

UNIVERSITÉ DE NANTES

FACULTÉ DE MÉDECINE

Année : 2018

N° 2018-191

THÈSE

pour le

DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

par
François ROUX

Présentée et soutenue publiquement le 26 octobre 2018

**ANALYSE DES PARAMÈTRES CACHÉS DE LA FORMULE SANGUINE
COMME BIOMARQUEURS POUR LA PRÉDICTION DES INFECTIONS
ACQUISES A L'HÔPITAL CHEZ LES TRAUMATISÉS SÉVÈRES**

Président : Monsieur le Professeur Karim ASEHNOUNE

Directeur de thèse : Monsieur le Professeur Antoine ROQUILLY

REMERCIEMENTS

Au Professeur Asehnoune, pour avoir accepté de présider ce jury, pour votre appui en vue de mon inter-CHU.

Au Professeur Rozec, pour avoir accepté de faire partie de ce jury, d'avoir cru en moi.

A Raphaël, pour avoir accepté de faire partie de ce jury, pour le nom de ma thèse, ton aide, tes barbeuc'.

A Antoine, merci pour tout, le sujet, les corrections, le soutien. J'ai énormément appris à ton contact et continuerai encore d'apprendre avec joie.

A Marion, pour le soutien dans ces eaux troubles que représente l'hématologie pour moi, pour ta bonne humeur permanente.

A l'équipe de l'hôpital Nord, le Pr Rozec, Dr Lepoivre, Dr Nicolet, Dr Groleau, Dr Desanlis et Camille pour votre passion que vous avez su me transmettre, pour votre accueil, pour votre pédagogie.

A mes parents, pour votre soutien et votre amour depuis le commencement.

A mes frères adorés, qui m'ont fait grandir, devenir un oncle et me remplissent de fierté tous les jours.

A mes grands-parents, avec qui j'ai passé trop peu de temps et devant qui j'aurai aimé présenter ce travail.

A ma famille proche et lointaine, aux rennais et aux ardéchois.

A tous les génies de l'anesthésie nantaise, Alex', Bapt', Dimitri, Max', Marwan, Paul, Gab', Remi, et tous les autres avec qui j'ai passé 5 merveilleuses années.

A toute l'équipe du CHU de Montpellier, Pr Colson, Dr Gaudard, Géraldine merci pour m'avoir accueilli dans votre équipe, pour m'avoir fait progresser et découvrir de nouveaux horizons. Merci aux co-internes Ahmad, Béber, Benj', Jean, JB, Blandine, et les autres pour avoir introduit les staffs.

A tous les collègues de tout horizon que j'ai pu croiser tout au long de mon internat.

A Cécile, pour ton amour, ta joie, pour nos rires et nos larmes, pour nos voyages, et notre vie ensemble qui ne fait que commencer.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	5
DESCRIPTION DE LA RECHERCHE	6
1. Contexte	6
2. Méthode d'analyse de la NFS par l'hématimètre Sysmex® XN-10	8
MATÉRIEL ET MÉTHODES	10
1. Typologie de l'étude	10
2. Considérations éthiques	10
2.1. Comité d'éthique	10
2.2. Recueil de la non opposition.....	11
3. Population étudiée	11
3.1. Critères d'inclusion	11
3.2. Critères d'exclusion.....	11
4. Méthodologie et recueil des données	12
4.1. Déroulement de l'étude	12
4.2. Données épidémiologiques.....	13
4.3. Analyse des NFS	13
5. Objectifs et critères de jugement	14
5.1. Critère d'évaluation principal.....	14
5.2. Objectifs et critères d'évaluation secondaires	15
6. Analyse statistique	15
6.1. Méthode statistique.....	15
6.2. Justification statistique du nombre d'inclusions.....	17
RÉSULTATS	18
CONCLUSION	28
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	29
ANNEXE A :	33
ANNEXE B :	35
ANNEXE C :	35
RÉSUMÉ	39

INTRODUCTION

Les infections nosocomiales sont un enjeu majeur de santé publique en termes de mortalité, d'allongement de la durée d'hospitalisation et de surcoût. Les patients de réanimation sont particulièrement exposés par leur vulnérabilité et par leurs nombreuses portes d'entrée aux bactéries commensales (plaies cutanées, inhalation). Les pneumonies acquises à l'hôpital sont les infections nosocomiales les plus fréquentes, et la principale cause de prescription d'antibiotiques à l'hôpital.

Le diagnostic des pneumonies en réanimation n'est pas aisé. Actuellement le diagnostic de pneumonie est posé sur l'association de signes cliniques, biologiques et radiologiques. Lorsque l'on suit ces critères, il a été démontré dans des séries autopsiques que les erreurs de diagnostic étaient très fréquentes, atteignant plus d'un patient sur trois (1). Les faux positifs (surdiagnostics) sont responsables d'une surutilisation d'antibiotiques, à l'origine d'émergence de bactéries résistantes (2), de surcoûts (3) et de complications liées aux antibiotiques (allergies, diarrhées). Les faux négatifs (sous-diagnostics) engendrent un retard de traitement associé à une augmentation de la mortalité (4). Aucun critère pronostique n'est actuellement recommandé (5), et il n'est pas possible de prédire la survenue d'une pneumonie acquise à l'hôpital.

Certaines analyses ont été proposées, comme l'expression de l'HLA-DR monocytaire (6), mais elles sont toutefois peu utilisables en routine, car l'infrastructure nécessaire à leur mesure (cytométrie en flux), comme les conditions d'acheminement des prélèvements et les matériels spécifiques, sont aussi des freins importants à leurs utilisations quotidiennes (7).

Nous avons fait l'hypothèse que la mesure automatisée de paramètres d'activation leucocytaire pourrait permettre de prédire la survenue d'une pneumonie chez les patients traumatisés hospitalisés en réanimation. L'hématimètre Sysmex® XN-10 en plus des paramètres standards de l'hémogramme, permet une analyse approfondie de la numération formule sanguine (NFS), en étudiant de façon automatisée les paramètres d'activation cellulaires des leucocytes, ainsi que le contenu en hémoglobine des réticulocytes. Ces paramètres sont systématiquement mesurés par l'automate au cours des analyses de NFS réalisées en routine pour les patients traumatisés sévères, mais leurs résultats ne sont actuellement pas utilisés en pratique courante.

DESCRIPTION DE LA RECHERCHE

1. Contexte

En réanimation les patients sont particulièrement exposés aux infections nosocomiales. Une étude dirigée par l'Institut de veille sanitaire en 2014 (8) montre un taux d'incidence cumulé de 11,46/100 patients pour les pneumonies, 3,73/100 pour les bactériémies et de 0,71/100 pour les infections liées aux cathéters. Parmi ces mêmes patients, ceux admis pour traumatisme et une chirurgie urgente ont un risque d'infection encore plus élevé (9).

Ces infections augmentent la morbidité des patients traumatisés (10) et entraînent des surcoûts non négligeables pour la collectivité (plus de 8 milliards USD dans une enquête réalisée en 2006 aux USA (3)). La surmortalité attribuée aux pneumonies acquises à l'hôpital reste débattue (11) mais l'amélioration de leur prise en charge est un enjeu de santé publique majeur.

Le diagnostic différentiel entre les pneumonies acquises sous ventilation et un syndrome de réponse inflammatoire systémique (SRIS) d'origine non-infectieuse est difficile (12) et il existe des discordances importantes entre les cliniciens (13, 14). Des outils diagnostiques comme le Clinical Pulmonary Infection Score (CPIS, cf annexe B) a par exemple une spécificité et une sensibilité de 65% et 64% respectivement, ce qui donne un taux de faux négatif (sous-diagnostic) de 16.8%. Ces derniers (sous-diagnostics) engendrent un retard de traitement associé à une augmentation de la mortalité (15) (11). Cette difficulté engendre aussi des faux positifs (surdiagnostics), est à l'origine de surcoûts et de complications liées aux antibiotiques (allergies, diarrhées), et la surconsommation d'antibiotiques non-justifiés (16) a favorisé l'émergence de bactéries résistantes sur le territoire français entre 2009 et 2013 (2).

Dans une série d'analyses post-mortem de patients décédés en réanimation, l'examen en anatomo-pathologie montre que finalement peu de pneumonies nosocomiales diagnostiquées montrent réellement des signes tissulaires d'infections (1, 17). Le diagnostic des infections pose donc problème et les sociétés savantes soulignent la nécessité de réaliser des études visant à améliorer le diagnostic et la prédiction des complications infectieuses en réanimation (18, 19).

En réanimation, l'un des principaux problèmes liés au diagnostic de pneumonie bactérienne est la capacité à discerner la simple colonisation bactérienne qui ne nécessite pas de traitement antibiotique, d'une infection bactérienne nécessitant un traitement. Chez les patients traumatisés qui développent un SIRS précoce d'origine non septique, il est également cliniquement difficile de différencier un SIRS post-traumatique d'une infection acquise à l'hôpital.

En effet, les traumatismes sévères génèrent une réponse complexe de l'immunité innée ou adaptative en réponse à la libération par les tissus lésés de signaux de dangers (20). À la phase initiale (<48h) on observe un SIRS avec des taux élevés de cytokines pro-inflammatoires, pouvant causer des défaillances d'organes, puis un état inflammatoire chronique est observé à l'origine d'une immunosuppression chronique (21). Les biomarqueurs proposés pour le diagnostic d'infections (PCT, CRP) sont élevés lors des états inflammatoires, telles les chirurgies lourdes, les chocs cardiogéniques et les traumatismes sévères (22, 23, 24). L'apport du dosage de la PCT pour le pronostic et le diagnostic d'infection est limité chez les patients traumatisés (25), (26), et leur dosage n'est pas recommandé en routine pour le diagnostic des pneumonies en réanimation par les sociétés savantes (SFAR, SRLF) (5).

La recherche de nouveaux biomarqueurs permet d'améliorer le diagnostic des pneumonies acquises à l'hôpital. Le monitoring de la réponse immunitaire, notamment par les paramètres de la formule sanguine, qui s'active dès les premières minutes de l'infection mais pas au cours d'une simple colonisation bactérienne, pourrait permettre d'atteindre cet objectif. Les numérations des éléments figurés du sang sont effectuées de façon quotidienne et pluriquotidienne dans le suivi des patients traumatisés sévères, afin de dépister une récurrence hémorragique et d'assurer un suivi des leucocytes circulants. Le rapport neutrophiles/lymphocytes est un biomarqueur utile dans le diagnostic de sepsis (28), est associé à une surmortalité en réanimation chirurgicale (27), et semble être lié à l'augmentation de l'incidence des infections acquises en réanimation (29).

Nous avons fait l'hypothèse que la mesure automatisée des paramètres d'activation des leucocytes pourrait permettre de prédire et de diagnostiquer la survenue d'une pneumonie chez les patients traumatisés hospitalisés en réanimation.

2. Méthode d'analyse de la NFS par l'hématimètre Sysmex® XN-10

L'analyse approfondie des leucocytes circulants chez les patients de réanimation en état de SRIS semble prometteuse pour prédire l'état septique comme l'ont montré plusieurs études, avec seulement quelques paramètres de la NFS (Taux de granulocytes immatures (30, 31)). L'exploration plus poussée de la formule sanguine est une piste d'avenir pour le diagnostic des infections en réanimation, notamment parce qu'elle est automatisée, et peut être aisément réalisée plusieurs fois par jour.

En plus des paramètres classiques de la NFS habituelle, l'automate Sysmex® XN-10 (disponible au CHU de Nantes) étudie par impédance électrique et diffraction lumineuse, associées à une technique de fluorescence (marquage spécifique des acides nucléiques), près de 56 paramètres supplémentaires sur les cellules sanguines (érythrocytes, plaquettes et leucocytes, liste complète des paramètres en annexe). Ces 55 paramètres sont dits « cachés » car ils ne sont habituellement pas mis à disposition des utilisateurs. Ces paramètres complémentaires permettent l'étude de la complexité cellulaire des leucocytes comme par exemple, l'analyse des granulations des neutrophiles, leur activation, ou de déterminer la quantité de lymphocytes sécrétant des anticorps. Lors d'une infection, ces paramètres sont amenés à varier, comme le contenu en hémoglobine des érythrocytes, l'immaturation des granulocytes et la répartition des neutrophiles activés ou non.

Ces analyses sont réalisées en routine dans le laboratoire d'hématologie dans le même temps que l'analyse de la NFS : l'automate donne les résultats standards (taux d'hémoglobine, pourcentage des populations leucocytaires, etc.) et les paramètres supplémentaires, dits « cachés », ne sont pas communiqués aux cliniciens car encore non validés en pratique courante. Une précédente étude (32) par Nierhaus *et al.* a montré qu'un score basé sur certains de ces paramètres avait une haute valeur prédictive positive et négative dans les 48 premières heures du SIRS en réanimation (VPP : 79.7%, et VPN 74.5%).

Les formules sanguines chez le traumatisé sévère sont prescrites presque quotidiennement, elles pourraient ainsi constituer un signal d'alarme puissant d'infections nosocomiales. Enfin une précédente étude a montré que certains paramètres étaient statistiquement différents lorsque l'infection était bactérienne ou virale chez l'enfant fébrile admis aux urgences, notamment trois paramètres : Neutr-RI, Delta-He et AS-Lymph (33).

Nous avons donc réalisé une étude monocentrique prospective observationnelle en double aveugle visant à créer un score basé sur les paramètres cachés de l'automate Sysmex® pour le diagnostic précoce des pneumonies acquises à l'hôpital chez les patients traumatisés.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Typologie de l'étude

Cette étude présente les caractéristiques suivantes : **monocentrique, prospective, observationnelle, en double aveugle.**

2. Considérations éthiques

2.1 Comité d'éthique

Il s'agissait d'une étude réalisée dans le cadre du suivi de cohorte ATLANREA. Les démarches d'information et d'obtention de la non opposition étaient donc conformes à la démarche prévue dans cette cohorte.

L'investigateur s'était engagé à informer le patient de façon claire et juste du protocole (note d'information en annexe). Il remettait au patient un exemplaire de la note d'information. Celle-ci précisait la possibilité pour le patient de refuser de participer à la recherche et de se retirer à tout moment. En l'absence de possibilité d'information du patient (décès, séquelles neurologiques etc...), cette information était délivrée aux proches des patients et l'obtention de leur non opposition était nécessaire avant le recueil des données dans la base informatisée. Le consentement de participation à cette cohorte était recueilli auprès du patient dès que son état le permettait et il pouvait alors, s'il le souhaitait, se retirer de l'étude.

L'étude a reçu un avis favorable de la part du GROUPE NANTAIS d'éthique en santé, sollicité pour un avis consultatif. La conservation des données personnelles s'effectuait selon les recommandations de la CNIL (Commission Nationale Informatique et Liberté)

2.2 Recueil de la non opposition

Le patient pris en charge est informé, reçoit la note d'information et donne son accord oral pour participer à la recherche (et ses parents en cas de patient mineurs, ou les proches si le patient n'est pas en capacité de recevoir l'information et de donner son consentement). Nous avons inclus tous les patients traumatisés sévères ou cérébrolésés, adultes, ayant nécessité une ventilation mécanique d'au moins 24 heures, hospitalisés dans la réanimation chirurgicale de l'Hôtel Dieu du CHU de Nantes et ayant été inclus dans la cohorte ATLANREA

L'investigateur notait dans le dossier du patient que celui-ci avait bien été informé oralement, avait reçu la note d'information et avait donné son accord oral pour participer à la recherche.

3. Population étudiée

3.1. Critères d'inclusion

Les critères d'inclusion étaient une hospitalisation en réanimation de plus de 48 heures avec un âge compris entre 15 et 75 ans pour les patients atteints d'un traumatisme grave avec une ventilation mécanique de plus de 24 heures et un Injury Severity Score supérieur ou égal à 16 et/ou atteints de lésions cérébrales aiguës avec une ventilation mécanique supérieure à 24 heures et un Score de Glasgow inférieur à 12 avant intubation, enfin un suivi réalisé de NFS de 5 jours consécutifs.

3.2. Critères d'exclusion

Les patients immunodéprimés, sous traitement immunosuppresseur ou aux antécédents d'hémopathie évolutive et de maladie auto-immune étaient exclus de l'étude. Nous avons aussi exclu les mesures dont la date d'examen est survenue après la date d'infection du patient ainsi que les mesures examinées à la même date, la mesure retenue étant la plus récente. Pour plus d'homogénéité dans la cohorte, les patients déclarant une infection autre que respiratoire ont également été exclus du modèle.

4. Méthodologie et recueil des données

4.1 Déroulement de l'étude

Toutes les informations concernant les patients ont déjà été recueillies à partir de la base de données ATLANREA.

L'automate Sysmex® mesurait en routine les paramètres dits « cachés », mais ces valeurs ne sont habituellement pas fournies au clinicien. Dans le cadre de cette étude, les 49 paramètres « cachés » de l'automate Sysmex® sont conservés pour être associés au suivi clinique réalisé dans le cadre du suivi de cohorte ATLANREA. La durée de participation du patient est de 90 jours.

Le screening est assuré par les médecins anesthésistes-réanimateurs prenant en charge les patients à la phase initiale. Ils sélectionnent dans la cohorte ATLANREA les patients présentant les critères d'inclusion dans l'étude pour lesquels les paramètres « cachés » de l'automate Sysmex® seront analysés. Ils en informent le laboratoire d'hématologie qui conserve les paramètres cachés de la formule sanguine (données *en insu* du patient et du médecin réanimateur) à chaque fois que le médecin réanimateur prescrit une NFS pour la prise en charge habituelle du patient.

Les cliniciens sont maintenus en aveugle : seuls le biologiste et le technicien qui réalisent la mesure, et l'attaché de recherche clinique de l'étude qui saisit sa valeur dans le CRF y ont eu accès. La prise en charge médicale des patients n'était donc pas modifiée par la participation à l'étude.

Les patients qui n'avaient pas déclaré d'infection acquise en réanimation étaient le contrôle des patients ayant acquis une pneumonie en réanimation. Le suivi des formules s'effectuait de façon quasiment quotidienne, la fréquence étant laissée à l'initiative du clinicien. Elle se poursuivait jusqu'au 15^{ème} jour d'hospitalisation en réanimation ou jusqu'à la sortie du service si la durée était inférieure à 15 jours. L'analyse statistique pour la création du modèle, quant à elle, portait sur les 5 jours précédents l'infection.

3.3. Données épidémiologiques

Nous avons recueilli les données démographiques suivantes : âge, sexe, score de gravité à l'admission (SOFA, ISS, IGS II, détails des scores en annexe A) immunodépression connue et antécédents d'hémopathie et/ou maladie auto-immune. Dans le cadre de la cohorte ATLANREA nous recueillons les infections liées aux soins, déclarées en réanimation, les défaillances d'organes, leurs sévérités et leurs durées. Le devenir des patients est renseigné par le score GOS-E (Glasgow Outcome Scale Extended) pour les patients recontactés par téléphone ou revus lors d'une consultation dédiée.

Un recueil sur les réactivations virales (virus CMV, HSV) était en cours au moment de l'étude, nous avons renseigné les résultats des sérologies et des PCR.

3.4. Analyse des NFS

Les formules sanguines sont récupérées à partir des examens prescrits en routine dans le service de réanimation chirurgicale sans aucune obligation particulière liée à l'étude : la fréquence de ces examens a été laissée à la libre appréciation du médecin de réanimation, dans le cadre d'une recherche non interventionnelle.

En plus des paramètres habituels de la NFS, 55 paramètres de la formule sanguine sont mesurés et conservés sous forme électronique. Ces résultats n'étaient pas accessibles aux cliniciens qui prennent en charge les patients. La procédure est totalement automatisée, avec une capacité de traitement élevée (900 échantillons/jour), cette analyse n'en retardait pas le rendu des résultats des paramètres classiques de la NFS.

Les mesures sont effectuées sur différents canaux spécifiques de l'automate pour chaque lignée (érythrocytes, plaquettes, et leucocytes). Les cellules sont dirigées à travers un orifice traversé par un courant continu. Lors de leur passage elles engendrent une variation de ce courant qui est proportionnelle à leur volume (principe de Coulter), technique d'impédance permettant le comptage des éléments figurés du sang. De plus, un faisceau laser, dirigé sur les cellules, est diffracté lors de leurs passages. La diffraction engendrée génère deux informations : l'une concernant le volume de la cellule (diffraction petit angle) et l'autre sur la complexité de la structure (diffraction angle élevé).

Enfin pour la fluorocytométrie, un agent tensio-actif induit une légère perforation des cellules, un fluorochrome spécifique se fixe alors sur les acides nucléiques. Elles sont donc ensuite analysées par diffraction frontale de la lumière (volume), diffraction latérale (complexité), et par signal de fluorescence (contenu en ADR/ARN). Chaque sous-population sanguine peut être donc représentée en fonction du volume, de la complexité cellulaire et de la fluorescence, sous forme de « nuages » cellulaires chacun correspondant à un sous-type de population (lymphocytes, neutrophiles, basophiles, réticulocytes).

Les paramètres analysés par l'automate Sysmex® concernent les trois lignées hématopoïétiques. Le détail des paramètres analysés dans le cadre de l'étude est fourni en annexe.

Les résultats ont été conservés en double aveugle pour le clinicien et pour le laboratoire, avec une séparation des données cliniques et hématologiques jusqu'à l'analyse des résultats.

5. Objectifs et critères de jugement

5.1 Critère d'évaluation principal

Le critère principal est la survenue d'une pneumonie acquise en réanimation définie par l'association de 2 signes cliniques parmi (température corporelle $>38.5^{\circ}\text{C}$ ou $<36^{\circ}\text{C}$; numération leucocytaire $\geq 12\text{G/L}$ ou $\leq 4\text{G/L}$ et aspiration endotrachéale purulente) avec un foyer radiologique et un prélèvement bactériologique pulmonaire semi-quantitatif survenue 48h ou plus après l'admission en réanimation. Elle est qualifiée comme sévère si elle aboutit à une sédation du patient de plus de 12h, ou si le rapport $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ rattaché à la pneumonie est inférieur ou égal à 150 mmHg.

5.2 Objectifs et critères d'évaluation secondaires

Les objectifs secondaires sont de discriminer la gravité d'une infection respiratoire par la formule sanguine et d'étudier les corrélations des différentes définitions de pneumonies (définitions clinico-radiologiques) et définitions épidémiologiques selon le CDC.

Les critères d'évaluation secondaires sont la survenue d'une réactivation virale (PCR Herpès simplex virus et CytomégaloVirus dans le sang ou les aspirations trachéales), la survenue d'une défaillance d'organe (hémodynamique, rénale, pulmonaire) liée à la pneumonie acquise à l'hôpital, la durée de la ventilation invasive en jours et la mortalité intra-hospitalière et à J90. Enfin Les définitions de pneumonies selon le CDC (Center of Disease Control) sont la VAC (Ventilator-Associated Complication) : Augmentation de 20% de la FiO₂ et/ou de la PEEP de plus de 2 cmH₂O après une période de stabilité de 2 jours. L'IVAC (Infection-Related Ventilator-Associated Complication) définie par les conditions de la VAC réunies avec une température corporelle >38°C ou <36°C et numération leucocytaire $\geq 12G/L$ ou $\leq 4G/L$ et traitement antibiotique instauré. Enfin la PVAP (Possible VentilaTor Associated Pneumonia) définie par une IVAC avec preuve bactériologique définie par un prélèvement pulmonaire semi-quantitatif purulent (≥ 25 neutrophiles et ≤ 10 cellules épithéliales par millimètre cube) ou culture bactérienne positive.

6. Analyse statistique

6.1. Méthode statistique

L'analyse finale est conduite selon le principe de l'intention de traiter (ITT) et sera réalisée dès que l'étude aura été arrêtée. Une cohorte d'apprentissage de 100 patients a été créée pour déterminer les caractéristiques prédictives des paramètres cachés et déterminer le meilleur seuil diagnostique de chacun des paramètres ayant une association au critère principal en analyse univariée. Un score biologique sera ensuite créé par analyse multivariée.

Des analyses descriptives seront réalisées pour l'ensemble des variables recueillies et des estimations ponctuelles et par intervalle de confiance à 95% seront effectuées pour les variables qualitatives et quantitatives. En cas de non normalité des distributions (attestée par un test d'Agostino et Pearson), les médianes et intervalles interquartiles des variables correspondantes seront fournis.

Une analyse univariée sera réalisée pour déterminer les paramètres potentiellement associés au diagnostic de pneumonie bactérienne. Nous construirons ensuite une courbe ROC pour déterminer les meilleurs seuils diagnostiques des paramètres « cachés » permettant la prédiction de pneumonie dont le diagnostic sera celui du clinicien ayant pris en charge le patient. Les meilleurs seuils sélectionnés sur les données des différentes courbes ROC (jugement clinique et score de Youden) seront inclus dans une analyse multivariée visant à créer un score diagnostique. Le recueil des données a été effectué sur le logiciel Excel®, les analyses ont été réalisées sur Graphpad®, Prism®.

L'évènement d'intérêt, la survenue d'une infection pulmonaire, a été analysée en tant que donnée de survie. La construction d'un score pronostique a été réalisée en utilisant un modèle de Cox. Afin de prendre en compte les mesures répétées de chaque patient et ainsi d'estimer une prédiction dynamique, une analyse par *landmark* a été réalisée. Ainsi, à J0 (première NFS mesurée au laboratoire d'hématologie), l'analyse est effectuée sur les données à J0 pour prédire les infections survenues dans les 5 jours. Puis à J1, la même analyse a été réalisée uniquement sur les patients qui ont une durée de séjour d'une journée (exclusion des patients sortis dans les 24h ou infection dans les 24 h). De même pour les autres jours jusqu'à J4. Toutes ces données ont été analysées dans un super modèle. La calibration a été évaluée par l'AUC à 3 jours pour chaque temps de mesure. Les critères secondaires seront analysés selon la même stratégie. Aucune analyse intermédiaire n'est prévue. Le degré de signification prévu est fixé à 5%. Pour l'analyse multivariée, les paramètres inclus ont un $p < 0,15$, puis les variables sont sélectionnées pour retenir un modèle final avec des paramètres dont le p est inférieur à 0,10.

6.2. Justification statistique du nombre d'inclusions

Il s'agit d'un suivi de cohorte dont le but est de corréler la variation des paramètres sanguins analysés avec le diagnostic d'infection nosocomiale. En raison des différences d'incidence entre les complications et de la puissance des effets des prises en charge étudiées, le nombre de sujets ne peut pas être calculé de manière précise *a priori*.

Dans la littérature de réanimation, les études évaluant de nouveaux outils diagnostiques incluent fréquemment 100 patients (20, 23). Étant donné le caractère non invasif de la méthode testée avec des résultats conservés en aveugle, l'innocuité de l'étude est assurée et il a été décidé d'inclure 100 patients pour la cohorte exploratoire.

RÉSULTATS

1. Données de la cohorte

L'étude s'est déroulée de mai 2016 à avril 2017 en incluant 105 patients hospitalisés en réanimation chirurgicale du CHU de Nantes. Au total, 16 patients ont été exclus secondairement de l'étude pour les raisons suivantes : 1 retrait de consentement à l'utilisation des données personnelles, 2 erreurs d'inclusion de patients non traumatisés, 5 patients dont les formules étaient inutilisables par un défaut technique, et enfin 8 patients n'ont pu être analysés car les prélèvements étaient en quantité insuffisante.

L'analyse a donc porté sur 78 patients dont 33 (42%) patients ont développé une infection en réanimation, 11 patients ont développé des infections autres et n'ont pas été intégrés dans l'analyse finale pour plus d'homogénéité de la cohorte (4 infections du site opératoire, 4 infections urinaires, 2 bactériémies, 1 infection liée au cathéter).

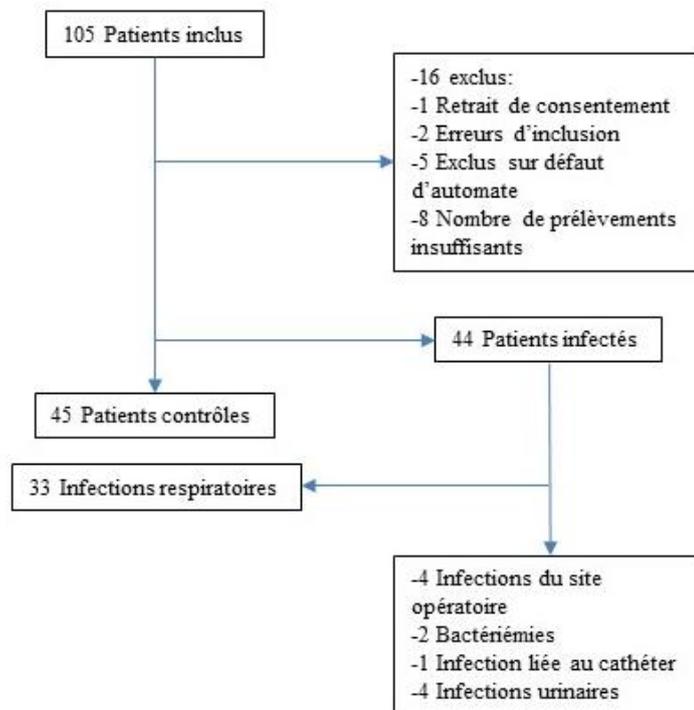


Figure 1 : Flow chart de l'étude

La comparaison des patients avec, et sans pneumonie, est fournie dans le tableau 1. Les patients qui ont présenté une pneumonie acquise en réanimation avaient un score de gravité des lésions traumatiques supérieur à ceux qui n'ont pas développé d'infection. Ils avaient également une durée plus longue de ventilation mécanique et un plus grand nombre de jours sous catécholamines.

Tableau 1 : Caractéristique de la cohorte

	Infections (n=33)	Contrôle (n=45)	p
Age (IQR 25- 75)	44 (28-62.5)	49 (26.5-62)	0.753 ¹
Sexe n (Femmes/hommes)	6 (18%) / 27(82%)	12(26%) / 33(74%)	0.379 ³
IGS II (CI 95%)	51.2 (46.5-56)	45.6 (39.6-51.7)	0.142 ²
SOFA (CI 95%)	9.45 (8.42-10.5)	8.51 (7.26-9.77)	0.255 ²
ISS (IQR 25- 75)	29 (25-38)	25 (19.8-29)	0.005¹
Durée VMI (IQR 25- 75)	12.5 (9-21.8)	5 (2-10)	<0,001¹
Patient transfusé n (%)	25 (75%)	27 (60%)	0.1447 ³
Durée amines (jours) (IQR 25-75)	3 (2-7.5)	2 (1-3.75)	0,001¹
Mortalité réanimation n (%)	5 (15%)	8 (17,7%)	0.758 ³
Mortalité J+90 n (%)	5 (15%)	10 (22.2%)	0.433 ³
GOS-E (IQR 25- 75)	4 (1-5)	5(1-7)	0,133 ¹

SOFA : Sepsis-related Organ Failure Assessment à l'admission,

IGS II : Index de Gravité Simplifié II à l'admission,

ISS : Injury Severity Score à l'admission,

durée VMI : durée en jours sous Ventilation Mécanique Invasive jusqu'à extubation ou sevrage complet si trachéotomie,

GOS-E : Glasgow Outcome Scale Extended évalué à J+90 de la sortie de réanimation.

Analyse univariée avec test de Mann-Whitney¹ pour les données continues non normales, student² pour les distributions normales, test de Chi 2³ pour les variables qualitatives.

Distribution normale attestée par un test d'Agostino et Pearson.

Une majorité des patients (66%) a été transfusée d'au moins un culot globulaire lors de l'hospitalisation, et lors de leur suivi biologique au cours de l'étude. Certains objectifs secondaires, comme les réactivations virales ainsi que les défaillances rénales, n'ont pas été inclus dans les analyses statistiques devant un nombre trop faible d'événements (respectivement n=4 et n=3).

Parmi les infections respiratoires, on dénombre 18 trachéobronchites, 6 pneumonies et 9 pneumonies sévères. Différentes définitions ont été appliquées pour étudier leurs corrélations. Les durées d'incubation et d'antibiothérapie sont indiquées dans le tableau 2

Tableau 2 : Caractéristiques des pneumonies

Infection respiratoires (n=33)	
Définitions clinico- radiologiques	
Trachéobronchites	18/78 (23%)
Pneumonies	6/78 (7%)
Pneumonies sévères	9/78 (11%)
Définitions CDC	
VAC	1/78 (1%)
IVAC	2/78 (2%)
PVAP	7/78 (8%)
Non classées	24/78 (30%)
Délai de survenue, (moyenne IC 95%)	5 (5-6)
Durée d'antibiothérapie, jours (IDR 25-75)	7 (6-8)
CPIS (moyenne IC 95%)	9(8-9)

VAC : Ventilator-Associated Condition, IVAC : Infectious Ventilator Associated Complication, PVAP : Possible Ventilator Associated Pneumonia, selon les définitions du CDC (center of disease control). CPIS : Clinical Pulmonary Infection Score.

2. Création du modèle

Au total, sur les 748 mesures biologiques disponibles entre les deux groupes :

- 424 (57%) ont été analysées avant la survenue d'une infection acquise à l'hôpital
- 324 (43%) mesures n'ont pas été analysées car les échantillons ont été prélevés le même jour ou après le diagnostic d'infection.

Cinquante-quatre pourcent des patients ont eu un examen au 4^{ème} jour après la première mesure. Le reste des patients étaient soit sortis de la cohorte car n'étaient plus en réanimation, soit déjà infectés.

La date examen (J0=date du premier prélèvement sanguin effectué en réanimation, à J4) a été choisie afin de calculer les délais. Elle ne correspond pas toujours à la date échantillon, avec une différence médiane de 5h (min=0h ; max=48h). Le premier jour en réanimation n'a pas pu être pris comme date d'origine car la première NFS est réalisée majoritairement le lendemain de l'admission (différence date examen – date d'entrée en réanimation : médiane = 1,5 jours ; min=0 jour ; max= 12 jours).

Tableau 3 : Nombre de patients en fonction du jour d'examen

Jour d'examen	N (%)
J0	78 (100%)
J1	77 (99%)
J2	66 (85%)
J3	53 (68%)
J4	42 (54%)

Tableau 4 : Analyse univariée du risque de pneumonie

Paramètre	HR [IC95%]	p	Paramètre	HR [IC95%]	p
WBC#	0,96 [0,91-1,02]	0,22	RBC	1,14 [0,72-1,8]	0,58
Neut#	0,97 [0,91-1,03]	0,30	HGB	1,02 [0,87-1,21]	0,78
Lymph#	0,83 [0,41-1,71]	0,62	HTC	1,01 [0,96-1,07]	0,68
Mono#	0,46 [0,22-0,97]	0,041	NRBC#	3,96 [0,17-89,74]	0,39
Eo#	0,02 [0-1,35]	0,069	NRBC%	1,17 [0,65-2,11]	0,61
Baso#	0 [0-458,07]	0,29	MicroR%	0,88 [0,67-1,14]	0,33
IG#	0,31 [0,09-1,03]	0,056	HypoR %	0,1 [0,02-0,65]	0,016
PLT#	1 [1-1,01]	0,073	HypoR #	0 [0-0]	0,026
Neut%	1,03 [0,99-1,07]	0,16	MCV	0,98 [0,94-1,03]	0,48
Lymph%	0,99 [0,93-1,05]	0,74	Neut-WX	0,92 [0,8-1,05]	0,22
Mono%	0,93 [0,85-1,03]	0,19	Mono-WY	0,98 [0,96-1,01]	0,16
Eo%	0,67 [0,44-1,01]	0,057	Mono-Y	0,99 [0,96-1,02]	0,48
Baso%	0,58 [0,11-3,04]	0,52	deltaMonoY	0,86 [0,71-1,03]	0,11
N/L	0,98 [0,95-1,01]	0,28	HFR	0,99 [0,94-1,04]	0,78
Neut-RI	1,06 [1,02-1,1]	0,002	MFR	0,98 [0,92-1,05]	0,61
HF_Neut#	1,08 [0,83-1,42]	0,56	UPP	0,84 [0,62-1,13]	0,25
HF_neut_%W	1,04 [1,01-1,08]	0,023	deltaHe	0,99 [0,9-1,1]	0,92
HF_neut_%N	1,03 [1-1,07]	0,025	HYPO_HE	0,8 [0,66-0,96]	0,016
IG%	0,89 [0,77-1,03]	0,12	HYPER_HE	0,85 [0,72-1,01]	0,072
Re-Lymph%	0,96 [0,63-1,46]	0,85	MICRO_RBC	0,99 [0,96-1,01]	0,33
Re-Lymph%L	1 [0,95-1,04]	0,92	MACRO_RBC	0,99 [0,97-1]	0,10
AS-Lymph%	1 [0,92-1,08]	1,00	PLT_F	1 [1-1,01]	0,11
AS-Lymph%L	1,09 [0,43-2,8]	0,85	PLT_F_1D	1 [1-1]	0,10
As-Lymph#	0,25 [0,01-6,31]	0,40	H_IPF_F	0,98 [0,94-1,03]	0,47
Re-Mono	0,76 [0,35-1,65]	0,49	IPF_F_A	1 [0,99-1]	0,85
Re-Mono#	0,02 [0-28,03]	0,28	Re-Mono/HF-Neut	0 [0-0,07]	0,013
ReMono%M	0,99 [0,94-1,04]	0,58	HFLC	0,79 [0,48-1,31]	0,36
ICIS	0,98 [0,89-1,08]	0,74			

IC95% : intervalle de confiance à 95%, HR : Hazard ratio

Les définitions des paramètres sont données en annexe C, en gras les paramètres retenus pour la création du modèle.

Sur les 56 paramètres analysés, 3 ont été retenus en analyse multivariée comme ayant la meilleure prédiction. Leurs coefficients sont résumés dans le tableau ci-dessus.

Tableau 5 : Modèle multivarié du risque de pneumonie

	Coefficient	HR [95%CI]	p
Neut-RI	0.0510	1.05 [1.02-1.09]	0.005
PLT	0.0051	1.01 [1.01-1.01]	0.001
Mono#	-1.0966	0.33 [0.15-0.74]	0.007
s/5	0.4826	1.62 [0.54-4.87]	0.39
(s/5) ²	-0.8453	0.43 [0.08-2.43]	0.34

s = le jour de l'examen (variant de 0 à 4) Neut-RI : Neutrophil Reactive Intensity PLT : Numération plaquettaire Mono# : Monocytes index

Ces paramètres retenus sont représentés selon leur valeurs seuils et leurs pondérations du score d'infection pulmonaire à cinq jours dans le tableau 5.

Tableau 6 : Pondération du score.

Neut-RI	Points	PLT	Points	Mono#	Points	s/5	Points	(s/5) ²	Points	Total Points	Probabilité d'infection à 5 jours
≤40	0	≤50	0	0	93	0	0	0	17	170-180	0.9
41-45	8	51-100	8	0.1-0.2	87	0.2	3	0.04	15	161-169	0.8
46-50	16	101-150	15	0.3-0.4	80	0.4	6	0.16	12	153-160	0.7
51-55	23	151-200	23	0.5-0.6	73	0.6	9	0.36	7	144-152	0.6
56-60	31	201-250	31	0.7-0.8	67	0.8	12	0.64	0	135-143	0.5
61-65	39	251-300	38	0.9-1.0	60					124-134	0.4
66-70	47	301-350	46	1.1-1.2	53					110-123	0.3
71-75	54	351-400	54	1.3-1.4	47					87-109	0.2
>75	62	401-450	62	1.5-1.6	40					≤86	0.1
		451-500	69	1.7-1.8	33						
		501-550	77	1.9-2.0	27						
		551-600	85	2.1-2.2	20						
		601-650	92	2.3-2.4	13						
		>650	100	2.5-2.6	7						
				2.7-2.8	0						

s = le jour de l'examen (variant de 0 à 4) Neut-RI : Neutrophil Reactive Intensity PLT : Numération plaquettaire Mono# : Monocytes index

L'aire sous la courbe du modèle de la courbe ROC créée ainsi en fonction du jour précédant l'infection est présentée dans le tableau n°6.

Tableau 7 : AUC mesurée globalement sur les 5 jours précédents l'infection

Heures	AUC
H-120	0.55
H-96	0.65
H-72	0.73
H-48	0.73
H-24	0.72

Notre score permet donc de prédire avec une AUC de 0,73 une infection pulmonaire 48 heures avant son diagnostic par le clinicien.

DISCUSSION

Les pneumonies ne semblent pas avoir d'effet sur la mortalité mais sont un problème de santé publique étant donné leur prévalence élevée, leur impact sur la morbidité et les coûts générés (3). Mais leur prévention reste une problématique de nos jours, les différents outils pour surveiller leurs épidémiologie (19, 34) n'ont que peu de corrélation avec les jugements des cliniciens comme le montrent les faibles corrélations de notre étude. Notre étude a permis de créer un score clinico-biologique basé sur des paramètres de la NFS permettant de prédire le diagnostic de pneumonies acquises à l'hôpital par le clinicien.

Parmi les 49 paramètres mesurés, seul 3 paramètres inclus dans le score ont permis de façon significative de prédire le diagnostic de pneumonie. Ce faible nombre de paramètres peut en partie s'expliquer par le fait que les patients non-infectés présentaient dès l'entrée en réanimation des marqueurs d'activation leucocytaire élevés. Ainsi l'augmentation de ces paramètres étaient moins significatives les jours précédents l'infection comparés à d'autres études réalisées avec un automate similaire chez l'enfant, ou chez le patient de réanimation générale (33, 35).

L'ICIS (Intensive Care Infection Score) développé par *Nierhaus et al* (32) sur une cohorte médico-chirurgicale avec un automate similaire comprend en plus la variation d'hémoglobine des érythrocytes, les granulocytes immatures, les lymphocytes sécrétant des anticorps, l'intensité de granulation des neutrophiles. Mais il n'incluait pas le taux de plaquettes bien qu'il semble qu'elles puissent jouer un rôle dans la réaction immunitaire (36).

Dans cette cohorte allemande, l'utilisation du score ICIS avait une AUC bien supérieure à celle retrouvée dans cette étude, mais s'intéressait seulement au jour du diagnostic et aucune cohorte de validation n'était présentée (37). Dans une autre cohorte néerlandaise, les valeurs d'AUC des paramètres étudiés, même s'ils étaient différents, étaient comparables aux valeurs de notre étude (35), même si l'étude s'intéressait uniquement aux valeurs à l'entrée du patient en réanimation. Ces études ne s'intéressaient pas à un type de population précis, les motifs d'hospitalisation allant du post-opératoire au patient médical, en passant par la traumatologie.

Des études préliminaires montrent une bonne valeur prédictive (32, 38) des paramètres de la lignée érythrocytaire. Mais il a été décidé de les exclure du modèle car une

majorité de patients ont reçu une transfusion de culots globulaires avant la survenue de l'infection. De plus les érythrocytes semblent poursuivre leurs différenciations s'ils ne sont pas conservés selon des règles strictes (39), et nous avons parfois plusieurs heures d'attente avant une analyse des NFS.

Le diagnostic de pneumonies acquises à l'hôpital était celui du clinicien prenant en charge le patient, nous n'avons pas fait appel à plusieurs experts indépendants pour juger en aveugle des infections respiratoires. Nous avons voulu orienter notre étude sur un caractère « pratique » des soins courants en réanimation. Les définitions du CDC concernant les complications respiratoires infectieuses bien qu'elles introduisent la notion de stabilité des paramètres précédents le jour du diagnostic, ne permettent finalement pas d'inclure tous les épisodes traités par les cliniciens, un bon nombre ne rentrent pas dans ces définitions, notamment les infections sévères et d'installation rapide. Elles n'ont finalement que peu d'impact clinique.

Le nombre de patients exclus a été supérieur à nos prévisions, principalement pour des raisons d'analyse de formule qui étaient insuffisantes. Les patients inclus n'avaient pas de formule soit par non-prescription du clinicien, soit par sortie du service de réanimation. Les patients présentant une infection autre que pulmonaire n'ont pas été inclus dans la création du modèle devant leur faible nombre. Une cohorte indépendante est donc nécessaire afin de valider le score et ainsi permettre au score d'avoir un impact clinique sur la prise en charge des patients.

Comme l'attestent les scores de gravité à l'entrée, les patients qui ont développé une pneumonie en réanimation étaient parmi les plus critiques, dont les prévalences sont conformes aux données de la littérature (40, 41). La différence de durée de la défaillance hémodynamique est probablement en lien avec la sévérité du traumatisme, et la cascade inflammatoire qui en découle (20). L'augmentation de durée de ventilation mécanique retrouvée peut aussi en partie s'expliquer qu'avec une pneumonie les patients ne remplissaient pas tous les critères d'extubation (42).

Les résultats de biologie étaient conservés en aveugle du clinicien jusqu'à leur analyse statistique, la prise en charge des patients n'était nullement modifiée. Bien qu'observationnel, l'étude s'est affranchie ainsi du biais d'information. La capacité de traitement d'échantillons élevée par jour, et sa standardisation sont un atout à la fois pour l'exportation et le développement futur, à la différence d'autres techniques comme la cytométrie de flux pour la recherche de l'expression d'HLA-DR monocyttaire (43).

L'originalité de cette étude réside dans le fait de créer un score dynamique pouvant prédire la survenue d'infection pulmonaire en réanimation plusieurs jours avant la déclaration de celle-ci. Il valide une impression clinique que la plupart des cliniciens ont déjà expérimentée, l'infection peut se présenter sous une forme progressive, et non d'emblée maximale, comme le souligne ce travail de Ramirez qui introduit la notion de *gradual-VAP* (44). Le fait de traiter précocement ces trachéobronchites diminue l'évolution vers une pneumonie (45). La majorité de nos infections traitées rentre dans ce cadre avec une prévalence de pneumonie sévère peu importante.

Ce score pourrait donc constituer un signal d'alarme supplémentaire pour le clinicien, incitant à une meilleure surveillance et une prise en charge précoce des complications infectieuses en réanimation et au renforcement des moyens de prévention des infections. Il pourrait réduire la pression des antibiotiques sur l'écologie en incitant à des traitements plus courts chez des patients ne présentant qu'une altération légère des paramètres ventilatoires (46). De plus ce score est non soumis à des critères diagnostiques d'interprétations, intégrés dans les recommandations nationales (citation, qui sont peu aisées en réanimation (couleur sécrétions, radiographie thoracique).

CONCLUSION

Notre étude a permis de construire un score biologique étudiant les paramètres de la formule sanguine et permettant de prédire une infection respiratoire chez le traumatisé sévère 48 heures avant son diagnostic par le clinicien. Ses résultats rapides et objectifs peuvent être intégrés au suivi des patients vulnérables. Il pourra constituer un signal d'alarme pour la prise en charge des patients, incitant à une prise en charge plus précoce. Il devra cependant être confirmé sur une cohorte plus large, indépendante et multicentrique.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Fàbregas N, Ewig S, Torres A, El-Ebiary M, Ramirez J, de La Bellacasa JP, et al. Clinical diagnosis of ventilator associated pneumonia revisited: comparative validation using immediate post-mortem lung biopsies. *Thorax* 1999; 54: 867-73.
2. Arnaud I, Maugat S, Jarlier V, Astagneau P, for the National Early Warning, Investigation and Surveillance of Healthcare-Associated Infections Network (RAISIN)/multidrug resistance study group. Ongoing increasing temporal and geographical trends of the incidence of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* infections in France, 2009 to 2013. *European Communicable Disease Bulletin* 2015; 5: 20.
3. Eber MR, Laxminarayan R, Perencevich EN, Malani A. Clinical and economic outcomes attributable to health care-associated sepsis and pneumonia. *Arch Intern Med* 2010; 170: 347-53.
4. Kuti EL, Patel AA, Coleman CI. Impact of inappropriate antibiotic therapy on mortality in patients with ventilator-associated pneumonia and blood stream infection: A meta-analysis. *J Crit Care* 2008; 23: 91-100.
5. Leone M, Bouadma L, Bouhemad B, Brissaud O, Dauter S, Gibot S, et al. Hospital-acquired pneumonia in ICU. *Anaesth Crit Care Pain Med* 2018; 37: 83-98.
6. Peronnet E, Venet F, Maucort-Boulch D, Friggeri A, Cour M, Argaud L, et al. Association between mRNA expression of CD74 and IL10 and risk of ICU-acquired infections: a multicenter cohort study. *Intensive Care Med* 2017; 43: 1013-20.
7. Monneret G, Venet F. Monocyte HLA-DR in sepsis: shall we stop following the flow? *Crit Care*. 2014; 18 :102.
8. Surveillance des infections nosocomiales en réanimation adulte / 2017 / Maladies infectieuses / Rapports et synthèses / Publications et outils / Accueil. Disponible sur: <http://invs.santepubliquefrance.fr/Publications-et-outils/Rapports-et-syntheses/Maladies-infectieuses/2017/Surveillance-des-infections-nosocomiales-en-reanimation-adulte>
9. Vincent J-L, Rello J, Marshall J, Silva E, Anzueto A, Martin CD, et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA* 2009; 302: 2323-9.
10. Osborn TM, Tracy JK, Dunne JR, Pasquale M, Napolitano LM. Epidemiology of sepsis in patients with traumatic injury. *Crit Care Med* 2004; 32: 2234-40.
11. Koulenti D, Tsigou E, Rello J. Nosocomial pneumonia in 27 ICUs in Europe: perspectives from the EU-VAP/CAP study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2017; 36: 1999-2006.

12. Kaukonen K-M, Bailey M, Pilcher D, Cooper DJ, Bellomo R. Systemic inflammatory response syndrome criteria in defining severe sepsis. *N Engl J Med* 2015; 372: 1629-38.
13. Klein Klouwenberg PMC, Ong DSY, Bos LDJ, de Beer FM, van Hooijdonk RTM, Huson MA, et al. Interobserver agreement of Centers for Disease Control and Prevention criteria for classifying infections in critically ill patients. *Crit Care Med* 2013; 41: 2373-8.
14. Rhee C, Kadri SS, Danner RL, Suffredini AF, Massaro AF, Kitch BT, et al. Diagnosing sepsis is subjective and highly variable: a survey of intensivists using case vignettes. *Crit Care Lond Engl* 2016; 20: 89.
15. Rivers E, Nguyen B, Havstad S, Ressler J, Muzzin A, Knoblich B, et al. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 2001; 345: 1368-77.
16. Parks NA, Magnotti LJ, Weinberg JA, Zarzaur BL, Schroepfel TJ, Swanson JM, et al. Use of the clinical pulmonary infection score to guide therapy for ventilator-associated pneumonia risks antibiotic overexposure in patients with trauma. *J Trauma Acute Care Surg* 2012; 73: 52-8.
17. Kubilay Z, Layon AJ, Baer H, Archibald LK. When is pneumonia not pneumonia: a clinicopathologic study of the utility of lung tissue biopsies in determining the suitability of cadaveric tissue for donation. *Cell Tissue Bank* 2016; 17: 205-10.
18. Hooton TM, Bradley SF, Cardenas DD, Colgan R, Geerlings SE, Rice JC, et al. Diagnosis, prevention, and treatment of catheter-associated urinary tract infection in adults: 2009 International Clinical Practice Guidelines from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis Soc Am* 2010; 50: 625-63.
19. Klompas M. Complications of mechanical ventilation--the CDC's new surveillance paradigm. *N Engl J Med* 2013; 368: 1472-5.
20. Vourc'h M, Roquilly A, Asehnoune K. Trauma-Induced Damage-Associated Molecular Patterns-Mediated Remote Organ Injury and Immunosuppression in the Acutely Ill Patient. *Front Immunol* 2018; 9: 1330.
21. Vanzant EL, Lopez CM, Ozrazgat-Baslanti T, Ungaro R, Davis R, Cuenca AG, et al. Persistent inflammation, immunosuppression, and catabolism syndrome after severe blunt trauma. *J Trauma Acute Care Surg* 2014; 76: 21-9.
22. Brunkhorst FM, Clark AL, Forycki ZF, Anker SD. Pyrexia, procalcitonin, immune activation and survival in cardiogenic shock: the potential importance of bacterial translocation. *Int J Cardiol* 1999; 72: 3-10.
23. Castelli GP, Pognani C, Cita M, Paladini R. Procalcitonin as a prognostic and diagnostic tool for septic complications after major trauma. *Crit Care Med* 2009; 37: 1845-9.
24. Meisner M, Tschakowsky K, Hutzler A, Schick C, Schüttler J. Postoperative plasma concentrations of procalcitonin after different types of surgery. *Intensive Care Med* 1998; 24: 680-4.

25. Wacker C, Prkno A, Brunkhorst FM, Schlattmann P. Procalcitonin as a diagnostic marker for sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2013; 13: 426-35.
26. Vincent J-L, Beumier M. Diagnostic and prognostic markers in sepsis. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2013; 11: 265-75.
27. Dilektasli E, Inaba K, Haltmeier T, Wong MD, Clark D, Lam L, et al. The Impact of Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio on Mortality in Critically Ill Trauma Patients. *J Am Coll Surg* 2015; 221: S168.
28. Ljungström L, Pernestig A-K, Jacobsson G, Andersson R, Usener B, Tilevik D. Diagnostic accuracy of procalcitonin, neutrophil-lymphocyte count ratio, C-reactive protein, and lactate in patients with suspected bacterial sepsis. *PLOS ONE* 2017; 12: e0181704.
29. Riché F, Gayat E, Barthélémy R, Le Dorze M, Matéo J, Payen D. Reversal of neutrophil-to-lymphocyte count ratio in early versus late death from septic shock. *Crit Care* 2015; 19: 439.
30. Mare TA, Treacher DF, Shankar-Hari M, Beale R, Lewis SM, Chambers DJ, et al. The diagnostic and prognostic significance of monitoring blood levels of immature neutrophils in patients with systemic inflammation. *Crit Care* 2015; 19: 57.
31. Nierhaus A, Klatte S, Linssen J, Eismann NM, Wichmann D, Hedke J, et al. Revisiting the white blood cell count: immature granulocytes count as a diagnostic marker to discriminate between SIRS and sepsis--a prospective, observational study. *BMC Immunol* 2013; 14: 8.
32. Nierhaus A, Linssen J, Wichmann D, Braune S, Kluge S. Use of a weighted, automated analysis of the differential blood count to differentiate sepsis from non-infectious systemic inflammation: the intensive care infection score (ICIS). *Inflamm Allergy Drug Targets* 2012; 11: 109-15.
33. Henriot I, Launay E, Boubaya M, Cremet L, Illiaquer M, Caillon H, et al. New parameters on the hematology analyzer XN-10 (SysmexTM) allow to distinguish childhood bacterial and viral infections. *Int J Lab Hematol* 2017; 39: 14-20.
34. Shan J, Chen H-L, Zhu J-H. Diagnostic Accuracy of Clinical Pulmonary Infection Score for Ventilator-Associated Pneumonia: A Meta-analysis. *Respir Care* 2011; 56: 1087-94.
35. van der Geest PJ, Mohseni M, Linssen J, Duran S, de Jonge R, Groeneveld ABJ. The intensive care infection score – a novel marker for the prediction of infection and its severity. *Crit Care* 2016; 20: 180.
36. Zuchtriegel G, Uhl B, Pühr-Westerheide D, Pörnbacher M, Lauber K, Krombach F, et al. Platelets Guide Leukocytes to Their Sites of Extravasation *PLOS Biol* 2016; 14: e1002459.

37. Weimann K, Zimmermann M, Spies CD, Wernecke K-D, Vicherek O, Nachtigall I, et al. Intensive Care Infection Score – A new approach to distinguish between infectious and noninfectious processes in intensive care and medicosurgical patients. *J Int Med Res* 2015; 43: 435-51.
38. Buoro S, Manenti B, Seghezzi M, Dominoni P, Barbui T, Ghirardi A, et al. Innovative haematological parameters for early diagnosis of sepsis in adult patients admitted in intensive care unit. *J Clin Pathol* 2018; 71: 330-5.
39. Schapkaitz E. Stability of New Erythrocyte and Reticulocyte Parameters in Testing for Anemia on the Sysmex XN 9000. *Lab Med* 2018; 49: 219-25
40. Nseir S, Di Pompeo C, Pronnier P, Beague S, Onimus T, Saulnier F, et al. Nosocomial tracheobronchitis in mechanically ventilated patients: incidence, aetiology and outcome. *Eur Respir J* 2002; 20: 1483-9.
41. Roquilly A. Hydrocortisone Therapy for Patients With Multiple Trauma: The Randomized Controlled HYPOLYTE Study. *JAMA* 2011; 305: 1201.
42. Quintard H, l'Her E, Pottecher J, Adnet F, Constantin J-M, De Jong A, et al. Intubation and extubation of the ICU patient. *Anaesth Crit Care Pain Med* 2017; 36: 327-41.
43. Gouel-Chéron A, Allaouchiche B, Floccard B, Rimmelé T, Monneret G. Early daily mHLA-DR monitoring predicts forthcoming sepsis in severe trauma patients. *Intensive Care Med* 2015; 41: 2229-30.
44. Ramirez P, Lopez-Ferraz C, Gordon M, Gimeno A, Villarreal E, Ruiz J, et al. From starting mechanical ventilation to ventilator-associated pneumonia, choosing the right moment to start antibiotic treatment. *Crit Care* 2016; 20: 169.
45. Nseir S, Martin-Loeches I, Makris D, Jaillette E, Karvouniaris M, Valles J, et al. Impact of appropriate antimicrobial treatment on transition from ventilator-associated tracheobronchitis to ventilator-associated pneumonia. *Crit Care* 2014; 18: R129.
46. Klompas M, Li L, Menchaca JT, Gruber S, for the CDC Prevention Epicenters Program. Ultra short course antibiotics for patients with suspected ventilator-associated pneumonia but minimal and stable ventilator settings. *Clin Infect Dis* 2016; 64: 870-76.

ANNEXE A :

Score ISS :

Somme des carrés des score de gravité des 3 lésions anatomiques les plus sévères, selon le classement de l'Abbreviated Injury Scale. Les différentes régions sont la tête et le cou, la face, le thorax, l'abdomen ou le petit bassin, la périphérie ou ceinture pelvienne et générale. Les lésions sont cotées de 1 pour des lésions mineures à 5 pour critique avec survie incertaine. Le maximum pour un traumatisme isolée est donc 25.

Score SOFA :

Score	PaO ₂ /FiO ₂ (mmHg)	Échelle de Glasgow	Pression artérielle moyenne	Bilirubine (mg/dl)	Plaquettes × 10 ³ /μl	Créatinine (mg/dl) (ou diurèse)
0	≥ 400	15	PAM ≥ 70 mm/Hg	< 1.2	≥ 150	< 1.2
1	< 400	13-14	PAM < 70 mm/Hg	1.2–1.9	< 150	1.2–1.9
2	< 300	10-12	Dopamine ≤ 5 μg/kg/min OU dobutamine	2.0–5.9	< 100	2.0–3.4
3	< 200 et ventilation mécanique	6-9	Dopamine > 5 μg/kg/min OU adrénaline ≤ 0.1 μg/kg/min OU noradrénaline ≤ 0.1 μg/kg/min	6.0–11.9	< 50	3.5–4.9 (ou < 500 ml/j)
4	< 100 et ventilation mécanique	<6	Dopamine > 15 μg/kg/min OU adrénaline > 0.1 μg/kg/min OU noradrénaline > 0.1 μg/kg/min	> 12.0	< 20	> 5.0 (ou < 200 ml/j)

Score IGS II :

Age	Fréquence cardiaque	Pression artérielle systolique	Température centrale	Rapport PaO₂/FiO₂
0 - Age ≤ 39 ans.	11 - Fréquence < 40/mn.	13 - PAs < 70 mmHg	0 - Température < 39°C.	0 - Patient ni ventilé ni sous CPAP/VNI.
7 - Age ≥ 40 ans et ≤ 59 ans.	2 - Fréquence ≥ 40/mn et < 70/mn.	5 - PAs ≥ 70 mmHg et < 100 mmHg	3 - Température ≥ 39°C	11 - PaO ₂ /FiO ₂ < 100 mmHg
12 - Age ≥ 60 ans et ≤ 69 ans.	0 - Fréquence ≥ 70/mn et < 120/mn.	0 - PAs ≥ 100 mmHg et < 200 mmHg.		9 - PaO ₂ /FiO ₂ ≥ 100 mmHg et < 200 mmHg
15 - Age ≥ 70 ans et ≤ 74 ans.	4 - Fréquence ≥ 120/mn et < 160/mn.	2 - PAs ≥ 200 mmHg		6 - PaO ₂ /FiO ₂ ≥ 200 mmHg.
16 - Age ≥ 75 ans et ≤ 79 ans	7 - Fréquence ≥ 160/mn			
18 - Age ≥ 80 ans				
Diurèse	Urée sanguine	Leucocytes	Kaliémie	Natrémie
11 - Diurèse < 500 ml/24h.	0 - Urée < 10 mmol/l (0,6 g/l).	12 - Leucocytes < 1 000 / mm ³ .	3 - Kaliémie < 3 mmol/l.	5 - Natrémie < 125 mmol/l.
4 - Diurèse ≥ 500 ml/24h et < 1000 ml/24h.	6 - Urée ≥ 10 mmol/l (0,6 g/l) et < 30 mmol/l (1,8 g/l).	0 - Leucocytes ≥ 1 000 / mm ³ et < 20 000 / mm ³ .	0 - Kaliémie ≥ 3 mmol/l et < 5 mmol/l.	0 - Natrémie ≥ 125 mmol/l et < 145 mmol/l.
0 - Diurèse ≥ 1000 ml/24h.	10 - Urée ≥ 30 mmol/l (1,8 g/l).	3 - Leucocytes ≥ 20 000 / mm ³ .	3 - Kaliémie ≥ 5 mmol/l.	1 - Natrémie ≥ 145 mmol/l.
Bicarbonates	Bilirubine totale	Score de Glasgow	Maladies chroniques	Type d'admission
6 - HCO ₃ ⁻ < 15 mmol/l.	0 - Bilirubine < 68,4 μmol/l (40 mg/l).	26 - Glasgow ≥ 3 et ≤ 5.	0 - Aucune ou non définie ci-dessous.	0 - Chirurgie programmée.
3 - HCO ₃ ⁻ ≥ 15 mmol/l et < 20 mmol/l.	4 - Bilirubine ≥ 68,4 μmol/l (40 mg/l) et ≤ 106,6 μmol/l (60 mg/l).	13 - Glasgow ≥ 6 et ≤ 8.	17 - Sida	6 - Raison médicale.
0 - HCO ₃ ⁻ ≥ 20 mmol/l	9 - Bilirubine > 102,6 μmol/l (60 mg/l).	7 - Glasgow ≥ 9 et ≤ 10.	10 - Hématopathies malignes	8 - Chirurgie en urgence
		5 - Glasgow ≥ 11 et ≤ 13.	9 - Cancers métastasés	
		0 - Glasgow ≥ 14 et ≤ 15.		

Valeurs des items du score en début des cellules

ANNEXE B :

Score CPIS

Points	Température	Leucocytes (G/L)	Sécrétions trachéales	Rapport PaO ₂ /FiO ₂	Radiographie thoracique	Culture aspirations
0	36.5-38.4	4-11	Rare	>240 ou SDRA	Absence d'infiltrat	Négative
1	38.5-38.9	<4 ou >11	Sécrétions abondantes		Infiltrat diffus	
2	≥39 ou ≤36	<4 ou >11 et immatures ≥0,500	Sécrétions purulentes	≤240 sans SDRA	Infiltrat localisé	Bactérie pathogène

.

ANNEXE C :

Définitions paramètres étudiés :

Paramètre	
WBC#	Leucocytes
Neut#	Neutrophiles
Lymph#	Lymphocytes
Mono#	Monocytes
Eo#	Éosinophiles
Baso#	Basophiles
IG#	Granulocytes immatures
PLT#	Plaquettes
Neut%	Taux de neutrophiles
Lymph%	Taux de lymphocytes
Mono%	Taux de monocytes
Eo%	Taux de d'éosinophile
Baso%	Taux de basophiles
N/L	Neutrophile/lymphocyte
Neut-RI	Index de réactivité des neutrophiles
HF_Neut#	Neutrophiles haute fluorescence
HF_neut_% W	Rapport HF_neut/WBC
HF_neut_% N	Rapport HF_neut/neutrophiles
IG%	Taux de granulocytes immatures
Re-Lymph%	Pourcentage de lymphocytes réactifs/leucocytes
Re-Lymph%L	Pourcentage de lymphocytes réactifs/lymphocytes
AS-Lymph%	Pourcentage de lymphocytes sécrétant des anticorps/leuco
AS-Lymph%L	Pourcentage de lymphocytes sécrétant des anticorps/lymphocytes
As-Lymph#	Nombre de lymphocytes sécrétant des anticorps
Re-Mono	Monocytes réactifs
Re-Mono#	Monocytes réactifs, valeur absolue
ReMono%M	Monocytes réactifs/monocytes totaux
ICIS	Intensive care infection score
RBC	Globules rouges
HGB	Hémoglobine
HTC	Hématocrite
NRBC#	Nucleated red blood cells, valeur absolue
NRBC%	Nucleated red blood cells, pourcentage,
MicroR%	Pourcentage de microcytes parmi tous les globules rouges
HypoR %	Pourcentage de réticulocytes hypochromes
HypoR #	Réticulocytes hypochromes
MCV	Volume corpusculaire moyen
Neut-WX	Dispersion du nuage de point des neutrophiles (axe x)
Mono-WY	Dispersion du nuage de point des monocytes (axe y)
Mono-Y	Dispersion du nuage de point des monocytes (axe y)
deltaMonoY	Variation du nuage de point des monocytes

Paramètre (suite)

HFR	High fluorescence réticulocytes
MFR	Medium fluorescence réticulocytes
UPP	Upper particule region
deltaHe	Variation hémoglobine érythrocytes
HYPO_HE	Pourcentage des érythrocytes hypochromes
HYPER_HE	Pourcentage des érythrocytes hyperchromes
MICRO_RBC	GR microcytes
MACRO_RBC	GR macrocytes
PLT_F	Plaquette par Fluorescence plaquettaire
PLT_F_1D	Donnée manquante
H_IPF_F	Fraction plaquettes immatures
IPF_F_A	Valeur absolue
Re-Mono/HF-Neut	Rapport Re-Mono/HF-Neut
HFLC	Lymphocytes à haute fluorescence

Vu, le Président du Jury,
(tampon et signature)

Vu, le Directeur de Thèse,
(tampon et signature)

Vu, le Doyen de la Faculté,

Professeur Pascal JOLLIET

NOM : ROUX

PRENOM : François

Titre de Thèse : ANALYSE DES PARAMÈTRES CACHÉS DE LA FORMULE SANGUINE COMME BIOMARQUEURS POUR LA PRÉDICTION DES INFECTIONS ACQUISES À L'HÔPITAL CHEZ LES TRAUMATISÉS SEVÈRES

RÉSUMÉ

INTRODUCTION

Le diagnostic des pneumonies acquises sous ventilation mécanique est difficile, et à l'origine de morbidité et de surcoût. Un analyseur de numération formule sanguine (NFS) (Sysmex XN 10) permet de mesurer de nouveaux paramètres des lignées hématologiques. Nous avons donc étudié la capacité de ces nouveaux paramètres à prédire les pneumonies acquises en réanimation chirurgicale.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Après accord d'un comité d'éthique, nous avons conduit une étude prospective monocentrique contrôlée en réanimation entre 2016 et 2017 chez le traumatisé sévère nécessitant une ventilation mécanique de plus de 48 heures, avec un Injury Severity Score supérieur à 16 et/ou un score de Glasgow inférieur à 12 avant intubation. Un suivi quotidien des formules était assuré en aveugle sur plus de 49 paramètres, qui étaient ensuite analysés en multivarié puis intégrés dans un score en fonction des jours précédents l'infection.

RÉSULTATS

Au total 78 patients (dont 33 infections respiratoires) ont été inclus dans l'analyse, 3 paramètres (intensité de réaction des neutrophiles, numération plaquettaire et index monocytaire) étaient significatifs en analyse multivariée avec comme Hazard Ratio (IC95%) respectivement 1,05 [1,02-1,09], 1,01 [1,01-1,01] et 0,33 [0,15-0,74]. Un score créé avec les paramètres précédents permet de prédire l'infection 48 heures avant avec une AUC de 0,73.

CONCLUSION

L'analyse de la NFS par l'automate XN-10 permet de prédire le développement des pneumonies en réanimation, mais doit être confirmé sur une cohorte de validation afin de pouvoir avoir un impact clinique.

MOTS-CLÉS

Pneumonie, prédiction, traumatisés sévères, NFS.