

UNIVERSITE DE BOURGOGNE

Ecole Doctorale Environnement-Santé
Centre d'Epidémiologie des Populations

THÈSE
Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE BOURGOGNE

Discipline : Santé Publique / Epidémiologie

par

Silvia Iacobelli

Le 17 octobre 2013

Facteurs cliniques périnataux et paramètres biologiques prédictifs du pronostic chez l'enfant prématuré

Directeur de thèse : Madame le Professeur Catherine Quantin

Co-directeur de thèse : Monsieur le Professeur Jean-Bernard Gouyon

Composition du Jury

Professeur Catherine QUANTIN

Professeur Jean-Bernard GOUYON

Professeur Christine BINQUET

Docteur Pierre-Yves ANCEL

Docteur Luigi GAGLIARDI

Professeur Umberto SIMEONI

Directeur

Co-directeur

Co-encadrant

Examineur

Rapporteur

Rapporteur

Remerciements

A Madame Catherine Quantin

Merci pour avoir accepté de diriger ce travail et pour votre accueil. Votre encadrement scientifique, votre disponibilité, votre patience et votre soutien m'ont été très précieux. Veuillez trouver ici l'expression de mon profond respect et de ma gratitude.

A Monsieur Jean-Bernard Gouyon

Merci pour m'avoir aidé dans ce travail et pour avoir permis ce parcours. J'ai la chance de travailler avec vous. Je salue votre témoignage exemplaire de rigueur scientifique, de dévouement à la médecine, d'amour de la connaissance et d'ouverture d'esprit.

A Madame Christine Binquet

Merci pour votre encadrement, vos conseils et votre appui méthodologique dans ce projet de thèse et dans les projets de recherche clinique.

A Monsieur Pierre-Yves Ancel

Je vous remercie sincèrement de l'honneur que vous me faites en acceptant de juger ce travail.

A Monsieur Luigi Gagliardi

Sono onorata che lei accetti di valutare questa tesi. Grazie di cuore della sua gentilezza e disponibilità.

A Monsieur Umberto Simeoni

Je te remercie sincèrement d'avoir accepté de juger ce travail. Je reste attachée au Service de Réanimation néonatale et Pédiatrique de l'Hôpital de Hautepierre, où, jeune interne, j'ai eu la chance d'apprendre à tes côtés. Merci pour ta disponibilité et tes conseils tout au long de ces années.

A Pierre-Yves Robillard

Merci pour ton travail, ta confiance, et pour avoir partagé avec nous ta passion pour les données et l'épidémiologie clinique.

A Elsa Kermorvant-Duchemin et Alexandre Lapillonne

Merci pour le travail fait ensemble et pour tous nos échanges sur l'équilibre ionique et la nutrition parentérale.

A Jonathan Cottenet et Thioro Ndyaye

Merci beaucoup pour votre aide au traitement des données. Elle a été précieuse et incontournable pour l'issue de ce travail.

A Béatrice

Merci pour ton amitié, pour tes encouragements dans les moments difficiles et pour ta relecture attentive de la thèse.

A tous les collègues, infirmières et soignants des Services de Réanimation Néonatale d'Acquaviva delle Fonti, Dijon et Saint Pierre. A Isabelle Buchs-Renner, psychologue clinicienne en réanimation néonatale

Merci à vous tous pour l'espoir et la passion partagés en travaillant ensemble auprès des grands prématurés tout au long de ces années. Je vous témoigne ma très grande reconnaissance et mon admiration pour ce que vous faites chaque jour pour ces enfants et pour leurs familles, dans des conditions parfois difficiles.

Aux secrétaires et à tout le personnel de la Cellule d'Evaluation du Réseau Périnatal de Bourgogne et du Service de Biostatistique et d'Informatique Médicale à Dijon

Mes sincères remerciements pour votre accueil amical et pour votre disponibilité tout au long de ce travail de thèse.

A Yuri et Daira

A ma famille

Merci pour votre patience.

A Francesco

Car seule, je ne peux rien

Merci pour le partage de ce parcours, des parcours...

Merci pour notre union porteuse de rêves et d'énergie.

Ce travail est dédié à ma mère

Pour tout ce que je n'avais pas vu et qu'elle a pu me montrer à la lumière de son absence.

Résumé

L'objectif de ce travail était de décrire les facteurs biologiques précoces influençant le pronostic des enfants grands prématurés.

A partir d'une population de 1 067 enfants admis en réanimation néonatale au CHU de Dijon de 2001 à 2008 et faisant l'objet d'un recueil prospectif de données clinico-biologiques périnatales, deux objectifs de recherche ont été identifiés : 1) évaluer l'impact des troubles de la chlorémie au cours de l'adaptation postnatale sur la morbidité neurologique ; 2) caractériser la possible association entre l'hypoprotidémie du premier jour de vie (J1) et le pronostic défavorable. Ces objectifs ont été approfondis dans 4 études, réalisées sur la population initiale et sur 3 autres cohortes de grands prématurés.

Nous avons observé que l'hyperchlorémie entraîne une acidose métabolique sévère dans les 7 à 10 premiers jours de vie sans que ceci ne s'associe à un pronostic neurologique défavorable (hémorragie intraventriculaire et/ou paralysie cérébrale à 18 mois d'âge corrigé). Les résultats ont montré l'importance de contrôler les apports de chlore des médicaments et de la nutrition parentérale, afin de prévenir toute acidose métabolique indésirable après la naissance.

Les études sur la protidémie ont montré que l'hypoprotidémie à J1 est un facteur indépendant associé au décès ou à la survie avec anomalies neurologiques sévères et que son pouvoir prédictif de pronostic défavorable est comparable à celui d'autres scores de gravité validés.

Ce travail contribue à la compréhension des facteurs périnataux influençant le pronostic du grand prématuré et ouvre de nouvelles perspectives de recherche sur la prise en charge de ces enfants vulnérables.

Mots clés

Prématurité ; pronostic ; décès ; séquelles neurologiques ; facteurs biologiques ; protidémie ; chlorémie ; score de gravité ; période postnatale.

Abstract

Early biological factors and outcome in very preterm infants

Our aim was to identify early biochemical abnormalities associated with adverse outcome in very preterm infants.

Based on an 8-year population-study for assessing the outcome in 1067 very preterm babies admitted to the neonatal intensive care unit of Dijon university hospital, two research axes were explored: 1) the impact of plasma chloride abnormalities on neurological morbidities; 2) the association between hypoproteinemia on the first day of life (D1) and adverse outcome.

These issues were assessed by 4 studies, performed on the initial population and on 3 other cohorts.

We found that hyperchloremia results in severe metabolic acidosis during the first 7-10 days of life, but this is not associated with adverse neurological outcome (intraventricular haemorrhage and/or cerebral palsy at 18 months of corrected age). The tight control of chloride intake by parenteral nutrition or “inadvertent” administration represents a good means for lowering the incidence of metabolic acidosis after birth.

We also showed that hypoproteinemia (D1) has prognostic value for impaired outcome (death or survival with severe cerebral ultrasound findings) and that total plasma protein has a predictive performance comparable with other validated illness severity scores.

These results provide additional insight into factors influencing mortality and morbidity for preterm babies. Our findings raise the interest in addressing the above issues in future investigations on: 1) pathophysiological mechanisms underlying the association between biological abnormalities and impaired outcome, 2) their possible therapeutic implications and 3) the development of new severity scores for very preterm babies.

Key words

Preterm birth; outcome; death; neurological impairment; biological factors; total plasma protein; hyperchloremia; illness severity scores; postnatal life.

Table des matières

Remerciements	2
Résumé.....	4
Mots clés	4
Abstract.....	5
Key words.....	5
Table des matières.....	6
Liste des Tableaux.....	7
Liste des Annexes.....	7
Introduction	8
Premier Chapitre.....	12
1.1. Épidémiologie de la grande prématurité.....	13
1.1.1. Définition et description du phénomène	13
1.1.2. Survie et pronostic en fonction de l'âge gestationnel	14
1.2. Physiopathologie de l'adaptation périnatale	17
1.2.1. Homéostasie hydro-électrolytique et anomalies biologiques postnatales du grand prématuré	17
1.2.2. Les mouvements hydriques – L'immaturité rénale – Les dysnatrémies	17
1.2.3. L'insuffisance rénale aiguë (IRA) et les anomalies biologiques associées	22
1.2.4. L'hyperkaliémie non oligurique	23
1.2.5. Autres anomalies biologiques.....	24
Deuxième Chapitre	27
2.1. Contexte de la recherche	28
2.2. Les bases de données	29
2.2.1. La base de données du Réseau Périnatal de Bourgogne	29
2.2.2. Le relevé épidémiologique périnatal Sud Réunion	30
2.2.3. L'étude préliminaire	31
2.3. Populations d'étude	33
2.4. Données collectées et variables étudiées	33
2.5. Variables pronostiques étudiées	36
Troisième Chapitre	37
3.1. Introduction aux études sur le chlore.....	38
3.2. ETUDE 1 : Balance du chlore dans la première semaine de vie chez le grand prématuré. Etude descriptive et morbidités associées.....	39
Synthèse de l'article	40
3.3. ETUDE 2 : Apports de chlore chez l'enfant de très faible poids à la naissance : interaction avec les apports sodés et effet potentiel sur le pronostic néonatal	42
Synthèse de l'article	43
Quatrième Chapitre.....	45
4.1. Introduction aux études sur la protidémie.....	46
4.2. ETUDE 3 : Hypoprotidémie précoce et mauvais pronostic chez l'enfant grand prématuré	47
Synthèse de l'article	48
4.3. ETUDE 4 : Protidémie précoce et pronostic défavorable chez le grand prématuré : valeur prédictive et comparaison aux scores de gravité validés	50

Synthèse de l'article	51
Cinquième chapitre	53
5.1. Synthèse et perspectives.....	54
Bibliographie.....	59
Annexes.....	68

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Études suggérant une association entre hyponatrémie et séquelles à moyen terme.....	20
Tableau 2 : Variables composant les différents scores	35

Liste des Annexes

Synopsis de l'étude ProHémie

Introduction

Les progrès récents des soins périnataux ont entraîné une amélioration du taux de survie et du devenir neurologique des enfants de très faible poids à la naissance (1-4). Malgré cette évolution favorable, la mortalité et la morbidité néonatales méritent encore attention, surtout pour les enfants nés extrêmes prématurés (5, 6). Il demeure donc important, d'approfondir la connaissance des facteurs périnataux précoces qui augmentent le risque de décès ou de séquelles neurologiques majeures, afin de réduire toute influence potentiellement défavorable sur le pronostic à court et à long terme.

Un grand nombre d'enquêtes épidémiologiques se sont intéressées aux variables cliniques périnatales (maternelles et /ou néonatales) prédictives de mauvais pronostic chez le grand prématuré (7-9). Dans la plupart de ces études, les modèles d'analyse n'ont pas considéré l'influence des paramètres biologiques précoces sur la morbi-mortalité des populations explorées. Cependant, les anomalies biochimiques au cours des 24 premières heures sont prises en compte par plusieurs scores de gravité clinique validés en réanimation néonatale et permettant d'étalonner, à la naissance, le risque de mortalité des grands prématurés (10, 11). En effet, toute naissance prématurée entraîne potentiellement le risque que les fonctions contrôlant l'adaptation de l'équilibre rénal, hydro-électrolytique et métabolique pendant la période postnatale ne soient pas efficaces. Le degré de cette mauvaise adaptation, traduit par des anomalies du bilan biologique, pourrait avoir un impact sur le devenir à court, moyen ou long terme du nouveau-né prématuré. En faveur de cette hypothèse, de précédentes études menées chez l'enfant grand prématuré ou de très petit poids de naissance ont montré que certains troubles hydro-électrolytiques précoces ont un impact défavorable sur le pronostic vital et la morbidité neurologique de ces enfants (12-14). Dans ce domaine d'investigation, les données disponibles sont toutefois très hétérogènes en ce qui concerne les effectifs et les caractéristiques des patients étudiés, la période considérée pour l'analyse des troubles biologiques, et le critère de jugement du mauvais pronostic. Enfin, la majorité de ces études présente la limite de ne pas avoir considéré l'impact des anomalies biologiques sur le devenir, après ajustement sur le terme et sur les autres variables cliniques de risque périnatal.

Il reste donc difficile à ce jour d'établir la place des anomalies biologiques précoces parmi les facteurs de risques associés ou prédictifs du mauvais pronostic de l'enfant grand prématuré. Dans l'état actuel des connaissances, l'intérêt d'identifier les différentes circonstances potentiellement à risque pour le devenir de l'enfant vulnérable, est d'aboutir à une réflexion

sur de nouvelles attitudes de prise en charge, mieux adaptées à chacune de ces situations, ainsi qu'à mieux stratifier les essais thérapeutiques.

L'objectif de ce travail de thèse est d'évaluer les variables périnatales précoces (cliniques et biologiques) prédictives d'un pronostic hospitalier défavorable (mortalité, lésions neurologiques sévères) chez l'enfant grand prématuré, avec un axe d'investigation principal centré sur l'étude des facteurs biologiques précoces susceptibles d'influencer ce pronostic.

Le premier chapitre de ce manuscrit décrit brièvement l'épidémiologie de la grande prématurité et se consacre ensuite à une revue de la littérature sur les facteurs biologiques précoces qui ont été associés au mauvais pronostic dans cette population, avec un rappel de la physiopathologie de l'adaptation périnatale de l'enfant de faible poids à la naissance.

Le deuxième chapitre décrit le contexte de la recherche, les bases de données, les populations et les variables étudiées. Il rapporte aussi brièvement les résultats d'une analyse préliminaire aux travaux réalisés dans le cadre de la thèse, qui avait pour objectif de décrire l'épidémiologie des facteurs cliniques périnataux et des paramètres biologiques associés au mauvais pronostic, dans une grande population de prématurés de moins de 32 semaines d'âge gestationnel (AG) nés en région Bourgogne, et admis dans le service de réanimation néonatale du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Dijon sur une période de 8 ans.

Le troisième et le quatrième chapitre rendent compte des résultats de 4 articles originaux conçus d'après les résultats de l'analyse préliminaire ci-dessus et publiés dans des revues internationales.

Le premier article a pour objectif de décrire la balance du chlore dans la première semaine de vie chez les enfants nés entre 25 et 32 semaines d'AG et d'analyser l'association des variations de concentration du chlore avec la morbidité au cours de l'hospitalisation initiale et le pronostic neurologique à moyen terme de cette population (15).

Le deuxième article a pour objectif d'évaluer, dans une population d'enfants nés à moins de 28 semaines de gestation, la relation entre les apports de chlore au cours des 10 premiers jours de vie et le pronostic neurologique pendant la première hospitalisation (16).

Le troisième article a pour objectif de décrire l'association entre l'hypoprotidémie du premier jour de vie et le mauvais pronostic (décès ou survie avec anomalies neurologiques majeures) dans une population de grands prématurés de moins de 32 semaines, hospitalisés en réanimation néonatale (17).

Le quatrième article a pour objectifs d'évaluer la valeur prédictive de mauvais pronostic (décès ou survie avec anomalies neurologiques majeures) de l'hypoprotidémie au premier jour de vie chez le grand prématuré, et de comparer cette valeur prédictive à celle des scores de gravité clinique validés en néonatalogie (18).

Le dernier chapitre du manuscrit est consacré à une synthèse sur ce qui nous semble être la portée de notre travail dans le contexte actuel des connaissances sur les facteurs périnataux susceptibles d'impacter le pronostic du bébé prématuré et sur les possibles implications pour de futures pistes de recherche dans ce domaine.

Premier Chapitre

1.1. Épidémiologie de la grande prématurité

1.1.1. Définition et description du phénomène

La **grande prématurité** (naissance inférieure à 32 semaines d'AG) a augmenté régulièrement pour atteindre près de 1 % des naissances vivantes en Europe en 2003 (19). Depuis, son taux augmente dans la plupart des états européens, bien que l'amplitude de cette augmentation varie selon les pays (20).

En France les enquêtes nationales périnatales de 1995 (21), 2003 (22) et 2010 (23) ont montré que parmi toutes les naissances, le taux de prématurité (naissance inférieure à 37 semaines d'AG) « a tendance à légèrement s'accroître, de manière non significative entre 2003 (7,2 %) et 2010 (7,4 %), mais de manière régulière depuis 1995 où il était de 5,9 % » (23). En revanche, la proportion d'enfants nés grands prématurés ou de **très petit poids de naissance** (PN < 1 500 g) n'a pas augmenté entre 2003 et 2010, alors qu'elle avait augmenté de manière significative au cours des années précédentes.

Dans les trois enquêtes françaises ces taux ont été calculés par rapport au nombre total des naissances, défini comme « tous les enfants nés vivants, les mort-nés ainsi que les interruptions médicales de grossesses, si la naissance avait lieu après 22 semaines d'aménorrhée ou si l'enfant, ou le fœtus, pesait au moins 500 grammes à l'accouchement ». Ainsi, le taux de naissances de 22-31 semaines d'AG était de 1,7 % et de 1,5 % respectivement en 2003 et 2010 (23).

Dans la mesure où une partie de ce travail de thèse concerne une population réunionnaise, il nous semble important de souligner que d'importantes différences sont observées entre la métropole et les départements d'outre-mer (la Guadeloupe, la Guyane et la Réunion) concernant l'issue de la grossesse : le taux de prématurité dans ces départements est deux fois plus élevé qu'en France métropolitaine et il a été estimé en 2010 à 15,8 %. De plus, sur l'ensemble des trois régions le taux de naissances \leq 32 semaines était au cours de la même année de 6,8 % contre 1,9 % en métropole (23).

En particulier, dans le département de la Réunion, le taux de naissances vivantes de moins de 32 semaines d'AG par rapport au total des naissances vivantes était de 1,52 % en 2010 et de 1,65% en 2011 versus 0,93 % au cours de chacune de ces 2 années en métropole

[données du Programme de Médicalisation des Systèmes d'Information (PMSI) national 2010-2011, mises à disposition par le Professeur Quantin].

1.1.2. Survie et pronostic en fonction de l'âge gestationnel

Dans la cohorte européenne MOSAIC (19) des enfants nés vivants (et sans malformation congénitale létale) entre 24 et 31 semaines d'AG sur l'année 2003, la mortalité moyenne avant la sortie de l'hôpital dans les 10 régions étudiées était de 14,2 % [intervalle de confiance (IC) 95 % : 13,2-15,2], avec des taux bruts de mortalité hospitalière variables de manière significative de 7,9 % (IC 95 % : 5,8-10,3) à 24,7 % (IC 95 % : 20,5-29,4) entre les différents pays. Le taux de mortalité moyen standardisé par terme et genre sur les 10 régions était de 5,2 % pour les enfants d'AG \geq 28 semaines, et de 36,3 % en dessous de 28 semaines, avec des variations de 18,3 % à 57,9 % dans cette tranche d'AG.

Dans cette étude, la morbidité neurologique était définie par la présence d'un diagnostic hospitalier d'hémorragie intraventriculaire (HIV) de grade III-IV ou de leucomalacie périventriculaire (LPV) à l'échographie cérébrale. Le mauvais pronostic neurologique à la sortie de l'hôpital concernait 6,2 % (IC 95 % : 5,5-6,9) des survivants de la cohorte totale, avec des variations entre 2,1 % (IC 95 % : 0,5-3,6) et 10,2 % (IC 95 % : 7,2-13,3).

En même temps que les études de cohortes visant la comparaison de la mortalité et des morbidités à court-terme chez les enfants nés grands prématurés dans les différents pays, des enquêtes nationales en population sur des échantillons représentatifs et de grande taille ont été menées à partir des années 90 au Royaume-Uni (EPICure, 1995) (24), en France (EPIPAGE, 1997) (7), et en Belgique (EPIBEL, 1999-2000) (25).

Les progrès réalisés au cours des deux dernières décennies dans l'organisation des soins périnataux, dans la prise en charge néonatale, avec la création de réseaux périnataux et le recours à nouveaux traitements et protocoles, ont motivé la poursuite de ces enquêtes (EPICure 2, 2006) (5), (EPIPAGE 2, 2011) (4), dans le but d'évaluer les effets de ces changements sur le pronostic des grands prématurés et de mesurer leurs conséquences sur le développement à long terme de cette population.

A ce jour, les résultats préliminaires de ces études permettent d'estimer l'évolution de la survie et des morbidités à court terme pour les différents âges gestationnels.

L'étude prospective EPIPAGE 2 a été menée dans 25 régions de France en 2011. Elle a inclus 6 871 naissances, parmi lesquelles 2 140 naissances extrêmement prématurées (22-26 semaines d'AG) et 3 374 grands prématurés (27-31 semaines d'AG). Parmi les enfants extrêmement prématurés, 48 % étaient mort-nés et 52 % nés vivants. Ces taux chez les grands prématurés étaient respectivement de 11 % et 89 %. La survie (sortie vivante du service de néonatalogie) calculée sur l'ensemble des naissances vivantes dans le groupe des extrêmes prématurés était de 17 %. La répartition de la survie en fonction du terme à la naissance était la suivante: 17 % à 22-24 semaines d'AG, 69 % à 25-26, 86 % à 27-28, 96 % à 29-31 (4).

Dans l'étude EPIPAGE de 1997 la survie était de 15 % à 22-24 semaines d'AG, 53 % à 25-26, 75 % à 27-28, et 93 % à 29-31 (7).

Ces résultats montrent qu'en France, au cours des 15 dernières années, on observe une augmentation significative de la survie des grands prématurés de 25-28 semaines d'AG, sans aucun changement pour les naissances de 22-24 semaines.

Dans cette tranche d'âge, d'autres études européennes montrent une amélioration de la survie, bien que limitée à la borne des 23-24 semaines d'AG (5, 26).

L'étude EPICure 2 a montré pour la population d'extrêmes prématurés de 22-25 semaines d'AG nés en 2006 au Royaume-Uni, une amélioration significative par rapport à 1995 de la survie globale (40 % à 53 %), et pour chaque semaine de naissance en dessous de 26 semaines (23 semaines : + 9,5 %, 24 semaines : + 12 %, 25 semaines : + 16 %). En parallèle de ce progrès, la proportion d'anomalies sévères à l'imagerie cérébrale restait inchangée entre les deux études, se situant à 13 % de l'ensemble des survivants de 22 à 26 semaines en 2006 (5).

Enfin, une enquête nationale récente menée en Suède sur des extrêmes prématurés de 22-26 semaines d'AG a rapporté une évolution plus favorable en termes de survie (70 % sur le total des naissances vivantes) par rapport à des données précédentes, et un taux d'anomalies neurologiques de 15 % chez les enfants survivants (27).

La lecture de toutes ces études montre aussi que l'amélioration de la survie au cours des années a été parallèle à une évolution majeure des pratiques et de l'organisation des soins périnataux. A titre d'exemple, la proportion de certains indicateurs de la qualité de la prise en charge anténatale (administration de corticoïdes, transfert en maternité de type III) (4, 5, 27)

ainsi que l'adoption de pratiques cliniques fondées sur les preuves dès la période postnatale immédiate (prévention de l'hypothermie, administration précoce du surfactant) (5, 27) ont significativement progressé au fil du temps. Ces résultats soulignent qu'à côté du rôle déterminant du terme à la naissance, le pronostic des grands prématurés dépend également d'un ensemble d'événements de la grossesse, de l'accouchement et de la période néonatale qui sont potentiellement influencés par la prise en charge.

Au final, ces données de la littérature permettent de conclure que, malgré les progrès accomplis, la mortalité et la morbidité des enfants nés grands ou extrêmes prématurés représentent un enjeu majeur pour les acteurs de santé en périnatalogie. Elles soulignent aussi la nécessité de continuer à réfléchir sur les facteurs périnataux susceptibles d'influencer le pronostic à court et à long terme de ces enfants vulnérables, afin de mettre en œuvre des stratégies d'intervention dans les domaines à la fois de l'étiologie et des pratiques.

1.2. Physiopathologie de l'adaptation périnatale

1.2.1. Homéostasie hydro-électrolytique et anomalies biologiques postnatales du grand prématuré

La transition à la vie extra-utérine de l'enfant né grand prématuré est associée à des variations rapides du contenu en eau des compartiments intra- et surtout extracellulaires. Ces variations surviennent de manière concomitante à des modifications profondes de la fonction rénale et de la régulation de la balance électrolytique ; il s'agit de changements caractérisés par une forte variabilité interindividuelle et influencés également par les pathologies et leurs thérapeutiques. Ceci a conduit à préconiser une évaluation étroite et régulière de l'état d'hydratation de l'enfant, afin de réduire le risque de troubles ioniques et d'adapter la prescription des apports. Une telle évaluation repose sur la surveillance stricte au cours des premiers jours de vie des paramètres cliniques (comme le poids et la diurèse) qui alertent le clinicien d'éventuelles anomalies d'adaptation hydro-électrolytique, ainsi que sur le dosage quotidien des concentrations plasmatiques de certains ions, notamment le sodium et le potassium, qui peuvent faire l'objet d'anomalies profondes (28). Cette dernière pratique explique que de nombreuses données concernant les paramètres biologiques dans la période postnatale immédiate sont disponibles dans les dossiers cliniques des grands prématurés hospitalisés en réanimation néonatale, ou dans les bases de données biochimiques des hôpitaux qui prennent en charge ces patients.

1.2.2. Les mouvements hydriques – L'immaturation rénale – Les dysnatrémies

Au cours des premiers jours de vie, le grand prématuré présente une perte de poids, qui correspond principalement à une perte d'eau extracellulaire associée à une perte sodée (29). La perte de poids est d'autant plus importante que le terme à la naissance est faible et peut atteindre 15 % chez des enfants de très faible AG (30). Cette « contraction » de l'eau corporelle totale est imputable aux pertes urinaires d'eau et de sodium mais également aux pertes hydriques transcutanées et c'est un phénomène physiologique et fonctionnel à

l'adaptation respiratoire postnatale (31). Plusieurs facteurs peuvent l'influencer, tels que la qualité de la croissance intrautérine (32), le catabolisme postnatal (33) et la prise maternelle de médicaments (34).

L'hypernatrémie

La contraction physiologique postnatale du volume extracellulaire peut être majorée par un excès de pertes insensibles cutanées. Ce sont des pertes évaporatives d'eau pure dues à l'immaturation de la peau dans les 24-48 premières heures de vie (35). Une compensation insuffisante des pertes hydriques transcutanées lors de la prescription des apports liquidiens quotidiens peut conduire à une hypernatrémie ($\text{Na}^+ > 150 \text{ mEq/L}$), dont la fréquence varie de 10 à 30 % chez le grand prématuré, voire plus chez les enfants d'AG inférieur à 24 semaines d'aménorrhée (36). Dans ces situations, la déshydratation n'entraîne pas de réduction adaptée et suffisante de la diurèse, en raison de l'immaturation tubulaire rénale qui se traduit à cette époque de la vie par le faible pouvoir de concentration maximale des urines (34).

L'hypernatrémie après la naissance peut aussi être la conséquence d'un excès d'apports sodés, et l'association entre hypernatrémie (due à une administration non contrôlée de bicarbonate de sodium) pendant la vie néonatale et HIV a déjà été décrite dans un modèle animal (37) et chez l'humain (38).

L'étude de Perrott (39) sur 355 grands prématurés entre 22 et 30 semaines d'AG a testé par un modèle de régression logistique la relation entre de nombreux facteurs cliniques et biologiques périnataux et le handicap majeur à 24 mois. Dans le modèle final l'hypernatrémie ($\text{Na}^+ > 155 \text{ mEq/L}$) était l'une des 3 variables indépendantes, les 2 autres étant la LPV et la chirurgie sous anesthésie générale. L'odds ratio (OR) était très élevé et doté d'un très large intervalle de confiance [OR 69,5 (IC 95 %: 5,6-857,6)]. Il vaut la peine de souligner que 67 variables prédictives de mauvais pronostic étaient prises en compte dans l'analyse univariée de ce travail, exposant les résultats à un risque de 1^{ère} espèce élevé. De plus, le schéma de l'étude ne permettait d'expliquer ni les causes de l'hypernatrémie, ni les mécanismes par lesquels l'hypernatrémie pourrait entraîner une altération du pronostic neurologique. Enfin, la méthodologie d'analyse ne permettait pas de prouver un lien de causalité entre les 2 facteurs, ni directement, ni par la prise en compte d'un événement intermédiaire. En effet, la déshydratation hypernatrémique avec perte de poids peut être responsable de collapsus cardiovasculaire et/ou d'hypotension artérielle, un facteur de risque indépendant reconnu

d'HIV grade III et IV et de pronostic neurologique défavorable chez l'enfant de faible poids à la naissance (40, 41).

L'hyponatrémie

Tout comme la déshydratation hypernatrémique avec perte de poids excessive, la rétention hydro-sodée avec perte de poids insuffisante durant la période postnatale immédiate est aussi considérée une des sources potentielles de morbidité et de mortalité du grand prématuré (42).

L'immaturation de la fonction glomérulaire liée au faible débit de filtration est le principal facteur limitant le rein néonatal à excréter une surcharge d'eau et de sel, et représente donc le mécanisme physiopathologique qui sous-tend la rétention hydrique du grand prématuré (43). Cependant, de nombreux facteurs cliniques et traitements ante- et postnataux influencent potentiellement ce mécanisme, car ils peuvent entraîner une réduction supplémentaire du débit de filtration glomérulaire (44).

La prescription d'apports hydriques excessifs au cours des premiers jours de vie est aussi une variable qui expose le nouveau-né à un risque accru de pathologies néonatales (canal artériel, dysplasie broncho-pulmonaire) (45, 46).

La rétention hydrique est le plus souvent associée à une hyponatrémie.

Une insuffisance rénale et/ou une perte de sodium excessive majorent ce risque qui concerne jusqu'à 30 % des enfants de faible poids à la naissance dans les 3 premiers jours de vie, lorsque l'hyponatrémie est définie par une concentration de sodium inférieur à 130 mEq/L (47).

Il convient d'évoquer aussi qu'au-delà de la phase d'adaptation postnatale et à partir de la deuxième ou troisième semaine de vie, le nouveau-né prématuré est aussi exposé au risque d'« hyponatrémie tardive », dont les mécanismes sous-jacents sont totalement différents de ceux de l'hyponatrémie précoce des premiers jours de vie. En effet, ce trouble ionique de la phase de stabilisation est secondaire à la perte urinaire sodée imputable à l'immaturation de la $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ tubulaire rénale (qui persiste jusqu'à environ 34 semaines d'âge corrigé) (48). Il se constitue si les apports en sodium prescrits dans la nutrition de l'enfant sont insuffisants dès la contraction postnatale de l'eau corporelle totale.

La prévalence de l'hyponatrémie tardive dans les différentes séries de grands prématurés varie énormément, entre 10 et 60 % d'après les données de la littérature (49).

De nombreuses études ont souhaité mettre l'accent sur le lien possible entre hyponatrémie et devenir de l'enfant, plusieurs d'entre elles ayant documenté une association significative entre hyponatrémie néonatale et pronostic neurologique ou auditif défavorable à moyen terme (50-53). Les limites de ces travaux sont nombreuses. Elles concernent à la fois l'aspect rétrospectif du recueil des données biologiques, l'absence de définition du seuil d'hyponatrémie ou de l'époque de vie concernée par l'hyponatrémie, mais aussi et surtout l'absence constante d'information sur les données manquantes.

Le tableau 1 résume les caractéristiques principales de ces études.

Tableau 1 : Études suggérant une association entre hyponatrémie et séquelles à moyen terme

Réf	Schéma N patients	Recueil	Population	Variable d'intérêt	Seuil Natrémie (mEq/L)	Hyponatrémie précoce ou tardive	Odds Ratio
(50)	Cas/témoin ¹ 35/43	R	PN <1000 g	PC Déficit auditif NS	< 125	Non précisé	
(51)	Cas/témoin ²	R	PN <1000 g AG < 28 s	Déficit auditif NS	< 125	Non précisé	OR = 5,6 (1,1-27)
(52)	Cas/témoin ³ 54/234	P	AG < 32 s	PC	Indéfini	Non précisé	OR = 6,8 (1,9-24)
(53)	Cas/témoin ² 22/25	R	PN <1500 g	Déficit auditif NS	Indéfini	Non précisé	

Abréviations : R (rétrospectif); P (prospectif); PN (poids de naissance); AG (âge gestationnel); PC (paralysie cérébrale); NS (neurosensoriel).

¹ Hyponatrémiques/Normonatrémiques; ² Déficit auditif/pas de déficit; ³ PC/pas de PC.

Bhatty et collègues (50) ont rapporté un taux significativement plus élevé, par rapport aux témoins, de paralysie cérébrale et de déficit auditif neurosensoriel chez des enfants de moins de 1 000 g avec hyponatrémie. Ils ne retrouvaient pas de corrélation entre le degré

d'hyponatrémie ni sa durée, et les critères de jugement du pronostic, mais soulignaient que, parmi les hyponatrémiques, seuls les enfants soumis à une correction rapide de la natrémie avaient un pronostic défavorable.

Effectivement les fluctuations rapides des concentrations plasmatiques du sodium, pourraient être en cause dans l'association « troubles de la natrémie et séquelles neurologiques », comme suggéré par Modi (54).

Un travail récent a eu le mérite d'analyser la corrélation entre les variations des concentrations plasmatiques de sodium au cours du premier mois de vie et les anomalies du développement neuromoteur ou cognitif à l'âge de 2 ans (13). L'analyse a été menée sur 237 patients pour lesquels 3 927 dosages de natrémie étaient disponibles et 3 tertiles de variations de sodium ont été définis : < 8 mEq/L, 8-13 mEq/L et > 13 mEq/L. Le groupe de référence était représenté par le premier tertile. A l'âge de 2 ans les variations correspondant au deuxième et au troisième tertile étaient associées à un risque significatif de mauvais pronostic neurologique [OR 3,5 (IC 95 % : 1,1-11,8), $p = 0,04$ et OR 5,1 (IC 95 % : 1,3-13,6), $p = 0,02$ respectivement]. Bien que cette étude ne puisse conclure sur un lien de causalité entre les fluctuations de natrémie et le pronostic défavorable, sa méthode rigoureuse d'analyse a permis de réduire les possibles biais. Contrairement à des travaux précédents, le modèle évaluant l'association « variations de natrémie et pronostic » réalisait un ajustement sur le terme et sur de nombreuses variables périnatales, ainsi que sur le nombre de dosages de natrémie effectués. Cependant, étant donnée l'étendue de la période d'étude, l'élément le plus intrigant pour le clinicien nous semble être, plutôt que l'intérêt de la valeur pronostique des fluctuations ioniques, l'accent porté sur le fait que celles-ci constituent un marqueur de qualité des soins et sur l'importance d'une gestion attentive des apports hydro-électrolytiques chez ces enfants vulnérables.

En conclusion de cette revue sur l'hyponatrémie, il nous semble utile de citer les résultats de 2 travaux qui se sont intéressés aux valeurs de sodium dans la période postnatale immédiate. Tout d'abord, l'étude de Kidokoro (55), comparant 12 enfants grands prématurés atteints de LPV à 24 témoins du même terme, a montré dans les premières 48 heures de vie des concentrations plasmatiques de sodium ($128,3 \pm 5,2$ mEq/L) et de chlore ($94,3 \pm 6,7$ mEq/L) significativement inférieures chez les cas, par rapport aux témoins (sodium et chlore respectivement à $134,8 \pm 3,3$ et $100,7 \pm 4,5$ mEq/L ; p toujours < 0,01). Les enfants avec LPV

présentaient aussi une diurèse très faible (< 0,8 ml/kg/h) pendant les premières 24 heures et significativement inférieure à celle des témoins, ceci soulignant le rôle potentiel de la mauvaise adaptation rénale dans la survenue de l'hyponatrémie.

D'autre part, Choker et Gouyon (56) ont montré qu'une natrémie inférieure à 130 mEq/L dans les 5 premiers jours de vie en présence d'une insuffisance rénale s'accompagnait d'un risque accru de décès et d'anomalies sévères à l'échographie cérébrale chez des enfants de moins de 32 semaines d'AG, par rapport à l'absence d'anomalies de la fonction rénale.

1.2.3. L'insuffisance rénale aiguë (IRA) et les anomalies biologiques associées

L'hyponatrémie et l'hyperkaliémie sont aussi les deux anomalies biologiques qui accompagnent l'insuffisance rénale néonatale.

Chez l'adulte et l'enfant en soins critiques, l'IRA est un marqueur prédictif indépendant de morbidité et de mortalité et des définitions standardisées d'IRA existent. Elles prennent en compte des paramètres cliniques d'atteinte rénale et des seuils d'urée et de **créatinine plasmatique** bien définis (57). Très peu d'études ont appliqué au nouveau-né prématuré ces critères cliniques de diagnostic d'IRA, que l'on nomme plutôt actuellement, par traduction du terme anglo-saxon « acute kidney injury », « dysfonction rénale » ou « atteinte rénale aiguë » (58, 59). Elles ont retrouvé, de manière rétrospective, que l'atteinte rénale aiguë a un impact significatif sur la mortalité néonatale, sans toutefois pouvoir identifier de valeurs seuil de créatinine plasmatique qui définiraient l'insuffisance rénale.

Une telle difficulté est liée à la cinétique de la créatinine dans la période postnatale chez le grand prématuré. En effet, sa concentration plasmatique augmente après la naissance, en raison d'une résorption tubulaire, et atteint un pic d'autant plus élevé et décalé dans la première semaine de vie que l'AG est faible (60). Cette variabilité est liée également à l'influence de nombreux facteurs cliniques et thérapeutiques périnataux (61) et ne permet pas, à ce jour, de conclure sur les valeurs de créatinine plasmatique prédictives d'un mauvais pronostic néonatal.

La mise en œuvre d'études épidémiologiques prospectives, avec un schéma aussi rigoureux que possible du timing de dosage de la créatinine en fonction du terme à la naissance, et

avec un effectif conséquent, demeure une question d'actualité dans l'exploration des anomalies biologiques de la phase d'adaptation.

1.2.4. L'hyperkaliémie non oligurique

Les valeurs normales de kaliémie chez le nouveau-né se situent entre 4,5 et 6,5 mEq/L et l'hyperkaliémie non oligurique (HKNO) du prématuré a été définie par un taux plasmatique de potassium $> 6,5$ ou ≥ 7 mEq/L (62, 63) en l'absence d'IRA ou d'oligurie. Le taux d'HKNO est estimé à 30-60 % dans les premiers jours de vie chez l'enfant de moins de 1 000 g (64) et sa survenue a été associée à une incidence accrue d'anomalies échographiques cérébrales (65), d'arythmies cardiaques et de décès (66) chez ces enfants. Tous ces travaux au protocole rétrospectif et aux effectifs limités, avaient le point commun d'étudier l'HKNO au cours des premières 48-72 heures de vie. Ils retrouvaient aussi une association temporelle assez forte entre les événements analysés, permettant d'émettre l'hypothèse d'une relation de causalité entre l'hyperkaliémie et le mauvais pronostic.

Les mécanismes responsables de l'HKNO ont fait l'objet de nombreuses investigations et sont multiples : la faible activité de la pompe $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ érythrocytaire est impliquée, surtout en l'absence de corticothérapie anténatale, mais aussi la résistance tubulaire à l'aldostérone, l'hémolyse, l'hypoinsulinisme ou la baisse du débit de filtration glomérulaire (67).

Un point intéressant méritant d'être signalé est que la survenue de ce trouble ionique est de moins en moins observée parmi les complications hydro-électrolytiques de la phase d'adaptation postnatale. Notre équipe a rapporté dans des travaux récents des taux très faibles d'HKNO au cours des premières 48 heures de vie [$\text{K}^+ > 6,5$ mEq/L : 9% (68) et $\text{K}^+ \geq 7$ mEq/L: 4,5 % (33)] chez des grands prématurés de moins de 32 semaines de gestation suivis de manière prospective.

Ces études ont souligné l'effet protecteur vis-à-vis de l'HKNO de l'apport précoce et important d'acides aminés par la nutrition parentérale, au travers d'une baisse du catabolisme postnatal. Elles ont ainsi ouvert un champ d'investigation sur les interactions complexes qui existent entre la nutrition parentérale et l'équilibre hydro-électrolytique au cours de la phase d'adaptation (69).

1.2.5. Autres anomalies biologiques

Lors de l'adaptation à la vie extra-utérine, en plus des spécificités de l'homéostasie hydro-électrolytique, le bébé grand prématuré présente aussi de grandes différences par rapport au nouveau-né à terme en ce qui concerne le maintien de l'équilibre hémodynamique.

Les anomalies de la fonction cardiovasculaire dans la phase de transition ont une importance clinique significative, car elles ont été associées à une morbi-mortalité accrue chez ces enfants (40, 41, 70, 71).

Au lit du malade, l'évaluation de la fonction hémodynamique et des perfusion et oxygénation des organes qui en dépendent, se fait surtout au travers de la surveillance de paramètres cliniques, échographiques et plus récemment par des techniques sophistiquées et non invasives d'exploration de la perfusion tissulaire, telle que la spectroscopie dans le proche infrarouge (72).

Les paramètres biologiques qui fournissent des informations sur l'état d'oxygénation et de perfusion tissulaire sont les lactates sanguins et l'excès de base.

Une étude historique réalisée aux débuts de l'échographie transfontanellaire (ETF) dans le diagnostic d'HIV avait retrouvé, à l'exploration prospective de 39 enfants de PN inférieur à 1 500 g, que l'**acidose métabolique** pendant les 3 premiers jours de vie était un facteur indépendant associé à l'HIV après ajustement sur le terme, le PN et sur d'autres variables périnatales. Dans cette série la première ETF était pratiquée entre J5 et J10 de vie (73). Les autres variables significatives à l'analyse multivariée étaient la maladie des membranes hyalines (MMH), la ventilation mécanique et l'hypercapnie objectivées avant l'apparition de l'événement à l'étude.

Levene et collègues (74) ont exploré la corrélation entre 32 facteurs cliniques périnataux et l'apparition d'HIV dans une cohorte de 146 enfants de moins de 35 semaines de gestation. Toutes les variables cliniques et biologiques étudiées étaient des événements précédant la détection échographique de l'HIV. L'analyse de variance retrouvait que la MMH, le recours à la ventilation mécanique, l'acidose métabolique sévère ($\text{pH} < 7,1$), l'hypercapnie,

l'administration de bicarbonates et le faible terme à la naissance étaient des facteurs indépendants associés significativement à l'HIV.

Comme ces auteurs l'ont précisé, l'acidose métabolique avec baisse de la réserve alcaline peut être un reflet de mauvaise perfusion tissulaire et donc représenter un marqueur d'altération de l'hémodynamique cérébrale, mais il faut aussi rappeler que l'acidose métabolique en soi a chez l'animal des effets vasodilatateurs cérébraux qui peuvent potentiellement être impliqués dans la pathogénie de l'HIV (75). Ce dernier point justifie l'intérêt de rechercher les facteurs susceptibles d'entraîner la survenue d'acidose métabolique. Ainsi, par exemple, l'excès d'apports chlorés par la nutrition parentérale et l'**hyperchlorémie** secondaire aux bolus de sérum physiologique ont été repérés comme une source considérable d'acidose métabolique précoce du prématuré dans deux articles (76, 77). A noter qu'en dehors de ces deux études, aucun travail à ce jour ne s'est intéressé aux conséquences des troubles de la chlorémie pendant la période d'adaptation.

L'**acide lactique** est produit en situation d'anaérobiose chez le fœtus et le nouveau-né ; il se comporte différemment du pH et de l'excès de base, car son taux sérique s'élève rarement suite à l'administration de médicaments et son dosage sanguin renseigne de manière sensible et spécifique sur la perfusion et l'oxygénation des organes (78).

Le dosage des lactates au cordon à la naissance est un marqueur prédictif validé de morbidité périnatale (79). Leur mesure dans l'heure suivant la naissance chez le nouveau-né à terme ayant présenté une asphyxie a aussi une valeur prédictive d'encéphalopathie modérée ou sévère (80).

Ce qui est donc intéressant dans le dosage des lactates en comparaison à d'autres paramètres biologiques prédictifs de mauvais pronostic est que le premier est un marqueur physiologique utilisable très précocement en cours d'hospitalisation.

De nombreuses données concernant sa valeur prédictive de la mortalité chez l'enfant de très faible poids à la naissance sont disponibles (81-84).

Au travers d'une revue rétrospective de dossiers, les taux les plus élevés de lactates avant 12 heures de vie chez 219 enfants de moins de 1 000 g de PN ont été répertoriés par Hussein et collègues (83), et leur pouvoir prédictif de la mortalité a été évalué par l'analyse de la courbe ROC et des aires sous la courbe (ASC). L'ASC pour les lactates avait une capacité discriminante faible (0,67) et inférieure à celle du score de gravité CRIB (Clinical Risk Index

for Babies) et CRIB-II dans la même population (ASC respectivement égales à 0,81 et 0,82). La combinaison des lactates au CRIB-II n'améliorait pas leur valeur prédictive.

Les techniques d'analyse statistique de cet article ne sont pas très détaillées, ce qui empêche d'évaluer sa qualité méthodologique, mais il attire néanmoins l'attention du clinicien sur l'intérêt du dosage des lactates chez les enfants de moins de 1 000 g de PN.

Une étude ultérieure de l'équipe de Philipps (84) a souhaité investiguer de manière rétrospective la valeur prédictive de décès du CRIB et des lactates sanguins dans les 12 premières heures de vie chez 408 enfants de PN de moins de 1500 g. Les résultats ont montré que l'ASC était de 0,933 (IC 95 % : 0,897-0,969) pour le CRIB et de 0,856 (IC 95 % : 0,803-0,909) pour les lactates (les valeurs observées les plus élevées étant retenues pour l'analyse). Sur la même population, à partir des variables significatives retrouvées à l'analyse multivariée par régression logistique, un nouveau score de gravité prédictif de mortalité a été élaboré, constitué des items suivants : le terme à la naissance, la valeur la plus élevée de lactates sanguins avant 12 heures de vie et la présence de malformations congénitales sévères. Ce modèle, élaboré sur l'ensemble des 408 enfants a été ensuite validé sur une cohorte de 272 bébés ayant des caractéristiques similaires. Il a montré une très bonne performance discriminante dans les 2 groupes (ASC respectivement 0,918 [IC 95 % : 0,876-0,961] et 0,859 (IC 95% : 0,805-0,913).

L'intérêt de ce nouveau score repose sur le petit nombre et la facilité de repérage des items qui le constituent dans la période postnatale immédiate.

L'étude de Philipps a été parmi les premières à souligner l'opportunité d'intégrer des paramètres physiopathologiques ou biologiques correctement identifiés dans l'élaboration d'un score simple, d'application précoce dès l'admission en réanimation, et qui permette une évaluation de la gravité à partir d'informations complémentaires aux données basiques telles que le poids ou le terme à la naissance.

Deuxième Chapitre

2.1. Contexte de la recherche

Cette revue de la littérature montre l'intérêt d'analyser le lien entre paramètres biologiques précoces et pronostic chez le grand prématuré. En particulier, une telle analyse devrait aider à mieux cerner le rôle de l'anomalie biologique étudiée vis-à-vis de l'évènement d'intérêt, et spécialement du décès. Pour autant, la quasi-totalité des études mentionnées dans le chapitre précédent ne permet pas d'exclure que les troubles biologiques explorés soient tout simplement des indicateurs de l'état de gravité et/ou de l'immaturation de l'enfant, ou des marqueurs de soins inappropriés.

Pour pouvoir préciser le rôle de ces anomalies biologiques, il est important de s'appuyer sur une approche méthodologique rigoureuse, s'assurant non seulement de l'exhaustivité et de la qualité des données (recueillies si possible de manière prospective), mais comportant aussi la définition soignée des variables explorées et enfin la prise en compte des facteurs potentiels de confusion.

Le complexe du Bocage du CHU de Dijon accueille la seule maternité de type III de la région Bourgogne et l'unité de réanimation néonatale du service de pédiatrie assure par conséquent la prise en charge et les soins spécialisés des nouveau-nés prématurés de moins de 33 semaines d'AG de l'ensemble de la région (qu'ils soient nés ou non dans l'unité obstétricale de l'établissement).

En effet, depuis 1992, la mise en place progressive du Réseau Périnatal de Bourgogne (RPB) a optimisé le transfert des femmes ayant des grossesses pathologiques ou susceptibles d'accoucher d'un grand prématuré (ainsi qu'éventuellement, le transfert postnatal de ces bébés) vers cette maternité au niveau de soins adapté à leurs pathologies. Le réseau draine une population de 1 600 000 habitants et 18 000 naissances par an, et dans les 2 dernières décennies l'unité de réanimation néonatale a accueilli environ 170 prématurés de moins de 33 semaines par an.

Au fil des années les différents professionnels du service ont développé une compétence et une expertise internationale reconnues, entre autres, dans le domaine de l'équilibre hydro-électrolytique du grand prématuré. Le développement d'une recherche formalisée et structurée s'est naturellement inscrit dans ce contexte.

2.2. Les bases de données

Dans le cadre de ce travail de thèse, deux bases de données ont été utilisées : la base de données du RPB et celle du relevé épidémiologique périnatal Sud Réunion.

2.2.1. La base de données du Réseau Périnatal de Bourgogne

Depuis l'année 2000, le RPB recueille les informations médicales concernant toutes les naissances de la région, soit environ 18 000 naissances par an (85, 86). Ce recueil est fondé sur les règles du PMSI national, le résumé du PMSI étant complété par une fiche régionale de saisie des items absents du résumé.

Les informations médicales relatives à tous les couples mère-enfant de la région, dont l'AG a atteint 22 semaines et/ou le PN est supérieur à 500 grammes, sont ainsi colligées. Soixante-quatre variables concernant la grossesse, l'accouchement et l'évolution du fœtus ou du nouveau-né depuis sa naissance jusqu'à son retour à domicile ou son décès sont récoltées de manière prospective. Ces données sont ensuite stockées dans une base de données anonymes et chaînées, pour permettre de relier les données et les pathologies maternelles au devenir de l'enfant. La base a été déclarée à la Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (CNIL, www.cnil.fr) qui a donné son autorisation (CNIL n°98003718).

Elle est placée sous la responsabilité de la « Cellule d'Evaluation du RPB », structure intégrée dans le service de biostatistique et informatique médicale (Pr C Quantin) du CHU. Il s'agit d'une équipe multidisciplinaire qui inclut des professionnels ayant différentes expertises (épidémiologistes, biostatisticiens, informaticiens et pédiatres). Les données de la base sont gérées par des ingénieurs (un informaticien et un statisticien). Au fil des années l'équipe a développé plusieurs procédures informatisées pour valider l'exhaustivité et la qualité des informations contenues dans la base (et de leur chaînage) (87). En effet, dans cette base anonyme, le chaînage des données d'un même patient (mère ou enfant) ainsi que les données de la mère avec celles de son enfant, est rendu possible par l'utilisation du logiciel ANONYMAT, développé par le Pr C Quantin (88), et qui repose, avec l'accord de la CNIL, sur l'utilisation des fonctions de hachage de type SHA.

L'exhaustivité du recueil atteignait 92,7 % des naissances de la région en 2000 et 100 % à partir de 2001 (86). La concordance entre les informations de la base et celles des dossiers médicaux a par ailleurs été évaluée à plusieurs reprises chez les grands prématurés de moins de 33 semaines de gestation.

Dans le cadre de ce travail de thèse le croisement des données du RBP avec celles du laboratoire de biochimie du plateau technique biologique du CHU de Dijon (autorisation CNIL n°1998140) a également été réalisé. Pour ce faire, les données biologiques ont été rendues anonymes avant extraction, selon le même procédé que celui retenu pour la base de données du RPB, à savoir par hachage des nom, prénom et date de naissance de l'enfant. Le chaînage a concerné les résultats biologiques suivants : taux plasmatique de créatinine, protéines totales, glycémie, électrolytes (sodium, potassium, chlore) et concentration de l'hémoglobine durant les 5 premiers jours de vie (J1-J5), pour tous les prématurés de moins de 32 semaines hospitalisés en réanimation néonatale dans les 24 premières heures après la naissance, pour la période comprise entre 2001 et 2008. L'heure du prélèvement par rapport à la naissance a aussi été enregistrée.

Les ionogrammes ont été validés un par un, les concordances et les discordances ont été évaluées par comparaison avec le ionogramme précédent et le suivant, notamment pour exclure les éventuels faux résultats dus à l'hémolyse et pour vérifier l'absence d'effet de dilution (dû à la réalisation d'un prélèvement sur le cathéter veineux ombilical et à sa contamination par la perfusion malgré la purge). Quand cette comparaison ne permettait pas de conclure sur la cohérence des résultats, un retour au dossier était réalisé.

2.2.2. Le relevé épidémiologique périnatal Sud Réunion

Le « Sud Réunion » est l'un des trois territoires de santé définis à l'île de La Réunion par l'Agence Régionale de Santé Océan Indien. Il représente 35 % du territoire géographique et sanitaire insulaire, et environ 5 400 naissances annuelles.

Le relevé épidémiologique périnatal a été créé en 2001 et il recueille depuis les informations médicales concernant toutes les naissances du Sud Réunion, dans l'objectif d'évaluer longitudinalement les caractéristiques des mères et des nouveau-nés du sud de l'île, les

pratiques cliniques et les résultats de l'activité du pôle femme-mère-enfant du site sud du CHU de La Réunion. Le recueil de données est prospectif, effectué systématiquement pour tout couple mère-enfant au moment de la naissance (ou de l'accouchement à partir de 22 semaines d'AG) et de la sortie (ou du décès) de l'enfant de l'hôpital. Une partie des 156 items de la fiche est colligée à la naissance par les sages-femmes régulièrement formées à ce recueil ; l'information est validée et complétée par le personnel médical entraîné au moment de la sortie de l'enfant. Une deuxième validation est réalisée au moment de l'enregistrement informatisé de la fiche papier.

Dans le cadre de ce travail de thèse les variables biologiques des 5 premiers jours de vie (taux plasmatique de créatinine, protéines, glucose, sodium, potassium, chlore et concentration de l'hémoglobine) et les items pour calculer les scores de gravité ont été recueillis par retour aux dossiers. Le retour aux dossiers a été limité à la population des 841 grands prématurés nés entre 24 et 31 semaines d'AG sur la période de janvier 2001 à juin 2011 et hospitalisés dans le service de réanimation néonatale du CHU de La Réunion (site sud). Il a permis d'évaluer les concordances avec les données informatisées du relevé épidémiologique périnatal, dans cette population.

Une base anonyme de données cliniques et biologiques a donc été créée pour les 841 patients et l'autorisation du traitement de ces données a été accordée par la CNIL (autorisation CNIL n°1620660).

2.2.3. L'étude préliminaire

Une étude préliminaire au travail de thèse a été réalisée, afin de décrire l'épidémiologie des facteurs cliniques périnatals et des paramètres biologiques associés au mauvais pronostic dans la population de grands prématurés concernée par le chaînage des données de biochimie (89), soit les enfants nés entre 24 et 31 semaines de gestation, pour la période 2001-2008 en région Bourgogne.

Dans ce travail nous avons recherché les variables associées au « décès lors de la première hospitalisation » et à la « survie avec séquelles neurologiques majeures » (HIV grade III ou IV et/ou LPV à l'ETF). Sur la période de 8 ans analysés, 1 067 enfants ont été étudiés, le taux de décès dans cette population était de 8,2 % et celui de survie avec séquelles de 6,4 %. L'analyse multivariée par régression logistique polytomique pas à pas descendant a identifié

quatre variables indépendantes associées au décès: le faible AG, la protidémie inférieure à 40 g/L à J1, la kaliémie supérieure à 7 mEq/L au moins une fois au cours des cinq premiers jours de vie et l'existence d'un faible PN pour l'AG ; l'administration anténatale de corticoïdes était un facteur protecteur. En ce qui concerne la survie avec lésions neurologiques sévères, trois facteurs indépendants se sont avérés directement associés: la naissance par voie basse, l'asphyxie à la naissance et la protidémie inférieure à 40 g/L à J1. Sur les mêmes données, nous avons aussi utilisé un modèle d'analyse dans lequel le critère d'intérêt, c'est-à-dire le mauvais pronostic, a été étudié comme variable composite « décès ou survie avec séquelles neurologiques majeures ». Dans ce modèle, à l'analyse multivariée par régression logistique, la protidémie inférieure à 40 g/L à J1 était le seul paramètre biologique qui restait associé au mauvais pronostic (OR 3,3 ; IC 95 % : 2,0-5,3 ; $p < 0,0001$) (*données non publiées, présentées au 13^{ème} Symposium International de Néphrologie Périnatale à Marseille en 2010*).

Dans l'étude préliminaire, l'hypoprotidémie à J1 a été définie comme une valeur de la protidémie < 40 g/L, suite à l'analyse de la courbe ROC qui trouvait la meilleure sensibilité et spécificité prédictive du risque de décès en dessous de ce seuil. Par ailleurs, d'autres articles avaient déjà défini l'hypoprotidémie dans les premières 24 heures de vie chez le prématuré comme un taux de protéines totales inférieur à 40 g/L (90).

Enfin, dans cette analyse préliminaire, les troubles biologiques les plus fréquents au cours des 5 premiers jours de vie concernaient la chlorémie, avec un taux d'hyperchlorémie ($\text{Cl}^- > 120$ mEq/L) et d'hypochlorémie ($\text{Cl}^- < 105$ mEq/L) respectivement de 42,5 % et 34,7 % dans la population explorée. Les données disponibles ne permettaient pas d'analyser le lien entre ces troubles ioniques et les apports chlorés administrés après la naissance, ni la survenue d'acidose métabolique.

A l'issue de ce travail et de l'analyse des données de la littérature, un certain nombre de thématiques paraissaient pertinentes à investiguer dans le cadre du travail de thèse : 1) mieux décrire les anomalies de la chlorémie au cours de la phase d'adaptation, déterminer la place des apports chlorés dans la survenue de ces anomalies, et explorer l'éventuelle association entre ces anomalies et le pronostic neurologique périnatal (Etudes 1 et 2) ; 2) caractériser davantage l'association entre l'hypoprotidémie au premier jour de vie et le mauvais pronostic (décès ou survie avec anomalies neurologiques majeures) (Etude 3) ; 3)

étudier la valeur prédictive du mauvais pronostic (décès ou survie avec anomalies neurologiques majeures) de la protidémie chez le grand prématuré (Etude 4).

2.3. Populations d'étude

La sélection des patients selon les études a compris :

Pour l'Etude 1 (balance du chlore dans la première semaine de vie chez le grand prématuré) : tous les patients nés entre 24 et 32 semaines d'AG et admis consécutivement dans l'unité de réanimation néonatale du CHU de Dijon entre janvier 2007 et mai 2008 (n = 147). Ces patients avaient été inclus dans une étude de physiopathologie au design prospectif ;

Pour l'Etude 2 (apports de chlore chez l'enfant de très faible poids à la naissance et pronostic neurologique néonatal) : tous les extrêmes prématurés nés à moins de 28 semaines d'AG et admis consécutivement dans le service de réanimation néonatale de l'hôpital Saint Vincent de Paul (AP-HP) de Paris entre janvier 2004 et décembre 2006 (n = 56);

Pour l'Etude 3 (hypoprotidémie et mauvais pronostic – décès ou survie avec anomalies neurologiques majeures – chez le grand prématuré) : tous les grands prématurés nés entre 24 et 31 semaines d'AG et admis dès la naissance dans l'unité de réanimation néonatale du CHU de Dijon entre janvier 2001 et décembre 2008 (n = 1 067);

Pour l'Etude 4 (valeur prédictive du mauvais pronostic – décès ou survie avec anomalies neurologiques majeures – de la protidémie et comparaison avec les scores de gravité) : tous les grands prématurés nés entre 24 et 31 semaines d'AG et admis dès la naissance dans l'unité de réanimation néonatale du CHU de La Réunion (site sud) entre janvier 2001 et juin 2011 (n = 841).

2.4. Données collectées et variables étudiées

Les variables cliniques renseignées par la base du RPB et par le relevé épidémiologique périnatal Sud Réunion sont recueillies de manière standardisée.

Sur l'ensemble de chaque base les informations suivantes sont disponibles : données démographiques maternelles, parité et gravidité, grossesse simple ou multiple, pathologies gravidiques, administration de stéroïdes anténatals, complication du travail ou de

l'accouchement, voie d'accouchement, naissance outborn, genre, AG, PN, score d'Apgar, morbidités et décès néonataux pendant l'hospitalisation.

Ce sont les variables cliniques périnatales collectées et étudiées dans les articles sur la protidémie (Etude 3 et Etude 4).

Pour l'Etude 3 la variable biologique « hypoprotidémie » à J1 de vie, disponible dans la base, a aussi été incluse dans l'analyse.

Pour l'Etude 4 la variable biologique « protidémie » à J1 de vie et tous les items constitutifs des scores de gravité CRIB, CRIB-II, SNAP-II et SNAPPE-II (détaillés dans le tableau 2) ont été pris en compte pour l'analyse.

Pour l'Etude 1 le design a été prospectif, et en sus des variables cliniques périnatales listées ci-dessus, nous avons recueilli pendant la première semaine de vie les résultats biologiques sanguins et urinaires informatifs sur le métabolisme du chlore et sur l'acidose métabolique, de même que l'information concernant les apports hydro-électrolytiques par la nutrition parentérale.

Dans l'Etude 2 les variables cliniques périnatales et les résultats biologiques inhérents la chlorémie ont été colligés par retour dans les dossiers médicaux, lorsque que les données relatives aux apports hydro-électrolytiques et nutritionnels pendant les 10 premiers jours de vie avaient fait l'objet d'un recueil prospectif informatisé.

Tableau 2 : Variables composant les différents scores

Variables des scores de gravités
<hr/> CRIB Poids de naissance Age gestationnel Malformations congénitales Déficit de base maximum FiO ₂ maximale appropriée FiO ₂ minimale appropriée
<hr/> CRIB-II Poids de naissance <-> âge gestationnel Déficit de base maximum Genre Température à l'admission
<hr/> SNAP-II Pression artérielle moyenne Température minimale Rapport pO ₂ /FiO ₂ pH sanguin Convulsions Diurèse
<hr/> SNAPPE-II Pression artérielle moyenne Température minimale Rapport pO ₂ /FiO ₂ pH sanguin Convulsions Diurèse Poids de naissance < 750 g Apgar < 7 à 5 min Petit poids pour le terme

Pour tous les scores toutes les variables sont mesurées au cours des 12 premières heures de vie.

Abréviations: CRIB (Clinical Risk Index for Babies); SNAP-II (Score for Neonatal Acute Physiology II); SNAPPE-II (SNAP Perinatal Extension II).

2.5. Variables pronostiques étudiées

L'analyse du devenir hospitalier est détaillée comme suit :

- Dans l'Etude 1, le critère pronostique d'intérêt a été la survenue d'anomalies neurologiques majeures à l'ETF (HIV grade III-IV et/ou LPV). En plus du mauvais pronostic neurologique lors de l'hospitalisation initiale, le devenir neurologique à 18 mois d'âge corrigé, évalué par la survenue de paralysie cérébrale, a été aussi considéré comme variable d'intérêt.
- Dans l'Etude 2 le critère pronostique d'intérêt a été la survenue d'HIV de degré supérieur ou égal à II.
- Dans les Etudes 3 et 4 le critère de jugement principal a été le mauvais pronostic, défini comme un critère composite incluant le « décès lors de l'hospitalisation initiale » ou la « survie avec anomalies neurologiques majeures à l'ETF » (HIV grade III-IV et/ou LPV).

Troisième Chapitre

3.1. Introduction aux études sur le chlore

Ce chapitre présente une première et une deuxième étude visant à explorer respectivement les effets des anomalies de la chlorémie et les effets des apports chlorés dans la phase d'adaptation sur le pronostic neurologique néonatal. L'intérêt d'étudier ces troubles ioniques et les conséquences éventuelles d'un excès d'apports chlorés repose sur le concept physico-chimique de Stewart pour lequel la chlorémie joue un rôle dans le maintien de l'équilibre acido-basique. En effet, comme il a été prouvé chez l'enfant et chez l'adulte, l'hyperchlorémie et la charge chlorée induisent une acidose métabolique, un facteur de risque connu de l'hémorragie intraventriculaire et d'autres morbidités chez le patient critique. L'acidose métabolique entraînée par l'hyperchlorémie est la conséquence de la réduction de la différence entre cations et anions forts [ou strong ion difference (SID)], en pratique entre natrémie et chlorémie. Le métabolisme du chlore est donc très strictement corrélé à celui du sodium et cet élément a été pris en compte dans les deux études.

Les recherches ont été menées dans deux unités distinctes de réanimation néonatale, dans l'objectif non seulement de vérifier si l'hypothèse de l'association entre troubles de la chlorémie et mauvais pronostic était confirmée dans deux cohortes différentes, mais aussi de pouvoir prendre en compte l'effet de différentes pratiques et prises en charge (nutritionnelles et hydro-électrolytiques) sur les variations de la chlorémie.

3.2. ETUDE 1 : Balance du chlore dans la première semaine de vie chez le grand prématuré. Etude descriptive et morbidités associées

Silvia Iacobelli, Elsa Kermorvant-Duchemin, Francesco Bonsante, Alexandre Lapillonne, Jean-Bernard Gouyon.

Int J Pediatr 2012 ; 931597. doi: 10.1155/2012/931597.

Cette étude a fait l'objet d'une communication orale lors des 16^{èmes} Journées Francophones de Recherche en Néonatalogie et le résumé a été publié dans le livre des communications (Iacobelli S, Kermorvant-Duchemin E, Bonsante F, Lapillonne A, Gouyon JB. JFRN 2010, Paris, 2010)

Synthèse de l'article

Objectifs

L'objectif principal de cette recherche était d'étudier l'éventuelle association entre les variations de la chlorémie et les morbidités périnatales, notamment les pathologies neurologiques à court et à moyen terme chez les enfants de 25 à 32 semaines d'âge gestationnel. Les objectifs secondaires étaient les suivants: 1) étudier l'éventuelle association entre l'acidose métabolique due à l'hyperchlorémie et les morbidités périnatales ; 2) décrire la balance du chlore dans la première semaine de vie ; 3) analyser les variations de la chlorémie et de l'équilibre acido-basique en fonction des apports hydro-électrolytiques par la nutrition parentérale.

Méthodes

L'étude a porté sur tous les nouveau-nés de 25 à 32 semaines d'âge gestationnel, hospitalisés avant 6 heures de vie dans le service de réanimation néonatale du centre hospitalier universitaire de Dijon, au cours de la période de janvier 2007 à mai 2008. De manière prospective, les balances sodée et chlorée au cours de la première semaine de vie ont été calculées ; la différence des ions forts [ou strong ion difference (SID)] et les paramètres des gaz du sang [pH, excès de base (BE), concentration plasmatique de dioxyde de carbone total (tCO₂), bicarbonates (HCO₃⁻) et pCO₂,] ont été mesurés tous les jours dans la première semaine de vie.

L'effet de la chlorémie sur les variables périnatales à expliquer a été étudié par un modèle de analyse de covariance. Pour évaluer l'association entre l'acidose métabolique due à l'hyperchlorémie et les variables périnatales d'intérêt, deux facteurs explicatifs ont été étudiés : le SID et le tCO₂. L'effet de chacun de ces paramètres sur les variables à expliquer a été analysé par un modèle de régression logistique multiple. Le pronostic neurologique à court terme a été défini par la survenue d'hémorragie cérébrale de grade III-IV et/ou leucomalacie périventriculaire à l'échographie cérébrale faite lors de la première hospitalisation ; le pronostic neurologique à moyen terme a été défini par la survenue de paralysie cérébrale évaluée à 18 mois d'âge corrigé.

Résultats

Parmi les 147 patients admis dans l'unité pendant la période d'étude, 107 ont été éligibles pour l'étude avec les caractéristiques suivantes : poids de naissance 1 316 (\pm 361) g et terme 30,0 (\pm 1,6) semaines d'âge gestationnel. Une hyperchlorémie (taux plasmatique de chlore $>$ 120 mEq/L) a été observée chez 14 % des patients. La chlorémie était corrélée positivement à la natrémie ($p < 0,0001$). L'augmentation de la chlorémie et la baisse du SID s'associaient de manière significative à l'acidose métabolique (baisse de pH, BE, $t\text{CO}_2$ et HCO_3^-) et le paramètre du gaz du sang plus fortement associé à la chlorémie était le $t\text{CO}_2$.

En analyse multivariée, les apports intraveineux de chlore par la nutrition parentérale étaient le facteur indépendant le plus fortement associé à des taux plasmatiques élevés de chlore ($p < 0,001$), à un faible SID ($p < 0,001$) et à un $t\text{CO}_2$ bas ($p < 0,001$). Les autres variables associées significativement à ces critères étaient les faibles apports en sodium et le faible âge gestationnel, ainsi que parmi les facteurs cliniques, le canal artériel hémodynamiquement significatif et la perte de poids postnatale. Par contre, la chlorémie, le SID et le $t\text{CO}_2$ n'étaient pas associés au mauvais pronostic neurologique à court ou à moyen terme.

Discussion et conclusion

Les variations de la chlorémie plasmatique chez le grand prématuré sont influencées par le terme à la naissance et par les apports en chlore et en sodium de la nutrition parentérale. Nos résultats suggèrent que les interactions réciproques des apports intraveineux de sodium et de chlore peuvent interférer avec l'équilibre acido-basique. Les apports en sodium par des formules en sel ne contenant pas de chlore pourraient minimiser la survenue d'hyperchlorémie et d'acidose métabolique associées à la nutrition parentérale chez l'enfant prématuré. Dans cette population, dont l'équilibre hydro-électrolytique a été strictement surveillé, le taux d'hyperchlorémie était plus faible que ceux rapportés dans d'autres séries de grands prématurés. L'hyperchlorémie était associée à l'acidose métabolique, mais celle-ci n'était pas associée à un risque d'anomalies neurologiques à court et moyen terme.

Clinical Study

Chloride Balance in Preterm Infants during the First Week of Life

**Silvia Iacobelli,^{1,2} Elsa Kermorvant-Duchemin,^{3,4} Francesco Bonsante,^{1,2}
Alexandre Lapillonne,^{3,4} and Jean-Bernard Gouyon^{1,2,5}**

¹ Neonatology and NICU, GHSR, CHR, BP 350, 97448 Saint Pierre Cedex, Réunion, France

² Centre d'Études Périnatales de l'Océan Indien, Centre d'Investigation Clinique et d'Epidémiologie Clinique (CIC-EC) CHR, 97410 Saint Pierre, Réunion, France

³ Department of Neonatology, AP-HP, Groupe Hospitalier Cochin-Saint-Vincent de Paul, 75014 Paris, France

⁴ Paris Descartes University, 75270 Paris, France

⁵ NICU, Department of Paediatrics, University of Dijon, 21034 Dijon Cedex, France

Correspondence should be addressed to Silvia Iacobelli, silvia.iacobelli@chr-reunion.fr

Received 21 November 2011; Revised 15 December 2011; Accepted 15 December 2011

Academic Editor: Alan Richard Spitzer

Copyright © 2012 Silvia Iacobelli et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Objective. To describe the chloride balance in infants born 25–32-week gestation, analyze the association of chloride changes with hydroelectrolytic status and their relationship with perinatal conditions, morbidities, and neurological outcome. **Methods.** For 7 days after birth, sodium and chloride balance, plasma potassium, phosphate, and total carbon dioxide (tCO₂) were prospectively determined and strong ion difference (SID) calculated. Three multivariate regression analyses were performed to identify factors associated with high plasma chloride concentration, low SID, and low tCO₂. **Results.** 107 infants were studied. Plasma chloride concentration was significantly positively associated with plasma sodium concentration. Higher plasma chloride and lower SID were significantly associated with lower plasma tCO₂. Chloride intake was the main independent factor associated with high plasma chloride, low SID, and low plasma tCO₂, with lesser contribution of sodium intake and low gestational age (GA). Also, patent ductus arteriosus and birth weight loss were independent factors affecting plasma chloride and SID. Neither high chloride levels nor low SID were associated to impaired neurological outcome. **Conclusions.** In preterm infants, chloride balance is influenced by GA and by interrelationship between sodium and chloride intake. High chloride levels are associated with metabolic acidosis but not related to increased risk of impaired neurological outcome.

1. Introduction

Transition to the extrauterine environment is associated with major changes of body water and salt composition in the premature baby [1]. Changes in plasma sodium concentrations have been particularly studied, and large variations in sodium levels have shown a relationship with impaired outcome [2]. On the contrary, metabolism of chloride (Cl⁻), the major anion of the extracellular fluids, has been rarely investigated. Even if chloride balance usually parallels that of sodium, and so it is strictly correlated to the extracellular volume balance, chloride losses and excretion can also occur independently from sodium, mainly in equilibrium with bicarbonate status. Therefore, hyperchloraemia is often associated with metabolic acidosis, a causative factor for intraventricular haemorrhage and other morbidities in preterm

babies [3]. The concept of “strong ion difference” (SID) is used to help explain “metabolic” acid base abnormalities associated with changes in chloride concentration [4]. According to the “Stewart’s approach,” three independent variables determine pH in plasma, by changing the degree of water dissociation into hydrogen ions. These three variables are the SID, the partial pressure of carbon dioxide CO₂ (pCO₂), and the total concentration of weak acids (primary albumin). A decrease in the SID will result in an acidifying effect on plasma. The SID is calculated as the charge difference between the sum of measured strong cations (Na⁺, K⁺, Ca²⁺, and Mg²⁺) and measured strong anions (Cl⁻, lactate) [5]. A strong ion is defined as one that is almost completely dissociated at physiological pH. As both Na⁺ and Cl⁻ are the major strong ions in plasma, the SID calculated as the simple difference between sodium and chloride represents one

independent variable determining the hydrogen ion and the bicarbonate ion concentrations; an increase in the plasma Cl^- relative to Na^+ decreases the plasma SID and lowers the pH [6].

To our knowledge, no study has explored the chloride balance during the first week of life or the impact of changes in plasma chloride levels on perinatal morbidity and neurological outcome in preterm infants. The present investigation was carried out to enlighten these two points.

2. Patients and Methods

2.1. Study Population. From January 2007 to May 2008 all consecutive infants born below 33 weeks of gestational age (GA) and admitted to the neonatal intensive care unit (NICU) of Dijon University Hospital within 6 hours after birth were eligible. Noninclusion criteria were major congenital anomalies. A criterion for secondary exclusion was death within the first week.

The research protocol was authorized by the Ethics Committee of the Hospital. Informed, signed parental consent was obtained.

Parenteral nutrition (PN) was administered by eight different PN bags commercially batch produced with increasing nutrient intake for day 1 to day 7 of life in infants with central venous line [7]. Infants without central venous line also received PN by commercially batch-produced bags at lower osmolarity and nutrient intake. 10% dextrose or sterile water for injection at choice could be added to PN bags by retrograde continuous infusion in order to achieve the required water supply. Guidelines for daily prescription of water were provided. These guidelines recommended starting fluid intake at 80 mL/kg/day and then giving fluid input to allow a daily weight loss from 2 to 4% and to maintain plasma sodium and potassium concentrations within 135 to 145 mmol/L and 4–6 mmol/L, respectively [8]. Starting sodium, potassium- and chloride intake was at day 3.

In the purpose to assess short- and middle-term neurological outcome in this population, cerebral ultrasounds were realized during the infant hospital stay and neurological examination at 18 months of corrected age.

Cranial ultrasounds were performed by experienced examiners (neonatologists or radiologists) according to the following protocol: day 1, 3, 7, 10, 15, and then at least every 2 weeks or more often as clinically indicated, until discharge.

Severe abnormal cerebral ultrasound was defined as severe (grade 3 or 4) intraventricular hemorrhage (IVH) and/or cystic periventricular leukomalacia (c-PVL) occurring before infants discharge from hospital. IVH was graded at cerebral ultrasound according to Papile et al. [9]. c-PVL was defined by cranial ultrasound as an area of increased echogenicity of the periventricular white matter in acute phase which subsequently evolved into cystic lesion [10].

Children were subjected to a detailed physical and neurological examination at 18 months of corrected age, in order to assess tone, reflexes, posture, and movements. We used the definition of cerebral palsy proposed by the European Cerebral Palsy Network [11].

2.2. Data Collection. For the 7 days after birth, plasma sodium, potassium, chloride, phosphate, and total carbon dioxide (tCO_2) were determined daily. We daily calculated the plasma SID as the difference between sodium and chloride. Base excess (BE), bicarbonate (HCO_3^-), pCO_2 , and pH were performed according to clinician decision.

Day 1 data were obtained on a blood sample taken at 12 hours of life. Day 2 blood sample was taken 24 hours later.

Sodium, potassium, and chloride intake from intravenous, oral fluids and drugs administration during the study period was recorded from the infant chart. Intravenous flushes and sodium and chloride administration by drugs, or transfusions were taken into account when calculating fluid and electrolyte intake.

Daily, consecutive 8-hour urine collection starting 4 hours before the blood sampling was performed by using a plastic bag. Urine was analyzed for sodium and chloride concentrations. Plasma and urine sodium and chloride, plasma potassium, phosphate, and tCO_2 concentrations were measured by an Ortho Clinical Diagnostic analyzer (Rochester, USA), which uses direct potentiometry. Blood gas was analyzed on the Radiometer ABL 700 blood gas analyzer.

Chloride and sodium balance were defined, respectively, as the difference between chloride intake and urinary excretion and sodium intake and urinary excretion was expressed as mmol/kg/day.

2.3. Statistics. Data from categorical variables were analyzed using χ^2 test or Fisher exact test for small samples. Continuous variables were expressed as mean \pm standard deviation, and differences between groups were analysed using ANOVA or Kruskal-Wallis analysis of variance for not normally distributed data. Statistical tests were performed with SAS software 8.2. Results were considered statistically significant at a 5% level.

We measured the relationship between both plasma chloride concentration and plasma SID with plasma sodium, phosphate, tCO_2 , pH, BE, and HCO_3^- .

Furthermore, we realized for each of the following parameters (plasma chloride concentration, plasma SID, and tCO_2) a univariate analysis of variance in order to explore their association with water, energy, amino acids, phosphate, sodium, potassium, and chloride intakes and also their association with all the perinatal variables summarized in Table 1. For each of the above parameters, variables significant at a P level <0.20 at the univariate analysis were entered into a backward selection analysis of variance.

3. Results and Discussion

3.1. Results. During the study period, 147 neonates born below 33 weeks of gestation were hospitalized in our NICU. Of these, 129 were admitted within the 6th hour of life. Among them, 12 were not enrolled in the study: 1 due to major congenital anomalies, 9 due to omission of the attending physician, and 2 due to refused parental consent. So, 117 infants were entered into the study. Among them, 10 were excluded secondary: 2 because they died during the first

TABLE 1: Characteristics of 107 infants <33 weeks of GA hospitalized in NICU.

Characteristics at birth	%
Male gender	54.2
BW	1316 ± 361 ^o
GA	30.0 ± 1.6 [#]
SGA	25.4
Apgar score <3 at 1 minute of life	11.2
Prenatal characteristics	
Antenatal steroids	77.6
Caesarean section	79.4
Postnatal characteristics	
Central venous line	62.6
Acute anaemia at birth	13.2
Body weight loss >15% of BW	11.2
RDS-requiring surfactant	66.4
Early onset sepsis	6.5
Hypotension-requiring treatment	13.1
Acute renal failure*	11.2
HsPDA	36.4
Oxygen dependency beyond 36 wks PCA	12.3
Necrotizing enterocolitis	2.8
Severe abnormal cerebral ultrasound [†]	1.8
Death after the first week of life	0
Cerebral palsy at 18 months of PCA	2.1

(NICU) Neonatal Intensive Care Unit; (BW) birth weight; (GA) gestational age; (SGA) small for gestational age; (RDS) respiratory distress syndrome; (HsPDA) hemodynamically significant patent ductus arteriosus; (PCA) postconceptional age.

^og (mean ± SD), [#]weeks (mean ± SD), *according to [12], [†]intraventricular haemorrhage grade 3 or 4 and/or periventricular leukomalacia.

week, 2 as they were transferred to other units, and 6 due to difficulties of blood sampling. Finally, 107 infants were entered into the study. Table 1 shows antenatal and postnatal characteristics of the study population.

Chloride concentration values were available for 95, 96, 98, 98, 91, 92, and 88% of infants, and sodium concentration values were available for 98, 100, 99, 99, 95, 95, and 92% from day 1 to 7. tCO₂ values were available for 87, 83, 86, 87, 83, 83, and 77% of infants from day 1 to 7. Arterial blood gas was performed in 37% of the blood samples; when these data were available, the analysis showed that plasma chloride and SID were significantly associated with tCO₂, BE, and HCO₃⁻ and that tCO₂ was the main factor independently associated with higher plasma chloride and lower SID. Therefore, tCO₂ was the biochemical parameter used to express the results concerning the relationship of chloride with metabolic acid base balance.

Figure 1 shows the chloride and sodium intake, urinary excretion and balance during the study period. Figure 2 shows plasma chloride percentiles during the first week of life in the study population. The mean plasma chloride value during the study period was 110.5 ± 5.0 mmol/L. Chloride concentration was equal or above 120 mmol/L in 4% of

plasma samples and in 14% of patients. Hypernatraemia defined as plasma sodium >150 mmol/L occurred in 1.9% of infants.

Plasma chloride and sodium profiles were similar, while urinary chloride concentration did not parallel urinary sodium excretion (Figure 1).

Figure 3 shows the evolution of the plasma SID during the first week of life.

Plasma chloride concentration was strongly positively associated with plasma sodium concentration ($r^2 = 0.66$; $P < 0.000001$); a negative significant association was described with plasma tCO₂ ($r^2 = 0.13$; $P < 0.01$) and phosphate ($r^2 = 0.05$; $P < 0.05$). Plasma SID was significantly positively associated with plasma tCO₂ ($r^2 = 0.28$; $P < 0.001$) and phosphate ($r^2 = 0.11$; $P < 0.01$).

Clinical factors associated with plasma chloride concentration at the univariate analysis were weight loss % of birth weight (BW), GA, acute anaemia at birth, respiratory distress syndrome (RDS) requiring surfactant, hypotension requiring treatment, hemodynamically significant patent ductus arteriosus (hsPDA), acute renal failure, intraventricular haemorrhage (IVH) grade 3-4, necrotizing enterocolitis (stage 2 or more of the Bell classification), chloride, sodium, phosphate, amino acid, and water intakes and day of life (data not shown). Among them, chloride intake, hsPDA, weight loss % of BW, sodium intake, and GA remained independent factors associated with plasma chloride at the multivariate analysis (Table 2). Factors associated with plasma SID at the univariate analysis were GA, acute anaemia at birth, RDS-requiring surfactant, hypotension requiring treatment, IVH grade 3-4, hsPDA, chloride, sodium, phosphate, and amino acid intake, and day of life (data not shown). Among them, chloride intake, hsPDA, sodium intake, phosphate intake and GA remained independent factors associated with plasma SID at the multivariate analysis (Table 2).

Factors associated with lower plasma tCO₂ at the univariate analysis were GA, RDS requiring surfactant, hypotension requiring treatment, hsPDA, low Apgar score at 1 minute of life, sodium, chloride, phosphate and amino acid intake and day of life (data not shown). Among them, chloride and sodium intakes and GA remained independent factors associated with plasma tCO₂ at the multivariate analysis (Table 2).

3.2. Discussion. To our knowledge this is the first prospective study showing the chloride balance in very preterm infants during the first week of life. Our data found a strong link between chloride and sodium metabolism. These results are consistent with others; Day et al. [13] showed that in very low birth weight infants (VLBWI) who developed hyponatraemia during the second and the third week of life, plasma chloride concentration paralleled plasma sodium, and this also occurred in sodium supplemented VLBWI between 2 and 6 weeks of age [14]. In the same infants chloride excretion in urine did not parallel that of sodium [14]. Our results also showed that urinary chloride excretion is independent from that of sodium since the first week of postnatal life. In our series weight loss % of BW was one of the clinical factors significantly associated to high chloride levels. This confirms that the strict correlation between sodium and

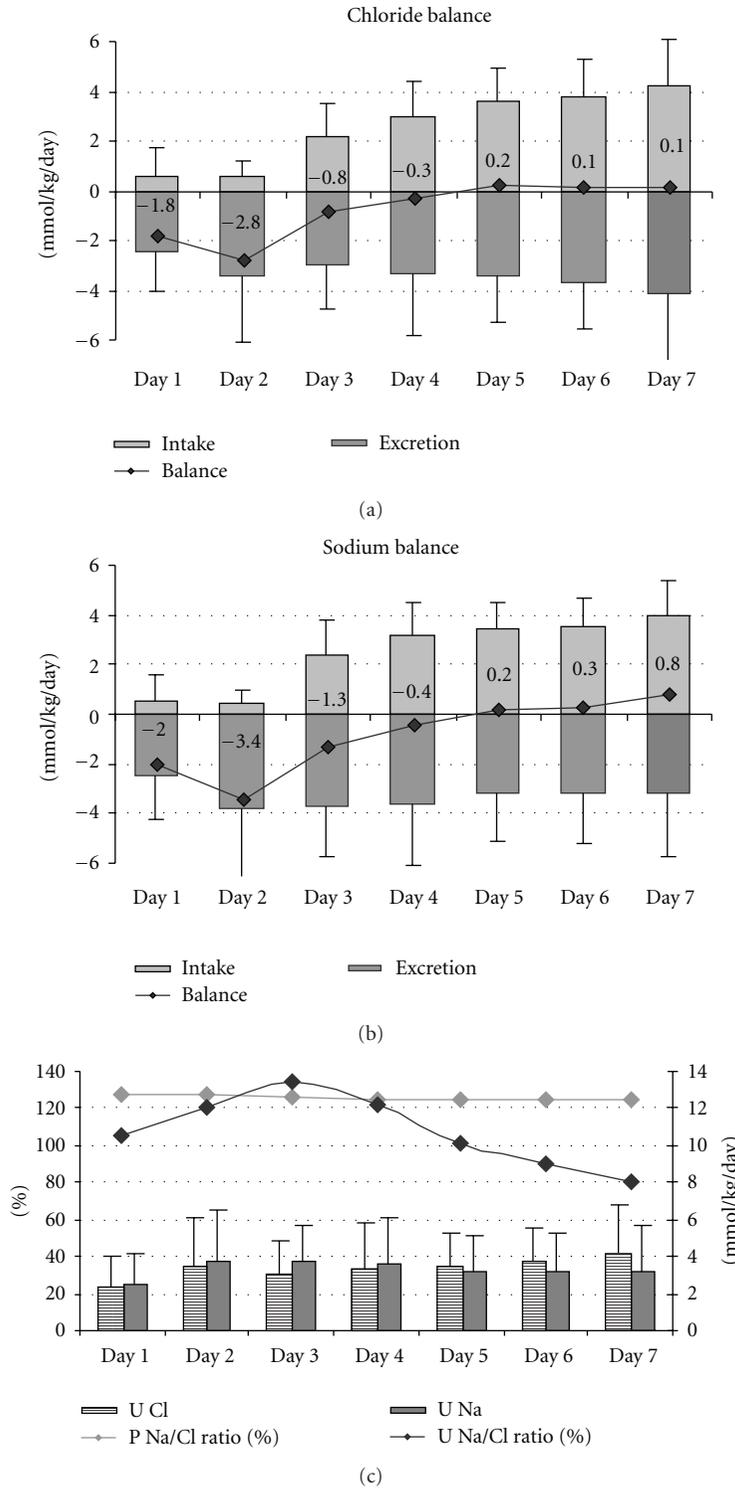


FIGURE 1: Chloride and sodium intake and balance during the first week of life in 107 infants <33 weeks of GA hospitalized in NICU.

chloride metabolism depends on parallel sodium and chloride changes due to the extracellular volume contraction after birth.

Our study also disclosed a wide variability of chloride levels during the first week of life with mean plasma concentrations much higher when compared to the range usually

considered as normal for preterm babies [15]. Higher chloride levels were detected in infants with lower GA. As reported by others [16], higher plasma chloride concentration and signs of metabolic acidosis (low SID and tCO₂) were significantly associated with higher chloride intake in our study. Previous reports have already shown that a reduction in

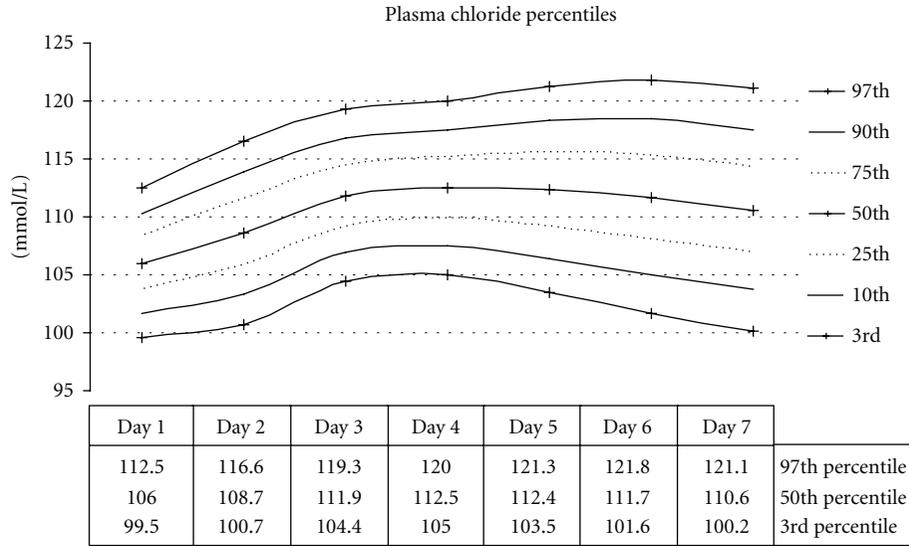


FIGURE 2: Plasma chloride percentiles during the first week of life in 107 infants <33 weeks of GA hospitalized in NICU (P value = 0.000001 at Kruskal-Wallis one-way analysis of variance).

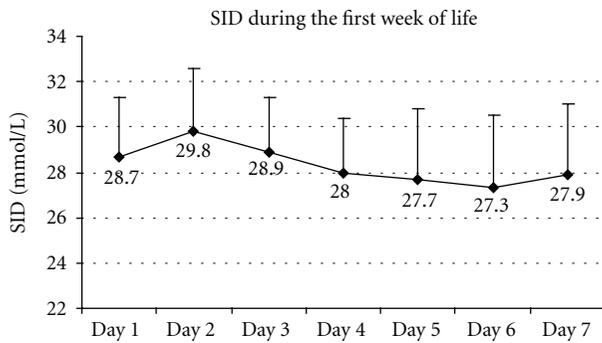


FIGURE 3: Strong ion difference (SID) during the first week of life in 107 infants <33 weeks of GA hospitalized in NICU (P value = 0.000001 at Kruskal-Wallis one way analysis of variance).

the chloride load by using acetate salts can be safely achieved and may even decrease plasma chloride levels and metabolic acidosis in preterm infants on PN during the first days of life [17, 18]. Groh-Wargo et al. underlined the effect of chloride from normal saline flushes in increasing the total chloride load in LBWI on PN [16]. Our results showed in addition that higher sodium and phosphate intake was associated to lower plasma chloride and lower metabolic acidosis in preterm infants on PN. The above suggests that sodium given in a salt formulation not containing chloride may be protective against metabolic acidosis and high chloride levels, and that the interrelationship between sodium and chloride intakes should be looked at as it can interfere with acid base homeostasis. Concerning the inverse association of phosphate intake and metabolic acidosis, we speculate that this could depend on the fact that dietary phosphate intake may affect renal regulation of plasma bicarbonate and so the renal defence against metabolic acidosis, as already proven in animal

TABLE 2: Factors associated with plasma chloride (mmol/L), SID, and tCO_2 levels (mmol/L) at multivariate analysis in 107 infants <33 weeks of GA.

	P value	Incremental r^2	Beta coefficient
Plasma chloride*			
Chloride intake	<0.001	0.14	+
HsPDA	<0.01	0.03	+
Sodium intake	<0.01	0.02	-
Weight loss % of BW	<0.01	0.02	+
GA	<0.05	0.01	-
SID**			
Chloride intake	<0.001	0.09	-
HsPDA	<0.01	0.04	-
Sodium intake	<0.05	0.01	+
Phosphate intake	< 0.05	0.01	+
GA	<0.05	0.01	+
tCO_2 ***			
Chloride intake	<0.001	0.13	-
GA	<0.01	0.02	+
Sodium intake	<0.05	0.01	+

(SID) strong ion difference; (tCO_2) total carbon dioxide; (hsPDA) hemodynamically significant patent ductus arteriosus; (BW) Birth weight; (GA) gestational age;

*General $r^2 = 0.22$; **General $r^2 = 0.16$ ***General $r^2 = 0.16$.

models and adults [19]. Of course this point needs to be investigated in future prospective studies.

Even if no previous studies have specifically explored the association of changes in plasma chloride levels and neonatal neurological morbidities, concerns have been expressed about the finding that blood chloride concentration had a significant linear correlation with metabolic acidosis, which

is thought to be a causative factor in intraventricular haemorrhage in preterm [3]. Moreover, plasma chloride concentration has also a strong correlation with plasma sodium concentration, and several retrospective investigations focused on natraemia have reported that changes in sodium levels, as well neonatal hyper- or hyponatraemia, were associated to increased risk of severe cerebral haemorrhage and cerebral palsy [2, 20].

This cohort of very preterm infants provided important additional information, as in our study the only clinical variable associated with both high chloride levels and low SID was hSPDA, and this could be explained as infants with this pathological condition may exhibit metabolic acidosis [21]. Neither high chloride levels nor low SID were associated to impaired neurological outcome (severe abnormal cerebral ultrasound or cerebral palsy). It is worthy to note that the incidence of hypernatraemia was very low in our study, especially when compared to previous reports [22, 23].

Finally it is interesting to remind that chloride depletion too may represent a contributing cause of morbidity and mortality in preterm populations, as proven by human and animals studies [24, 25], but in our cohort low chloride levels were not correlated to increased morbidity.

The low incidence of electrolyte disturbance-related morbidity in our population was probably due to careful management of fluid and electrolyte balance advocated by the unit guidelines and based on the strict monitoring of infants hydroelectrolytic status.

4. Conclusion

This study allowed describing the postnatal chloride balance in preterm infants hospitalized in NICU. Plasma chloride levels during the first week are higher in infants born at lower GA, and they are correlated with plasma sodium levels and biological markers of metabolic acidosis. In this carefully monitored population, changes in plasma chloride levels were not associated to poor neurological outcome in the short and middle term.

References

- [1] E. Sulyok, "Renal aspect of sodium metabolism in the fetus and neonate," in *Nephrology and Fluid/Electrolyte Physiology. Neonatology Questions and Controversies*, W. Oh, J. P. Guignard, and S. Baumgart, Eds., pp. 23–53, Elsevier, Philadelphia, Pa, USA, 1th edition, 2008.
- [2] L. Baraton, P. Y. Ancel, C. Flamant, J. L. Orsonneau, D. Darmaun, and J. C. Rozé, "Impact of changes in serum sodium levels on 2-year neurologic outcomes for very preterm neonates," *Pediatrics*, vol. 124, no. 4, pp. e655–e661, 2009.
- [3] R. W. I. Cooke, "Factors associated with periventricular haemorrhage in very low birthweight infants," *Archives of Disease in Childhood*, vol. 56, no. 6, pp. 425–431, 1981.
- [4] L. I. Worthley, "Strong ion difference: a new paradigm or new clothes for the Acid-base emperor," *Critical Care and Resuscitation*, vol. 1, no. 2, p. 214, 1999.
- [5] P. A. Stewart, "Modern quantitative acid-base chemistry," *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, vol. 61, no. 12, pp. 1444–1461, 1983.
- [6] S. Skellett, A. Mayer, A. Durward, S. M. Tibby, and I. A. Murdoch, "Chasing the base deficit: hyperchloraemic acidosis following 0.9% saline fluid resuscitation," *Archives of Disease in Childhood*, vol. 83, no. 6, pp. 514–516, 2000.
- [7] S. Iacobelli, F. Bonsante, A. Vintéjoux, and J. B. Gouyon, "Standardized parenteral nutrition in preterm infants: early impact on fluid and electrolyte balance," *Neonatology*, vol. 98, no. 1, pp. 84–90, 2010.
- [8] J. M. Lorenz, L. I. Kleinman, G. Ahmed, and K. Markarian, "Phases of fluid and electrolyte homeostasis in the extremely low birth weight infant," *Pediatrics*, vol. 96, no. 3 I, pp. 484–489, 1995.
- [9] L. A. Papile, J. Burstein, R. Burstein, and H. Koffler, "Incidence and evolution of subependymal and intraventricular hemorrhage: a study of infants with birth weights less than 1,500 gm," *Journal of Pediatrics*, vol. 92, no. 4, pp. 529–534, 1978.
- [10] L. S. De Vries, P. Eken, and L. M. S. Dubowitz, "The spectrum of leukomalacia using cranial ultrasound," *Behavioural Brain Research*, vol. 49, no. 1, pp. 1–6, 1992.
- [11] C. Cans, "Surveillance of cerebral palsy in Europe: a collaboration of cerebral palsy surveys and registers," *Developmental Medicine and Child Neurology*, vol. 42, no. 12, pp. 816–824, 2000.
- [12] G. Choker and J. B. Gouyon, "Diagnosis of acute renal failure in very preterm infants," *Biology of the Neonate*, vol. 86, no. 3, pp. 212–216, 2004.
- [13] G. M. Day, I. C. Radde, J. W. Balfe, and G. W. Chance, "Electrolyte abnormalities in very low birthweight infants," *Pediatric Research*, vol. 10, no. 5, pp. 522–526, 1976.
- [14] R. N. Roy, G. W. Chance, and I. C. Radde, "Late hyponatremia in very low birthweight infants (<1.3 kilograms)," *Pediatric Research*, vol. 10, no. 5, pp. 526–531, 1976.
- [15] A. Green and S. Keffler, "Neonatal biochemical reference ranges," in *Robertson's Textbook of Neonatology*, J. M. Rennie and N. R. C. Robertson, Eds., pp. 1408–1414, Churchill Livingstone, 3rd edition, 1999.
- [16] S. Groh-Wargo, A. Ciaccia, and J. Moore, "Neonatal metabolic acidosis: effect of chloride from normal saline flushes," *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, vol. 12, no. 2, pp. 159–161, 1988.
- [17] O. Peters, S. Ryan, L. Matthew, K. Cheng, and J. Lunn, "Randomised controlled trial of acetate in preterm neonates receiving parenteral nutrition," *Archives of Disease in Childhood*, vol. 77, no. 1, pp. F12–F15, 1997.
- [18] C. E. Richards, M. Drayton, H. Jenkins, and T. J. Peters, "Effect of different chloride infusion rates on plasma base excess during neonatal parenteral nutrition," *Acta Paediatrica*, vol. 82, no. 8, pp. 678–682, 1993.
- [19] H. N. Hulter, "Effects and interrelationships of PTH, Ca²⁺, vitamin D, and Pi in acid-base homeostasis," *The American Journal of Physiology*, vol. 248, no. 6, pp. F739–752, 1985.
- [20] S. Perrott, L. Dodds, and M. Vincer, "A population-based study of prognostic factors related to major disability in very preterm survivors," *Journal of Perinatology*, vol. 23, no. 2, pp. 111–116, 2003.
- [21] P. Jadhav, P. S. Parimi, and S. C. Kalhan, "Parenteral amino acid and metabolic acidosis in premature infants," *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, vol. 31, no. 4, pp. 278–283, 2007.
- [22] G. Bustos Lozano, C. Orbea Gallardo, S. Fernández De Miguel, M. C. Muñoz Labián, M. López Maestro, and M. Moral Pumarega, "Determinants of uremia elevation in the first days of life in premature infants born at less than 30 weeks of gestation," *Anales de Pediatría*, vol. 59, no. 6, pp. 559–564, 2003.

- [23] Z. Gawlowski, N. Aladangady, and P. G. Coen, "Hypernatraemia in preterm infants born at less than 27 weeks gestation," *Journal of Paediatrics and Child Health*, vol. 42, no. 12, pp. 771–774, 2006.
- [24] J. M. Perlman, V. Moore, M. J. Siegel, and J. Dawson, "Is chloride depletion an important contributing cause of death in infants with bronchopulmonary dysplasia?" *Pediatrics*, vol. 77, no. 2, pp. 212–216, 1986.
- [25] M. M. Heiny and S. J. Wassner, "The effect of isolated chloride depletion on growth and protein turnover in young rats," *Pediatric Nephrology*, vol. 8, no. 5, pp. 555–560, 1994.

3.3. ETUDE 2 : Apports de chlore chez l'enfant de très faible poids à la naissance : interaction avec les apports sodés et effet potentiel sur le pronostic néonatal

Elsa Kermorvant-Duchemin, Silvia Iacobelli, Sergio Eleni-Dit-Trolli, Francesco Bonsante, Christopher Kermorvant, Gilles Safrati, Jean-Bernard Gouyon, Alexandre Lapillonne.

J Pediatr Gastroenterol Nutr 2012; 54 (5): 613-619.

Cette étude a été réalisée grâce à un travail collaboratif avec les équipes du Département de Néonatalogie de l'Hôpital Necker-Saint-Vincent de Paul et de l'Université Paris Descartes de Paris.

Synthèse de l'article

Objectifs

L'objectif principal de cette étude était de décrire les apports en chlore au cours des 10 premiers jours de vie dans une cohorte de patients nés en dessous de 28 semaines d'âge gestationnel. Les objectifs secondaires étaient les suivants : évaluer l'association entre les apports de chlore et 1) la survenue d'hyperchlorémie et/ou d'acidose métabolique sévère ; 2) le mauvais pronostic neurologique néonatal.

Méthodes

Cette étude rétrospective de cohorte a été menée chez tous les nouveau-nés de moins de 28 semaines d'âge gestationnel hospitalisés depuis la naissance jusqu'à 10 jours de vie au moins, dans le service de réanimation néonatale de l'hôpital Saint Vincent de Paul à Paris, entre janvier 2004 et décembre 2006. Les apports totaux cumulés en chlore (par la nutrition parentérale et par administration « cachée ») pour chacun des 10 premiers jours postnataux ont été calculés et confrontés aux apports en sodium. Ces apports ont été définis « élevés » si > 10 mEq/kg et/ou > 45 mEq/kg de chlore pendant respectivement les 3 et les 10 premiers jours. Pour l'évaluation des objectifs secondaires, l'hyperchlorémie a été définie par une chlorémie corrigée (Clcorr) ≥ 115 mEq/L pendant 2 jours ou plus, l'acidose métabolique sévère par un excès de base (EB) minimum ≤ 10 mEq/L ou des bicarbonates (HCO_3) minimum < 12 mEq/L ou un pH minimum $< 7,2$, et le pronostic neurologique défavorable par la présence de hémorragie intraventriculaire de grade II ou plus à l'échographie cérébrale réalisée pendant l'hospitalisation. Trois modèles de régression logistique multiple ont été utilisés pour étudier l'association entre les apports de chlore et l'hyperchlorémie, l'acidose métabolique sévère et le pronostic neurologique, en ajustant sur les variables potentielles de confusion.

Résultats

57 enfants ont été inclus avec les caractéristiques suivantes : poids de naissance $885 (\pm 152)$ g et terme $26,3 (\pm 0,8)$ semaines d'âge gestationnel. Les apports totaux cumulés en chlore étaient de $9,6 \pm 3,7$ mEq/kg à J3 et $49,2 \pm 13,5$ mEq/kg à J10. Les apports « cachés » de chlore (en sus de la nutrition parentérale) représentaient en moyenne 70 % du total des

apports chlorés au cours des 3 premiers jours de vie. La différence entre apports totaux cumulés en chlore et en sodium augmentait depuis la naissance, atteignant $7,8 \pm 4,8$ mEq/kg à J10, et était essentiellement due à l'excès de chlore apporté par les solutés d'acides aminés et au chlorure de potassium de la nutrition parentérale.

L'analyse multivariée a montré que les apports totaux cumulés élevés à J3 étaient un facteur indépendant d' $EB \leq 10$ mEq/L ; les apports totaux cumulés élevés à J10 étaient un facteur indépendant associé à une $Cl_{corr} \geq 115$ mEq/L et à un $EB \leq 10$ mEq/L. Après ajustement sur les variables de confusion potentielles, il n'y avait pas d'association significative entre les apports de chlore élevés à J3 et/ou à J10 et l'hémorragie intraventriculaire grade II ou plus.

Discussion et conclusion

L'administration d'apports élevés en chlore au cours des 10 premiers jours de vie s'associe à une acidose métabolique sévère et à une hyperchlorémie chez l'enfant de très faible poids de naissance, sans que ceci ne s'associe à un pronostic neurologique défavorable. Les apports en chlore devraient être contrôlés dès la naissance chez le grand prématuré et la surveillance attentive des interactions réciproques des électrolytes apportés par la nutrition parentérale pourrait minimiser le risque d'acidose métabolique sévère. Les apports « cachés » de chlore devraient être pris en compte dans le calcul des apports totaux de cet électrolyte.

Quatrième Chapitre

4.1. Introduction aux études sur la protidémie

Ce chapitre présente deux études qui ont investigué l'association entre l'hypoprotidémie du premier jour de vie et le mauvais pronostic (décès ou survie avec anomalies neurologiques majeures). Cette association a été retrouvée dans une population de grands prématurés analysée par l'Etude 3, a été confirmée sur la cohorte explorée par l'Etude 4, qui a de plus comparé la valeur prédictive de mauvais pronostic de l'hypoprotidémie à celle des scores de gravités clinique validés en néonatalogie.

Les hypothèses sur le lien physiopathologique entre hypoprotidémie et mauvais pronostic sont présentées, ainsi que les implications pour des futures pistes de recherche dans le domaine des facteurs biologiques influençant le pronostic des grands prématurés.

4.2. ETUDE 3 : Hypoprotidémie précoce et mauvais pronostic chez l'enfant grand prématuré

Silvia Iacobelli, Francesco Bonsante, Charlotte Lacoutière, Cyril Ferdynus, Jonathan Cottenet, Christine Binquet, Catherine Quantin, Jean-Bernard Gouyon

J Perinatol 2011; 32(7): 220-224.

Les résultats préliminaires de cette étude ont fait l'objet d'une communication orale lors des 16^{èmes} Journées Francophones de Recherche en Néonatalogie et le résumé a été publié dans le livre des communications (Iacobelli S, Lacoutière C, Bonsante F, Ferdynus C, Gouyon JB. JFRN 2010, Paris, 2010)

Synthèse de l'article

Rationnel et Objectif

L'objectif de cette étude était d'évaluer la relation entre l'hypoprotidémie du premier jour de vie (J1) et le mauvais pronostic (décès ou survie avec anomalies neurologiques majeures) au cours de l'hospitalisation initiale en réanimation néonatale chez l'enfant grand prématuré.

Méthodes

Le travail présenté est une étude épidémiologique en population. Tous les nouveau-nés d'âge gestationnel compris entre 24 et 31 semaines, hospitalisés de janvier 2001 à décembre 2008 dans le service de réanimation néonatale du centre hospitalier universitaire de Dijon avant 6 heures de vie étaient éligibles. Cet hôpital universitaire accueille la seule maternité de type III en Bourgogne et l'unité de réanimation néonatale assure la prise en charge et les soins spécialisés d'environ 94 % des nouveau-nés prématurés de moins de 32 semaines d'âge gestationnel nés dans toute la région.

Les patients étaient exclus de l'analyse si le dosage de protidémie du premier jour de vie n'était pas disponible ou s'ils présentaient des malformations congénitales sévères.

Les données cliniques sur les couples mère-enfant et les résultats biologiques de la protidémie ont été recueillis à partir de la base de données informatisées du réseau périnatal de Bourgogne croisée, avec l'autorisation de la CNIL, avec celle du laboratoire de biochimie du plateau technique biologique du CHU de Dijon (cf. 2.2.1). L'hypoprotidémie a été définie comme un taux plasmatique de protéines totales < 40 g/L.

La variable d'intérêt était le mauvais pronostic, défini comme le décès hospitalier ou la survie avec anomalies neurologiques sévères à l'échographie cérébrale réalisée pendant l'hospitalisation (hémorragie intraventriculaire grade III-IV et/ou leucomalacie périventriculaire).

Dans une première analyse, l'association de l'hypoprotidémie avec le mauvais pronostic a été étudiée, puis les variables périnatales associées à l'hypoprotidémie ont été identifiées par régression logistique multivariée. Dans une seconde analyse, un modèle de régression logistique multiple a été utilisé pour étudier l'effet de l'hypoprotidémie sur le mauvais pronostic en ajustant sur les variables périnatales retenues lors de l'analyse précédente.

Résultats

Parmi les 1 067 enfants admis dans l'unité pendant la période d'étude, aucun ne présentait de malformation congénitale et 154 n'avaient pas de dosage de protidémie à J1. Au total 913 patients ont été inclus avec les caractéristiques suivantes : poids de naissance 1 184 (\pm 324) g et terme 28,8 (\pm 1,9) semaines d'âge gestationnel. Le mauvais pronostic affectait 14,6 % d'entre eux, dont 8,2 % de décès et 6,4 % de survie avec anomalies neurologiques sévères. L'hypoprotidémie à J1 était observée chez 19,5 % des patients. Le taux de mauvais pronostic était de 33,7 % chez les enfants avec hypoprotidémie et de 9,9 % chez ceux à protidémie normale ($p < 0,0001$). A l'analyse multivariée, après ajustement sur les facteurs potentiels de confusion, l'effet de l'hypoprotidémie sur le mauvais pronostic restait significatif (odds ratio 3,4 ; IC 95 % : 2,1-5,4 ; $p < 0,0001$).

Discussion et conclusion

Dans cette population d'enfants grands prématurés hospitalisés en réanimation, l'hypoprotidémie était un facteur indépendant associé au mauvais pronostic hospitalier. Le protocole de cette étude ne permet pas d'identifier les mécanismes par lesquels l'hypoprotidémie pourrait influencer le pronostic. Ce travail pourrait constituer le point de départ de futures investigations visant à explorer les bases physiopathologiques de cette association. Il serait aussi intéressant de comparer la valeur prédictive de l'hypoprotidémie sur le mauvais pronostic à d'autres scores de gravité validés chez le grand prématuré.

4.3. ETUDE 4 : Protidémie précoce et pronostic défavorable chez le grand prématuré : valeur prédictive et comparaison aux scores de gravité validés

Silvia Iacobelli, Francesco Bonsante, Catherine Quantin, Pierre-Yves Robillard, Christine Binquet, Jean-Bernard Gouyon
PLoS One 2013; 8(4):e62210.

Cette étude a fait l'objet d'une communication orale lors des 18^{èmes} Journées Francophones de Recherche en Néonatalogie et le résumé a été publié dans le livre des communications (Iacobelli S, Bonsante F, Robillard PY, Gouyon JB, Quantin C. JFRN 2012, Paris, 2012)

Synthèse de l'article

Rationnel et objectifs

Un travail récent sur une grande population de nouveau-nés grands prématurés hospitalisés en réanimation en région Bourgogne, a identifié l'hypoprotidémie précoce (taux plasmatique de protéines totales < 40 g/L au cours du premier jour de vie, J1) comme étant un facteur indépendant associé à un pronostic défavorable (décès au cours de l'hospitalisation initiale ou survie avec hémorragie cérébrale grade III-IV et/ou leucomalacie périventriculaire kystique à l'échographie cérébrale).

Dans la présente étude, nos objectifs étaient les suivants: 1) valider ce résultat sur une autre population de grands prématurés ; 2) comparer la performance de la protidémie, en termes de capacité discriminante de pronostic défavorable, à celle d'autres scores de gravité validés (CRIB, CRIB-II, SNAP-II et SNAPPE-II).

Méthodes

Nous avons étudié une cohorte de grands prématurés pris en charge au cours de la période janvier 2001 à juin 2012 au centre hospitalier universitaire de La Réunion (site Sud, Saint Pierre). Tous les enfants nés entre 24 et 31 semaines d'âge gestationnel hospitalisés dans le service de réanimation néonatale avant 12 heures (H12) de vie étaient éligibles. Les patients étaient exclus de l'analyse en cas de décès avant H12, ou si le dosage de protidémie du premier jour de vie n'était pas disponible, ou si l'un ou plus des items pour calculer chacun des scores de gravité n'était pas disponible.

Les facteurs de risque périnataux de mortalité et morbidité associés à la grande prématurité ont été recueillis à partir de la base de données informatisée des couples mère-enfant du relevé épidémiologique périnatal Sud Réunion (cf. 2.2.2). La protidémie et les paramètres pour calculer les CRIB, CRIB-II, SNAP-II et SNAPPE-II ont été recueillis par retour aux dossiers cliniques.

Dans un premier temps, nous avons étudié l'effet de l'hypoprotidémie sur le pronostic défavorable, par analyse univariée et multivariée. Ensuite, la performance en termes de discrimination de la protidémie sur le pronostic défavorable a été évaluée, et confrontée à celle des CRIB, CRIB-II, SNAP-II et SNAPPE-II, au travers de l'analyse des courbes ROC et de la comparaison des aires sous la courbe (ASC).

Résultats

Parmi les 841 enfants éligibles, 3 nouveau-nés étaient décédés avant H12 de vie. Moins de 10 % avaient des données manquantes ou incomplètes : 51 ne disposaient pas de dosage de protidémie dans le premier jour de vie et 26 avaient des données manquantes ou incomplètes sur les autres variables. Les variables nécessaires au calcul des scores de gravité étaient disponibles pour tous les enfants restants soit 761 nouveau-nés, qui ont donc été retenus pour l'analyse, avec les caractéristiques suivantes : poids de naissance 1 203 (\pm 346) g et terme 28,8 (\pm 1,9) semaines d'âge gestationnel. Parmi eux, 18,5 % ont eu un pronostic défavorable, dont 14,4 % de décès et 4,1 % de survie avec anomalies neurologiques sévères. Parmi tous les patients, 24 % présentaient une hypoprotidémie à J1.

L'odds ratio ajusté de pronostic défavorable en présence d'hypoprotidémie était de 6,1 (IC 95 % : 3,8-9,9). Le classement des variables selon la capacité discriminante de pronostic défavorable [ASC (IC 95 %)] était le suivant : protidémie [0,849 (0,821-0,873)], SNAPPE-II [0,822 (0,792-0,848)], CRIB [0,821 (0,792-0,848)], SNAP-II [0,810 (0,780-0,837)] et CRIB-II [0,803 (0,772-0,830)]. Le pouvoir prédictif de pronostic défavorable de la protidémie était significativement supérieur à celui du CRIB-II ($p < 0,05$) et du SNAP-II ($p < 0,05$).

Discussion et conclusion

L'étude confirme que la protidémie précoce est un facteur prédictif de pronostic chez les prématurés d'âge gestationnel inférieur à 32 semaines. Sa capacité discriminante est comparable à celle du CRIB et du SNAPPE-II.

Il serait intéressant de déterminer si l'adjonction de la protidémie ou d'autres paramètres biologiques aux scores de gravité déjà existants pourrait améliorer leur capacité à prédire un pronostic défavorable chez le grand prématuré.

Total Plasma Protein in Very Preterm Babies: Prognostic Value and Comparison with Illness Severity Scores

Silvia Iacobelli^{1,2*}, Francesco Bonsante^{1,2}, Catherine Quantin^{3,4}, Pierre-Yves Robillard^{1,2}, Christine Binquet⁵, Jean-Bernard Gouyon^{1,2}

1 Néonatalogie, Réanimation Néonatale et Pédiatrique, CHU La Réunion-Site Sud, Saint Pierre, France, 2 Centre d'Etudes Périnatales de l'Océan Indien, CHU La Réunion-Site Sud, Saint Pierre, France, 3 CHRU, Service de Biostatistique et d'Informatique Médicale, Dijon, France, 4 INSERM U866, Dijon, Université de Bourgogne, Dijon, France, 5 INSERM CIE1, Dijon, France; CHRU Dijon, Centre d'Investigation Clinique-Epidémiologie Clinique/Essais Cliniques, Dijon, France; Université de Bourgogne, Dijon, France

Abstract

Objective: We aimed to investigate the predictive value for severe adverse outcome of plasma protein measurements on day one of life in very preterm infants and to compare total plasma protein levels with the validated illness severity scores CRIB, CRIB-II, SNAP-II and SNAPPE-II, regarding their predictive ability for severe adverse outcome.

Methods: We analyzed a cohort of infants born at 24–31 weeks gestation, admitted to the tertiary intensive care unit of a university hospital over 10.5 years. The outcome measure was “severe adverse outcome” defined as death before discharge or severe neurological injury on cranial ultrasound. The adjusted odd ratio (aOR) and 95% confidence interval (95% CI) of severe adverse outcome for hypoproteinemia (total plasma protein level <40 g/L) was calculated by univariate and multivariate analyses. Calibration (Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit) was performed and the predictive ability for severe adverse outcome was assessed for total plasma protein and compared with CRIB, CRIB-II, SNAP-II and SNAPPE-II, by calculating receiver operating characteristic (ROC) curves and their associated area under the curve (AUC).

Results: 761 infants were studied: 14.4% died and 4.1% survived with severe cerebral ultrasound findings. The aOR of severe adverse outcome for hypoproteinemia was 6.1 (95% CI 3.8–9.9). The rank order for variables, as assessed by AUCs and 95% CIs, in predicting outcome was: total plasma protein [0.849 (0.821–0.873)], SNAPPE-II [0.822 (0.792–0.848)], CRIB [0.821 (0.792–0.848)], SNAP-II [0.810 (0.780–0.837)] and CRIB-II [0.803 (0.772–0.830)]. Total plasma protein predicted severe adverse outcome significantly better than CRIB-II and SNAP-II (both $p < 0.05$). Calibration for total plasma protein was very good.

Conclusions: Early hypoproteinemia has prognostic value for severe adverse outcome in very preterm, sick infants. Total plasma protein has a predictive performance comparable with CRIB and SNAPPE-II and greater than other validated severity scores.

Citation: Iacobelli S, Bonsante F, Quantin C, Robillard P-Y, Binquet C, et al. (2013) Total Plasma Protein in Very Preterm Babies: Prognostic Value and Comparison with Illness Severity Scores. PLoS ONE 8(4): e62210. doi:10.1371/journal.pone.0062210

Editor: Olivier Baud, Hôpital Robert Debré, France

Received: February 4, 2013; **Accepted:** March 18, 2013; **Published:** April 16, 2013

Copyright: © 2013 Iacobelli et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Funding: The authors have no support or funding to report.

Competing Interests: The authors have declared that no competing interests exist.

* E-mail: silvia.iacobelli@chu-reunion.fr

Introduction

Advances in perinatal care have resulted in an improvement in the survival rate of very low birth weight infants (VLBWI) as well as in a decrease of the disability rate in VLBW survivors [1,2]. Amidst all the progress made over decades, neonatal outcome has been benefiting from the development and the use of illness severity scores, which have permitted quality of care evaluation, risk adjustment comparisons in benchmarking studies, management and resource implementation. The Clinical Risk Index for Babies (CRIB) [3], its revised version (CRIB-II) [4], the Score for Neonatal Acute Physiology II (SNAP-II) and the SNAP Perinatal Extension II (SNAPPE-II) [5] are the most widely used scores to estimate illness severity and in-hospital mortality risk in the neonatal intensive care unit (NICU).

Some authors have underlined that risk adjustment using these scores is imperfect because additional perinatal factors may significantly influence VLBWI survival [6]. Others have noted

the deterioration over time in their predictive performance, due to incremental improvement of care [7]. Actually, the relationship between physiological status and mortality risk may change as preventive interventions, monitoring strategies and new treatment protocols are introduced. Infants with similar illness severity scores may differ for their risk of death [6] and a better understanding of all the perinatal factors influencing mortality remains a meaningful challenge for neonatologists.

Another point at issue is that, even if survival has progressively improved especially after extremely preterm birth, the high rate of disability in survivors is still a concern [8]. So, for the clinician involved in assessing the initial risk of high vulnerable neonatal populations, death is not the only important adverse outcome, and a primary goal is also to quantify the risk of severe brain damage.

Recently we reported, for the first time, that hypoproteinemia (total protein level of less than 40 g/L) on day 1 of life is an independent factor associated with severe adverse outcome (SAO), defined as in-hospital death or severe neurological injury on

cranial ultrasound, in a large sample of critically ill preterm babies [9]. In order to further investigate the clinical interest of this finding, we performed a study with the following objectives: 1) to confirm the prognostic value for SAO of hypoproteinemia in another population of VLBWI; 2) to compare total plasma protein levels alone with composite scores CRIB, CRIB-II, SNAP-II and SNAPPE-II, regarding their predictive ability for SAO in this population.

Methods

Ethics statement

This study was approved by the institutional medical research ethics committee (Comité de Protection des Personnes Sud-Ouest et Outre Mer III, authorization number 2012/36).

According to French legislation, written parental consent was not needed for this study.

Design and study population

The study design was an observational cohort analysis of all the infants born between 24 and 31 weeks of gestational age (GA) and admitted within 12 hours of life to the tertiary NICU of Saint Pierre University Hospital (Reunion Island, France) during a 10.5 year period (1 January 2001 to 30 June 2011). Patients were excluded if they died within the first 12 hours after birth, if clinical data were incomplete, if plasma protein value on the first day of life was not available or if any of the items for calculating the CRIB, CRIB-II, SNAP-II and SNAPPE-II were missing.

Data collection

Clinical data were drawn from the unit perinatal database, which has prospectively recorded demographic, gestational and perinatal variables of all mother-infant pairs since 2001. This recording of mother-infant clinical information was approved by the National Committee for data protection (Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés, registration number 1620660). Information was collected at the time of delivery and at the time of infant hospital discharge and regularly audited by appropriately trained staff. For the purpose of this study, records have been validated and have been used anonymously. Available information in this data set included maternal age, parity and gravidity, pre-existing clinical and gynecological diseases, whether singleton or multiple pregnancy, obstetric history and illness, antenatal steroid administration, labor and delivery complications, mode of delivery (vaginal/caesarean section), outborn (transfer after birth, admitted into NICU within 12 hours of life), gender, GA, birth weight (BW), cord blood lactate concentration, 1 and 5 minute Apgar score, neonatal morbidities and neonatal death.

Total protein values, CRIB, CRIB-II, SNAP-II and SNAPPE-II

Data on total protein values, CRIB, CRIB-II, SNAPP-II and SNAPPE-II were abstracted from the medical charts.

According to the unit guidelines for assessing fluid and electrolyte status in VLBWI, babies born less than 32 weeks of GA and hospitalized in our NICU had a blood sample at around 12 hours of life. The plasma total protein measurement provided by this blood sample was used for the purpose of this study.

Hypoproteinemia was defined as a total protein level of less than 40 g/L [9,10].

CRIB was calculated as already described [3], using the six variables: BW, GA, presence of congenital malformations, maximum base excess in the first 12 hours of life, and minimum and maximum appropriate fraction of inspired oxygen $-\text{FiO}_2-$ (FiO_2 min) and (FiO_2 max) in the first 12 hours. CRIB-II was calculated using the variables BW, GA, gender, temperature and

base excess on admission [4]. Following the original paper from Richardson et al [5], the six item score (urine output, lowest mean blood pressure, worst $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ ratio, lowest pH, occurrence of seizures, lowest temperature) was used for SNAP-II. To this, BW, small for GA, Apgar at 5 minutes were added for calculating the SNAPPE-II [5]. The data collection window for these two scores was the first 12 hours after birth.

Outcome measure

The outcome measure was SAO. This was defined as death or severe (grade 3 or 4) intraventricular hemorrhage or cystic periventricular leukomalacia occurring before infants' discharge from hospital. Intraventricular hemorrhage was graded at cerebral ultrasound according to Papile et al [11]. Cystic periventricular leukomalacia was defined by cranial ultrasound as an area of increased echogenicity of the periventricular white matter in acute phase which subsequently evolved into cystic lesion [12]. Cranial ultrasounds were routinely performed during the infant hospital stay by experienced examiners according to the following protocol: day 1, 7, 10, 15 and then at least every 2 weeks or more often as clinically indicated, until discharge.

Statistical analysis

We assessed the prognostic value for SAO of total plasma protein in two sets of analyses.

In the first analysis, we estimated and compared the incidence of SAO in hypoproteinemic patients and in patients with normal protein values. The crude odd ratio (OR) and 95% confidence interval (95% CI) of SAO for hypoproteinemia were calculated. We then used backward stepwise logistic regression to obtain the adjusted OR for potential confounding variables. Univariate analysis was first performed and variables significant at a p value <0.10 were entered in the multivariate model. For this analysis continuous variables were categorized by cut-off values chosen as having the highest Youden index [13].

In the second analysis, discrimination—that is the ability to correctly predict SAO—was assessed for total plasma protein levels and compared with CRIB, CRIB-II, SNAP-II, SNAPPE-II, BW and GA discrimination, by calculating receiver operating characteristic (ROC) curves and their associated area under the curve (AUC), with 95% CI based on the observed values entered on a continuous scale [14]. An AUC value of 0.5 indicates no better than chance ability to discriminate and larger values indicate increasing ability. A value above 0.8 is considered good [15]. Calibration of total plasma protein levels, CRIB, CRIB-II, SNAP-II, SNAPPE-II, BW and GA was investigated using the Hosmer and Lemeshows (HL) goodness-of-fit test, which categorizes the observations into groups according to their predicted risk [15]. The numbers of predicted and observed outcomes within each of these groups are compared. A non-significant p value of the HL indicates an acceptable calibration.

Comparisons between groups were performed using χ^2 -test or Fisher's exact test for categorical variables; the ANOVA test was used for parametric variables and the Mann-Whitney *U* test for non-parametric continuous variables. Comparison of the AUCs was evaluated by the DeLong method [16]. All statistical analyses were carried out using the MedCalc, ver. 12.3.0.0 statistical software package (MedCalc Software Mariakerke, Belgium) and p values <0.05 were considered statistically significant.

Results

From 1 January 2001 to 30 June 2011, 841 neonates born below 32 weeks of gestation were hospitalized in our NICU within the

first 12 hours of life. Three babies died within 12 hours after birth, clinical data were missing or incomplete for 26, and total protein value was not obtainable for 51 infants. The items to calculate CRIB, CRIB-II, SNAP-II and SNAPPE-II were always available, so all the remaining 761 newborns were eligible for the analysis. Infants with missing data were similar in their characteristics and outcomes when compared to those included in the study (data not shown).

SAO was present in 140 patients (18.4% of the study population): 109 patients (14.4%) died and 31 (4.1%) survived with severe cerebral ultrasound findings. Table 1 shows antenatal characteristics of the study population, characteristics at birth and postnatal diseases.

Hypoproteinemia occurred in 24% of all patients. The blood sample was carried out at 14.7 ± 5.3 (mean \pm SD) hours after birth. The rate of SAO was 52.5% in patients with hypoproteinemia and 7.6% in those with normal protein values ($p < 0.001$; crude OR 13.3; 95% CI 8.7–20.4). The univariate procedure yielded 16 variables for inclusion into the multivariate logistic model: maternal age ≥ 25 years, multiple pregnancy, time-frame, steroid administration, cesarean section delivery, outborn, male gender, gestational age, $\text{FiO}_2 \text{ max} > 40\%$, $\text{FiO}_2 \text{ min} > 23\%$, Apgar

score ≤ 3 at 1 minute, hypoproteinemia, cord blood lactate > 4 mmol/L, congenital malformations, admission temperature $\leq 35.1^\circ\text{C}$ and anemia at birth (data not shown).

Results of the multivariate analysis are reported in table 2.

There was a significant linear association between GA and plasma protein levels, (r^2 0.23, $p < 0.001$, data not shown). However at the multivariate analysis both were independent factors strongly associated with SAO. The adjusted OR of SAO for hypoproteinemia after correcting for the confounding variables was 6.1 (95% CI 3.8–9.9).

Figure 1 shows the scattergram illustrating the total plasma protein values in infants with SAO compared to those who survived without severe neurological injury.

ROC curves for total plasma protein levels, illness severity scores and BW are reported in Figure 2.

The rank order for variables, as assessed by AUCs and 95% CIs in predicting SAO, was plasma protein levels, SNAPPE-II, CRIB, SNAP-II and CRIB-II. Plasma protein levels predicted SAO significantly better than CRIB-II and SNAP-II, while no significant difference was seen with CRIB and SNAPPE-II. Calibration for plasma protein levels was very good ($p = 0.79$ at the HL goodness-of-fit test, result shown in table 3).

Table 1. Population characteristics (n = 761 preterm infants < 32 weeks gestation).

Antenatal variables	
Maternal age, mean \pm SD, y	27.7 \pm 6.8
Hypertensive Disease of Pregnancy, %	22.3
Maternal Diabetes, %	9.7
Maternal Body Mass Index > 30 before pregnancy, %	16.0
Antenatal Steroids, %	69.6
Singleton Pregnancy, %	78.8
Population characteristics	
Birth Weight, mean \pm SD, g	1203 \pm 346
Gestational Age, mean \pm SD, wk	28.8 \pm 1.9
Small for Gestational Age, %	9.9
Male Gender, %	50.3
Apgar Score ≤ 3 @ 1 minute, %	10.1
Caesarean Section, %	56.4
Outborn, %	2.0
Congenital malformations, %	2.7
Cord blood lactate concentration, mean \pm SD, mmol/L	4.0 \pm 3.5
CRIB, mean \pm SD	2.6 \pm 3.1
CRIB-II, mean \pm SD	6.2 \pm 3.4
SNAP-II, mean \pm SD	14.7 \pm 14.8
SNAPPE-II, mean \pm SD	20.7 \pm 20.2
Hypoproteinemia, %	24.0
RDS requiring invasive mechanical ventilation, %	59.4
Anemia at birth, %	15.6
Treated hypotension on day 1 of life, %	22.6
Treated Patent Ductus Arteriosus %	15.1
Necrotizing Enterocolitis, %	4.5
Bronchopulmonary Dysplasia @ 36 weeks, %	4.7

(CRIB) Clinical Risk Index for Babies; (CRIB-II) revised Clinical Risk Index for Babies; (SNAP-II) Score for Neonatal Acute Physiology II; (SNAPPE-II) Score for Neonatal Acute Physiology Perinatal Extension II; (RDS) Respiratory Distress Syndrome.
doi:10.1371/journal.pone.0062210.t001

Table 2. Variables associated with severe adverse outcome at multivariate analysis in the study population (n = 761 preterm infants < 32 weeks gestation).

Variables	OR	95% CI	P
Hypoproteinemia	6.1	3.8–9.9	<0.001
GA 24–25 versus 28–31 weeks	3.7	1.7–7.9	<0.001
GA 26–27 versus 28–31 weeks	3.1	1.8–5.1	<0.001
FiO ₂ max > 40%	1.9	1.1–3.1	0.01
FiO ₂ min > 23%	3.1	1.6–5.8	0.001
Appgar Score ≤ 3 @ 1 minute of life	2.5	1.4–4.8	0.003

(GA) Gestational age; FiO₂ (Fraction of inspired oxygen)
doi:10.1371/journal.pone.0062210.t002

Table 3 shows the results of AUCs curves, AUCs comparison and calibration for all these variables. Results are compared to predictive accuracy of BW and GA.

The model which analyzed GA and plasma protein simultaneously had an AUC of 0.873 (0.847–0.896) and the calibration at the HL goodness-of-fit test showed $p = 0.39$.

Discussion

Our study has shown that low plasma protein values in the first day of life have a strong predictive ability for severe outcome in VLBWI. This result is consistent with our previous finding [9], which could be confirmed in another population, differing from the former for perinatal characteristics, rates of impaired outcome, and care practice. Moreover, the result was stable over time in this study cohort.

In the present study, the performance of protein levels was comparable to that of the CRIB and of the SNAPPE-II and greater than that of other validated severity scores, indicating that additional

real time indices of neonatal illness, based on pathophysiological concepts, must be taken into account when considering factors influencing mortality and morbidity in vulnerable newborns.

The interest of this approach in predicting outcome is not new and it has been reported elsewhere: recently, two papers [17,18] have highlighted the prognostic value of high early lactate levels, which in one case showed a mortality predictive ability similar to that of CRIB and CRIB-II in VLBWI [18]. One study from De Felice et al. [19], which investigated the predictive accuracy of CRIB and CRIB-II in VLBWI has underlined the need to seek new clinical risk-adjustment markers in high-risk newborns; these authors had previously demonstrated the relationship between physiological markers of early peripheral microcirculatory changes and neonatal illness severity scores in sick babies after birth [20,21].

What our study adds, in relation to previous investigations in this domain, is the reproducible and remarkable prognostic value for the outcome, in very preterm infants, of plasma protein levels measured early in postnatal life. This biological variable has never been considered in establishing risk scores for neonatal disease severity [22], even when these scores were designed for measuring morbidity and mortality risk by mainly taking into account individual and physiological characteristics of the infants, as in the SNAP [23], in the SNAP-II or in the Neonatal Therapeutic Intervention Scoring System [24].

This assertion, far from representing a criticism of the above cited, well validated scores, simply aims to draw attention to a simple and easily available marker of physiological impairment, possibly influencing the in-hospital outcome of the vulnerable preterm baby.

The present study was not designed to investigate the pathophysiological basis of the association 'plasma protein and in-hospital outcome' of VLBWI, but we have previously described a significant positive correlation between low colloid oncotic pressure, low total protein levels and hypotension on day 1 of life in newborns with respiratory distress [25], and we hypothesised in one recent paper that low early protein levels may impair maintenance of

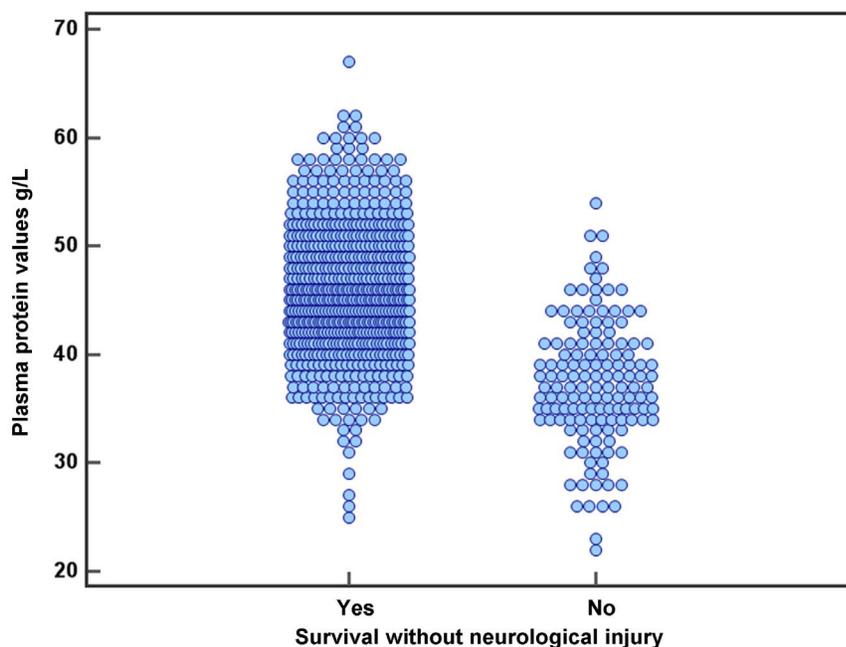


Figure 1. Scattergram demonstrating the total plasma protein values in infants with severe adverse outcome compared to those who survived without severe neurological injury.

doi:10.1371/journal.pone.0062210.g001

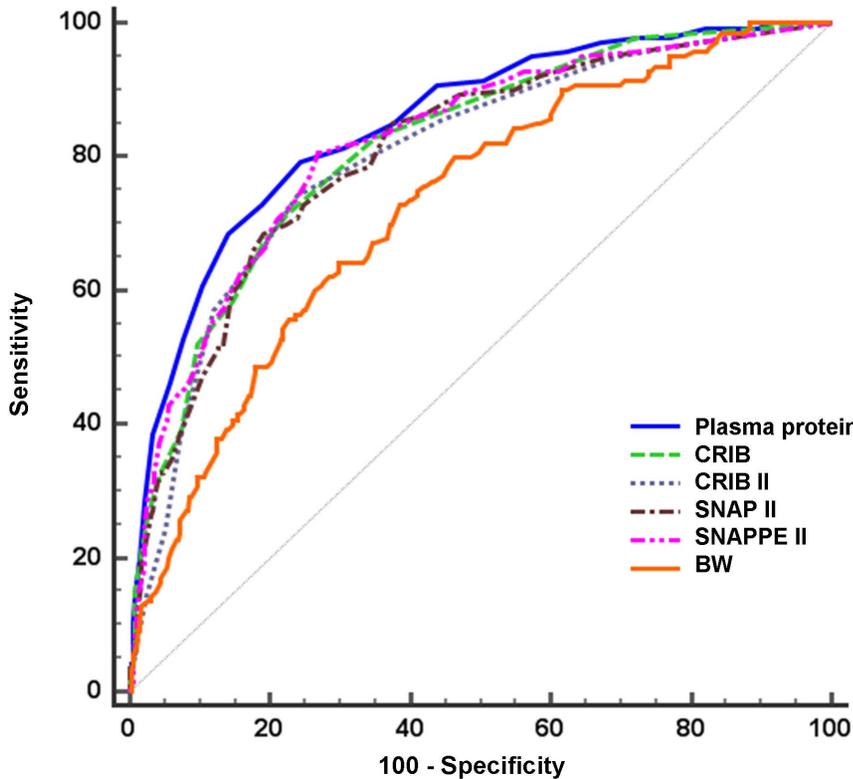


Figure 2. Receiver operating characteristic curves of plasma protein levels, CRIB, CRIB-II, SNAP-II, SNAPPE-II and birth weight (BW).
doi:10.1371/journal.pone.0062210.g002

intravascular volume and adequate blood flow to vital organs in critically ill premature babies [9].

Obviously, the hypothesis that low plasma protein levels may influence the cardiovascular adaptation and blood flow perfusion to organs in the immediate postnatal period must be rigorously established in future, prospective investigations.

It is worth noting here, that one of the factors associated with impaired outcome in VLBWI is the failure in cardiovascular adaptation after birth [26–28]. As we know, this variable is not among the items integrated in risk scores based on fixed covariates, such as the CRIB-II, and it is measured by parameters such as hypotension and urine output in scores conceived to capture the mortality risk also linked to physiological variables (SNAPP and SNAPPE-II). Now, hypotension is a rough and delayed sign of impaired cardiovascular adaptation and in addition, more subtle disturbances in cardiovascular function display significant relationships with clinical illness severity [29,30].

In our view, the search for new risk-indicators in sick preterm infants should take into account markers which could influence transitional circulation.

The limitations of our analysis include that, due to the study design, the collection window for protein value was variable around the first 12 hours after birth and extending up to 20 hours of life, so that both obstetrical and neonatal care measures during the early postnatal period may have influenced this parameter. Similarly, some data were recorded afterwards and this may have reduced the reliability and accuracy of the collected information. Finally, this report does not allow the conclusion that modifying plasma protein levels is necessary to improve outcome in VLBWI.

Nonetheless, our result supports the new finding that protein values represent a marker of abnormal physiological state which is strongly predictive of impaired outcome in preterm babies.

Conclusion

The emphasis of this paper was to encourage neonatologists to pay close attention to plasma protein levels during postnatal transition in preterm babies, as these have a prognostic value for

Table 3. Predictive accuracy of plasma protein levels, CRIB, CRIB-II, SNAP-II, SNAPPE-II, birth weight (BW) and gestational age (GA) in identifying severe adverse outcome in the study population.

Variables	AUC±95% CI	ROC curve comparison*	p**
(1) Plasma protein levels	0.849 (0.821–0.873)	p<0.05 vs (3), (5), (6), (7)	0.73
(2) CRIB	0.821 (0.792–0.848)	p<0.05 vs (7)	0.01
(3) CRIB-II	0.803 (0.772–0.830)	p<0.05 vs (7)	0.20
(4) SNAPPE-II	0.822 (0.792–0.848)	p<0.05 vs (7)	0.26
(5) SNAP-II	0.810 (0.780–0.837)	p<0.05 vs (7)	0.47
(6) GA	0.784 (0.753–0.813)	p<0.05 vs (7)	0.65
(7) BW	0.727 (0.694–0.759)		0.56

Result of receiver operating characteristic curves analyses and comparison in performances.

*p value for DeLong test comparing AUCs

**p value for Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit test.

(CRIB) Clinical Risk Index for Babies; (CRIB-II) revised Clinical Risk Index for Babies;

(SNAP-II) Score for Neonatal Acute Physiology II; (SNAPPE-II) Score for Neonatal Acute Physiology Perinatal Extension II; (GA) Gestational Age; (BW) Birth Weight.

doi:10.1371/journal.pone.0062210.t003

adverse in-hospital outcome of very premature, sick infants. Further investigations are needed to determine whether any benefit can be obtained by adding protein measurements to other validated illness scores for newborns. Moreover, our finding raises the interest in addressing the above issues regarding new markers of physiological derangement in early postnatal life, in future, prospective studies on VLBWI, thus providing additional insight into factors influencing mortality and morbidity for this vulnerable population.

References

- Bode MM, D'Eugenio DB, Forsyth N, Coleman J, Gross CR et al (2009) Outcome of extreme prematurity: a prospective comparison of 2 regional cohorts born 20 years apart. *Pediatrics* 124: 866–874.
- van Haastert IC, Groenendaal F, Uiterwaal CS, Termote JU, van der Heide-Jalving M et al (2011) Decreasing incidence and severity of cerebral palsy in prematurely born children. *J Pediatr* 159: 86–91.
- International Neonatal Network (1993) The CRIB (clinical risk index for babies) score: a tool for assessing initial neonatal risk and comparing performance of neonatal intensive care units. *Lancet* 342: 193–198.
- Parry G, Tucker J, Tarnow-Mordi WO (2003) CRIB-II: an update of the clinical risk index for babies score. *Lancet* 361: 1789–1791.
- Richardson DK, Corcoran JD, Escobar GJ, Lee SK (2001) SNAP-II and SNAPPE-II: Simplified newborn illness severity and mortality risk scores. *J Pediatr* 138: 92–100.
- Gagliardi L, Cavazza A, Brunelli A, Battaglioli M, Merazzi D et al (2004) Assessing mortality risk in very low birthweight infants: a comparison of CRIB, CRIB-II, and SNAPPE-II. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 89: F419–F422.
- Bührer C, Metzke B, Obladen M (2008) CRIB, CRIB-II, birth weight or gestational age to assess mortality risk in very low birth weight infants? *Acta Paediatr* 97: 899–903.
- Wood NS, Marlow N, Costeloe K, Gibson AT, Wilkinson AR (2000) Neurologic and developmental disability after extremely preterm birth. EPICure Study Group *N Engl J Med* 343: 378–384.
- Iacobelli S, Bonsante F, Lacoutière C, Ferdynus C, Cottenet J, et al (2012) Hypoproteinemia on the first day of life and adverse outcome in very preterm infants admitted to the neonatal intensive care unit. *J Perinatol* 32: 520–524.
- Reading RF, Ellis R, Fleetwood A (1990) Plasma albumin and total protein in preterm babies from birth to eight weeks. *Early Hum Dev* 22: 81–87.
- Papile LA, Burstein J, Burstein R, Koffler H (1978) Incidence and evolution of subependymal and intraventricular hemorrhage: a study of infants with birth weights less than 1,500 gm. *J Pediatr* 92: 529–534.
- deVries LS, Eken P, Dubowitz LMS (1992) The spectrum of leukomalacia using cranial ultrasound. *Behav Brain Res* 49: 1–6.
- Fluss R, Faraggi D, Reiser B (2005) Estimation of the Youden Index and its associated cutoff point. *Biom J* 47: 458–72.
- Hanley JA, McNeil BJ (1982) The meaning and the use of the area under a receiver operating characteristics (ROC) curve. *Radiology* 143: 29–36.
- Hosmer DW, Lemeshow S (1989) Applied logistic regression. In: J Wiley and Sons editors, New York. pp 135–175
- DeLong ER, DeLong DM, Clarke-Pearson DL (1988) Comparing the areas under two or more correlated receiver operating characteristic curves: a nonparametric approach. *Biometrics* 44: 837–845.
- Hussain F, Gilshenan K, Gray PH (2009) Does lactate level in the first 12 hours of life predict mortality in extremely premature infants? *J Paediatr Child Health* 45: 263–267.
- Phillips LA, Dewhurst CJ, Yoxall CW (2011) The prognostic value of initial blood lactate concentration measurements in very low birthweight infants and their use in development of a new disease severity scoring system. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 96: F275–280.
- De Felice C, Del Vecchio A, Latini G (2005) Evaluating illness severity for very low birth weight infants: CRIB or CRIB-II? *J Matern Fetal Neonatal Med* 17: 257–260.
- De Felice C, Toti P, Parrini S, Del Vecchio A, Bagnoli F et al (2005) Histologic chorioamnionitis and severity of illness in very low birth weight newborns. *Pediatr Crit Care Med* 6: 298–302.
- De Felice C, Vacca P, Del Vecchio A, Criscuolo M, Lozupone A et al (2004) Early postnatal skin colour changes in term newborns with subclinical histological chorioamnionitis. *Eur J Pediatr* 163: 550–554.
- Dorling JS, Field DJ, Manktelow B (2005) Neonatal disease severity scoring systems. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 90: F11–F16.
- Richardson DK, Gray JE, McCormick MC, Workman K, Goldmann DA (1993) Score for Neonatal Acute Physiology: a physiological severity index for neonatal intensive-care. *Pediatrics* 91: 617–623.
- Gray JE, Richardson DK, McCormick MC, Workman K, Goldmann DA (1992) Neonatal Therapeutic Intervention Scoring System: a therapy-based severity-of-illness index. *Pediatrics* 90: 561–567.
- Zimmermann B, Françoise M, Germain GF, Lallemand C, Gouyon JB (1997) Colloid oncotic pressure in neonatal respiratory distress syndrome. *Arch Pediatr* 4: 952–958.
- Miall-Allen VM, de Vries LS, Whitlaw AG (1987) Mean arterial blood pressure and neonatal cerebral lesions. *Arch Dis Child* 62: 1068–1069.
- Fanaroff JM, Wilson-Costello DE, Newman NS, Montpetite MM, Fanaroff AA (2006) Treated hypotension is associated with neonatal morbidity and hearing loss in extremely low birth weight infants. *Pediatrics* 117: 1131–1135.
- Pellicer A, del Carmen Bravo M, Madero R, Salas S, Quero J et al (2009) Early systemic hypotension and vasopressor support in low birth weight infants: impact on neurodevelopment. *Pediatrics* 123: 1369–1376.
- Soleymani S, Borzage M, Seri I (2010) Hemodynamic monitoring in neonates: advances and challenges. *J Perinatol* 30: S38–S45.
- Stark MJ, Clifton VL, Wright IMR (2008) Microvascular flow, clinical illness severity and cardiovascular function in the preterm infant. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 93: F271–F274.

Author Contributions

Conceived and designed the experiments: SI FB CQ. Performed the experiments: SI FB PYR. Analyzed the data: SI FB CQ. Contributed reagents/materials/analysis tools: FB CQ PYR CB. Wrote the paper: SI. Reviewed and critically revised the manuscript drafts: CB JBG.

Cinquième chapitre

5.1. Synthèse et perspectives

L'objectif principal de ce travail de thèse était d'identifier des facteurs biologiques précoces susceptibles d'influencer le pronostic des enfants grands prématurés, à partir de données disponibles dès les premières heures de vie, et en tenant compte des possibles variables de confusion.

Suite à l'analyse préliminaire faite sur les données épidémiologiques en population de la base du RPB, deux thématiques d'investigation ont été approfondies: la première avait pour objectif de décrire les **troubles de la chlorémie au cours de la phase d'adaptation**.

Dans les 2 études sur la chlorémie, nous avons obtenu des résultats similaires, montrant que l'hyperchlorémie entraîne une acidose métabolique dans les 7 à 10 premiers jours de vie chez le grand prématuré. Dans les 2 cohortes, il a également été observé que l'hyperchlorémie et l'acidose métabolique sont d'autant plus fréquentes que le poids ou le terme à la naissance sont faibles. L'association hyperchlorémie-acidose métabolique, bien connue chez l'adulte et chez l'enfant (91-93) n'avait jamais été explorée chez les grands prématurés. En revanche, de nombreuses études chez l'enfant de faible PN avaient auparavant décrit une association significative entre l'acidose métabolique et le pronostic neurologique défavorable (HIV) (73, 74).

Une telle association n'a pas été retrouvée chez nos patients. On peut avancer plusieurs hypothèses à ce résultat. En ce qui concerne l'Etude 1, bien que ce travail ait été conduit sur un échantillon de grande taille (comparativement aux données existantes de la littérature), certaines limites demeurent, en particulier son caractère monocentrique et, paradoxalement, son design prospectif visant la description de la balance chlorée. En effet, l'expertise reconnue de cette équipe de réanimation dans la gestion de l'équilibre hydro-électrolytique du grand prématuré, de même que le contexte d'exploration physiopathologique « contrôlé » par des bilans fréquents, peuvent constituer un « biais de suivi » au cours de cet essai. Ceci est suggéré par les taux très bas d'hyperchlorémie (4 %), d'hypernatrémie (1,9 %) ainsi que d'HIV et/ou LPV (1,2 %) dans cette cohorte de grands prématurés par rapport à ceux retrouvés dans d'autres travaux (39, 77), et même dans nos travaux rétrospectifs (56, 89): en effet, dans ces études les taux d'hypernatrémie, hyperchlorémie et HIV et/ou LPV atteignaient respectivement 9 %, 42 % et 6,7 %. En ce qui concerne l'Etude 2, également

monocentrique, le faible effectif ne permet pas d'exclure un manque de puissance statistique à déceler l'association recherchée.

Ces limites questionnent sur la légitimité à généraliser nos résultats, notamment ceux concernant les liens hyperchlorémie et/ou acidose métabolique et HIV.

En dépit de ces limites, ces résultats présentent un intérêt certain dans le contexte actuel des connaissances sur la caractérisation des troubles ioniques indésirables tel que l'acidose métabolique, chez le grand prématuré. En particulier, ils soulignent les interactions complexes qui existent entre la nutrition parentérale et l'équilibre hydro-électrolytique au cours de la phase d'adaptation. Les précédents travaux ayant exploré ce sujet, peu nombreux à notre connaissance, se sont limités à proposer l'utilisation de l'acétate de sodium pour réduire l'acidose métabolique induite par la nutrition parentérale chez l'enfant de faible PN (77, 94, 95). Il existe cependant des contraintes à l'emploi de ce produit, car il peut entraîner une hypercapnie indésirable (77).

Nos travaux ouvrent de nouvelles pistes de réflexion sur l'optimisation de la gestion de la nutrition parentérale dès la naissance pour le maintien de l'équilibre hydro-électrolytique: ils nous permettent de conclure que les apports chlorés administrés de façon « cachée » doivent être comptabilisés en sus des apports en nutrition parentérale et que les entrées de chlore doivent être contrôlées dès les premiers jours de vie, car elles peuvent induire la survenue d'une acidose métabolique sévère.

Ces résultats soulignent également l'importance de surveiller les interactions réciproques entre les différents électrolytes et la composition des solutés électrolytiques employés dans la préparation des poches de nutrition, afin de réduire le risque d'acidose métabolique sévère chez le grand prématuré.

La deuxième thématique explorée était centrée sur le lien possible entre **hypoprotidémie précoce et mauvais pronostic**.

Chez l'adulte et l'enfant hospitalisés dans les unités de soins critiques, le faible taux plasmatique de protéines au moment de l'admission est un facteur pronostic défavorable connu, associé à l'augmentation des mortalité et morbidité, quand ces patients sont comparés à ceux dont le taux plasmatique de protéines est normal (96, 97).

Dans l'Etude 3 l'association hypoprotidémie précoce et pronostic défavorable a été établie pour la première fois chez l'enfant grand prématuré : ce résultat est intéressant pour le

clinicien car il a potentiellement des implications pour la prise en charge. Ceci pourrait représenter une base de réflexion à de futurs essais thérapeutiques contrôlés, randomisés, sur les conséquences de la correction de l'hypoprotidémie chez des groupes sélectionnés de grands prématurés.

Ce travail a aussi permis d'identifier les variables périnatales associées à l'hypoprotidémie précoce dans la population étudiée. Certaines de ces variables sont pertinentes sur le plan clinique et ont été soulignées par d'autres études, comme par exemple l'absence de corticoïdes anténatals (98) et la MMH (99); d'autres, telle que le genre masculin, n'ont jamais été décrites et suscitent de nouvelles perspectives d'analyse.

Le point fort de cette étude repose sur l'utilisation de la base de données du RPB dont l'exhaustivité et la qualité sont rigoureusement évaluées (86), sur la définition soignée et prospective des variables explorées dans cette base, et enfin sur la prise en compte des facteurs potentiels de confusion. Cependant, le problème de la généralisation de nos conclusions à partir de ce travail monocentrique s'est posé, et ceci a motivé le souhait d'en valider le résultat principal sur une autre population de grands prématurés.

En effet l'Etude 4 a permis, en premier lieu, de s'affranchir de cette question, puisqu'elle a confirmé l'association hypoprotidémie et mauvais pronostic dans une population de grands prématurés différente de la précédente quant aux caractéristiques périnatales, au taux de pronostic défavorable et aux pratiques des équipes soignantes.

En second lieu, cette étude a abouti à un résultat dont l'intérêt clinique est considérable, puisqu'elle a montré que la protidémie, un paramètre biologique précoce, unique et simple à mesurer, est un marqueur dont la performance discriminante du mauvais pronostic est similaire à celle de scores composites (à plusieurs items) validés. Les conclusions de ce travail permettent de suggérer au clinicien d'être attentif aux taux plasmatiques précoces de protéines totales, dans la mesure où l'hypoprotidémie au cours des 24 premiers heures de vie identifie, en réanimation néonatale, des patients particulièrement vulnérables et notamment à risque de décès et/ou de séquelles neurologiques majeures.

La discrimination d'une variable ou d'un modèle, c'est-à-dire sa capacité à prédire un événement, se mesure classiquement par le couple sensibilité/spécificité. La variable ou le modèle optimal est alors celui qui maximalise l'aire sous la courbe. Toutefois, le modèle retenu, pour être applicable, doit avoir été étudié sur un échantillon présentant des

caractéristiques proches de celles de la population à laquelle son application est destinée. Notre étude s'est limitée à comparer la variable « protidémie » aux scores validés et cette variable, seule, présentait dans la population étudiée la meilleure aire sous la courbe, avec une bonne calibration.

A partir de ces résultats, d'autres perspectives de recherche émergent. En premier lieu, il conviendrait de continuer à chercher le modèle présentant la meilleure performance discriminante de mauvais pronostic. En effet, l'analyse des données faite dans le cadre de l'Etude 4 révèle deux points complémentaires :

1) le modèle qui prend en compte simultanément la protidémie et l'AG est supérieur à celui qui utilise la protidémie seule, car il a une ASC de 0,873 (0,847-0,896) avec une bonne calibration au test de Hosmer et Lemeshows ($p = 0,39$) ;

2) des variables autres que celles intégrant les scores composites sont associées de manière indépendante au pronostic défavorable (l'Apgar < 3 à 1 minute).

Ces deux constats trouvent leur place dans le contexte actuel des recherches qui visent à mieux comprendre les variations des mortalités néonatales entre les différents pays et les différentes unités de soins, d'autant qu'il apparaît que ces variations ne sont pas toujours expliquées par les scores de gravité actuellement utilisés en réanimation néonatale : des grands prématurés ayant des scores similaires peuvent avoir un risque de décès différent et aucun score ne permet de prédire à 100 % le risque de décès (100).

L'intérêt d'intégrer de nouveaux marqueurs biologiques ou physiopathologiques dans l'évaluation du risque initial ou de revoir les marqueurs physiopathologiques appartenant aux scores validés, fait l'objet de réflexion dans de nombreux travaux (101, 102). L'étude récente de Philips et collègues (84) a montré la forte valeur prédictive de décès de la mesure des lactates sanguins au cours des 12 premières heures de vie chez l'enfant de très petit PN. Cette mesure a ensuite été intégrée dans un score de gravité très simple, qui inclut deux autres items, l'AG et la présence de malformations. Ce score, élaboré dans une cohorte et validé sur une autre, a montré le même pouvoir prédictif de décès que le CRIB. De façon similaire, Manktelow et collègues (103) ont dernièrement présenté une version du CRIB-II qui n'intègre pas l'item « température à l'admission » et propose une nouvelle calibration de l'AG. Ce score a montré une bonne discrimination par rapport au CRIB et au CRIB-II.

Toutes les considérations ci-dessus nous encouragent à travailler sur l'élaboration d'un nouveau score de gravité intégrant la protidémie, dans un objectif de validation.

En second lieu, une perspective de recherche ouverte par nos résultats concerne l'exploration physiopathologique des mécanismes par lesquels l'hypoprotidémie pourrait influencer le pronostic. En effet, nos deux études ne permettent pas d'explicitement ce point. Puisque le taux plasmatique de protidémie est le principal facteur déterminant la pression oncotique (104, 105) et que celle-ci a un rôle important dans le maintien d'une hémodynamique correcte, notre hypothèse est que l'hypoprotidémie entraîne des anomalies de l'hémodynamique dans la période postnatale immédiate. Pour tester cette hypothèse, nous avons récemment rédigé un projet de recherche clinique multicentrique qui a été soumis et retenu pour financement dans le cadre de l'appel d'offre interrégional [PHRC-i 2012, DIRC SOOM, n° 154 (Etude ProHémie-API 04-04)]. La mise en place de l'étude est en cours dans les deux unités de réanimation néonatale du CHU de La Réunion et l'objectif principal sera d'évaluer la relation entre la protidémie et les troubles hémodynamiques précoces chez l'enfant grand prématuré au cours des premières heures de vie (synopsis en annexe).

En conclusion de ce travail de thèse, nous avons l'ambition d'espérer que nos résultats contribuent à une réelle avancée dans la compréhension des facteurs périnataux qui influencent le pronostic du grand prématuré. Des travaux de recherche complémentaires cliniques et épidémiologiques sont indispensables pour approfondir les connaissances acquises grâce à nos études, pour permettre de répondre aux questions qu'elles ont soulevées, pour explorer les effets potentiels à long terme, le tout afin de progresser encore pour l'amélioration du pronostic de ces enfants vulnérables.

Bibliographie

1. GROENENDAAL F, TERMOTE JU, VAN DER HEIDE JM, VAN HAASSTERT IC DE VRIES LS: Complications affecting preterm neonates from 1991 to 2006: what have we gained? *Acta Paediatr* 2010; 99(3): 354-358.
2. ZEITLIN J, ANCEL PY, DELMAS D, BREART G, PAPIERNIK E, and the EIPAGE and MOSAIC Ile-de-France Groups. Changes in care and outcome of very preterm babies in the Parisian region between 1998 and 2003. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2010; 95(3): F188-F193.
3. BODE MM, D'EUGENIO DB, FORSYTH N, COLEMAN J, GROSS CR, GROSS SJ. Outcome of extreme prematurity: a prospective comparison of 2 regional cohorts born 20 years apart. *Pediatrics* 2009; 124(3): 866-874.
4. ANCEL PY, pour le Groupe EIPAGE 2. *Survie des enfants grands prématurés nés en 2011 : premiers résultats de l'étude EIPAGE 2*. In : Progrès en Néonatalogie 33. Paris : Association de Néonatalogie de Port-Royal, 2013.
5. COSTELOE KL, HENNESSY EM, HAIDER S, STACEY F, MARLOW N, DRAPER ES. Short term outcomes after extreme preterm birth in England: comparison of two birth cohorts in 1995 and 2006 (the EPICure studies). *BMJ* 2012; 345: e7976.
6. MOORE T, HENNESSY EM, MYLES J, JOHNSON SJ, DRAPER ES, COSTELOE KL, MARLOW N. Neurological and developmental outcome in extremely preterm children born in England in 1995 and 2006: the EPICure studies. *BMJ* 2012; 345: e7961.
7. LARROQUE B, BRÉART G, KAMINSKI M, DEHAN M, ANDRÉ M, BURGUET A, GRANDJEAN H, LEDÉSERT B, LÉVÊQUE C, MAILLARD F, MATIS J, ROZÉ JC, TRUFFERT P. Epipage study group. Survival of very preterm infants: Epipage, a population based cohort study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2004; 89(2): F139-F144.
8. EVANS N, HUTCHINSON J, SIMPSON JM, DONOGHUE D, DARLOW B, HENDERSON-SMART D. Prenatal predictors of mortality in very preterm infants cared for in the Australian and New Zealand neonatal network. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2007; 92: F34-F40.
9. MEDLOCK S, RAVELLI AC, TAMMINGA P, MOL BW, ABU-HANNA A. Prediction of mortality in very premature infants: a systematic review of prediction models. *PLoS One* 2011; 6(9): e23441.
10. RICHARDSON DK, GRAY JE, MCCORMICK MC, WORKMAN K, GOLDMANN DA. Score for Neonatal Acute Physiology: a physiological severity index for neonatal intensive-care. *Pediatrics* 1993; 91: 617-623.
11. RICHARDSON DK, PHIBBS CS, GRAY JE, MCCORMICK MC, WORKMAN-DANIELS K, GOLDMANN DA. Birth-weight and illness severity: independent predictors of neonatal-mortality. *Pediatrics* 1993; 91: 969-975.
12. LIM WH, LIEN R, CHIANG MC, FU RH, LIN JJ, CHU SM, HSU JF, YANG PH. Hyponatremia and grade III/IV intraventricular hemorrhage among extremely low birth weight infants. *J Perinatol* 2010; 31(3): 193-198.
13. BARATON L, ANCEL PY, FLAMANT C, ORSONNEAU JL, DARMAUN D, ROZÉ JC. Impact of changes in serum sodium levels on 2-year neurologic outcomes for very preterm neonates. *Pediatrics* 2009 ; 124(4): 655-661.

14. GAWLOWSKI Z, ALADANGADY N, COEN PG. Hypermnatraemia in preterm infants born at less than 27 weeks gestation. *J Paediatr Child Health* 2006; 42(12): 771-774.
15. IACOBELLI S, KERMORVANT-DUCHEMIN E, BONSANTE F, LAPILLONNE A, GOUYON JB. Chloride balance in preterm infants during the first week of life. *Int J Pediatr* 2012:931597. doi: 10.1155/2012/931597.
16. KERMORVANT-DUCHEMIN E, IACOBELLI S, DIT-TROLLI SE, BONSANTE F, KERMORVANT C, SARFATI G, GOUYON JB, LAPILLONNE A. Early chloride intake does not parallel that of sodium in extremely low birth weight infants and may impair neonatal outcomes. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012; 54(5): 613-619.
17. IACOBELLI S, BONSANTE F, LACOUTIÈRE C, FERDYNUS C, COTTENET J, BINQUET C, QUANTIN C, GOUYON JB. Hypoproteinemia on the first day of life and adverse outcome in very preterm infants admitted to the neonatal intensive care unit. *J Perinatol* 2011; 32(7): 220-224.
18. IACOBELLI S, BONSANTE F, QUANTIN C, ROBILLARD PY, BINQUET C, GOUYON JB. Total plasma protein in very preterm babies: Prognostic value and comparison with illness severity scores. *PLoS One* 2013; 8(4):e62210.
19. ZEITLIN J, DRAPER ES, KOLLÉE L, MILLIGAN D, BOERCH K, AGOSTINO R, GORTNER L, VAN REEMPTS P, CHABERNAUD JL, GADZINOWSKI J, BRÉART G, PAPIERNIK E; MOSAIC RESEARCH GROUP. Differences in rates and short-term outcome of live births before 32 weeks of gestation in Europe in 2003: results from the MOSAIC cohort. *Pediatrics* 2008; 121(4): 936-944.
20. ZEITLIN J, SZAMOTULSKA K, DREWNIAK N, MOHANGOO A, CHALMERS J, SAKKEUS L, IRGENS L, GATT M, GISSLER M, BLONDEL B; THE EURO-PERISTAT PRETERM STUDY GROUP. Preterm birth time trends in Europe: a study of 19 countries. *BJOG* 2013; 24. doi: 10.1111/1471-0528.
21. BLONDEL B, BRÉART G, DU MAZAUBRUN C, BADEYAN G, WCISLO M, LORDIER A, MATET N. The perinatal situation in France. Trends between 1981 and 1995. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)* 1997; 26(8): 770-780.
22. BLONDEL B, SUPERNANT K, Du MAZAUBRUN C, BREART G. Enquête nationale périnatale 2003. [En ligne, (consulté le 1 Juin 2013)], http://www.drees.sante.gouv.fr/IMG/pdf/enp_2003_rapport_inserm.pdf.
23. BLONDEL B. KERMARREM. Les naissances en 2010 et leur évolution depuis 2003. [En ligne, (consulté le 1 Juin 2013)], http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/Les_naissances_en_2010_et_leur_evolution_depuis_2003.pdf.
24. COSTELOE K, HENNESSY E, GIBSON AT, MARLOW N, WILKINSON AR. The EPICure study: outcomes to discharge from hospital for infants born at the threshold of viability. *Pediatrics* 2000; 106: 659-671.
25. VANHAESEBROUCK P, ALLEGAERT K, BOTTU J, DEBAUCHE C, DEVLIEGER H, DOCX M, FRANÇOIS A, HAUMONT D, LOMBET J, RIGO J, SMETS K, VANHERREWEGHE I, VAN OVERMEIRE B, VAN REEMPTS P; EXTREMELY PRETERM INFANTS IN BELGIUM STUDY GROUP. The EPIBEL study: outcomes to discharge from hospital for extremely preterm infants in Belgium. *Pediatrics* 2004; 114: 663-675.

26. FIELD DJ, DORLING JS, MANKTELOW BN, DRAPER ES. Survival of extremely premature babies in a geographically defined population: prospective cohort study of 1994-9 compared with 2000-5. *BMJ* 2008; 336 (7655): 1221-1223.
27. EXPRESS GROUP. Incidence of and risk factors for neonatal morbidity after active perinatal care: extremely preterm infants study in Sweden (EXPRESS). *Acta Paediatr* 2010; 99(7): 978-992.
28. IACOBELLI S, GOUYON JB. *Pratique clinique des apports hydro-électrolytiques chez le grand prématuré*. In : Progrès en Néonatalogie 29 Paris. Association de Néonatalogie de Port-Royal, 2009.
29. SULYOK E. Renal aspects of sodium metabolism in the fetus and neonate. In: Saunders Elsevier editors. *Nephrology and fluid/electrolyte physiology. Neonatology questions and controversies*. Oh W, Guignard JP, Baumgart S; 2012.
30. BAUMGART S. Acute problems of prematurity: balancing fluid volume and electrolyte replacements in very low birth weight (VLBW) and extremely low birth weight (ELBW) neonates. In: Saunders Elsevier editors. *Nephrology and fluid/electrolyte physiology. Neonatology questions and controversies*. Oh W, Guignard JP, Baumgart S; 2012.
31. MODI N, BETREMIEUX P, MIDGLEY G, HARTNOLL G. Postnatal weight loss and contraction of the extracellular compartment is triggered by atrial natriuretic peptide. *Early Hum Dev* 2000; 59 (3): 201-208.
32. MÉIO MD, SICHIERI R, SOARES FV, MOREIRA ME. Total body water in small- ad appropriate- for gestational age newborns. *J Perinat Med* 2008; 36 (4): 354-358.
33. BONSANTE F, IACOBELLI S, CHANTEGRET C, MARTIN D, GOUYON JB. The effect of parenteral nitrogen and energy intake on electrolyte balance in the preterm infant. *Eur J Clin Nutr* 2011; 65 (10): 1088-1093.
34. SHAFFER SG, WEISMANN DN. Fluid requirements in the preterm infant. *Clin Perinatol* 1992; 19: 233-350.
35. RUTTER N. Clinical consequences of an immature barrier. *Semin Neonatol* 2000; 5(4): 281-287.
36. WADA M, KUSADA S, TAKAHASHI N, NISHIDA H. Fluid and electrolyte balance in extremely preterm infants <24 weeks of gestation in the first week of life. *Pediatr Int* 2008; 50(3):331-336.
37. SIMMONS MA, ADCOCK EW, BARD H, BATTAGLIA FC. Hyponatremia and intracranial hemorrhage in neonates. *N Engl J Med* 1974; 291: 6–10.
38. SUGIMOTO T, YASUHARA A, MATSUMURA T. Intracranial hemorrhage following administration of sodium bicarbonate in rabbits. *Brain Dev* 1981; 3: 297–303.
39. PERROTT S, DODDS L, VINCER M. A population-based study of prognostic factors related to major disability in very preterm survivors *J Perinatol* 2003; 23(2): 111-116.
40. CORDERO L, TIMAN CJ, WATERS HH, SACHS LA. Mean arterial pressures during the first 24 hours of life in < or = 600-gram birth weight infants. *J Perinatol* 2002; 22(5): 348-353.

41. BATTON B, ZHU X, FANAROFF J, KIRCHNER HL, BERLIN S, WILSON-COSTELLO D, WALSH M. Blood pressure, anti-hypotensive therapy, and neurodevelopment in extremely preterm infants. *J Pediatr* 2009; 154(3): 351-357.
42. WADHAWAN R, OH W, PERRITT R, LAPTOOK AR, POOLE K, WRIGHT LL, FANAROFF AA, DUARA S, STOLL BJ, GOLDBERG R. Association between early postnatal weight loss and death or BPD in small and appropriate for gestational age extremely low-birth-weight infants. *J Perinatol* 2007; 27(6): 359-364.
43. GUIGNARD JP, GOUYON JB. Glomerular filtration rate in neonates. In: Saunders Elsevier editors. Nephrology and fluid/electrolyte physiology. Neonatology questions and controversies. Oh W, Guignard JP, Baumgart S; 2012.
44. TÓTH-HEYN P, DRUKKER A, GUIGNARD JP. The stressed neonatal kidney: from pathophysiology to clinical management of neonatal vasomotor nephropathy. *Pediatr Nephrol* 2000; 14(3): 227-239.
45. HARTNOLL G, BÉTRÉMIEUX P, MODI N. Randomised controlled trial of postnatal sodium supplementation on oxygen dependency and body weight in 25-30 week gestational age infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2000; 82(1): F19-F23.
46. BELL EF, ACARREGUI MJ. Restricted versus liberal water intake for preventing morbidity and mortality in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2008; (1): CD000503.
47. TAKAHASHI N, HOSHI J, NISHIDA H. Water balance, electrolytes and acid-base balance in extremely premature infants. *Acta Paediatr Jpn* 1994 ; 36(3): 250-255.
48. BISTRITZER T, BERCOVITCH M, RAPPOPORT MJ, EVANS S, ARIELI S, GOLDBERG M, TAVORI I, ALADJEM M. Sodium potassium adenosine triphosphatase activity in preterm and term infants and its possible role in sodium homeostasis during maturation. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1999; 81: F184-F187.
49. KLOIBER LL, WINN NJ, SHAFFER SG, HASSANEIN RS. Late hyponatremia in very low birth weight infants. Incidence and associated risk factors. *J Am Diet Assoc* 1996; 96(9): 880-884.
50. BHATTY SB, TSIRKA A, QUINN PB, LA GAMMA EF, BAUMGART S, DECRISTOFARO JD. Rapid correction of hyponatremia in extremely low birth weight (ELBW) premature neonates is associated with long term neurodevelopmental delay. *Pediatr Res* 1997; 41: 140 A-43.
51. LESLIE GI, KALAW MB, BOWEN JR, ARNOLD JD. Risk factors for sensorineural hearing loss in extremely premature infants. *J Paediatr Child Health* 1995; 31(4): 312-316.
52. MURPHY DJ, HOPE PL, JOHNSON A. Neonatal risk factors for cerebral palsy in very preterm babies: case-control study. *BMJ* 1997; 314 (7078): 404-408.
53. ERTL T, HADZSIEV K, VINCZE O, PYTEL J, SZABO I, SULYOK E. Hyponatremia and sensorineural hearing loss in preterm infants. *Biol Neonate* 2001; 79(2): 109-112.
54. MODI N. Hyponatremia in the newborn. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1998; 78: F81-F84.

55. KIDOKORO H, OKUMURA A, KATO T, HAYAKAWA F, ITOMI K, KUNO K, WATANEBE K. Mild oliguria in preterm infants who later developed periventricular leucomalacia. *Brain Dev* 2007; 29(3): 141-146.
56. CHOKER G, GOUYON JB. Diagnosis of acute renal failure in very preterm infants. *Biol Neonate* 2004; 86(3): 212-216.
57. AKCAN-ARIKAN A, ZAPPITELLI M, LOFTIS LL, WASHBURN KK, JEFFERSON LS, GOLDSTEIN SL. Modified RIFLE criteria in critically ill children with acute kidney injury. *Kidney Int* 2007; 71(10): 1028–1035.
58. ASKENAZI DJ, GRIFFIN R, MCGWIN G, CARLO W, AMBALAVANAN N. Acute kidney injury is independently associated with mortality in very low birthweight infants: a matched case control analysis. *Pediatr Nephrol* 2009; 24 (5): 991-997.
59. WALKER MW, CLARK RH, SPITZER AR. Elevation in plasma creatinine and renal failure in premature neonates without major anomalies: terminology, occurrence and factors associated with increased risk. *J Perinatol* 2011; 31(3): 199–205.
60. GALLINI F, MAGGIO L, ROMAGNOLI C, MARROCCO G, TORTOROLO G. Progression of renal function in preterm neonates with gestational age < or = 32 weeks. *Pediatr Nephrol* 2000; 15 (1-2): 119-124.
61. IACOBELLI S, BONSANTE F, FERDYNUS C, LABENNE M, GOUYON JB. Factors affecting postnatal changes in serum creatinine in preterm infants with gestational age < 32 weeks. *J Perinatol* 2009; 29 (3): 232-236.
62. LIJIMA S, UGA N, KAWASE Y, TADA H. Prophylactic calcium administration for hyperkalemia in extremely low birthweight infants. *Am J Perinatol* 2005; 22(4): 211-216.
63. THAYYIL S, KEMPLEY ST, SINHA A. Can early-onset nonoliguric hyperkalemia be predicted in extremely premature infants? *Am J Perinatol* 2008; 25(2): 129-133.
64. LORENZ JM, KLEINMAN LI, MARKARIAN K. Potassium metabolism in extremely low birth weight infants in the first week of life. *J Pediatr* 1997; 131: 81-86.
65. SHORTLAND D, TROUNCE JQ, LEVENE MI. Hyperkalaemia, cardiac arrhythmias, and cerebral lesions in high risk neonates. *Arch Dis Child* 1987; 62(11): 1139-1143.
66. YASEEN H. Nonoliguric hyperkalemia in neonates: a case-controlled study. *Am J Perinatol* 2009; 26 (3): 185-189.
67. SEMAMA DS, MARTIN-DELGADO M, GOUYON JB. Metabolism of potassium in preterm infants. *Arch Pediatr* 2007; 14(3): 49-53.
68. IACOBELLI S, BONSANTE F, VINTÉJOUX A, GOUYON JB. Standardized parenteral nutrition in preterm infants: early impact on fluid and electrolyte balance. *Neonatology* 2010; 98: 84-90.
69. IACOBELLI S, BONSANTE F, GOUYON JB. Fluid and electrolyte intake during the first week of life in preterm infants receiving parenteral nutrition according to current guidelines. *Minerva Pediatrica* 2010; 62 (3) Suppl 1: 203-204.
70. MIAL-ALLEN VM, DE VRIES LS, WHITELAW AG. Mean arterial blood pressure and neonatal cerebral lesions. *Arch Dis Child* 1987; 62: 1068–1069.

71. WATKINS AM, WEST CR, COOKE RW. Blood pressure and cerebral haemorrhage and ischaemia in very low birthweight infants. *Early Hum Dev* 1989; 19 (2): 103-110.
72. SOLEYMANI S, BORZAGE M, SERI I. Hemodynamic monitoring in neonates: advances and challenges. *J Perinatol* 2010; 30, S38-45.
73. COOKE RWI. Factors associated with periventricular haemorrhage in very low birthweight infants. *Arch Dis Child* 1981; 56 : 425-431.
74. LEVENE MI, FAWER C, LAMONT RF. Risk factors in the development of intraventricular haemorrhage in the preterm neonate. *Arch Dis Child* 1982; 57: 410-417.
75. WIGGLESWORTH JS, PAPE KE. An integrated model for haemorrhagic and ischaemic lesions in the newborn brain. *Early Hum Dev* 1978; 2: 179-199.
76. GROH-WARGO S, CIACCIA A, MOORE J. Neonatal metabolic acidosis: effect of chloride from normal saline flushes. *J Parenter Enteral Nutr* 1988; 12: 159–161.
77. PETERS O, RYAN S, MATTHEW L, CHENG K, LUNN J. Randomised controlled trial of acetate in preterm neonates receiving parenteral nutrition *Arch Dis Child* 1997; 77: F12–F15.
78. AGRAWAL S, SACHDEV A, GUPTA D, CHUGH K. Role of lactate in critically ill children. *Indian J Crit Care Med* 2004; 8: 173–181.
79. WESTGREN M, DIVON M, HORAL M, INGEMARSSON I, KUBLICKAS M, SHIMOJO N, NORDSTRÖM L. Routine measurements of umbilical artery lactate levels in the prediction of perinatal outcome. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173: 1416–1422.
80. SHAH S, TRACY M, SMYTH J. Postnatal lactate as an early predictor of short-term outcome after intrapartum asphyxia. *J Perinatol* 2004; 24: 16–20.
81. NADEEM M, CLARKE A, DEMPSEY EM. Day 1 serum lactate values in preterm infants less than 32 weeks gestation. *Eur J Pediatr* 2010; 169 (6): 667-670.
82. GROENENDAAL F, LINDEMANS C, UITERWAAL CS, DE VRIES LS. Early arterial lactate and prediction of outcome in preterm neonates admitted to a neonatal intensive care unit. *Biol Neonate* 2003; 83(3): 171-176.
83. HUSSAIN F, GILSHENAN K, GRAY PH. Does lactate level in the first 12 hours of life predict mortality in extremely premature infants? *J Paediatr Child Health* 2009; 45(5): 263-267.
84. PHILLIPS LA, DEWHURST CJ, YOXALL CW. The prognostic value of initial blood lactate concentration measurements in very low birthweight infants and their use in development of a new disease severity scoring system *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2011; 96: F275–F280.
85. CORNET B, GOUYON JB, BINQUET C, SAGOT P, FERDYNUS C, METRAL P, QUANTIN C, Comité De Pilotage Du Réseau Périnatal De Bourgogne: Using discharge abstracts as a tool to assess a regional perinatal network. *Rev Epidemiol Sante Publique* 2001; 49(6): 583-593.
86. SAGOT P, GOUYON-CORNET B, GOUYON JB. The P.M.S.I enlargement: evaluation system of perinatal care networks in Bourgogne, France. *Gynecol Obstet Fertil* 2003 ; 31(2): 162-166.

87. QUANTIN C, GOUYON B, AVILLACH P, FERDYNUS C, SAGOT P, GOUYON JB. Using discharge abstracts to evaluate a regional perinatal network: assessment of the linkage procedure of anonymous data. *Int J Telemed Appl* 2009; 181842.
88. QUANTIN C, GOUYON B, ALLAERT FA, COHEN O. *Méthodologie pour le chaînage de données sensibles tout en respectant l'anonymat : application au suivi des informations médicales*. [En ligne, (consulté le 1 Juin 2013)], http://www.insee.fr/fr/ffc/docs_ffc/cs113e.pdf.
89. FAYEULLE C. *Facteurs cliniques périnataux et paramètres biologiques précoces associées au mauvais pronostic à court terme chez le grand prématuré*. Thèse de Docteur en Médecine, Université de Bourgogne, 14 Juin 2010.
90. READING RF, ELLIS R, FLEETWOD A. Plasma albumin and total protein in preterm babies from birth to eight weeks. *Early Hum Dev* 1990; 22(2): 81–87.
91. SCHEINGRABER S, REHM M, SEHMISCH C, FINSTERER U. Rapid saline infusion produces hyperchloremic acidosis in patients undergoing gynecologic surgery. *Anesthesiology* 1999; 90: 1265–1270.
92. HO AM, KARMAKAR MK, CONTARDI LH, NG SS, HEWSON JR. Excessive use of normal saline in managing traumatized patients in shock: a preventable contributor to acidosis. *J Trauma* 2001; 51: 173–177.
93. SKELLETT S, MAYER A, DURWARD A, TIBBY SM, MURDOCH IA. Chasing the base deficit: hyperchloraemic acidosis following 0.9% saline fluid resuscitation. *Arch Dis Child* 2000; 83: 514–516.
94. EKBLAD H, KERO P, TAKALA J. Slow sodium acetate infusion in the correction of metabolic acidosis in premature infants. *Am J Dis Child* 1985; 139: 708–710.
95. RICHARDS CE, DRAYTON M, JENKINS H, PETERS TJ. Effect of different chloride infusion rates on plasma base excess during neonatal parenteral nutrition. *Acta Paediatr* 1993; 82: 678–682.
96. MANGIALARDI MJ, MARTIN GS, BERNARD GS, WHEELER AP, CHRISTMAN BW, DUPONT WD, HIGGINS SB, SWINDELL BB. Hypoproteinemia predicts acute respiratory distress syndrome development, weight gain, and death in patients with sepsis. *Crit Care Med* 2000; 28(9): 3137–3145.
97. HOROWITZ IN, KENNETH T. Hypoalbuminemia in critically ill children. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2007; 161 (11): 1048–1052.
98. BUNT JE, RIETVELD T, SCHIERBEEK H, WATTIMENA JL, ZIMMERMANN LJ, VAN GOUDOEVER JB. Albumin synthesis in preterm infants on the first day of life studied with [¹⁵N]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 292(4): G1157–G1161.
99. ZIMMERMANN B, FRANÇOISE M, GERMAIN GF, LALLEMANT C, GOUYON JB. Colloid oncotic pressure in neonatal respiratory distress syndrome. *Arch Pediatr* 1997; 4: 952–958.
100. GAGLIARDI L, CAVAZZA A, BRUNELLI A, BATTAGLIOLI M, MERAZZI D, TANDOI F, CELLA D, PEROTTI GF, PELTI M, STUCCHI I, FRISONE F, AVANZINI A, BELLÙ R. Assessing mortality risk in very low birthweight infants: a comparison of CRIB, CRIB-II, and SNAPPE-II. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2004; 89: F419–F422.

- 101.** DE FELICE C, DEL VECCHIO A, LATINI G. Evaluating illness severity for very low birth weight infants: CRIB or CRIB-II? *J Matern Fetal Neonatal Med* 2005; 17: 257-260.
- 102.** DE FELICE C, TOTI P, PARRINI S DEL VECCHIO A, BAGNOLI F, LATINI G, KOPOTIC RJ. Histologic chorioamnionitis and severity of illness in very low birth weight newborns. *Pediatr Crit Care Med* 2005; 6: 298-302.
- 103.** MANKTELOW BN, DRAPER ES, FIELD DJ. Predicting neonatal mortality among very preterm infants: a comparison of three versions of the CRIB score. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2010; 95: F9–F13.
- 104.** BHAT R, JAVED S, MALALIS L, VIDYASAGAR D. Critical care problems in neonates. Colloid osmotic pressure in healthy and sick neonates. *Crit Care Med* 1981; 9 (8): 563-567.
- 105.** UHING MR. The albumin controversy. *Clin Perinatol* 2004; 31: 475–488.

Annexes

**« Protidémie précoce et hémodynamique néonatale :
Evaluation prospective chez le grand prématuré »**

Etude ProHémie (Protidémie et Hémodynamique)

Code promoteur : 2013/CHU/02

PROTOCOLE DE RECHERCHE BIOMEDICALE

Version n°1.2 du 14/04/2013
ayant reçu l'avis favorable du CPP le **date** et l'autorisation de l'ANSM le **date**

Numéro ID-RCB: 2013-A00090-45

Cette recherche biomédicale a obtenu le financement de PHRC-API 2012

Promoteur :

Centre Hospitalier Universitaire de La Réunion

Site du Groupe Hospitalier Sud Réunion (GHSR)

Avenue François Mitterrand

BP 350, 97 448 Saint Pierre cedex

LA REUNION

Investigateur coordonnateur:

Madame le Docteur Silvia Iacobelli

Service de Néonatalogie, Réanimation Néonatale et Pédiatrique

Centre d'Etudes Périnatales de l'Océan Indien, CHU La Réunion

CHU de La Réunion - Site du GHSR

Avenue François Mitterrand

BP 350, 97448 Saint-Pierre Cedex

Méthodologiste :

Madame le Professeur Christine Biquet

INSERM CIE1, Dijon, F-21000, France;

CHRU Dijon, Centre d'Investigation Clinique - Epidémiologie Clinique/Essais Cliniques, Dijon,
F-21000, France ; Université de Bourgogne, Dijon, F-21000, France.

Unité de sécurité et vigilance de la recherche clinique :

Direction de la Recherche Clinique et de l'Innovation - CHU de Bordeaux

12 rue Dubernat

33404 Talence cedex

**Ce protocole a été conçu et rédigé à partir de la version 2.0 du 01/09/2011
du protocole-type de la DIRC Sud-Ouest Outre-Mer**

1. RESUME DE LA RECHERCHE

PROMOTEUR	CHU de La Réunion – Site du GHSR
INVESTIGATEUR COORDONNATEUR/PRINCIPAL	Madame le Docteur Silvia Iacobelli Service de Néonatalogie, Réanimation Néonatale et Pédiatrique Centre d'Etudes Périnatales de l'Océan Indien, CHU de La Réunion - Site GHSR Av. François Mitterrand BP 350, 97448 Saint-Pierre Cedex Tél : 0262 35 91 49 – Fax : 0262 35 92 93
TITRE	Etude ProHémie « Protidémie précoce et hémodynamique néonatale : Evaluation prospective chez le grand prématuré »
JUSTIFICATION / CONTEXTE	<p>Récemment un pronostic défavorable (décès précoce ou anomalies neurologiques majeures à l'imagerie cérébrale) a été identifié chez les grands prématurés présentant une hypoprotidémie à l'admission en réanimation néonatale. Les mécanismes par lesquels l'hypoprotidémie pourrait participer au mauvais pronostic ne sont pas connus.</p> <p>Le taux plasmatique de protidémie est le principal facteur déterminant la pression oncotique. Celle-ci a un rôle important dans le maintien d'une hémodynamique correcte.</p> <p>Les connaissances actuelles sur l'adaptation hémodynamique dans la période postnatale chez le grand prématuré suggèrent son implication dans le pronostic à court et moyen terme de l'enfant.</p> <p>A ce jour, la relation entre le taux plasmatique de protidémie et les indicateurs de troubles hémodynamiques dans la période postnatale n'a pas été explorée.</p> <p>Notre hypothèse est que l'hypoprotidémie précoce entraîne des anomalies de l'hémodynamique postnatale.</p>
OBJECTIFS	<p>Objectif principal : Evaluer la relation entre protidémie et troubles hémodynamiques précoces chez l'enfant grand prématuré.</p> <p>Objectifs secondaires :</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Evaluer les facteurs périnataux associés au taux plasmatique de protidémie à la naissance 2. Evaluer l'association entre protidémie et volémie 3. Evaluer l'association entre protidémie et albuminémie 4. Evaluer l'association entre hypoprotidémie et morbi-mortalité néonatale
SCHEMA DE LA RECHERCHE	Cohorte multicentrique prospective de nouveau-nés grands prématurés suivis de la naissance à la fin de l'hospitalisation initiale.

CRITERES D'INCLUSION	<ul style="list-style-type: none"> - Naissance vivante à l'île de la Réunion dans une des maternités de niveau III (GHSR ou CHFG) - Age gestationnel inférieur à 32 semaines à la naissance - Consentement parental (ou des titulaires de l'autorité parentale) éclairé écrit et signé - Au moins un parent affilié à un régime de sécurité sociale
CRITERES DE NON INCLUSION	<ul style="list-style-type: none"> - Malformation congénitale majeure
CRITERES D'EXCLUSION	<ul style="list-style-type: none"> - Insuffisance cardiaque objectivée à la première échographie postnatale
PROCEDURES DE LA RECHERCHE	<p>Dosage de la protidémie sur cordon à l'occasion du bilan sanguin réalisé sur cordon pour tout nouveau né grand prématuré au moment de la naissance.</p> <p>Dosage de la protidémie à l'occasion du bilan sanguin réalisé aux alentours de 12 heures de vie pour tout nouveau-né grand prématuré hospitalisé en réanimation néonatale.</p> <p>Dépistage des troubles hémodynamiques à l'occasion du bilan hémodynamique et du monitoring prévus pour les enfants grands prématurés hospitalisés en réanimation aux alentours de 6 heures de vie.</p> <p>Ce dépistage sera réalisé par mesure de la pression artérielle, par réalisation d'échographie cardiaque bidimensionnelle, d'échographie doppler pulsé couleur des organes et NIRS (Spectroscopie dans le proche de l'infrarouge) cérébrale et splanchnique.</p> <p>Ces examens font partie du bilan réalisé en pratique courante chez les enfants grands prématurés.</p>
CRITERES DE JUGEMENT	<ul style="list-style-type: none"> • CRITERES DE JUGEMENT PRINCIPAL 1- Proportion de troubles hémodynamiques précoces (à H 6) • CRITERES DE JUGEMENTS SECONDAIRES 1- Taux plasmatique de protidémie à la naissance en fonction des facteurs périnataux 2- Volémie à H 6 3- Taux d'albumine à H 12 4- Taux de morbidités et mortalité lors de l'hospitalisation
TAILLE D'ETUDE	<p>Hypothèse : Troubles hémodynamiques précoces de 15% dans le groupe normoprotidémique et de 45% dans le groupe hypoprotidémique. Inclusion de 125 patients pour mettre en évidence une différence entre les deux groupes de 30% avec une puissance de 80% au seuil $\alpha = 5\%$ (test bilatéral). Logiciel PASS 2008 (NCSS).</p> <p>125 patients sont prévus pour la participation à cette recherche biomédicale</p>

NOMBRE PREVU DE CENTRES	2 : Réanimation Néonatale de niveau III du GHSR - Saint Pierre et du CHFG – Saint Denis
DUREE DE LA RECHERCHE	<p>Calendrier prévisionnel :</p> <ul style="list-style-type: none"> - date de début souhaitée: Deuxième semestre 2013 - durée de la période d'inclusion : 24 mois - durée totale de l'étude (inclusion + suivi éventuel) : 27 mois - durée totale de participation pour une personne se prêtant à la recherche : 4 à 12 semaines
ANALYSE STATISTIQUE DES DONNEES	<p>Objectif Principal</p> <ul style="list-style-type: none"> • L'association entre l'hypoprotidémie et la présence d'un trouble hémodynamique précoce sera étudiée à l'aide d'un modèle de régression logistique. <p>Objectifs secondaires</p> <ul style="list-style-type: none"> • L'association entre les facteurs périnataux et le taux plasmatique de protidémie à la naissance sera étudiée à l'aide d'un modèle d'analyse de variance. • L'association entre protidémie et volémie sera étudiée à l'aide du coefficient de corrélation de Pearson. • L'association entre protidémie et albuminémie à H12 sera étudiée à l'aide du coefficient de corrélation de Pearson. • L'association entre hypoprotidémie et morbi-mortalité sera étudiée à l'aide de modèles de régression logistique.
RETOMBES ATTENDUES	<p>Cette étude pourrait conduire à promouvoir le dépistage systématique de l'hypoprotidémie à la naissance chez les grands prématurés afin de détecter les enfants à risque de troubles hémodynamiques le plus précocement possible.</p> <p>De même, à plus long terme, cette étude pourra servir de base à l'élaboration d'essais thérapeutiques de correction de l'hypoprotidémie chez le grand prématuré.</p>