

UNIVERSITE DE NANTES

FACULTE DE MEDECINE

Année : 2017

N° 250

THESE

pour le

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

par

Pauline CLIQUENNOIS

Née le 22/01/1991 à Villeneuve d'Ascq

Présentée et soutenue publiquement le 08/12/2017

**Epidémiologie des infections candidosiques invasives néonatales (ICIN) au
CHU de Nantes en 2014-2015 : état des lieux des pratiques diagnostiques et
thérapeutiques.**

Président : Monsieur le Professeur Cyril FLAMANT

Directeur de thèse : Madame le Professeur Christèle GRAS - LE GUEN

Membres du jury : Madame le Docteur Elise LAUNAY
Monsieur le Docteur Florent MORIO

REMERCIEMENTS

A mes juges,

Madame le **Professeur Christèle GRAS LE GUEN**, pour m'avoir fait l'honneur de diriger ce travail. Merci pour votre implication, votre disponibilité ainsi que votre pédagogie tout au long de mon cursus de pédiatrie.

Monsieur le **Professeur Cyril FLAMANT**, pour avoir accepté de présider ce jury. Merci pour l'apprentissage théorique et clinique dans le domaine de néonatalogie, vous m'avez transmis l'amour de cette spécialité unique.

Madame le **Docteur Elise LAUNAY**, pour m'avoir fait l'honneur de juger ce travail. Vous m'avez transmis votre intérêt porté au sujet. Merci pour votre aide précieuse sur certains tests statistiques et leur mise en forme.

Monsieur le **Docteur Florent MORIO**, pour m'avoir fait l'honneur de juger cette thèse. Merci pour l'intérêt que vous portez à ce projet depuis le début, ainsi que votre investissement dans celui-ci. C'est à vous que je dois toutes les inclusions du domaine de la mycologie, merci pour le temps consacré à cela.

A toutes les personnes qui y ont contribué,

Madame **Dominique NAVAS HOUSSAIS**, MCU-PH de pharmacie clinique, et ses étudiants, qui ont patiemment trié et photocopié toutes les ordonnances nominatives de micafungine afin de me transmettre les dossiers analysables.

Mademoiselle **Delphine MOURET**, interne de santé publique et amie de longue date, pour son aide précieuse dans la réalisation des statistiques sur ses temps libres et week-ends. Merci également pour tous ces bons moments passés ensemble.

Mesdames **Sylvie CORRE et Corinne LERAT**, secrétaires médicales. Pour leur gentillesse, leur sens du service, leur aide dans la demande des dossiers et l'accueil dans leur bureau pour travailler à leurs côtés. Vous contribuez à rendre le service de néonatalogie accueillant et chaleureux.

A toutes ces personnes rencontrées sur mon parcours de pédiatrie, qui ont fortement participé à mon amour de la spécialité

Madame le **Docteur Bénédicte VRIGNAUD**, pour sa gentillesse, son soutien et son accueil lors d'un premier semestre aux urgences.

Monsieur le Docteur **Louis-Marie BODET** accompagnés des Docteurs **Pierre BOURGOIN** et **BENEDICTE LEROUX**, pour leur formation à la simulation pédiatrique sur mannequin. A toute mon **équipe des SIMU AWARDS** : Tifaine BOUFFARD, Josselin BERNARD et David MALOREY encadrés du Dr Louis-Marie BODET pour toutes ces soirées et repos de garde passés à s'entraîner ensemble dans la bonne humeur pour terminer premiers et récompensés par une victoire inoubliable à Marseille en Mai 2017.

Mes différents co-internes de pédiatrie ou de médecine générale. Pour leur aide au quotidien et pour les bons moments passés en stage et en dehors. Un remerciement particulier aux Docteurs Elodie LEGALLAIS, Tifaine BOUFFARD, Morgane MARION, Lou DANJOU et François MERESSE pour leur conseils de rédaction de thèse et le partage de leur expérience. A mes co-internes actuels, Leila GEISH, Morgan PINSARD, Hélène LECLERCQ, Anne-Sophie BOBET, Piotr FOLAND et Paul CHAMBET. Merci pour ces supers moments.

Aux équipes médicales et paramédicales des urgences, de la maternité, du CH de Saint Nazaire, de néonatalogie et de réanimation, de pédiatrie générale et de PMI.

Enfin, à tous les gens qui m'ont aidée à devenir ce que je suis aujourd'hui

Ma famille, mes parents, mon frère Sébastien et mon frère jumeau Benjamin, qui ont toujours cru en moi et qui sont fiers de moi aujourd'hui. Merci pour leur aide et leur soutien dans les moments de difficultés, ainsi que les bonheurs partagés. Merci à mon père pour l'achat d'un ordinateur m'ayant permis de travailler en conditions idéales. Merci également à mon oncle Olivier qui a toujours été le plus encourageant.

Mes amis de Lille et en particulier ceux de la faculté avec qui j'ai tout partagé durant ces longues années d'étude. Merci au Docteur Perrine GRAU pour cette complicité et ce soutien mutuel incomparable.

Mes amis de Nantes et en particulier à Laurie BLACHIER, pour ces moments passés à travailler notre thèse, et ces moments de joie réguliers. Merci à Charlotte VIEILLARD, Julie SEON et Cécile OGER.

Enfin à Kévin, mon futur mari, sans qui rien n'aurait été possible. Merci pour ta compréhension, ton soutien et ton amour au quotidien qui m'ont fait grandir et me réaliser aujourd'hui.

TABLE DES MATIERES

| | |
|--|----|
| ABREVIATIONS | 5 |
| INTRODUCTION..... | 6 |
| MATERIEL ET METHODES | 7 |
| 1. Population..... | 7 |
| 2. Critère de jugement principal : diagnostic positif d'ICIN..... | 8 |
| 3. Facteurs de risque connus et critères secondaires étudiés..... | 9 |
| 4. Méthode statistique et réglementation..... | 10 |
| RESULTATS | 11 |
| 1. Caractéristiques des patients inclus..... | 11 |
| 2. Stratégie diagnostique en cas d'ICIN..... | 15 |
| 3. Résultats principaux : cultures fongiques et classifications des ICIN | 16 |
| 4. Traitements prophylactiques instaurés | 18 |
| 5. Stratégie thérapeutique probabiliste en cas d'ICIN..... | 19 |
| 6. Comparaison entre les deux groupes d'ICIN | 20 |
| DISCUSSION | 22 |
| CONCLUSION | 28 |
| BIBLIOGRAPHIE : | 29 |
| ANNEXES | 34 |
| Annexe 1 : Protocole nantais sur les infections fongiques néonatales | 34 |
| Annexe 2 : Critères EORTC /MSG | 36 |
| Annexe 3 : Physiopathologie des ICIN | 37 |
| Annexe 4 : Grille de critères recueillis chez les enfants suspects d'ICIN | 38 |
| Annexe 5 : Recommandations actuelles sur la prophylaxie des ICIN | 39 |
| Annexe 6 : Recommandations sur le traitement curatif probabiliste des ICIN | 40 |

ICIN : Infection Candidosique invasive néonatale / EORTC/MSG : European Organization for Research and Treatment of Cancer / Mycoses Study Group

ABREVIATIONS

- AAP : “American Academy of Pediatrics”
- ATB : Antibiotiques
- C3G : Céphalosporines de 3^{ème} Génération
- CHU : Centre Hospitalo-Universitaire
- CRP : Protéine C Réactive
- EIQ : Espace Inter Quartile (1^{er} quartile – 3^o quartile)
- EORTC/MSG: “European Organization for Research and Treatment of Cancer” / “Mycoses Study Group”
- ESCMID : “European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases”
- ETF : Echographie Trans Fontanelle
- ETT : Echographie cardiaque Trans Thoracique
- FDR : Facteurs de Risque
- Hémoc : Hémoculture
- IC95 : Intervalle de Confiance à 95%
- ICIN : Infection Candidosique Invasive Néonatale
- IDSA : “Infectious Diseases Society of America”
- LCR : Liquide Céphalo-Rachidien
- NFS : Numération Formule Sanguine
- NN : Nouveau-né
- NP : Nutrition parentérale
- PCT : Procalcitonine
- PIDS: “Pediatric Infectious Diseases Society”
- PN : Poids de Naissance
- PNN : Polynucléaires neutrophiles
- SA : Semaines d’Aménorrhées

INTRODUCTION

Les infections à *Candida* sont responsables d'environ 10% des sepsis nosocomiaux chez les nouveau-nés (NN) de très petit poids de naissance (moins de 1500g) (1,2). Selon les études, l'incidence des infections candidosiques invasives néonatales (ICIN) prouvées varie entre 2,6 et 13,2% chez les moins de 1500g et entre 6,6 et 26% chez les moins de 1000g (2–6). A cette incidence non négligeable, s'ajoute une morbi-mortalité élevée signant la gravité de la pathologie. En effet, dans l'étude épidémiologique multicentrique de *Benjamin DK* en 2010, chez des NN de moins de 1000g, l'infection candidosique invasive augmente significativement le risque de décès : 34% chez les nouveau-nés ayant une ICIN contre 14% chez les NN non infectés (2). La mortalité en cas d'hémoculture, de liquide céphalo-rachidien (LCR), ou d'urines positives à *Candida* varie entre 25% et 75% chez les moins de 1000g (2,4,7–11). Lorsque l'infection n'est pas responsable du décès, elle entraîne des séquelles. Celles-ci s'ajoutent à celles de la prématurité et retiennent donc sur la qualité de vie. Plusieurs études montrent des conséquences négatives à long terme (à 18 mois) sur le développement neurologique (et d'autant plus s'il existe une atteinte du sang ou des méninges), plus importantes que chez un même groupe d'enfant sans ICIN (2,7,9,11). Les autres atteintes aggravent la rétinopathie (12), la dysplasie bronchopulmonaire, la leucomalacie périventriculaire et les séquelles auditives de la prématurité (2,4,7,9,10,12–14). Ainsi, les ICIN augmentent le coût de l'hospitalisation et du suivi néonatal (hospitalisation prolongée (8), aggravations des séquelles).

D'après les facteurs de risque retrouvés dans la littérature, les nouveau-nés ciblés sont essentiellement ceux correspondant aux unités de soins intensifs et de réanimation néonatale en ce qui concerne le Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) de Nantes (lieu de notre étude). Le principal problème de ce type d'infection est le retard de prise en charge augmentant en partie la morbi-mortalité. Celui-ci peut s'expliquer par la difficulté diagnostique liée aux signes cliniques et biologiques aspécifiques (2,8,13,15). A cela, s'ajoute les imprécisions des recommandations européennes et américaines des pratiques diagnostiques et thérapeutiques (8,11,16,17) par manque de niveau de preuve en néonatalogie. Celles-ci sont peu appliquées en pratique clinique. Il est donc intéressant d'observer chez les NN suspects d'infection les stratégies diagnostiques (prélèvements etc..) et thérapeutiques pratiquées par les cliniciens et de comparer celles-ci aux recommandations actuelles afin d'améliorer les prises en charge.

L'objectif principal de notre étude est d'établir l'épidémiologie des infections candidosiques invasives néonatales (incidence, facteurs de risques connus présents, nature des levures, prophylaxie, clinique et biologie associée, traitement et évolution) et de faire un état

des lieux des pratiques diagnostiques et thérapeutiques chez les nouveau-nés suspects d'infection afin d'observer si la prise en charge est conforme aux recommandations disponibles.

MATERIEL ET METHODES

1. Population

L'étude a été réalisée chez les nouveau-nés hospitalisés dans les unités de réanimation pédiatrique, réanimation néonatale, soins intensifs et néonatalogie du CHU de Nantes sur une période de deux ans de janvier 2014 à décembre 2015. La population comprend donc essentiellement des NN prématurés, porteurs d'une pathologie néonatale nécessitant une hospitalisation ou une chirurgie (cardiaque ou digestive). L'étude est observationnelle et rétrospective.

Les nouveau-nés inclus sont ceux suspects d'ICIN. Pour cela, deux types de données ont été utilisées : *les données du laboratoire de mycologie* permettant de retrouver tous les NN ayant eu une culture fongique positive (peu importe le site et l'espèce) ; et *les données de la pharmacie* (grâce aux ordonnances nominatives) permettant d'inclure les nouveau-nés mis sous micafungine, antifongique de choix dans cette indication au CHU de Nantes. Nous avons donc pris le parti de ne pas inclure les autres antifongiques compte tenu du protocole nantais (*cf. Annexe 1*).

Celui-ci préconise, pour le traitement des ICIN :

- En cas de prophylaxie par fuconazole (indiquée chez les moins de 1000g, ou les plus de 1000g intubés ou porteurs d'un cathéter central ayant un liquide gastrique positif à *Candida*) : traitement probabiliste par micafungine (*4mg/kg/j*) ou amphotéricine B liposomale (*5 à 7 mg/kg/j*).
- En l'absence de prophylaxie : fluconazole (*10 mg/kg/j*)
- En cas de méningite : amphotéricine B liposomale + 5 fluoro-uracile ou caspofungine
- Retrait du cathéter central dans tous les cas.

Les critères d'exclusion comprennent : les enfants d'un âge supérieur à 3 mois, les infections fongiques à champignons autres que *Candida* (*Aspergillus, levures non identifiées*) et les colonisations de la peau à *Candida* de manière isolée.

2. Critère de jugement principal : diagnostic positif d'ICIN

Les infections candidosiques invasives sont définies par un envahissement d'un site stérile de l'organisme : sang, liquide céphalo-rachidien, ou urines par un champignon de la famille du *Candida* (8). Les autres sites tels que la peau, les selles et la trachée, lorsqu'ils sont positifs sont à considérer comme des colonisations ce qui n'est pas forcément pathogène. Dans notre étude, les infections candidosiques invasives prouvées sont donc définies par un prélèvement positif dans le sang, les urines récoltées de manière stérile ou le LCR.

Les patients sont classés en trois groupes sur la base des critères EORTC/MSG (18) (*cf. Annexe 2*) modifiés (adaptés aux populations néonatales) : ICIN prouvée, ICIN probable et ICIN possible. Le **tableau 1** résume cette classification.

TABLEAU 1 : CLASSIFICATION DES INFECTIONS CANDIDOSIQUES INVASIVES NEONATALES

| ICIN | ≥ 1 Facteur de risque d'ICIN * | ≥ 1 Critère clinique d'infection néonatale ** | Colonisation à <i>Candida</i> | Site normalement stérile positif à <i>Candida</i> |
|-----------------|--------------------------------|---|-------------------------------|---|
| Prouvée | Oui | Oui | +/- | Oui |
| Probable | Oui | Oui | Oui | Non |
| Possible | Oui | Oui | Non | Non |

ICIN : Infection candidosique invasive néonatale

* *Les facteurs de risque d'ICIN sont les suivants : terme < 28 semaines d'aménorrhées (SA), poids de naissance <1000g, présence d'un cathéter veineux central, alimentation parentérale exclusive, antibiothérapie large spectre, ventilation mécanique, corticothérapie post-natale.*

** *Les critères cliniques d'infection néonatale sont la dégradation clinique de l'enfant sur le plan hémodynamique / respiratoire / neurologique ou autre.*

Ainsi, les infections probables se distinguent des infections possibles par la présence de *Candida* sur les prélèvements mycologiques des sites non stériles. Les patients ICIN prouvée et probable sont considérés comme « infectés » : « ICIN + » ; et les ICIN possibles sont classées comme « ICIN – ».

Les données ont été recueillies rétrospectivement grâce quatre sources différentes :

- Le logiciel « *PEDIALOG* », logiciel d'observation médicale au cours de l'hospitalisation (examen d'entrée et évolution avec les dates) : nous avons ainsi pu trouver les signes de

dégradation clinique ayant motivés les prélèvements fongiques et/ou la mise sous antifongiques.

- Les « pancartes », support papier où les médecins et les équipes paramédicales reportent les données biologiques et les traitements reçus par jour.
- Le logiciel « *PRENEONAT* », logiciel de prescription quotidienne informatisée pour les détails sur les traitements.
- Le logiciel « *CLINICOM* » pour les résultats biologiques et des cultures fongiques.

3. Facteurs de risque connus et critères secondaires étudiés.

Les NN prématurés et de faible poids de naissance sont à risque d'infection candidosique invasive du fait de leur immaturité, leur colonisation, et leur thérapeutiques invasives en hospitalisation (13) (*cf. Annexe 3*).

Dans la littérature, de nombreuses études (2,3,8,13,16,19–23) s'accordent sur les facteurs de risque d'ICIN suivants :

- L'âge gestationnel
- Le petit poids de naissance (<2500g)
- La durée d'hospitalisation (>3 semaines) (19)
- La présence d'un tube endotrachéal (>1 semaine)
- La présence d'un cathéter central
- La perfusion de lipides par voie intraveineuse et plus largement la nutrition parentérale (d'autant plus si exclusive)
- L'administration récente d'antibiotiques (ATB) à large spectre (>72 heures) (3,5,22).

Certains facteurs, plus discutés, ne se retrouvent que dans certaines études : la corticothérapie post-natale (19), la ventilation non invasive prolongée (>1 semaine) (19), l'antibiothérapie du per partum chez la mère (2), le post-opératoire de chirurgie abdominale (13,19), l'entérocolite ulcéro-nécrosante (13,21), la splénomégalie, la thrombopénie (19,22), la neutropénie, la dialyse péritonéale, la sonde urinaire (8) et l'utilisation d'antiacides (13).

Dans notre étude, chez ces nouveau-nés fortement suspects d'ICIN, les critères suivants ont été recueillis (*cf. Annexe 4*) :

- **Les caractéristiques cliniques du patient** : âge gestationnel, poids de naissance, sexe, âge civil au moment de la suspicion d'infection, motif d'hospitalisation, mode d'accouchement, adaptation à la vie extra-utérine (*score d'Apgar à 5 minutes*).

- **Les facteurs de risque connus** et ceux plus discutés d'infection candidosique invasive : la durée d'hospitalisation, les durées d'intubation, de cathéter central, de nutrition parentérale exclusive, la chirurgie néonatale, les transfusions sanguines, la corticothérapie post-natale, l'ibuprofène, les antiacides, les antibiothérapies à larges spectres utilisées avant l'infection et leur durée respective.
- **Les signes cliniques** ayant fait évoquer la suspicion d'infection fongique et donc ayant justifié soit la mise sous antifongique (micafungine) soit la recherche mycologique dans différents sites.
- **Les signes biologiques associés** : la numération formule sanguine (NFS) avec les nombres de leucocytes, de polynucléaires, de lymphocytes et de plaquettes ; la protéine C réactive (CRP), et la procalcitonine (PCT) sur la prise de sang réalisée au moment de la suspicion d'infection.
- **Les traitements antifongiques** prophylactiques et ceux instaurés de manière probabiliste, la posologie et leurs durées.
- **La mortalité** en sortie d'hospitalisation.

4. Méthode statistique et réglementation

L'étude est observationnelle. Nous avons utilisé des moyennes en pourcentage accompagnées de leur intervalle de confiance à 95% (IC95) et des médianes avec leur espace interquartile (EIQ : 1^{er} et le 3^{ème} quartile) lorsque la loi que suit les variables n'est pas une loi normale. Les statistiques ont été réalisées sur *BiostaTGV* et *Anastat.fr*. Les données caractérisant l'enfant (poids, terme ...) ont été rapportées au nombre total d'enfants inclus (N=49). Les données portant sur la prise en charge (traitements reçus, durée d'intubation...) ont été rapportées au nombre total de suspicions d'infections (N=58).

Nous avons calculé la performance diagnostique des examens directs grâce à un calcul de sensibilité, spécificité, rapports de vraisemblance positif et négatif accompagnés de leur intervalle de confiance en prenant la culture positive comme test de référence.

Nous avons ensuite étudié les différences significatives entre les groupes « ICIN+ » et « ICIN- ». Pour cela, nous avons réalisé pour les variables qualitatives un test de Chi2 ou un test exact de Fisher lorsqu'un des effectifs était inférieur à 5 ; et un test de Mann-Whitney pour les variables quantitatives. Cette étude s'est déroulée avant janvier 2017 (Loi Jardé). L'information des familles s'est faite par voie d'affichage dans le CHU de Nantes, sans obligation de consentement écrit.

RESULTATS

1. Caractéristiques des patients inclus

Nous avons étudié 108 dossiers d'enfants dans les unités de réanimation pédiatrique, néonatale, soins intensifs et néonatalogie du CHU de Nantes en 2014-2015. D'une part, 62 enfants avaient des cultures mycologiques positives et parmi eux, 20 dossiers ont été retenus. D'autre part, 46 NN avaient eu une prescription de micafungine et 29 correspondaient aux critères d'inclusion (et deux étaient déjà inclus par les données de mycologie). Au total sur les 108 dossiers analysés, 58 suspicions d'infections ont été incluses correspondant à 49 NN différents. 6 nouveau-nés ont donc fait l'objet de plusieurs suspicions d'infection dans leur parcours. La **figure 1** représente le diagramme de flux de l'étude.

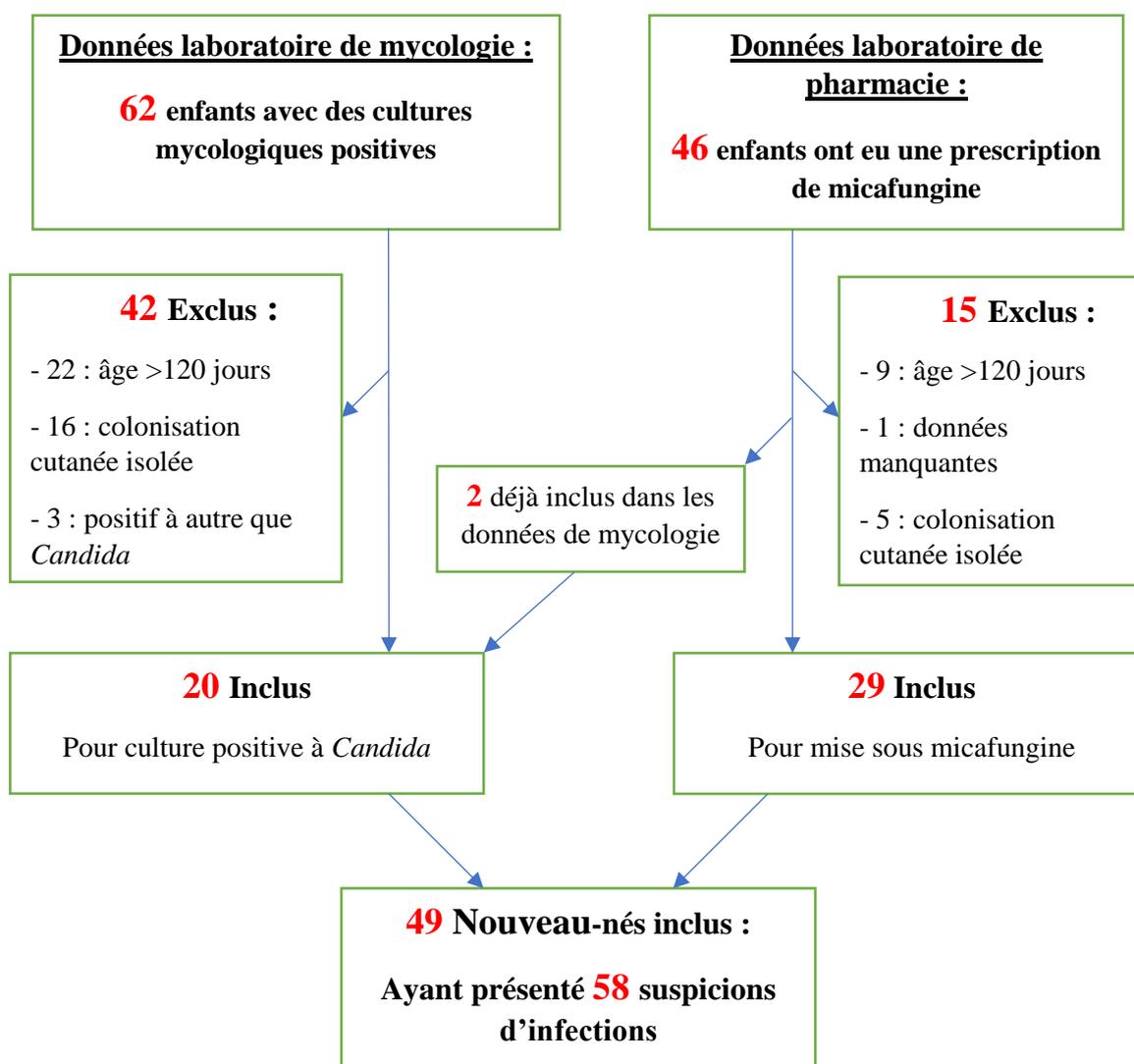


Figure 1 : Diagramme de flux : Dossiers analysés selon deux types de données : laboratoire de mycologie et pharmacie. Les nouveau-nés peuvent présenter plusieurs épisodes de suspicion d'infection au cours de leur parcours et donc être inclus plusieurs fois.

Les caractéristiques obstétricales et du parcours néonatal des nouveau-nés inclus sont représentées dans le **tableau 2**. Il s'agit d'une population d'extrêmes prématurés (terme médian 27 Semaines d'aménorrhées (SA)+5 jours (EIQ 25,4-30,8)) avec un très petit poids de naissance (poids médian 860g (EIQ 660-1460)), hospitalisés depuis plus d'une semaine (âge civil médian : 13,5 jours (EIQ 8-28,5)). Les NN étaient essentiellement hospitalisés pour leur prématurité et faisaient l'objet de thérapeutiques invasives : intubés et/ou porteur d'un cathéter veineux central pour la majorité.

Toutes les thérapeutiques utilisées sont recueillies dans le **tableau 3**. Ces traitements sont ceux connus dans la littérature comme étant des facteurs de risque d'infection candidosique invasive. Les données sont celles présentes au moment précis de la suspicion d'infection. La quasi-totalité de la population (97% (IC95 91-100)) a reçu des antibiotiques à large spectre et plus de la moitié (59% (IC 95 45-71)) était sous antibiotiques au moment de la suspicion d'infection. La moitié (53% (IC95 40-66)) ont été transfusés. Il est à noter que seule la corticothérapie à dose anti-inflammatoire donc à visée broncho-pulmonaire a été comptabilisée. Les doses à visée hémodynamique d'hémisuccinate d'hydrocortisone ayant un moindre effet sur le système immunitaire, n'ont pas été prises en compte. Un seul enfant avait bénéficié d'un traitement antiacide.

TABLEAU 2 : CARACTERISTIQUES DE LA POPULATION : HISTOIRE OBSTETRICALE ET NEONATALE

| Caractéristiques (N=) | Médiane [EIQ] / Proportion [IC95] |
|---|--|
| <u>Caractéristiques de Naissance (49)</u> | |
| Terme | 27SA+5jours [25,4-30,8] |
| Poids | 850 g [660-1460] |
| Mode d'accouchement : | |
| • Voie basse | 55% [41-69] |
| • Césarienne | 45 % [31-59] |
| Score d'Apgar médian | 7 [5-10] |
| Motif d'hospitalisation principaux (49) | |
| Terme <28 SA (25) | 51% [37-65] |
| Terme [28SA-32SA] (14) | 29% [15-41] |
| Anoxo-ischémie (3) | 6 % [0-13%] |
| <u>Caractéristiques lors de la suspicion d'ICIN (58)</u> | |
| Age civil | 13,5 jours [8-26,5] |
| Intubation | |
| Intubation en cours (35) | 60% [47-73] |
| Durée médiane d'intubation antérieure | 7 jours [3-15] |
| Durée médiane d'intubation totale | 22 jours [9-33] |
| Cathéter veineux central | |
| Cathéter en cours (44) | 76% [64-86] |
| Durée médiane de cathéter central antérieur | 11 jours [5-25] |
| Durée médiane de cathéter central totale | 37 jours [17,5-50,7] |
| Chirurgie (11) | |
| Cardiaque (5) | 9% [1-16] |
| Digestive (5) | 9% [1-16] |
| Cardiaque et digestive (1) | 2% [0-5] |

SA : semaines d'aménorrhées

EIQ : Espace interquartile (1^{er}-3^{ème} quartile)

ICIN : Infection candidosique invasive néonatale

IC 95 : intervalle de confiance à 95%

TABLEAU 3 : THERAPEUTIQUES UTILISEES

| Caractéristiques au moment de la suspicion d'infection (N=58) | Médiane [EIQ] / Proportion [IC95] |
|--|--|
| Nutrition parentérale (NP) | |
| Proportion ayant eu une NP (53) | 91% [83-99] |
| Durée médiane de NP exclusive en jours | 2 [1-4] |
| Transfusion | |
| Proportion d'enfants transfusés (31) | 53% [40-66] |
| Moyenne de transfusions par enfant | 1,4 [0,8-2] |
| Antibiothérapie | |
| Proportion ayant reçu des ATB (56) | 97% [91-100] |
| Proportion sous ATB au moment de l'épisode (34) | 59% [45-71] |
| Nombre moyen d'ATB différent par enfant | 2,6 [2,13-3,04] |
| Types d'ATB les plus fréquents : (N=148) | |
| • Céphalosporine de 3 ^{ème} génération (57) | 39% [25-51] |
| • Vancomycine (36) | 24% [13-35] |
| • Ticarcilline + Acide Clavulanique (15) | 10% [2-18] |
| • Aminosides (15) | 10% [2-18] |
| Durée moyenne par ATB : | 5,4 jours [3,87-6,12] |
| Corticothérapie à dose anti-inflammatoire (8) | 14% [5-23] |
| Posologie moyenne (en mg/kg) par enfant en équivalent prednisone | 5,8 |
| Anti-inflammatoires non stéroïdiens (ibuprofène) (28) | 48% [35-61] |

EIQ : Espace interquartile (1^{er}-3^{ème} quartile)

IC95 : Intervalle de Confiance à 95%

NP : Nutrition parentérale

NN : Nouveau-nés

ATB : Antibiotiques

2. Stratégie diagnostique en cas d'ICIN

Les enfants inclus ont par définition été suspects d'infection candidosique invasive à un ou plusieurs moments de leurs parcours. Cette suspicion a entraîné la réalisation d'examens biologiques (diagnostic différentiel), de prélèvements mycologiques (diagnostic positif et critère de jugement principal) et la mise en place d'un traitement probabiliste (micafungine ou autre). Rétrospectivement, les dossiers ont été analysés pour retrouver les symptômes évocateurs de cette suspicion d'infection motivant la réalisation de ces examens et/ou la mise sous traitement. Plusieurs signes ont pu être retrouvés pour un même épisode. Ainsi, les signes évocateurs les plus fréquents étaient les suivants :

- Dégradation hémodynamique (18) : 16% (IC95 6-26)
- Hyperleucocytose (18) : 16% (IC95 6-26)
- Signes cutanés (17) : 15% (IC95 6-24)
- Dégradation respiratoire (11) : 10% (IC95 2-18)
- Signes de choc septique (8) : 7% (IC95 0-14)
- Signes digestifs (8) : 7% (IC95 0-14)

Suite à ces signes, 88% (IC95 79-97) ont eu une biologie concomitante :

- NFS (51) : 88 % (IC95 19-97)
- CRP (44) : 76% (IC95 65-87)
- PCT (12) : 21 % (IC95 9-31)
- Hémoculture bactérienne (42) : 72% (IC95 60-84)

Concernant les cultures mycologiques qui établissent le diagnostic positif de l'ICIN, voici les prélèvements fongiques réalisés :

- Hémoculture mycologique (26) : 45% (IC95 32-58)
- Urines récoltées de manière non stérile, sur poche (48) : 83% (IC95 73-93)
Et 22 soit 26% (IC95 14-38) ont eu à la fois un prélèvement d'urines et une hémoculture.
- Selles (31) : 53% (IC95 40-66)
- Cutané (34) : 59% (IC95 45-71)
- Trachée (11) : 19% (IC95 9-29) des NN soit seulement 29% (IC95 13-43) des NN intubés.
- 11 NN soit 19 % (IC95 9-29) ont eu des prélèvements d'autres natures : péritoine (4), liquide gastrique (1), anus (1), bouche (1), nasal (2), LCR(1).

3 NN soit 5% (IC95 0-11) n'ont eu qu'une hémoculture comme prélèvement mycologique (associée à une hémoculture bactériologique).

3. Résultats principaux : cultures fongiques et classifications des ICIN

Le **tableau 4** représente les résultats mycologiques par site et la proportion de positivité des prélèvements pour chaque site. L'espèce de *Candida* le plus fréquemment retrouvé est le *Candida albicans* (88% des prélèvements) suivi de loin du *Candida parapsilosis* (6%). Dans notre étude, il n'y a eu aucune hémoculture ni aucune ponction lombaire positive. Il est à noter que 4 prélèvements trachéaux ont identifiés des bactéries et qu'un prélèvement péritonéal s'est révélé positif à levure non identifiable (donc non classable).

TABLEAU 4 : RESULTATS MYCOLOGIQUES

| | <i>CANDIDA ALBICANS</i> | <i>CANDIDA PARAPSILOSIS</i> | AUTRE/ PLUSIEURS TYPES DE <i>CANDIDA</i> | AUTRES ESPECES DE FONGIQUES | PROPORTION DE POSITIVITE | TOTAL DE POSITIVITE PAR SITE % IC95[] |
|--|-----------------------------|---------------------------------|---|--------------------------------------|-----------------------------|--|
| CUTANE | 11 | 1 | 0 | 0 | 12/34 | 35% [18-52] |
| SELLES | 15 | 1 | 1* | 1* | 17/31 | 55% [37-73] |
| URINES | 18 | 1 | 1** | 0 | 20/48 | 42% [28-58] |
| TRACHEE | 1 | 0 | 0 | 0 | 1/11 | 9% [0-28] |
| PERITOINE | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/4 | |
| LCR | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/1 | 0% |
| HEMOC | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/26 | 0% |
| TOTAL DE POSITIVITE PAR ESPECE (N=) | 45/51 | 3/51 | 2/51 | 1/51 | | |
| % IC95[] | 88% [79-97] | 6% [0-13] | 4% [0-10] | 2% [0-6] | | |

LCR : Liquide céphalo-rachidien, Hémoc : hémoculture mycologique. IC95 : Intervalle de confiance à 95%

*Selles positives à plusieurs *Candida* : *albicans* et *glabrata*. Selles positives autres que *Candida* : *Aspergillus*.

** Urines positives à plusieurs *Candida* : *albicans*, *parapsilosis* et *guilliermondii*.

Les résultats des cultures fongiques sont obtenus en 5 jours environ et ce délai est non négligeable. Ainsi, la question de la fiabilité de l'examen direct mycologique pour arrêter un traitement probabiliste par exemple, se pose. Le **tableau 5** représente la performance diagnostique des examens directs dans notre étude. Il en ressort que l'examen direct a une très bonne spécificité (97% IC95(91-99)). Cependant, sa sensibilité est mauvaise (41% IC95(29-54)) ce qui sous-entend un nombre de faux négatifs important ne permettant pas de conclure ou d'arrêter un traitement lorsque l'examen direct revient négatif. En effet, sur la totalité des examens directs réalisés, les rapports de vraisemblance positif et négatif sont respectivement de 15,6 (IC95(3,8-63,4)) et 0,6 [0,58-0,75]. Ce dernier chiffre signifie qu'il y a seulement 1,6 fois plus de chance d'obtenir un examen direct négatif lorsque l'enfant est ICIN- que lorsqu'il est ICIN+.

TABLEAU 5 : PERFORMANCE DIAGNOSTIQUE DES EXAMENS DIRECTS MYCOLOGIQUE

| | Sensibilité | Spécificité |
|-----------------------------|--------------------|--------------------|
| Type de prélèvements | % IC95 [] | % IC95 [] |
| Cutané | 46 [23-70] | 96% [81-99] |
| Urines sur poche | 32% [16-53] | 100% [90-100] |
| Selles | 48% [28-68] | 93% [70-99] |
| Total | 41% [29-54] | 97% [91-99] |

IC95 : Intervalle de confiance à 95%

Au total, la population a été classée selon les critères cliniques et les résultats des cultures en ICIN + et ICIN – (cf. *tableau 1*). Le **tableau 6** représente les effectifs et la proportion de chaque groupe. Il n’y a eu aucune infection prouvée dans notre étude. L’effectif du groupe ICIN- (N=34) était plus important que le groupe ICIN+ (N=24).

TABLEAU 6 : CLASSIFICATION DES PATIENTS SUR LEUR STATUT INFECTIEUX

| ICIN | PROUVEE | PROBABLE | POSSIBLE | TOTAL |
|----------|---------|--------------|-------------|-------|
| | ICIN + | | ICIN - | |
| Nombre | 0 | 24 | 34 | 58 |
| % IC95[] | 0 % | 41 % [38-54] | 59% [46-72] | 100% |

IC95 : Intervalle de confiance à 95%

Parmi le groupe d’ICIN-, 27 (79% (IC95 65-93)) ont eu un diagnostic différentiel : 21 infections nosocomiales bactériennes, 2 entérocolites ulcéro-nécrosantes médicales et 2 chirurgicales, 2 perfuso-péritoine. Dans le groupe ICIN+, 5 ont eu un diagnostic différentiel (2 infections bactériennes, 1 choc cardiogénique, 1 entérocolite médicale, 1 perforation digestive).

Au total, sur tous les enfants hospitalisés (N=1287) pendant la période de 2 ans (réanimation néonatale (N=712), soins intensifs néonatal (N=575)), 49 soit 3,8% (IC95 3-5) ont été suspects d’infection candidosique invasive. 24 enfants soit 1,9% (IC95 1-3) avaient une ICIN probable.

4. Traitements prophylactiques instaurés

Sur 56 enfants (2 données manquantes), 34 soit 61% (IC95 44-74) avaient bénéficié d’une prophylaxie antifongique par fluconazole et ce de manière conforme au protocole dans 100% des cas. Seulement 6 soit 10% (IC95 2-18) avait une infection fongique probable malgré la prophylaxie.

Sur les 22 enfants n’ayant pas reçu de prophylaxie, 18 soit 82% (IC95 65-99) ont présenté une infection probable (ICIN+). Parmi les 22 enfants sans prophylaxie, 6 soit 27% (IC95 7-47) faisaient moins de 1000g et auraient dû bénéficier de fluconazole selon le protocole. Chez 8 d’entre eux soit 36% (IC95 15-57), l’indication aurait pu se discuter car ils étaient porteurs à la fois d’une sonde d’intubation et d’un cathéter central et 1 avait un liquide gastrique positif à *Candida* ; 7 d’entre eux ont été ICIN+.

5. Stratégie thérapeutique probabiliste en cas d'ICIN

57 nouveau-nés soit 98% (IC95 94-100) ont eu un traitement antifongique probabiliste instauré :

- ➔ Micafungine (N=35) : 61% (IC95 48-74) des traitements instaurés à la posologie moyenne de 6,5 mg/kg/jour
- ➔ Fluconazole (N=21) : 37% (IC95 23-49) à la posologie moyenne de 9,2 mg/kg/jour.
- ➔ Amphotéricine B (N=1) soit 2% (IC95 0-6).

La répartition des traitements probabilistes en fonction de la prophylaxie antifongique est explicitée dans la **figure 2**. Il est à noter que des écarts au protocole nantais (essentiellement traitement par fluconazole lors d'une prophylaxie ou traitement par micafungine sans prophylaxie) sont retrouvés dans 25% des cas (IC95 13-37).

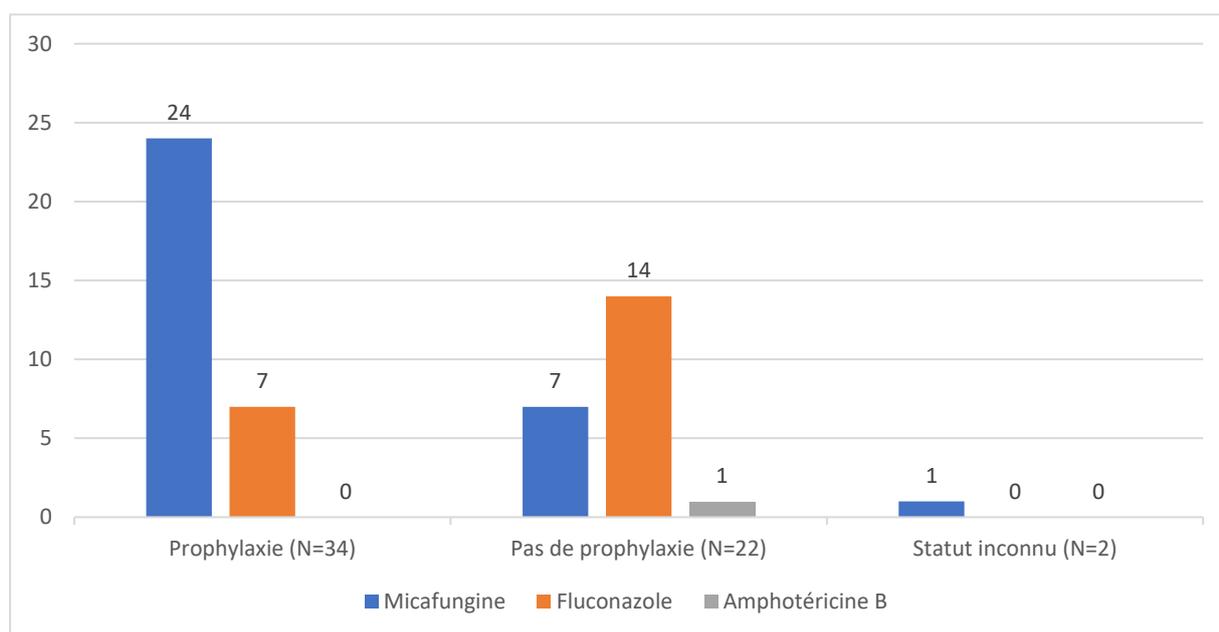


Figure 2 : Traitements probabilistes introduits selon le statut prophylactique.

La durée moyenne de traitement antifongique était de 14,5 jours avec parfois un changement de molécule. Dans le groupe ICIN-, 56% (IC95 39-73) ont eu un traitement poursuivi plus de 5 jours malgré leur classification dans le groupe. Le **tableau 7** montre la différence de stratégie thérapeutique observée entre les deux groupes. Les enfants ICIN-, avaient plus bénéficié d'une prophylaxie antifongique et avaient un traitement probabiliste moins long de manière statistiquement significative.

TABLEAU 7: TRAITEMENT ANTIFONGIQUE

| | ICIN + | ICIN - |
|--|-----------------|---------------|
| | n = 24 | n = 34 |
| | Moyenne / | Moyenne / |
| | % IC95% [] | % IC95% [] |
| Prophylaxie antifongique | 25% [7-43] * | 82% [69-95]* |
| Durée moyenne de traitement en jours | 24 [20,6-27,6]* | 8 [5,4- 9,7]* |
| Proportion de traitement interrompu à 5 jours | 0%* | 50% [32-68]* |

ICIN : Infection candidosique invasive néonatale ; IC95 : Intervalle de confiance à 95%

** $p < 0,05$: différence statistiquement significative*

6. Comparaison entre les deux groupes d'ICIN

Secondairement, nous avons comparés les critères cliniques et biologiques des enfants classés en infectés (ICIN+) et ceux non infectés (ICIN-) afin de voir si certains facteurs sont liés au risque d'infection candidosique. Les résultats sont retranscrits dans le **tableau 8**. Ainsi, les enfants ICIN- ont reçu significativement plus de prophylaxie que dans le groupe ICIN+.

Les facteurs suivants : terme, poids de naissance, intubation, transfusion, certains signes cliniques, l'hyperleucocytose et la mortalité, présentaient une différence significative dans les deux groupes ($p < 0,05$). Paradoxalement, dans notre étude, les NN non infectés étaient plus petits en terme et en poids de naissance, plus souvent intubés et transfusés. L'hyperleucocytose (signe d'appel fréquent pour les cliniciens) était significativement plus importante dans le groupe ICIN-. La mortalité était plus élevée dans le groupe ICIN- que dans le groupe ICIN+.

TABLEAU 8 : COMPARAISON DES CRITERES CLINICO- BIOLOGIQUES DANS LES DEUX GROUPES

| Variables | ICIN + (N=24) | ICIN – (N=34) | p |
|---|---|---|-----------------|
| | Médiane EIQ[] Pourcentage IC95% [] | Médiane EIQ[] Pourcentage IC95% [] | |
| Caractéristiques de naissance | N= 23 NN différents | N = 28 NN différents | |
| Terme médian (SA) | 30 EIQ [26,3-34,2] | 26 EIQ [24,9-28] | 0,001 |
| Poids médian (grammes) | 1450 EIQ [670-2375] | 783 EIQ[656-920] | 0,012 |
| Accouchement voie basse | 61 % IC95[20-82] | 61% IC95[42-80] | 0,72 |
| Caractéristiques néonatales | N=24 | N=34 | |
| Chirurgie néonatale | 17% IC95[4-30] | 21% IC95[6-34] | 1 |
| Durée médiane d'intubation (jours) | 5 EIQ [0,5-24,5] | 8 EIQ [3-13,8] | 0,37 |
| Proportion d'intubés | 29% IC95 [13-45] | 82% IC95 [69-95] | 0,0001 |
| Durée médiane de KTC (jours) | 7,5 EIQ [2,8-26,5] | 11 EIQ [8-25,5] | 0,38 |
| Proportion de porteurs de KTC | 46% IC95[29-63] | 97% IC95 [91-100] | 0,96 |
| Transfusion | 46% IC95[25-67] | 59% IC95[42-76] | 0,05 |
| Corticothérapie | 17% IC95[1-33] | 12%[1-23] | 0,7 |
| Signes cliniques évocateurs d'ICIN | | | |
| Hémodynamique | 5% IC95[0-14] | 20% IC95[6-34] | 0,0008 |
| Respiratoire | 2% IC95 [0-8] | 14% IC95[1-25] | 0,01 |
| Cutané | 20% IC95 [3-37] | 7% IC95[0-16] | 0,008 |
| Choc septique | 2% IC95[0-8] | 8% IC95[0-18] | 0,036 |
| Digestifs | 7% IC95[0-18] | 8% IC95[0-18] | 0,45 |
| Signes biologiques | | | |
| Hyperleucocytose (>20 G/L) | 24% IC95 [2-46] | 62% IC95[45-79] | 0,017 |
| Thrombopénie (<150 G/L) | 13% IC95[0-32] | 30% IC95 [13-47] | 0,28 |
| CRP élevée (>20 mg/L) | 46% IC95[16-76] | 26% IC95[10-42] | 0,37 |
| Traitement prophylactique | 25% IC95 [7-43] | 82% IC95 [69-95] | 0,000005 |
| Mortalité | 8% IC95 [0-19] | 35% IC95[18-52] | 0,027 |

ICIN : Infection candidosique invasive néonatale ; EIQ : Espace interquartile (1^{er}-3^{ème} quartile) ; IC95% : Intervalle de confiance à 95%, SA : Semaines d'aménorrhées, KTC : cathéter central.

DISCUSSION

Au total, nous avons montré que l'infection candidosique invasive néonatale était un événement rare. En effet, sur deux ans au CHU de Nantes, 58 suspicions d'infections ont été incluses correspondant à 49 enfants différents. L'incidence de l'ICIN prouvée (N=0) était de 0% et celle de l'ICIN probable (N=24) de 1,9%. Ces données ne concordent pas avec les incidences variables retrouvées dans la littérature (2,5,6,21), l'infection est plus rare dans notre étude au CHU de Nantes. Ceci peut s'expliquer par la pratique d'une prophylaxie systématique avec des indications plus larges que les recommandations américaines notamment. Par ailleurs, une durée d'étude plus longue aurait possiblement permis d'ajuster cette incidence. L'ICIN concerne les extrêmes prématurés (terme médian : 27SA+5 jours), de faible poids de naissance (poids médian 860g), ayant reçus des antibiotiques à large spectre (97%) et une nutrition parentérale (91%) pour la quasi-totalité. Ces nouveau-nés sont majoritairement intubés (60%) et porteurs d'un cathéter veineux central (76%) (du fait de leur petit poids et de leur prématurité). Ces éléments sont concordants avec les facteurs de risques d'ICIN identifiés dans la littérature (2,3,5,8,13,16,21–24). Le protocole indique la nécessité de retrait du cathéter veineux central (ombilical ou épicutanéocave) en cas de candidémie. Ces recommandations pourraient être élargies systématiquement aux candiduries (hémocultures mycologiques souvent faussement négatives). Nous pourrions également discuter la nécessité de changement de la sonde d'intubation et de la sonde urinaire, non mentionné dans le protocole. L'espèce de *Candida* le plus fréquemment identifié était le *Candida albicans* (88%) bien devant le *Candida parapsilosis* (6%). Même si l'ordre de fréquence des *Candida* est conforme aux études de la littérature, la répartition n'est pas tout à fait la même variant entre 42 et 62% pour le *Candida albicans* et 20 à 35% pour le *Candida parapsilosis* suivi du *Candida tropicalis* (13,21,23–26). La stratégie diagnostique employée par les cliniciens consistait en des prélèvements mycologiques souvent incomplets associés à une biologie standard (88%) (recherche de diagnostic différentiel notamment bactérien). La proportion d'enfants ayant une hyperleucocytose était significativement moins élevée dans le groupe ICIN+ que dans le groupe ICIN- ($p=0,017$). En effet, environ 40% des enfants présentant une candidose invasive ont une NFS normale (13,15,26). La proportion d'enfants sous prophylaxie était significativement plus importante dans le groupe ICIN- que dans le groupe ICIN+ ($p=0,0000005$) et seulement 6% des enfants sous prophylaxie ont été classés « infectés ». Ces éléments représentent des arguments forts en faveur de l'efficacité du fluconazole comme prophylaxie en néonatalogie, montrée largement dans la littérature (3,27–32), d'où sa recommandation à l'échelle européenne et américaine (8,11,16). Parmi ceux qui n'avaient pas reçu de prophylaxie, 27% en

avait les indications. La stratégie thérapeutique probabiliste ne respectait pas non plus le protocole local dans 25% des cas. La micafungine était l'antifongique le plus largement prescrit (61%). Ce résultat s'explique possiblement par le fait que lors d'une forte suspicion d'ICIN, le prescripteur aurait tendance à prescrire de la micafungine devant une impression de meilleure efficacité par rapport au fluconazole et ce, malgré le statut prophylactique de l'enfant.

Nous avons étudié les stratégies diagnostiques et thérapeutiques employées en pratique clinique, c'est-à-dire le choix des prélèvements biologiques et mycologiques et du traitement probabiliste et de sa durée. Ceci constitue le caractère innovant de ce travail : avoir une idée de la réalité au niveau local de l'incidence de la maladie, de la mise en pratique des cliniciens du protocole et de comparer par la suite ces pratiques aux recommandations internationales. Les données recueillies sont objectives et chiffrées et ne nécessitent pas d'interrogation du clinicien ou du patient évitant les biais de mémorisation.

Par ailleurs, il y a plusieurs limites à notre étude. D'abord, le caractère rétrospectif de l'étude entraîne quelques données manquantes obligatoires. Pour éviter les biais, les enfants présentant des données manquantes sur le critère de jugement principal ont été exclus. Une des limites les plus notables de l'étude est en rapport avec la taille de l'échantillon compte tenu du caractère très rare de cette pathologie. Les modalités d'inclusion des patients constituent aussi un possible biais de sélection. Sur les données de la pharmacie, seules les prescriptions de micafungine ont été sélectionnées excluant tous les autres antifongiques. Ce biais est limité par le fait que la majorité des enfants suspects d'infection ont des facteurs de risque et sont donc sous prophylaxie. Ainsi, le traitement de première intention était la micafungine selon le protocole nantais (*cf. Annexe 1*). Pour être plus complet, il aurait fallu également inclure les prescriptions d'amphotéricine B et de fluconazole correspondant aux recommandations actuelles (11,16) mais cela manquait de faisabilité (médicament sans ordonnance nominative, prescription large notamment dans l'indication de la prophylaxie). Par ailleurs, il existe un biais de classification. Dans les études concernant les ICIN, ceci constitue un problème majeur. En effet, il n'existe pas de classification standardisée, limitant ainsi l'analyse et la comparaison des études de la littérature internationale. Ceci s'explique par les négativité des hémocultures (dans 50 à 75% des cas) et même des cultures fongiques dans les ICIN (8,11,17,33) ne permettant pas d'avoir une classification binaire type « infecté » / « non-infecté ». Pour exemple, des études récentes classent leurs patients (critère de jugement principal) de manière variée, explicitée dans le **tableau 9**.

TABLEAU 9 : CLASSIFICATION DES ICIN SELON LES ETUDES DANS LA LITTERATURE

| ETUDES Auteur, année | ICIN prouvée | ICIN probable | ICIN possible | ICIN éliminée |
|--|---|---|---|--|
| Benjamin DK, 2010 (2) | Liquide stérile + (dont péritoine) | 0 | 0 | Liquide stérile - |
| Mackay, 2011 (19) | Liquide stérile + | - >3 FDR, - colonisation + - et >1 anomalie biologiques | - >3 FDR, - colonisation - - >2 anomalies biologiques | - >3 FDR, - colonisation - - Pas d'anomalies biologiques |
| Goudjil, 2013 (35) | - Hémoculture + - Liquide stérile + - Candidose rénale (urines + et « fungus ball » échographique) - LCR positif | 0 | 0 | Signes d'infection et culture de sites stériles négatives |
| Zhao, 2015 (33) | -Hémoculture mycologique + | 0 | 0 | Hémoculture mycologique - |
| Angebault, 2016 (36) <i>Adultes et enfants</i> | - Liquide stérile + - Biopsie + | 0 | Atteinte hépatosplénique | 0 |
| Cornu, 2017 (37) | Liquide stérile + | Traitement par antifongiques plus de 5 jours, ET colonisation (urines ou digestive) ET Signes cliniques ou biologiques de sepsis | | 0 - Pas de colonisation fongique |
| Ramos, 2017 « CANDINEO » (6) | - Liquide stérile + - Autopsie + - Atteinte au Fond d'œil - Atteinte à l'échographie rénale | - Pas d'ICIN prouvée - Amélioration sous traitement antifongique - Et/ou critères cliniques et évolution compatibles -Et/ou endocardite fongique à L'ETT, micro abcès à l'ETF, - ET colonisation (urines, selles) OU diagnostic dermatologique OU thrombopénie OU pyélonéphrite | | 0 0 |

FDR : Facteurs de Risque ; ETT : Echographie cardiaque trans thoracique, ETF :

Echographie Trans Fontanelle.

+ : positif, - : négatif.

Dans ce tableau, nous pouvons voir la diversité des classifications utilisées. Ainsi, alors que certaines études s'en tiennent aux critères stricts de définition de l'ICIN prouvée (liquides stériles de l'organisme positifs) (2,19,33,34), d'autres incluent les atteintes de candidose disséminée (au fond d'œil et/ou à l'échographie rénale) (6,35). Les critères d'infections probables ou possibles sont études-dépendants et prennent en compte dans la majorité des cas la colonisation, mais parfois aussi les facteurs de risques (19), les signes cliniques (6,34) (voire le diagnostic dermatologique authentifié (6)), les signes biologiques (19,34), ou encore les signes d'infection à l'échographie cardiaque (ETT) ou transfontanellaire (6). Pour notre étude, afin de limiter ce biais, nous avons choisi d'utiliser la classification la plus consensuelle possible en reprenant les critères de l'EORTC/MSG modifiés, adaptés à la population néonatale (cf. *Annexe 2*). L'existence d'un diagnostic différentiel expliquant la dégradation clinique dans 79% des cas d'ICIN-, représente un argument en faveur d'une classification correcte. Cependant, les 56% de traitements poursuivis chez les ICIN- témoignent de l'incertitude du clinicien. Ainsi, il serait nécessaire de définir de manière formelle les critères d'ICIN (spécifique à cette population). Le recueil des urines de manière non stérile (sur poche) empêche de classer les patients en ICIN prouvée. En effet, parmi les prélèvements urinaires positifs sur poche, il y a possiblement des infections candidosiques invasives certaines. Nous pourrions discuter de la vérification de ces prélèvements positifs par un sondage ou un prélèvement de milieu de jet, mais le caractère invasif de ce premier mode de prélèvement et l'absence de modifications sur la prise en charge constituent des arguments majeurs en défaveur.

En ce qui concerne la stratégie diagnostique, il n'existe pas de recommandations spécifiques à la population néonatale (recommandations adultes (17)) en dehors de la réalisation d'une ponction lombaire en cas de prélèvement urinaire et/ou d'hémoculture positifs (8,11). Cette stratégie n'a été adoptée dans aucun des prélèvements urinaires positifs. Ceci peut s'expliquer une nouvelle fois par le mode de prélèvement des urines (sur poche) qui a tendance à entraîner des faux positifs, notion pouvant rassurer faussement le clinicien sur le caractère non invasif de l'infection. La ponction lombaire pourrait être réalisée plus souvent étant donné la fréquence de la fausse négativité des hémocultures (50 à 75%) et même des cultures dans les ICIN (8,11,17,37). Les prélèvements des autres sites (cutanés, selles trachées) peuvent constituer un argument en faveur du diagnostic mais ne sont ni nécessaires ni suffisant (colonisation). Ainsi, la stratégie diagnostique et les critères de classification d'ICIN manquent crucialement de recommandations spécifiques aux populations néonatales, nous obligeant à utiliser celles des adultes modifiées (17,18).

Dans notre étude, la stratégie thérapeutique adoptée n'est pas totalement conforme ni aux recommandations internationales ni même au protocole Nantais. D'une part, 27% des enfants sans prophylaxie auraient dû en bénéficier selon le protocole local. Sur ces mêmes enfants, 8 soit 36% étaient porteurs à la fois d'une sonde d'intubation et d'un cathéter central et 7 d'entre eux ont été ICIN+. Ceci pose la question, au vu de l'efficacité de la prophylaxie prouvée dans les études néonatales (3,28–32), d'élargir les indications de celle-ci. Une enquête européenne montrait que seulement 55% des centres utilisaient la prophylaxie essentiellement par fluconazole (92%). Les réticences à son utilisation étaient liées à l'absence de recommandations par les sociétés pédiatriques et à la crainte de l'émergence de résistance (38). Cependant, les études s'accordent sur le fait, qu'aux posologies utilisées, la prophylaxie par fluconazole n'entraîne pas d'augmentation significative des espèces de *Candida* résistantes (29,31,39–42). Cette résistance apparaît à des doses plus élevées ou plus fréquentes (>6mg/kg ou administration quotidienne) (42). Il n'y a pas non plus d'augmentation des effets indésirables notamment hépatiques (cholestase) et digestifs (perforation, entérocolite) ou d'effet sur le neurodéveloppement et la qualité de vie à long terme (43) de cette utilisation (28,29,31,32). La posologie recommandée est de 3mg/kg à une fréquence bi-hebdomadaire (aussi efficace et moins toxique que 6mg/kg (44)). Le protocole nantais, tenant compte des facteurs de risque si le poids de naissance (PN) est supérieur à 1000g, présente cependant déjà des indications plus larges de prophylaxie que celles des recommandations américaines (poids de naissance < 1000g strict) (8,11) (*cf. Annexe 5*). Les recommandations européennes (16), mettent une nuance en rajoutant une indication au cas par cas chez les plus de 1000g de PN ayant des facteurs de risque (cathéter veineux central, antibiothérapie large spectre telles que C3G ou carbapénèmes). Il convient alors de réfléchir à l'intérêt d'appliquer cette recommandation plus largement. Il serait intéressant de comparer l'incidence de l'ICIN dans des centres européens selon leurs applications de ces recommandations. Aussi, la nystatine et la lactoferrine bovine étant également recommandées que ce soit au niveau européen ou au niveau américain, nous pouvons nous poser la question de l'indication de ces molécules chez ces nouveau-nés de plus de 1000g avec facteurs de risque. D'autre part, le traitement curatif probabiliste employé n'était pas non plus conforme au protocole dans 25% des cas. Ceci peut s'expliquer par le degré de suspicion clinique du prescripteur influençant probablement son choix de molécule. La micafungine est l'antifongique de choix au CHU de Nantes lorsque le NN est sous prophylaxie alors qu'il est toujours cité en 2^{ème} voire en 3^{ème} intention dans les recommandations après l'amphotéricine B desoxycholate et l'amphotéricine B liposomale (8,11,16); même si pour l'ESCMID les données en néonatalogie sont pauvres. La société américaine de maladies infectieuses précise que les ecchinocandines (classe de la micafungine) doivent avoir un usage limité et réservé aux

situations de contre-indications ou de résistance à l'amphotéricine B ou au fluconazole. La posologie de la micafungine est variable : 2-4 mg/kg/jour (recommandations américaines) ou 4-10 mg/kg/jour (recommandations européennes). En l'absence de prophylaxie, le fluconazole est cependant bien le premier traitement à mettre en place y compris dans les recommandations ; mais les doses utilisées au CHU de Nantes sont moins importantes (10mg/kg versus 12mg/kg dans les recommandations avec plus ou moins une dose de charge) (*cf. Annexe 6*). Nous pourrions alors actualiser notre protocole pour un traitement par amphotéricine B en première intention conformément aux recommandations, ou fluconazole en l'absence de prophylaxie, à des posologies plus élevées.

Dans notre étude, les caractéristiques des enfants inclus dans les deux groupes ICIN+ et ICIN- sont significativement différentes, mais contraires aux données attendues selon les facteurs de risque déjà connus dans la littérature (2,3,13). Ceci s'explique par le fait que les populations ne sont pas comparables en termes d'exposition au traitement prophylactique. Les enfants ICIN- sont significativement plus sous prophylaxie, ce qui correspond donc à des enfants plus petits en terme et en poids et faisant l'objet de plus de thérapeutiques invasives. Ainsi, comme dans plusieurs articles de la littérature, ceci souligne l'efficacité de la prophylaxie dans les ICIN (3,28–32). Dans la comparaison des deux groupes, il paraît important de souligner que l'hyperleucocytose est significativement plus élevée dans le groupe ICIN- que dans le groupe ICIN+. Alors, cette anomalie biologique ne devrait pas orienter vers le caractère fongique d'une infection, or cela était souvent un point d'appel mentionné dans le dossier justifiant les prélèvements et/ou la mise sous traitement. L'hyperleucocytose dans le groupe ICIN-, s'explique par les infections bactériennes retrouvées comme diagnostics différentiels dans plus de la moitié des cas. Il n'existe pas actuellement d'arbre diagnostique permettant de raisonner face à une hyperleucocytose néonatale. Ce travail pourrait être intéressant afin de hiérarchiser les hypothèses diagnostiques. En effet d'autres causes responsables d'hyperleucocytose majeure sont décrites dans la littérature (corticothérapie anténatale, réaction leucémoïde sans cause identifiée, infections, trisomie 21, chorioamniotite) (45,46).

Actuellement, le diagnostic clinique d'ICIN est difficile chez le nouveau-né prématuré car les symptômes et les signes clinico- biologiques sont aspécifiques. En effet, selon l'étude de *Benjamin DK en 2010* (2), dans une population de prématurés de très faible poids de naissance suspects de sepsis, un score prédictif combinant les différents facteurs de risque est plus performant que l'évaluation du clinicien (2). Actuellement, le diagnostic est suspecté devant une combinaison de signes cliniques et paracliniques (13,15). Ces signes sont également retrouvés lors des sepsis bactériens, diagnostic différentiel principal ou lors d'autres décompensations de pathologies. Le diagnostic définitif repose alors sur l'identification

fongique dans un liquide biologique stérile (8). Il est à noter que 50 % des hémocultures mycologiques sont négatives même en présence d'un vrai sepsis à *Candida albicans* (8). Tous ces arguments font que certaines infections restent possibles et ne sont jamais classées pour le clinicien qui continue à les traiter. En effet, dans notre étude, 76% des ICIN- ont eu un diagnostic différentiel d'infection bactérienne qui aurait dû motiver l'arrêt du traitement antifongique probabiliste. Cependant, 56% des ICIN- ont un traitement antifongique poursuivi (devant l'absence d'élimination du diagnostic) ce qui entraîne une toxicité et un coût non négligeables. Il serait nécessaire de trouver une méthode peu invasive permettant d'aider à identifier le statut infectieux des patients. Le marqueur (1-3) - β -D-glucan est un antigène, composant de la membrane du champignon, non spécifique du *Candida* (8). Plusieurs études ont montré son intérêt dans le diagnostic de l'infection fongique invasive chez l'adulte (plus précoce) (11,16,47,48) notamment pour aider dans le diagnostic des 50% d'hémocultures faussement négatives (11,36,37). Ainsi le dosage du (1-3) - β -D-glucan est même recommandé en cas de suspicion de candidose invasive chez l'adulte (17). Des études ont été réalisées sur des populations néonatales et montrent une sensibilité variable entre 68% et 100% pour une spécificité entre 71% et 100% (6,19,20,33,35,49). Cependant, certaines montrent une fausse positivité du marqueur en cas de transfusion (50), d'utilisation d'immunoglobulines ou de certains antibiotiques large spectre par exemple (11,50–52). Il serait intéressant d'étudier la performance diagnostique du test sur notre population et de voir si ce test est applicable aux enfants transfusés ou sous antibiotiques afin d'améliorer nos pratiques diagnostiques et par la suite thérapeutiques. Probablement, ce biomarqueur à lui seul ne permettra pas de faire le diagnostic mais pourra rentrer dans le cadre d'un raisonnement avec une combinaison d'arguments qu'il conviendrait de mettre en place pour améliorer nos pratiques.

CONCLUSION

Par rapport aux données d'incidence disponibles dans la littérature, l'infection candidosique invasive néonatale est devenue rare en 2014-2015 dans une population de nouveau-nés prématurés bénéficiant d'une prophylaxie par fluconazole. Des difficultés existent dans la définition de l'infection candidosique invasive néonatale, rendant complexe les comparaisons des études et des essais cliniques déjà rares en néonatalogie. Des perspectives de stratification du risque d'infection candidosique sont d'actualité avec un nouveau biomarqueur, le (1-3) - β -D-glucan qui pourrait constituer une aide pour le clinicien dans la décision de traitement des nouveau-nés suspects d'ICIN chez qui de nombreux traitements probabilistes inutiles sont aujourd'hui initiés pour des durées prolongées.

BIBLIOGRAPHIE :

1. 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*. août 2002;110(2 Pt 1):285-91.
2. Benjamin DK, Stoll BJ, Gantz MG, Walsh MC, Sánchez PJ, Das A, et al. Neonatal candidiasis: epidemiology, risk factors, and clinical judgment. *Pediatrics*. oct 2010;126(4):e865-873.
3. Aliaga S, Clark RH, Laughon M, Walsh TJ, Hope WW, Benjamin DK, et al. Changes in the incidence of candidiasis in neonatal intensive care units. *Pediatrics*. févr 2014;133(2):236-42.
4. Brissaud O, Tandonnet O, Guichoux J. [Invasive candidiasis in neonatal intensive care units]. *Arch Pediatr Organe Off Soc Francaise Pediatr*. mai 2011;18 Suppl 1:S22-32.
5. al CC et. The association of third-generation cephalosporin use and invasive candidiasis in extremely low birth-weight infants. - PubMed - NCBI [Internet]. [cité 22 oct 2017]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=cotten+pediatrics+2006+association+third+generation>
6. Ramos JT, Villar S, Bouza E, Bergon-Sendin E, Perez Rivilla A, Collados CT, et al. Performance of a Quantitative PCR-Based Assay and Beta-d-Glucan Detection for Diagnosis of Invasive Candidiasis in Very-Low-Birth-Weight Preterm Neonatal Patients (CANDINEO Study). *J Clin Microbiol*. sept 2017;55(9):2752-64.
7. Adams-Chapman I, Bann CM, Das A, Goldberg RN, Stoll BJ, Walsh MC, et al. Neurodevelopmental Outcome of Extremely Low Birth Weight Infants with Candida Infection. *J Pediatr*. oct 2013;163(4):961-967.e3.
8. Candidiasis | Red Book® 2015 | Red Book Online | AAP Point-of-Care-Solutions [Internet]. [cité 30 mars 2017]. Disponible sur: <https://redbook.solutions.aap.org/chapter.aspx?sectionid=88187116&bookid=1484>
9. Friedman S, Richardson SE, Jacobs SE, O'Brien K. Systemic Candida infection in extremely low birth weight infants: short term morbidity and long term neurodevelopmental outcome. *Pediatr Infect Dis J*. juin 2000;19(6):499-504.
10. ASCHER SB, SMITH PB, WATT K, BENJAMIN DK, COHEN-WOLKOWIEZ M, CLARK RH, et al. Antifungal Therapy and Outcomes in Infants with Invasive Candida Infections. *Pediatr Infect Dis J*. mai 2012;31(5):439-43.
11. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, Clancy CJ, Marr KA, Ostrosky-Zeichner L, et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 15 févr 2016;62(4):e1-50.
12. Mittal M, Dhanireddy R, Higgins RD. Candida sepsis and association with retinopathy of prematurity. *Pediatrics*. avr 1998;101(4 Pt 1):654-7.

13. Kelly MS, Benjamin DK, Smith PB. The epidemiology and diagnosis of invasive candidiasis among premature infants. *Clin Perinatol*. mars 2015;42(1):105-117, viii-ix.
14. Stoll BJ, Hansen NI, Adams-Chapman I, Fanaroff AA, Hintz SR, Vohr B, et al. Neurodevelopmental and growth impairment among extremely low-birth-weight infants with neonatal infection. *JAMA*. 17 nov 2004;292(19):2357-65.
15. Manzoni P, Mostert M, Castagnola E. Update on the management of *Candida* infections in preterm neonates. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. sept 2015;100(5):F454-459.
16. Hope WW, Castagnola E, Groll AH, Roilides E, Akova M, Arendrup MC, et al. ESCMID* guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: prevention and management of invasive infections in neonates and children caused by *Candida* spp. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. déc 2012;18 Suppl 7:38-52.
17. Cuenca-Estrella M, Verweij PE, Arendrup MC, Arikan-Akdagli S, Bille J, Donnelly JP, et al. ESCMID* guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: diagnostic procedures. *Clin Microbiol Infect*. 1 déc 2012;18:9-18.
18. De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards JE, Calandra T, et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 15 juin 2008;46(12):1813-21.
19. Mackay CA, Ballot DE, Perovic O. Serum 1,3- β D-Glucan assay in the diagnosis of invasive fungal disease in neonates. *Pediatr Rep [Internet]*. 16 juin 2011 [cité 28 août 2016];3(2). Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3133496/>
20. Liu Y, Chen F, Zhu X, Shen L, Zhang SX. Evaluation of a Novel Plasma (1,3)- β -d-Glucan Detection Assay for Diagnosis of Candidemia in Pediatric Patients. *J Clin Microbiol*. sept 2015;53(9):3017-20.
21. Feja KN, Wu F, Roberts K, Loughrey M, Nesin M, Larson E, et al. Risk factors for candidemia in critically ill infants: a matched case-control study. *J Pediatr*. août 2005;147(2):156-61.
22. Benjamin DK, DeLong ER, Steinbach WJ, Cotton CM, Walsh TJ, Clark RH. Empirical therapy for neonatal candidemia in very low birth weight infants. *Pediatrics*. sept 2003;112(3 Pt 1):543-7.
23. López Sastre JB, Coto Cotallo GD, Fernández Colomer B, Grupo de Hospitales Castrillo. Neonatal invasive candidiasis: a prospective multicenter study of 118 cases. *Am J Perinatol*. avr 2003;20(3):153-63.
24. Charsizadeh A, Mirhendi H, Nikmanesh B, Eshaghi H, Makimura K. Microbial epidemiology of candidaemia in neonatal and paediatric intensive care units at the Children's Medical Center, Tehran. *Mycoses*. 5 sept 2017;
25. Agarwal RR, Agarwal RL, Chen X, Lua JL, Ang JY. Epidemiology of Invasive Fungal Infections at Two Tertiary Care Neonatal Intensive Care Units Over a 12-Year Period (2000-2011). *Glob Pediatr Health*. 2017;4:2333794X17696684.

26. Makhoul IR, Kassis I, Smolkin T, Tamir A, Sujov P. Review of 49 neonates with acquired fungal sepsis: further characterization. *Pediatrics*. janv 2001;107(1):61-6.
27. Parikh TB, Nanavati RN, Patankar CV, Rao S, Bisure K, Udani RH, et al. Fluconazole prophylaxis against fungal colonization and invasive fungal infection in very low birth weight infants. *Indian Pediatr*. nov 2007;44(11):830-7.
28. Cleminson J, Austin N, McGuire W. Prophylactic systemic antifungal agents to prevent mortality and morbidity in very low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 24 oct 2015;(10):CD003850.
29. Zhang J, Chen C. [Meta-analysis of the efficacy and safety of fluconazole in prophylaxis of fungal infection in very low birth weight infants]. *Zhonghua Er Ke Za Zhi Chin J Pediatr*. déc 2009;47(12):891-7.
30. Uko S, Soghier LM, Vega M, Marsh J, Reinersman GT, Herring L, et al. Targeted short-term fluconazole prophylaxis among very low birth weight and extremely low birth weight infants. *Pediatrics*. avr 2006;117(4):1243-52.
31. Leibovitz E. Strategies for the prevention of neonatal candidiasis. *Pediatr Neonatol*. avr 2012;53(2):83-9.
32. Kaufman DA, Morris A, Gurka MJ, Kapik B, Hetherington S. Fluconazole prophylaxis in preterm infants: a multicenter case-controlled analysis of efficacy and safety. *Early Hum Dev*. mars 2014;90 Suppl 1:S87-90.
33. Zhao D, Qiu G, Luo Z, Zhang Y. Platelet Parameters and (1, 3)- β -D-Glucan as a Diagnostic and Prognostic Marker of Invasive Fungal Disease in Preterm Infants. *PLoS ONE* [Internet]. 13 avr 2015 [cité 31 mars 2017];10(4). Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4395423/>
34. Cornu M, Goudjil S, Kongolo G, Leke A, Poulain D, Chouaki T, et al. Evaluation of the (1,3)- β -D-glucan assay for the diagnosis of neonatal invasive yeast infections. *Med Mycol*. 24 mars 2017;
35. Goudjil S, Kongolo G, Dusol L, Imestouren F, Cornu M, Leke A, et al. (1-3)- β -D-glucan levels in candidiasis infections in the critically ill neonate. *J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet*. janv 2013;26(1):44-8.
36. Angebault C, Lanternier F, Dalle F, Schrimpf C, Roupie A-L, Dupuis A, et al. Prospective Evaluation of Serum β -Glucan Testing in Patients With Probable or Proven Fungal Diseases. *Open Forum Infect Dis*. sept 2016;3(3):ofw128.
37. Clancy CJ, Nguyen MH. Finding the « missing 50% » of invasive candidiasis: how nonculture diagnostics will improve understanding of disease spectrum and transform patient care. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. mai 2013;56(9):1284-92.
38. Kaguelidou F, Pandolfini C, Manzoni P, Choonara I, Bonati M, Jacqz-Aigrain E. European survey on the use of prophylactic fluconazole in neonatal intensive care units. *Eur J Pediatr*. mars 2012;171(3):439-45.

39. Manzoni P, Leonessa M, Galletto P, Latino MA, Arisio R, Maule M, et al. Routine use of fluconazole prophylaxis in a neonatal intensive care unit does not select natively fluconazole-resistant *Candida* subspecies. *Pediatr Infect Dis J*. août 2008;27(8):731-7.
40. Kicklighter SD, Springer SC, Cox T, Hulsey TC, Turner RB. Fluconazole for prophylaxis against candidal rectal colonization in the very low birth weight infant. *Pediatrics*. févr 2001;107(2):293-8.
41. al HC et. Fluconazole prophylaxis in extremely low birth weight neonates reduces invasive candidiasis mortality rates without emergence of fluconazole-resist... - PubMed - NCBI [Internet]. [cité 19 oct 2017]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18381534>
42. Kaufman DA, Manzoni P. Strategies to Prevent Invasive Candidal Infection in Extremely Preterm Infants. *Clin Perinatol*. 1 sept 2010;37(3):611-28.
43. Kaufman DA, Cuff AL, Wamstad JB, Boyle R, Gurka MJ, Grossman LB, et al. Fluconazole prophylaxis in extremely low birth weight infants and neurodevelopmental outcomes and quality of life at 8 to 10 years of age. *J Pediatr*. mai 2011;158(5):759-765.e1.
44. Leonart LP, Tonin FS, Ferreira VL, Tavares da Silva Penteado S, de Araújo Motta F, Pontarolo R. Fluconazole Doses Used for Prophylaxis of Invasive Fungal Infection in Neonatal Intensive Care Units: A Network Meta-Analysis. *J Pediatr*. juin 2017;185:129-135.e6.
45. Sushanth, Avabratha KS, Tauro KJ, Shwethadri GK. Hyperleukocytosis in a neonate: A diagnostic dilemma. *Indian J Med Paediatr Oncol Off J Indian Soc Med Paediatr Oncol*. 2010;31(3):86-8.
46. Jansen E, Emmen J, Mohns T, Donker A. Extreme hyperleucocytosis of the premature. *BMJ Case Rep* [Internet]. 20 avr 2013 [cité 22 oct 2017];2013. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3644941/>
47. Lagunes L, Rello J. Invasive candidiasis: from mycobiome to infection, therapy, and prevention. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol*. août 2016;35(8):1221-6.
48. Tissot F, Lamothe F, Hauser PM, Orasch C, Flückiger U, Siegemund M, et al. β -glucan antigenemia anticipates diagnosis of blood culture-negative intraabdominal candidiasis. *Am J Respir Crit Care Med*. 1 nov 2013;188(9):1100-9.
49. Montagna MT, Coretti C, Lovero G, De Giglio O, Montagna O, Laforgia N, et al. Diagnostic Performance of 1 \rightarrow 3- β -d-Glucan in Neonatal and Pediatric Patients with Candidemia. *Int J Mol Sci*. 14 sept 2011;12(9):5871-7.
50. Goudjil S, Chazal C, Moreau F, Leke A, Kongolo G, Chouaki T. Blood product transfusions are associated with an increase in serum (1-3)-beta-d-glucan in infants during the initial hospitalization in neonatal intensive care unit (NICU). *J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet*. 8 juin 2016;1-5.

51. Koo S, Bryar JM, Page JH, Baden LR, Marty FM. Diagnostic performance of the (1-->3)-beta-D-glucan assay for invasive fungal disease. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 1 déc 2009;49(11):1650-9.
52. Liss B, Cornely OA, Hoffmann D, Dimitriou V, Wisplinghoff H. 1,3-β-D-Glucan contamination of common antimicrobials. *J Antimicrob Chemother.* avr 2016;71(4):913-5.

ANNEXES :

Annexe 1 : Protocole nantais sur les infections fongiques néonatales *actualisation 2013*

Traitement Prophylactique

◇ Indications :

→ Pn < 1000 grammes

→ Pn > 1000 grammes intubé et/ou KTcentral + liquide gastrique positif à Candida

◇ Posologie :

3mg/kg de Fluconazole (Triflucan®) 2 fois par semaine en intra-veineux (lundi/jeudi).

◇ Début et Durée :

Début à J1 puis chaque lundi et chaque jeudi pendant 6 semaines.

Arrêt avant 6 semaines si arrêt KT central ou traitement d'une infection fongique invasive.

◇ Surveillance :

Bilan hépatique (TGO TGP γ GT Bilirubine) tous les 15 jours.

Prélèvements fongiques optionnels : peau, gastrique avant J7, peau et selles après J7

FO et échographie rénale.

Traitement curatif (arrêt si prélèvements se révèlent négatifs à 5 jours)

- Si prophylaxie par Fluconazole :
 - Mycamine (Mycfungine) 4-6mg/kg x 1/jour IV 1h (AMM pédiatrique)
- Si pas de prophylaxie
 - Fluconazole (Triflucan®) 10mg/kg/24h.
- Si méningite, discuter :
 - Mycamine (Mycfungine) 8-10mg/kg x 1/jour IV 1h (AMM pédiatrique)
 - Amphotéricine B Liposomale + 5-Fluoro-Uracile (Ancotil®) 150-200mg/kg/6h
 - ou Caspofungine.
- Si résistance au traitement
 - Caspofungine (Cancidas®) 1mg/kg/12h pendant 24h puis 2mg/kg/24h.

+++ Si candidémie, retirer le KT central +++

Facteur essentiel dans le pronostic vital et le devenir neurologique.

Surveillance:

- Bilan Hépatique (TGO TGP γ GT Bilirubine) tous les 15 jours si TRIFLUCAN.
- Ionogramme sanguin urée créatinine (kaliémie) si AMBISOME.
- NFS Bilan Hépatique Taux sanguin si ANCOTIL.
- Bilan Hépatique si CANCIDAS ou MYCAMINE

Durée: 21 jours après la négativité des cultures.

Bibliographie: Brecht M, et al. [Prevention and treatment of invasive fungal infection in very low birthweight infants.](#) Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed. 2009 Jan;94(1):F65-9. Epub 2008 Oct 6. Review. [Fluconazole prophylaxis: can we eliminate invasive Candida infections in the neonatal ICU?](#) Kaufman DA. Curr Opin Pediatr. 2008 Jun;20(3):332-40. Review.

Pn : Poids de naissance ; KT central : cathéter veineux central

Annexe 2 : Critères EORTC/MSG (18)

European Organization for Research and Treatment of Cancer/Mycoses Study Group

Ces critères sont non spécifiques des populations néonatales.

- **Critères d'infection fongique invasive prouvée**

| Analysis and specimen | Molds ^a | Yeasts ^a |
|--|---|---|
| Microscopic analysis: sterile material | Histopathologic, cytopathologic, or direct microscopic examination ^b of a specimen obtained by needle aspiration or biopsy in which hyphae or melanized yeast-like forms are seen accompanied by evidence of associated tissue damage | Histopathologic, cytopathologic, or direct microscopic examination ^b of a specimen obtained by needle aspiration or biopsy from a normally sterile site (other than mucous membranes) showing yeast cells—for example, <i>Cryptococcus</i> species indicated by encapsulated budding yeasts or <i>Candida</i> species showing pseudohyphae or true hyphae ^c |
| Culture | | |
| Sterile material | Recovery of a mold or "black yeast" by culture of a specimen obtained by a sterile procedure from a normally sterile and clinically or radiologically abnormal site consistent with an infectious disease process, excluding bronchoalveolar lavage fluid, a cranial sinus cavity specimen, and urine | Recovery of a yeast by culture of a sample obtained by a sterile procedure (including a freshly placed [<24 h ago] drain) from a normally sterile site showing a clinical or radiological abnormality consistent with an infectious disease process |
| Blood | Blood culture that yields a mold ^d (e.g., <i>Fusarium</i> species) in the context of a compatible infectious disease process | Blood culture that yields yeast (e.g., <i>Cryptococcus</i> or <i>Candida</i> species) or yeast-like fungi (e.g., <i>Trichosporon</i> species) |
| Serological analysis: CSF | Not applicable | Cryptococcal antigen in CSF indicates disseminated cryptococcosis |

^a If culture is available, append the identification at the genus or species level from the culture results.

^b Tissue and cells submitted for histopathologic or cytopathologic studies should be stained by Grocott-Gomori methenamine silver stain or by periodic acid Schiff stain, to facilitate inspection of fungal structures. Whenever possible, wet mounts of specimens from foci related to invasive fungal disease should be stained with a fluorescent dye (e.g., calcofluor or blankophor).

^c *Candida*, *Trichosporon*, and yeast-like *Geotrichum* species and *Blastoschizomyces capitatus* may also form pseudohyphae or true hyphae.

^d Recovery of *Aspergillus* species from blood cultures invariably represents contamination.

- **Critères d'infection fongique invasive probable**

| |
|--|
| Host factors ^a |
| Recent history of neutropenia ($<0.5 \times 10^9$ neutrophils/L [<500 neutrophils/mm ³] for >10 days) temporally related to the onset of fungal disease |
| Receipt of an allogeneic stem cell transplant |
| Prolonged use of corticosteroids (excluding among patients with allergic bronchopulmonary aspergillosis) at a mean minimum dose of 0.3 mg/kg/day of prednisone equivalent for >3 weeks |
| Treatment with other recognized T cell immunosuppressants, such as cyclosporine, TNF- α blockers, specific monoclonal antibodies (such as alemtuzumab), or nucleoside analogues during the past 90 days |
| Inherited severe immunodeficiency (such as chronic granulomatous disease or severe combined immunodeficiency) |
| Clinical criteria ^b |
| Lower respiratory tract fungal disease ^c |
| The presence of 1 of the following 3 signs on CT: |
| Dense, well-circumscribed lesions(s) with or without a halo sign |
| Air-crescent sign |
| Cavity |
| Tracheobronchitis |
| Tracheobronchial ulceration, nodule, pseudomembrane, plaque, or eschar seen on bronchoscopic analysis |
| Sinonasal infection |
| Imaging showing sinusitis plus at least 1 of the following 3 signs: |
| Acute localized pain (including pain radiating to the eye) |
| Nasal ulcer with black eschar |
| Extension from the paranasal sinus across bony barriers, including into the orbit |
| CNS infection |
| 1 of the following 2 signs: |
| Focal lesions on imaging |
| Meningeal enhancement on MRI or CT |
| Disseminated candidiasis ^d |
| At least 1 of the following 2 entities after an episode of candidemia within the previous 2 weeks: |
| Small, target-like abscesses (bull's-eye lesions) in liver or spleen |
| Progressive retinal exudates on ophthalmologic examination |
| Mycological criteria |
| Direct test (cytology, direct microscopy, or culture) |
| Mold in sputum, bronchoalveolar lavage fluid, bronchial brush, or sinus aspirate samples, indicated by 1 of the following: |
| Presence of fungal elements indicating a mold |
| Recovery by culture of a mold (e.g., <i>Aspergillus</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Zygomycetes</i> , or <i>Scedosporium</i> species) |
| Indirect tests (detection of antigen or cell-wall constituents) ^e |
| Aspergillosis |
| Galactomannan antigen detected in plasma, serum, bronchoalveolar lavage fluid, or CSF |
| Invasive fungal disease other than cryptococcosis and zygomycoses |
| β -D-glucan detected in serum |

NOTE. Probable IFD requires the presence of a host factor, a clinical criterion, and a mycological criterion. Cases that meet the criteria for a host factor and a clinical criterion but for which mycological criteria are absent are considered possible IFD.

^a Host factors are not synonymous with risk factors and are characteristics by which individuals predisposed to invasive fungal diseases can be recognized. They are intended primarily to apply to patients given treatment for malignant disease and to recipients of allogeneic hematopoietic stem cell and solid-organ transplants. These host factors are also applicable to patients who receive corticosteroids and other T cell suppressants as well as to patients with primary immunodeficiencies.

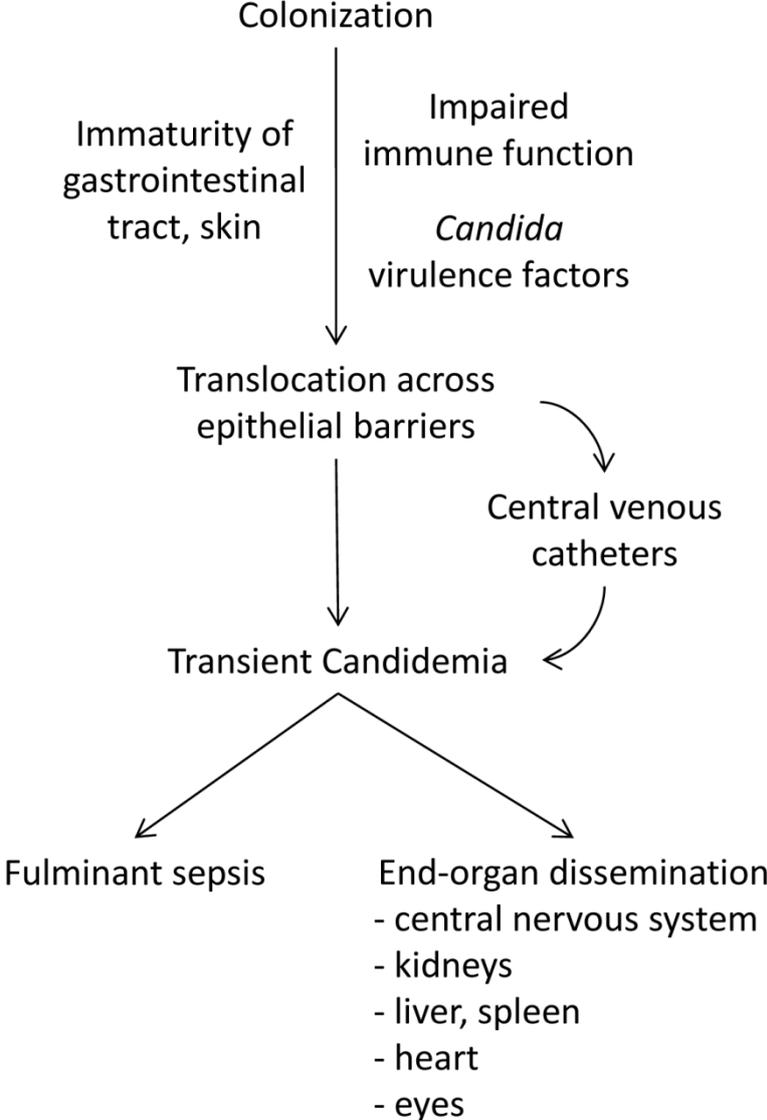
^b Must be consistent with the mycological findings, if any, and must be temporally related to current episode.

^c Every reasonable attempt should be made to exclude an alternative etiology.

^d The presence of signs and symptoms consistent with sepsis syndrome indicates acute disseminated disease, whereas their absence denotes chronic disseminated disease.

^e These tests are primarily applicable to aspergillosis and candidiasis and are not useful in diagnosing infections due to *Cryptococcus* species or *Zygomycetes* (e.g., *Rhizopus*, *Mucor*, or *Absidia* species). Detection of nucleic acid is not included, because there are as yet no validated or standardized methods.

Annexe 3 : Physiopathologie des ICIN (13)



Annexe 4 : Grille de critères recueillis chez les enfants suspects d'ICIN

| | | |
|---------------------------------|--------------------------------------|--|
| Nom Prénom : | Date de Naissance | Signes cliniques / biologiques évocateurs : 0 . Non connus / 1. Dégradation respi. / 2. Choc septique. / 3. Malaises / 4.Cutanés / 5. Hyperleucocytose /6. Neutropénie fébrile / 7. Infection noso / 8. Rectorragies ou Entérocolite / 10. Dégradation HD / 11. LG positif/ 12. CRP élevée / 13 . ACR./ 14. Hyptonie / 15. fièvre / 16. Autres (préciser) |
| IPP : | Age civil au moment de l'infection : | |
| Unité de soins : | Terme de Naissance : | |
| Date de suspicion d'infection : | Poids de Naissance : | |

FACTEURS AVANT LA SUSPICION D'INFECTION

| | | | | | |
|--|--|------|--|-------------------------------|--|
| F D R C O N N U S | Mode d'accouchement | | M Y C O B I O DIAG TTT | - | |
| | Sexe : F/M | | | → Peau | |
| | Score d'Apgar à 5 minutes | | | → Urines | |
| | Liquide gastrique | | | → Selles | |
| | Infection materno-fœtale | | | → trachée | |
| | Infection nosocomiale | | | → autres | |
| | Durée d'hospitalisation | | | → hémoculture mycologique : | |
| | Chirurgie néonatale (type et dates) | | | → hémoculture bactériologique | |
| | Intubation (jours) / Totale / intubé oui/non | | | - | |
| | KTC avant infection / total / En place oui/non | | | Leucocytes | |
| | Nombre de jours à jeun avant infection | | | PNN / Lymphocytes | |
| | Transfusion sanguine avant infection (dates) | | | Plaquettes | |
| | Antibiothérapie (type et durée totale cumulée) | | | CRP / PCT | |
| | | | | Echographie rénale | |
| Délai entre le dernier antibiotique et infection | | DIAG | Diagnostic retenu | | |
| Corticothérapie post-natale (en jours) | | | Autre diagnostic | | |
| Ibuprofène (en mg/kg) . 1 cure = 20 - 2 cures 35 | | TTT | 7.Traitement : | | |
| Antiacides (durée) | | | → prophylactique | | |
| | | | → Curatif | | |
| | | | Mortalité à la sortie hospit | | |

KTC : Cathéter central ; PNN : polynucléaires neutrophiles ;

Annexe 5 : Recommandations actuelles sur la prophylaxie des ICIN

- Recommandations européennes de l'ESCMID en 2012 (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases) (16)

TABLE I. Prevention of invasive candidiasis in neonates

| Recommendation and grading | Comments | References |
|--|--|---------------------------------|
| Oral nystatin, 1 mL 100 000 IU Q8 h (B-II) | Reduction in fungal infection, but no change in mortality, potential gut damage & NEC | [18–20] |
| Miconazole oral gel 15 mg Q8 h (D-II) | Concerns regarding generation of triazole resistance | [21] |
| Lactoferrin 100 mg/day alone or in combination with <i>Lactobacillus</i> 10 ⁶ colony-forming units per day from the third day of life until either the end of the sixth week of life or until discharge from the NICU (B-II) | Reduction in fungal infection by <i>Lactobacillus</i> and lactoferrin | [22–24] |
| Fluconazole 3 or 6 mg/kg 2 times per week iv or orally in ALL neonates <1000 g in NICUs with high frequency of IC (A-I) | Reduction in <i>Candida</i> colonization, fungal infection, but no change in overall mortality. Concerns for neurodevelopmental toxicity, emergence of resistant species | [19,25–37,39] |
| Fluconazole 3 or 6 mg/kg 2 times per week iv or orally in NICUs with a lower incidence of IC (i.e. <2%) for neonates: (a) with birth weight <1000 g, (b) who have risk factors (i.e. central venous catheters, third-generation cephalosporins and carbapenems) for the development of IC (B-II) | Decision for prophylaxis is on an individual basis | References as immediately above |

- Recommandations américaines de l'Infectious Diseases Society of America en 2016 (11) faites en accord avec l' « American Academy of Pediatrics » (AAP), la « Pediatric Infectious Diseases Society » (PIDS) et le « Mycose Study Group » (MSG)

Recommendations

51. In nurseries with high rates (>10%) of invasive candidiasis, intravenous or oral fluconazole prophylaxis, 3–6 mg/kg twice weekly for 6 weeks, in neonates with birth weights <1000 g is recommended (*strong recommendation; high-quality evidence*).
52. Oral nystatin, 100 000 units 3 times daily for 6 weeks, is an alternative to fluconazole in neonates with birth weights <1500 g in situations in which availability or resistance preclude the use of fluconazole (*weak recommendation; moderate-quality evidence*).
53. Oral bovine lactoferrin (100 mg/day) may be effective in neonates <1500 g but is not currently available in US hospitals (*weak recommendation; moderate-quality evidence*).

Annexe 6 : Recommandations sur le traitement curatif probabiliste des ICIN

- Recommandations européennes de l'ESCMID en 2012 (16)

TABLE 2. Therapeutic options for infants with invasive candidiasis and/or HCME

| Recommendation and Grading | Comments | References |
|--|---|---|
| Amphotericin B deoxycholate 1 mg/kg/day (B-II) | PK in neonates relatively poorly defined, leading to some uncertainty regarding optimal dosage for HCME | Clinical trials in adults [123,124] Pharmacokinetics in neonates [44] Evidence for efficacy and toxicity [43,135] |
| Liposomal amphotericin B 2.5–7 mg/kg/day (B-II) | PK in neonates remains undefined, leading to some uncertainty regarding optimal dosage for neonates The optimal dosage for HCME is not known | Pharmacokinetics in neonates: nil Evidence for efficacy in neonates [46–48] |
| Fluconazole 12 mg/kg/day, with consideration given to a loading dose of 25 mg/kg (B-II) | Relatively limited data for the treatment of IC | Evidence for efficacy [51–53] Pharmacokinetics in neonates: [54,55] |
| Micafungin 4–10 mg/kg/day i.v. (B-II) | The EMA has issued a 'black box' warning on the basis of an elevated incidence of hepatic tumours in rats receiving prolonged dosing and drug exposures higher than typically seen in clinical contexts. These studies have not been performed for other echinocandins The currently licensed dosage is 2–4 mg/kg/day. If HCME is present, preclinical models and PK-PD bridging studies suggest a higher dosage is required for effective therapy | Evidence for efficacy derived from preclinical models [57] Pharmacokinetics in neonates: [56,58] |
| Caspofungin 25 mg/m ² /day (C-II) | Relatively limited PK and dosing designed to approximate drug exposure in adults, rather than HCME | Evidence for efficacy [62–64] Pharmacokinetics in neonates: [61] |
| ABLC 2.5–5 mg/kg/day (C-II) | The Expert Group rated ABLC 'C' because of the relative paucity of clinical data The optimal regimen for the treatment of HCME is not known | Pharmacokinetics in neonates [50] Preclinical data suggests that ABLC is an effective agent for the treatment of HCME [45] |

- Recommandations américaines de l'Infectious Disease Society of America 2016 (11)

VII. What Is the Treatment for Neonatal Candidiasis, Including Central Nervous System Infection?

What Is the Treatment for Neonatal Invasive Candidiasis and Candidemia?

Recommendations

37. AmB deoxycholate, 1 mg/kg daily, is recommended for neonates with disseminated candidiasis (*strong recommendation; moderate-quality evidence*).
38. Fluconazole, 12 mg/kg intravenous or oral daily, is a reasonable alternative in patients who have not been on fluconazole prophylaxis (*strong recommendation; moderate-quality evidence*).
39. Lipid formulation AmB, 3–5 mg/kg daily, is an alternative, but should be used with caution, particularly in the presence of urinary tract involvement (*weak recommendation; low-quality evidence*).

40. Echinocandins should be used with caution and generally limited to salvage therapy or to situations in which resistance or toxicity preclude the use of AmB deoxycholate or fluconazole (*weak recommendation; low-quality evidence*).
41. A lumbar puncture and a dilated retinal examination are recommended in neonates with cultures positive for *Candida* species from blood and/or urine (*strong recommendation; low-quality evidence*).
42. CT or ultrasound imaging of the genitourinary tract, liver, and spleen should be performed if blood cultures are persistently positive for *Candida* species (*strong recommendation; low-quality evidence*).
43. CVC removal is strongly recommended (*strong recommendation; moderate-quality evidence*).
44. The recommended duration of therapy for candidemia without obvious metastatic complications is for 2 weeks after documented clearance of *Candida* species from the bloodstream and resolution of signs attributable to candidemia (*strong recommendation; low-quality evidence*).

What Is the Treatment for Central Nervous System Infections in Neonates?

Recommendations

45. For initial treatment, AmB deoxycholate, 1 mg/kg intravenous daily, is recommended (*strong recommendation; low-quality evidence*).
46. An alternative regimen is liposomal AmB, 5 mg/kg daily (*strong recommendation; low-quality evidence*).
47. The addition of flucytosine, 25 mg/kg 4 times daily, may be considered as salvage therapy in patients who have not had a clinical response to initial AmB therapy, but adverse effects are frequent (*weak recommendation; low-quality evidence*).
48. For step-down treatment after the patient has responded to initial treatment, fluconazole, 12 mg/kg daily, is recommended for isolates that are susceptible to fluconazole (*strong recommendation; low-quality evidence*).
49. Therapy should continue until all signs, symptoms, and CSF and radiological abnormalities, if present, have resolved (*strong recommendation; low-quality evidence*).
50. Infected CNS devices, including ventriculostomy drains and shunts, should be removed if at all possible (*strong recommendation; low-quality evidence*).

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

Titre de Thèse : Epidémiologie des infections candidosiques invasives néonatales (ICIN) au CHU de Nantes en 2014-2015 : état des lieux des pratiques diagnostiques et thérapeutiques.

RESUME

Introduction : Si l'incidence des infections candidosiques invasives néonatales (ICIN) est peu précise dans la population des enfants hospitalisés en néonatalogie, leur morbi-mortalité est bien connue. L'objectif de notre étude est d'établir l'épidémiologie des ICIN et de faire un état des lieux des pratiques diagnostiques et thérapeutiques chez les nouveau-nés suspects d'infection au CHU de Nantes.

Matériels et méthodes : Cette étude épidémiologique et rétrospective a eu lieu au CHU de Nantes de janvier 2014 à décembre 2015. Les nouveau-nés inclus sont ceux ayant présenté des prélèvements mycologiques positifs à *Candida*. Les critères d'exclusion comprenaient les enfants de plus de 3 mois, les infections à autres champignons et les colonisations cutanées isolées. Les enfants étaient considérés infectés s'ils avaient soit un site stérile retrouvé positif (ICIN prouvée), soit une colonisation à *Candida* (ICIN probable).

Résultats : Sur 108 dossiers analysés, 58 suspicions d'infections ont été incluses (49 enfants différents). Les incidences de l'ICIN prouvée et probable étaient respectivement de 0% et 1,9%. L'ICIN concerne les extrêmes prématurés (terme médian : 27SA+5 jours), de faible poids de naissance (poids médian 860g), ayant reçus des antibiotiques à large spectre (97%) et une nutrition parentérale (91%). Ces nouveau-nés sont majoritairement intubés (60%) et porteurs d'un cathéter veineux central (76%). L'espèce de *Candida* le plus fréquemment identifié était le *Candida albicans* (88%). La stratégie diagnostique consistait en des prélèvements mycologiques souvent incomplets associés à une biologie standard (88%). La proportion d'enfants sous prophylaxie était significativement plus importante dans le groupe non infecté que dans le groupe infecté ($p < 0,05$). La micafungine était l'antifongique le plus largement prescrit (61%).

Conclusion : L'ICIN est rare dans une population faisant l'objet d'une prophylaxie par fluconazole. Des difficultés existent concernant la définition et la classification de l'ICIN. L'intérêt de nouveaux biomarqueurs tel que le (1-3)- β -D-glucan devrait être étudié comme aide à la stratification du risque infectieux et au diagnostic.

MOTS-CLES : Infection fongique invasive, *Candida*, Soins intensifs Néonatal, Réanimation néonatale, Prématurité, Nouveau-nés.