consensus conference. *J Matern-Fetal Neonatal Med* 2015;**28**:766–82.
- [29] Seale AC, Bianchi-Jassir F, Russell NJ, Kohli-Lynch M, Tann CJ, Hall J, et al. Estimates of the burden of group B streptococcal disease worldwide for pregnant women, stillbirths, and children. *Clin Infect Dis* 2017;**65**(Suppl. 2):S200–19.
- [30] Giannoni E, Agyeman PKA, Stocker M, Posfay-Barbe KM, Heininger U, Spycher BD, et al. Neonatal sepsis of early onset, and hospital-acquired and community-acquired late onset: a prospective population-based cohort study. *J Pediatr* 2018;**201**, 106–114.e4.
- [31] Desenclos J-C. BEH infections congénitales et transmises de la mère à l'enfant en France. 2008.
- [32] Letouzey M, Foix-L'Hélias L, Torchin H, Mitha A, Morgan AS, Zeitlin J, et al. Cause of preterm birth and late-onset sepsis in very preterm infants: the EPIPAGE-2 cohort study. *Pediatr Res* 2021.
- [33] Tröger B, Göpel W, Faust K, Müller T, Jorch G, Felderhoff-Müser U, et al. Risk for late-onset blood-culture proven sepsis in very-low-birth weight infants born small for gestational age: a large multicenter study from the German Neonatal Network. *Pediatr Infect Dis J* 2014;**33**:238–43.
- [34] Leon C, Carrault G, Pladys P, Beuchee A. Early detection of late onset sepsis in premature infants using visibility graph analysis of heart rate variability. *IEEE J Biomed Health Inform* 2020.
- [35] Greenberg RG, Kandefer S, Do BT, Smith PB, Stoll BJ, Bell EF, et al. Late-onset sepsis in extremely premature infants: 2000–2011. *Pediatr Infect Dis J* 2017;**36**:774–9.
- [36] Makhoul IR, Sujov P, Smolkin T, Lusky A, Reichman B, Israel Neonatal Network. Pathogen-specific early mortality in very low birth weight infants with late-onset sepsis: a national survey. *Clin Infect Dis* 2005;**40**:218–24.
- [37] Downey LC, Smith PB, Benjamin DK. Risk factors and prevention of late-onset sepsis in premature infants. *Early Hum Dev* 2010;**86**(Suppl. 1):7–12.
- [38] Mitha A, Foix-L'Hélias L, Arnaud C, Marret S, Vieux R, Aujard Y, et al. Neonatal infection and 5-year neurodevelopmental outcome of very preterm infants. *Pediatrics* 2013;**132**:e372–80.
- [39] Bright HR, Babata K, Allred EN, Erdei C, Kuban KC, Joseph RM, et al. Neurocognitive outcomes at 10 years of age in extremely preterm newborns with late-onset bacteremia. *J Pediatr* 2017;**187**, 43–49. e1.
- [40] Hira V, Sluijter M, Goessens WH, Ott A, de Groot R, Hermans PW, et al. Coagulase-negative staphylococcal skin carriage among neonatal intensive care unit personnel: from population to infection. *J Clin Microbiol* 2010;**48**:3876–81.
- [41] Butin M, Dumont Y, Monteix A, Raphard A, Roques C, Martins Simoes P, et al. Sources and reservoirs of *Staphylococcus capitis* NRCS-A inside a NICU. *Antimicrob Resist Infect Control* 2019;**8**:157.
- [42] Milstone AM, Voskertchian A, Koontz DW, Khamash DF, Ross T, Aucott SW, et al. Effect of treating parents colonized with *Staphylococcus aureus* on transmission to neonates in the intensive care unit: a randomized clinical trial. *JAMA* 2020;**323**:319–28.
- [43] Cadot L, Bruguière H, Jumas-Bilak E, Didelot M-N, Masnou A, de Barry G, et al. Extended spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* outbreak reveals incubators as pathogen reservoir in neonatal care center. *Eur J Pediatr* 2019;**178**:505–13.
- [44] Carr R, Brocklehurst P, Doré CJ, Modi N. Granulocyte-macrophage colony stimulating factor administered as prophylaxis for reduction of sepsis in extremely preterm, small for gestational age neonates (the PROGRAMS trial): a single-blind, multicentre, randomised controlled trial. *Lancet* 2009;**373**:226–33.
- [45] ELFIN trial investigators group. Enteral lactoferrin supplementation for very preterm infants: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2019;**393**:423–33.
- [46] Ohlsson A, Lacy JB. Intravenous immunoglobulin for preventing infection in preterm and/or low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2013;(7):CD000361.

## Pour en savoir plus

Aujard Y. *Infections néonatales – Bactériennes, mycosiques, parasitaires et virales*. Paris: Masson; 2010.

Recommandations de bonne pratique HAS/SFP/SFN 2017 : prise en charge du nouveau-né à risque d'infection néonatale bactérienne précoce ( $\geq 34$  SA). [https://www.has-sante.fr/jcms/c\\_2803349/fr/label-de-la-has-prise-en-charge-du-nouveau-ne-a-risque-d-infection-neonatale-bacterienne-precoce-34-sa](https://www.has-sante.fr/jcms/c_2803349/fr/label-de-la-has-prise-en-charge-du-nouveau-ne-a-risque-d-infection-neonatale-bacterienne-precoce-34-sa).

Shane A, Sanchez P, Stoll B. Neonatal sepsis. *Lancet* 2017;**390**:1770–80.

M. Letouzey, Docteur en médecine (mathilde.letouzey@gmail.com).

Service de médecine et de réanimation néonatales, CHI Poissy-Saint-Germain-en-Laye, 10, rue du Champ-Gaillard, 78300 Poissy, France.

Équipe de recherche en épidémiologie obstétricale, périnatale et pédiatrique (EPOPé), Inserm, INRA, Centre de recherche en épidémiologie et statistiques (CRESS UMR1153), Université de Paris, 75004 Paris, France.

P. Boileau, Docteur en médecine, PhD.

Service de médecine et de réanimation néonatales, CHI Poissy-Saint-Germain-en-Laye, 10, rue du Champ-Gaillard, 78300 Poissy, France.

UFR Simone-Veil-Santé, Université Paris-Saclay, UVSQ, Montigny-le-Bretonneux, France.

L. Foix-L'Hélias, Docteur en médecine, PhD.

Équipe de recherche en épidémiologie obstétricale, périnatale et pédiatrique (EPOPé), Inserm, INRA, Centre de recherche en épidémiologie et statistiques (CRESS UMR1153), Université de Paris, 75004 Paris, France.

Service de néonatalogie, Hôpital Armand-Trousseau, AP-HP, 26, rue du Docteur-Arnold-Netter, 75012 Paris, France.  
Sorbonne Université, Paris, France.

Toute référence à cet article doit porter la mention : Letouzey M, Boileau P, Foix-L'Hélias L. Infections néonatales bactériennes précoces et tardives. EMC - Pédiatrie 2021;41(3):1-8 [Article 4-002-N-60].