

2m11.2865.6

Université de Montréal

Reproductibilité de l'analyse des sécrétions respiratoires obtenues par un lavage
bronchoalvéolaire non-bronchoscopique protégé chez l'enfant intubé

Par

France Gauvin

Programme de Sciences biomédicales

Faculté de médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures

en vue de l'obtention du grade de

Maître ès sciences (M.Sc.)

en Sciences biomédicales, option épidémiologie

Mars, 2001

© France Gauvin, 2001



W
4
058
2001
V.076

II - IDENTIFICATION DU JURY

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :
Reproductibilité de l'analyse des sécrétions respiratoires obtenues par un lavage
bronchoalvéolaire non-bronchoscopique protégé chez l'enfant intubé

Présenté par :
France Gauvin

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Dr. Lise Goulet (présidente)

Dr. Clément Dassa

Dr. Jacques Lacroix

Dr. Yves Berthiaume

Mémoire accepté le : _____

III - SOMMAIRE

Introduction– Le lavage bronchoalvéolaire (LBA) non-bronchoscopique protégé semble être une méthode valable de prélèvement des sécrétions respiratoires pour différencier chez les enfants intubés les cas de pneumonie nosocomiale bactérienne (PNB), les cas de trachéite nosocomiale bactérienne (TNB) et les enfants sans infection respiratoire.

Objectif. – Le but premier de l'étude est de vérifier la reproductibilité des résultats d'analyses microbiologiques et cytologiques de sécrétions respiratoires prélevées par un LBA non-bronchoscopique protégé. Nous évaluons aussi la sécurité, la faisabilité, la validité et l'impact de cette technique en milieu pédiatrique.

Méthode. – Il s'agit d'une étude descriptive et prospective d'une série consécutive de patients susceptibles de souffrir d'une PNB. Deux LBA non-bronchoscopiques protégés sont faits successivement chez chacun des patients, à deux heures d'intervalle. La reproductibilité du résultat des analyses microbiologiques et cytologiques de deux LBA est évaluée selon:

- 1) comparaison quantitative: présence et nombre de bactéries à la culture quantitative; présence et pourcentage de polymorphonucléaires (PMN) contenant des bactéries; présence de bactéries à la coloration de Gram
- 2) comparaison qualitative: présence du même type de bactéries à la culture quantitative.

Des données sur les complications associées aux LBA, la faisabilité du LBA et l'impact des résultats sur le traitement des patients sont aussi analysées. La validité du LBA non-bronchoscopique protégé est évaluée par rapport au diagnostic de PNB et TNB rapporté par un panel de trois experts indépendants (considéré ici comme étalon de référence).

Résultats : Trente patients ont été inclus dans l'étude, chez qui deux LBA ont été effectués, pour un total de 60 LBA. La reproductibilité entre les LBA était bonne. La reproductibilité pour la présence de bactérie était excellente (pourcentage de concordance : 93%; kappa = 0,86). La reproductibilité pour le type de bactéries (pourcentage de concordance : 85%) et pour le nombre de bactéries (pourcentage de concordance : 78%) était semblable. La reproductibilité du pourcentage de PMN contenant des bactéries était parfaite (pourcentage de concordance : 100%; kappa = 1), mais il y avait peu de résultats positifs (8/60 LBA). Tous les LBA ont permis de recueillir des échantillons adéquats et on été facilement réalisables. Les complications associées à la technique étaient bénignes et

transitoires dans tous les cas, sauf pour un cas de pneumothorax et un cas avec élévation importante de la pression intracrânienne. Les résultats du LBA ont eu un impact sur le traitement des patients dans 70% des cas. La valeur diagnostique globale des cultures bactériennes (seuil de 10^2 CFU/mL) prélevées par LBA était de 67% (sensibilité : 70%; spécificité : 65%; valeur prédictive positive : 50%; valeur prédictive négative : 81%).

Conclusion : Le LBA non-bronchoscopique protégé est un outil reproductible et sa fiabilité ("reliability") pour diagnostiquer les PNB chez les patients intubés semble bonne. La technique est facile et sécuritaire et les résultats ont un impact sur le traitement des patients.

IV - TABLE DES MATIÈRES:

	page
I Page titre	i
II Identification du jury.....	ii
III Sommaire.....	iii
IV Table des matières.....	v
V Liste des tableaux.....	ix
VI Liste des figures.....	x
VII Liste des sigles et abréviations.....	xi
VIII Corps du mémoire.....	xii
1.Introduction.....	1
2.Objectifs.....	2
2.1 Objectif primaire.....	2
2.2 Objectifs secondaires.....	2
3.Revue de la littérature.....	3
3.1 Épidémiologie des pneumonies nosocomiales bactériennes.....	3
3.2 Étiologie des pneumonies nosocomiales bactériennes.....	3
3.3 Pathogenèse des pneumonies nosocomiales bactériennes	4
3.4 Diagnostic des pneumonies nosocomiales bactériennes	5
3.4.1 Critères diagnostiques cliniques.....	5
3.4.2 Critères diagnostiques paracliniques.....	7
3.4.2.1 Histopathologie.....	7
3.4.2.1.1 Autopsie : étalon de référence.....	7
3.4.2.1.2 Biopsie pulmonaire.....	8
3.4.2.2 Microbiologie.....	8
3.4.2.2.1 Culture de sécrétions endotrachéales.....	9
3.4.2.2.2 Hémoculture.....	9
3.4.2.2.3 Brosse télescopique protégée.....	10
3.4.2.2.4 Lavage bronchoalvéolaire.....	11
3.4.2.2.4.1 LBA bronchoscopique non-protégé.....	13
3.4.2.2.4.2 LBA bronchoscopique protégé.....	13
3.4.2.2.4.3 LBA non-bronchoscopique non-protégé.....	14
3.4.2.2.4.4 LBA non-bronchoscopique protégé.....	15
3.4.2.2.5 Données pédiatriques.....	16
3.4.2.2.6 Seuils de positivité et calculs bactériens.....	17
3.4.2.2.6.1 Seuils de positivité.....	17
3.4.2.2.6.2 Index bactérien.....	18

3.4.2.2.6.3	Index d'espèce prédominante.....	19
3.4.2.2.6.4	Nombre précis de bactéries.....	19
3.4.2.3	Cytologie.....	19
3.4.2.3.1	Polymorphonucléaires contenant des bactéries.....	19
3.4.2.3.2	Coloration de Gram.....	20
3.4.2.3.3	Cellularité.....	21
3.5	Reproductibilité.....	22
3.6	Effets du traitement antibiotique préalable.....	24
3.7	Complications du LBA.....	25
3.8	Impact du LBA.....	27
4.	Méthode.....	29
4.1	Résumé.....	29
4.2	Population.....	29
4.2.1	Critères d'inclusion et d'exclusion.....	29
4.2.2	Taille de l'échantillon.....	31
4.3	Lavage bronchoalvéolaire.....	31
4.3.1	Considérations techniques.....	31
4.3.2	La manœuvre.....	33
4.3.2.1	Préparation.....	34
4.3.2.2	Réalisation.....	34
4.3.3	Échantillon de sécrétions bronchoalvéolaires.....	34
4.3.3.1	Aspect du liquide.....	34
4.3.3.2	Échantillon adéquat.....	35
4.3.3.3	Évaluation de l'échantillon recueilli.....	35
4.3.3.3.1	Microbiologie.....	36
4.3.3.3.1.1	Cultures quantitatives bactériennes.....	36
4.3.3.3.1.2	Autres cultures.....	37
4.3.3.3.2	Cytologie.....	37
4.3.3.3.2.1	Décompte cellulaire et PMN contenant des bactéries.....	37
4.3.3.3.2.2	Coloration de Gram et autres colorations.....	38
4.4	Compilation des données.....	39
4.4.1	Livret d'observation.....	39
4.4.2	Données de base.....	39
4.4.3	Manœuvre du LBA.....	39
4.4.4	Feuille d'ordonnance.....	40
4.4.5	Arrêt de l'étude d'un patient.....	40
4.5	Critères d'évaluation.....	40
4.5.1	Critère d'évaluation primaire.....	40
4.5.2	Critères d'évaluation secondaires.....	41

4.5.2.1	Reproductibilité.....	41
4.5.2.1.1	Nombre de bactéries (quantitatif).....	41
4.5.2.1.2	Type de bactéries (qualitatif).....	41
4.5.2.1.3	PMN contenant des bactéries.....	41
4.5.2.1.4	Coloration de Gram.....	41
4.5.2.1.5	Décompte cellulaire.....	42
4.5.2.2	Complications associées au LBA.....	42
4.5.2.3	Suivi du patient.....	42
4.5.2.4	Impact du LBA sur le traitement.....	43
4.5.2.5	Valeur diagnostique du LBA.....	43
4.5.2.6	Faisabilité du LBA.....	43
5.	Analyse.....	44
5.1	Devis de l'étude.....	44
5.2	Analyses statistiques.....	44
5.2.1	Analyses de reproductibilité: principes de base.....	44
5.2.1.1	Tendance versus concordance.....	44
5.2.1.2	Types d'échelles.....	45
5.2.1.3	Rôle de la chance ou du hasard.....	45
5.2.2	Types d'analyses utilisés.....	46
5.2.2.1	Données nominales ou qualitatives.....	46
5.2.2.1.1	Pourcentage de concordance.....	46
5.2.2.1.2	Test kappa.....	47
5.2.2.1.3	Test de McNemar.....	48
5.2.2.2	Données continues ou quantitatives.....	49
5.2.2.2.1	Coefficient de corrélation intraclasse.....	49
5.2.2.2.2	Coefficient de généralisabilité.....	51
5.2.2.2.3	Test T de Student apparié.....	55
5.2.2.2.4	Test de Wilcoxon.....	55
5.2.2.2.5	Corrélation de Bland et Altman.....	56
5.2.3	Analyse de la valeur diagnostique du LBA.....	56
5.2.4	Considérations statistiques.....	57
5.3	Résultats.....	57
5.3.1	Données démographiques.....	57
5.3.2	Données sur les LBA.....	58
5.3.3	Données bactériologiques.....	58
5.3.4	Données sur la reproductibilité.....	59
5.3.4.1	Cultures bactériennes.....	59
5.3.4.1.1	Critère d'évaluation primaire: présence de bactéries.....	59
5.3.4.1.2	Critères d'évaluation secondaires.....	59

5.3.4.1.2.1. Nombre de bactéries isolées.....	59
5.3.4.1.2.1.1 Chaque espèce bactérienne.....	60
5.3.4.1.2.1.2 Index bactérien.....	60
5.3.4.1.2.1.3 Index d'espèce prédominante.....	62
5.3.4.1.2.2.Type de bactéries isolées.....	63
5.3.4.2 Cytologie.....	64
5.3.4.2.1 Polymorphonucléaires contenant des bactéries.....	64
5.3.4.2.2 Coloration de Gram.....	64
5.3.4.3 Reproductibilité selon le seuil bactérien.....	65
5.3.4.3.1 Index bactérien.....	65
5.3.4.3.2 Index d'espèce prédominante.....	65
5.3.4.4 Reproductibilité selon divers facteurs confondants.....	66
5.3.4.4.1 Présence d'antibiothérapie au préalable.....	66
5.3.4.4.2 Type de cathéter employé.....	66
5.3.4.4.3 Pourcentage de volume de liquide aspiré.....	67
5.3.4.4.4 Type de bactéries.....	68
5.3.5 Complications associées au LBA.....	68
5.3.6 Suivi des patients.....	69
5.3.7 Impact du LBA sur le traitement.....	70
5.3.8 Valeur diagnostique du LBA.....	70
5.3.9 Faisabilité du LBA.....	72
6 Discussion.....	74
6.1 Pourquoi faire un LBA non-bronchoscopique protégé.....	74
6.2 Reproductibilité.....	74
6.3 Valeur diagnostique.....	76
6.4 Faisabilité.....	76
6.5 Points forts et limites de l'étude.....	77
6.6 Conclusion.....	79
7. Tableaux et figures.....	80
7.1 Tableaux.....	80
7.2 Figures.....	104
IX Bibliographie.....	xiii
X Annexes.....	xxvii
1) Lettre de consentement.....	xxvii
2) Livret d'observation.....	xxx
3) Ordonnances médicales.....	xli
4) Analyses statistiques.....	xliv
5) Questionnaire aux experts.....	lvi
6) Article.....	lxiii

V- LISTE DES TABLEAUX

	page
Tableau 1: Liste des germes selon leur pathogénicité.....	80
Tableau 2 : Critères du Centers for Disease Control (CDC) pour le diagnostic de pneumonie et trachéite nosocomiales.....	81
Tableau 3: Diagnostic des pneumonies nosocomiales bactériennes par lavage bronchoalvéolaire: revue de la littérature.....	83
Tableau 4: LBA non-bronchoscopique protégé: matériel nécessaire.....	87
Tableau 5: LBA non-bronchoscopique protégé: étapes préliminaires.....	88
Tableau 6: LBA non-bronchoscopique protégé: réalisation.....	89
Tableau 7: Description macroscopique de l'échantillon prélevé.....	90
Tableau 8: Données démographiques des patients.....	91
Tableau 9: Cultures quantitatives des lavages bronchoalvéolaires (LBA).....	92
Tableau 10: Nombre précis de bactéries (CFU/ml) pour chaque LBA	93
Tableau 11: Pourcentage de concordance et score kappa pour la présence de bactéries; données pour l'ensemble des LBA et différents sous-groupes.....	94
Tableau 12: Résultats des cultures quantitatives de tous les LBA positifs, avec l'index bactérien (IB) et l'index de l'espèce prédominante (IEP).....	95
Tableau 13; Pourcentage de concordance pour le nombre et le type de bactéries; données pour l'ensemble des LBA et pour différents sous-groupes.....	96
Tableau 14: Résultats de l'index bactérien, l'index de l'espèce prédominante, la coloration de Gram et les polymorphonucléaires contenant des bactéries (PMNCB) pour l'ensemble des LBA.....	97
Tableau 15: Complications survenues durant le lavage bronchoalvéolaire et dans les 24 heures suivant la procédure.....	98
Tableau 16 : Données sur le suivi des patients.....	99
Tableau 17: Présence de pneumonie et trachéite selon les critères de CDC, l'avis des experts et les résultats de LBA.....	100
Tableau 18: Validité de divers tests pour diagnostiquer une pneumonie nosocomiale bactérienne selon les critères du Centers for Disease Control.....	101
Tableau 19 : Validité de divers tests pour diagnostiquer une pneumonie nosocomiale bactérienne selon l'avis des experts (étalon de référence).....	102
Tableau 20: Résultats des cultures de sécrétions endotrachéales, de LBA et des critères de CDC pour chaque catégorie de patients (PNB, TNB, absence de PNB ou TNB) selon l'avis des experts.....	103

VI – LISTE DES FIGURES

	page
Figure 1: Pathogénèse des pneumonies nosocomiales.....	104
Figure 2: Image histologique de tissu pulmonaire avec pneumonie nosocomiale bactérienne.....	105
Figure 3: Frottis démontrant des neutrophiles contenant des bactéries dans des sécrétions respiratoires recueillies lors du lavage bronchoalvéolaire.....	106
Figure 4: Technique de lavage bronchoalvéolaire non-bronchoscopique protégé.....	107
Figure 5: Cathéter à double lumière dans une bronchiole distale lors du lavage bronchoalvéolaire non-bronchoscopique protégé.....	108
Figure 6: Photo du cathéter à double lumière et du connecteur utilisé lors du lavage bronchoalvéolaire non-bronchoscopique protégé.....	109
Figure 7: Cheminement de l'échantillon recueilli.....	110
Figure 8: Tableau de contingence pour évaluer la reproductibilité.....	111
Figure 9: Tableau de contingence pour analyse de McNemar.....	112
Figure 10: Diagramme de Cronbach.....	113
Figure 11: Tableau de contingence utilisé pour évaluer la sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive et négative d'un test.....	114
Figure 12: Corrélation entre l'index bactérien (IB) des 2 LBA.....	115
Figure 13: Diagramme de Bland Altman pour l'index bactérien (IB) entre les 2 LBA : différence moyenne entre les résultats obtenus par les 2 LBA en fonction de leur moyenne.....	116
Figure 14: Corrélation entre l'index d'espèce prédominante (IEP) des 2 LBA.....	117
Figure 15: Diagramme de Blant Altman pour l'index d'espèce prédominante (IEP) entre les 2 LBA : différence moyenne entre les résultats obtenus pr les 2 LBA en fonction de leur moyenne.....	118
Figure 15 : Diagramme démontrant la reproductibilité pour différents seuils bactériens de cultures quantitatives, selon l'index bactérien (a) et l'index d'espèce prédominante (b).....	119

VII - LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

BTP : brossage télescopique protégé
CCI : coefficient de corrélation intraclasse
CDC : Centers for Disease Control
CFU : colony forming unit
CRF : capacité résiduelle fonctionnelle
FiO₂ : fraction inspirée en oxygène
HGDS: hémorragie gastro-duodénale de stress
IC : intervalle de confiance
LBA : lavage bronchoalvéolaire
PaO₂ : pression partielle en oxygène
PAM : pression artérielle moyenne
PAP : pression artérielle pulmonaire
PEEP : pression positive en fin d'expiration
PMN : polymorphonucléaire
PNB : pneumonie nosocomiale bactérienne
PRISM : Pediatric Risk of Mortality
SaO₂ : saturation artérielle en oxygène
SDMV: syndrome de défaillance multiviscérale
SDRA: syndrome de détresse respiratoire aiguë
SIP : soins intensifs pédiatriques
TNB: trachéite nosocomiale bactérienne
VPN : valeur prédictive négative
VPP : valeur prédictive positive

VIII - CORPS DU MÉMOIRE

1. INTRODUCTION

Les patients admis en soins intensifs pédiatriques (SIP), intubés et sous ventilation mécanique, sont à risque de contracter des infections respiratoires. Ces infections peuvent être d'origine bactérienne, virale, fongique ou parasitaire. Ces infections respiratoires peuvent être qualifiées de "nosocomiales" si elles sont acquises durant le séjour à l'hôpital, au moins 48 heures après l'admission. Elles peuvent être divisées en trachéite nosocomiale ou pneumonie nosocomiale. En cas de trachéite, il y a infection des voies respiratoires supérieures seulement (trachée), sans atteinte des voies respiratoires inférieures et du parenchyme pulmonaire. Lors d'une pneumonie nosocomiale, il y a infection du parenchyme pulmonaire incluant les alvéoles et tout l'arbre respiratoire. Une pneumonie nosocomiale bactérienne (PNB) est souvent plus grave qu'une trachéite nosocomiale bactérienne (TNB); c'est pourquoi il est important de les différencier.

L'incidence des PNB est de 1,2% dans notre unité de soins intensifs; le taux de létalité ainsi que le taux de défaillance multiviscérale (SDMV) attribués à une PNB sont de 8% (1). De plus, la littérature adulte nous rapporte que les PNB engendrent des coûts importants, de l'ordre de 4,5 milliards de dollars annuellement aux États-Unis (2). Les conséquences d'une PNB sont donc appréciables et il est primordial de pouvoir les diagnostiquer à temps afin d'éviter les complications associées.

Le diagnostic d'une PNB n'est pas facile dans un contexte de soins intensifs car plusieurs signes et symptômes pouvant révéler une PNB peuvent être dus à d'autres pathologies (atélectasie, hémorragie pulmonaire, etc.). D'autre part, certains patients peuvent être atteints d'une PNB sans présenter les signes et symptômes classiques. La décision de traiter un patient avec des antibiotiques n'est pas claire dans tous les cas. On risque souvent de traiter le patient pour un diagnostic de PNB qui n'est pas vrai ou encore de ne pas traiter celui qui en bénéficierait plus rapidement. Les critères pour évaluer la présence d'une PNB sont d'ordre clinique ou paraclinique. Tous présentent des avantages et des inconvénients. L'outil parfait pour diagnostiquer une PNB serait peu invasif, facile à utiliser, peu coûteux, disponible pour tous les patients, procurerait un échantillon de sécrétions représentatif de l'espace alvéolaire, aurait une bonne sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive et négative et n'engendrerait pas de complications. Malheureusement, cet outil n'est pas encore disponible dans notre monde médical. Une nouvelle technique diagnostique, le lavage bronchoalvéolaire (LBA) non bronchoscopique protégé, semble prometteuse. Afin de valider cette technique pour diagnostiquer une PNB en soins intensifs pédiatriques, il faut vérifier sa fiabilité ("reliability") et évaluer sa reproductibilité (cas particulier de la fiabilité).

2. OBJECTIFS

2.1 OBJECTIF PRIMAIRE

L'objectif primaire de cette étude est d'évaluer la reproductibilité de l'analyse des sécrétions respiratoires obtenues par un LBA non-bronchoscopique protégé chez un groupe d'enfants intubés à risque de souffrir d'une infection respiratoire nosocomiale (PNB ou TNB).

2.2 OBJECTIFS SECONDAIRES

En plus d'évaluer la reproductibilité des résultats de LBA, cette étude permettra d'évaluer les complications reliées à la procédure, l'impact des résultats obtenus sur le traitement des patients, la validité de cette technique lorsque comparée au diagnostic clinique et la faisabilité de ce test en soins intensifs pédiatriques.

3. REVUE DE LA LITTÉRATURE

3.1 ÉPIDÉMIOLOGIE DES PNEUMONIES NOSOCOMIALES BACTÉRIENNES

Aux États-Unis, la PNB constitue la deuxième cause la plus fréquente d'infection acquise à l'hôpital. En soins intensifs pour adultes, l'incidence des PNB varie de 20 à 60% et le taux de létalité peut atteindre 70% (3, 4). En pédiatrie, l'incidence des infections respiratoires nosocomiales varie selon les études. Une revue d'études nord-américaines rapporte une incidence d'infections respiratoires de 16 à 67 par 100 admissions en soins intensifs pédiatriques (5). Une autre étude faite dans une unité de soins intensifs pédiatriques de Toronto rapporte un taux de PNB de 14.6%, ce qui en fait la deuxième cause d'infection nosocomiale après la bactériémie (6). Une étude réalisée dans notre unité de soins intensifs pédiatriques a démontré un taux d'infections nosocomiales respiratoires de 3% (PNB: 1,2% et TNB: 1,8%) (1).

Le risque d'acquérir une PNB est proportionnel à la durée de ventilation mécanique (7). Plusieurs autres facteurs de risque, à part l'intubation, ont été rapportés: maladie sous-jacente, âge, chirurgie majeure, trachéostomie, immunosuppression, ventilation mécanique, état de conscience altéré (8-10). Selon les données recueillies dans notre unité, les facteurs de risque reliés aux infections respiratoires nosocomiales en soins intensifs pédiatriques sont l'immunosuppression, l'utilisation d'agents curarisants, le traumatisme crânien et l'insuffisance respiratoire (1).

3.2 ÉTIOLOGIE DES PNEUMONIES NOSOCOMIALES BACTÉRIENNES

La plupart des PNB chez l'enfant sont causées par des bactéries à Gram négatif (1, 6, 11-13). Les espèces les plus fréquentes sont: *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Klebsiella oxytoca*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter species* et *Escherichia coli* (1). Parmi les bactéries à Gram positif on retrouve les *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae* et *Streptococcus hémolytique*. Chez l'adulte, il y aussi prédominance de bactéries à Gram négatif (61%) et la plupart du temps, la pneumonie est polymicrobienne (50%) (14). Croce et al. ont fait plusieurs LBA répétitifs chez des adultes ventilés mécaniquement (15). Ils rapportent un changement des germes bactériens au long du séjour aux soins intensifs. Durant la première semaine, l'*H. influenzae* est l'organisme le plus fréquent (48%). Les bactéries à Gram positif sont plus fréquentes au début (38% dans la première semaine vs 15% après la première semaine). À partir de la deuxième semaine,

ce sont d'autres bactéries à Gram négatif qui deviennent prédominantes: *Acinetobacter* (52%) et *Pseudomonas* (40%). C'est donc dire que la flore endogène de chaque patient est différente et que le type de bactéries causant une infection pulmonaire peut aussi changer dans le temps. L'utilisation d'antibiotiques peut aussi modifier la flore bactérienne et contribuer à la venue de germes de plus en plus résistants.

La présence de bactéries au niveau des cultures de sécrétions de l'arbre respiratoire n'a pas toujours la même signification. En effet, certaines bactéries sont présentes car il y a une infection (processus inflammatoire avec prolifération des bactéries) et ceci cause une destruction du parenchyme pulmonaire et un syndrome clinique associé à de la fièvre, malaise, sécrétions respiratoires purulentes, etc. Il s'agit alors d'une infection proprement dite. Dans d'autres cas, des bactéries sont présentes mais ne font que coloniser l'arbre respiratoire, sans causer d'infection. Elles font partie de la flore oropharyngée normale et on parle de colonisation des voies aériennes. Finalement, une pousse bactérienne peut survenir par hasard et ne pas refléter la présence véritable de bactéries dans l'arbre respiratoire. Ces bactéries peuvent avoir été recueillies par erreur lors du prélèvement lui-même (passage à travers la gorge ou le nez) ou lors de la mise en culture (technicien, matériel); on parle alors de contamination. Le type de bactéries recueilli peut nous donner un indice de la vraie nature du processus en cours (infection, colonisation ou contamination). La présence de certaines bactéries indique un processus pathologique infectieux presque certain (pathogènes reconnus), d'autres un processus infectieux probable mais moins sûr (pathogène probable) et d'autres une contamination possible. Les bactéries peuvent donc être divisées selon leur type de pathogénécité (tableau 1).

3.3 PATHOGÉNÈSE DES PNEUMONIES NOSOCOMIALES BACTÉRIENNES

La pathogénèse des pneumonies nosocomiales bactériennes acquises chez les patients intubés se caractérise par plusieurs étapes (16) qui sont illustrées à la figure 1:

- 1) colonisation de l'oropharynx par des bactéries endogènes et changement de la microflore du patient
- 2) apport de bactéries exogènes venant de l'environnement et du matériel technologique utilisé
- 3) aspiration de petites quantités du contenu de l'oropharynx et colonisation des voies aériennes supérieures
- 4) défenses antibactériennes altérées par différents processus pathologiques

Cette colonisation entraîne une infection des bronchioles distales et des espaces alvéolaires puis une progression du processus infectieux au parenchyme broncho-pulmonaire jusqu'à

la survenue d'un abcès pulmonaire. Une dissémination par voie hématogène ou une translocation bactérienne à travers le tube digestif sont d'autres voies d'accès possibles.

3.4 DIAGNOSTIC DES PNEUMONIES NOSOCOMIALES BACTÉRIENNES

Il n'existe pas de consensus sur les critères diagnostiques de PNB chez l'enfant. Ceci n'est pas sans conséquences: le diagnostic des PNB est approximatif en soins intensifs et plusieurs patients sont traités pour rien alors que d'autres ne reçoivent pas l'antibiothérapie qu'ils devraient recevoir. De plus, cela rend très difficile l'interprétation des essais cliniques sur la prévention ou le traitement des PNB. C'est pourquoi un grand nombre de recherches ont été entreprises au cours des dernières années afin de découvrir l'indice diagnostique le plus fiable pour diagnostiquer les PNB. L'étalon de référence (gold standard) pour le diagnostic de PNB est l'autopsie. Il est clair que cet outil n'est pas utile pour le clinicien qui travaille aux soins intensifs. On a donc étudié des critères cliniques et des critères paracliniques (radiographie pulmonaire, cultures bactériennes). La culture bactérienne quantitative d'un prélèvement distal de sécrétions respiratoires est maintenant une méthode de plus en plus utilisée. Ce prélèvement, qui peut être recueilli à l'occasion d'un brossage télescopique protégé (BTP) ou d'un lavage bronchoalvéolaire (LBA), semble constituer chez l'adulte le meilleur critère diagnostique de PNB.

3.4.1 Critères diagnostiques cliniques

Il faut envisager le diagnostic de PNB à chaque fois que l'on voit apparaître ou que persiste pendant au moins 24 heures une nouvelle condensation (17); l'anomalie radiologique est souvent accompagnée de symptômes peu spécifiques, mais suggestifs, comme une hyperthermie, des râles à l'auscultation, etc.

La confirmation diagnostique est beaucoup plus difficile et il existe un vaste débat dans la littérature sur les critères diagnostiques à préconiser (4, 18). Les critères auxquels on prête généralement une attention particulière comprennent la fièvre, une leucocytose, des sécrétions trachéobronchiques purulentes et l'identification d'un germe (bactérie, virus, moisissure ou protozoaire) dans les sécrétions. Ces critères cliniques, radiologiques et microbiologiques sont faciles à documenter, mais leur fiabilité est fort discutée. En effet, les patients gravement malades et intubés présentent souvent une fièvre ou une condensation pulmonaire qui ne sont pas d'origine infectieuse. Le diagnostic différentiel est large et comprend atélectasie, aspiration, hémorragie pulmonaire, infarctus ou embolie pulmonaire, contusion, œdème ou syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA) (3). La spécificité

des radiographies pulmonaires pour diagnostiquer une pneumonie ne dépasse pas 30%, lorsqu'on la compare à l'autopsie ou au prélèvement par BTP (19, 20).

Pour obvier à ces problèmes, des chercheurs ont tenté de systématiser la définition de pneumonies nosocomiales afin d'en rendre le diagnostic plus « opérationnel », c'est-à-dire plus reproductible d'un milieu hospitalier à l'autre. Le Centers for Disease Control (CDC) d'Atlanta a fait ce genre de tentative; les critères proposés par cet organisme sont précisés dans le tableau 2. Ils divisent les infections nosocomiales respiratoires en pneumonie et trachéite et déterminent des critères pour chacun. Ces critères du CDC ne sont pas bien validés et semblent surestimer le nombre de pneumonies nosocomiales. Ils ne sont donc pas utilisés régulièrement en clinique.

Ainsi, le diagnostic de PNB en soins intensifs est difficile à faire à cause de plusieurs facteurs:

- 1) les patients ont souvent des radiographies pulmonaires anormales, qu'il y ait présence de PNB ou non (21)
- 2) la fièvre et la leucocytose sont fréquentes chez ces patients, qu'il y ait présence de PNB ou non
- 3) même si les sécrétions endotrachéales sont purulentes, la différenciation entre une trachéite et une pneumonie est très difficile.

Des études ont évalué l'utilité des critères cliniques pour identifier les patients avec PNB et les résultats étaient décevants. Selon ces études, il y aurait erreur dans 29% à 38% des cas (22, 23). La combinaison de plusieurs variables cliniques ne semble pas non plus aider à distinguer les patients avec PNB (24). Fagon et al. ont évalué la valeur du jugement clinique dans l'identification et le traitement de PNB chez 84 adultes intubés (25). Dans cette étude, ils démontrent que les caractéristiques cliniques (hyperthermie, leucocytose, PaO_2/FiO_2 , score radiologique, score de sévérité) des patients avec et sans pneumonie étaient similaires. La seule différence significative entre les 2 groupes était le taux de mortalité plus élevé dans le groupe avec PNB (63% vs 32%). Il rapporte que le jugement clinique a permis de diagnostiquer 62% des cas de PNB. Par contre, seulement 33% des stratégies thérapeutiques proposées pour ces patients étaient considérées efficaces. L'utilisation d'antibiotiques chez des patients ne présentant pas de pneumonie était de 16%. Une autre étude démontre que la sensibilité et la spécificité des critères cliniques sont respectivement 100% et 14% (VPP 43%; VPN 100%) chez 232 adultes intubés post-traumatisme (15). Ceci confirme que l'utilisation de critères cliniques seuls ne permet pas un diagnostic fiable de PNB et résulte souvent en une thérapie inappropriée.

Solé-Violan et al. ont étudié l'histologie (autopsie) de 9 patients en mort cérébrale qui ne présentaient aucun signe ou symptôme de PNB et qui n'étaient pas traités par antibiotiques.

Chez 7 de ces patients, l'histologie a démontré une bronchopneumonie focale ou confluyente (26). C'est donc dire que l'absence de signes cliniques n'est pas fiable non plus.

Puisque les critères cliniques sont peu fiables, de nombreux chercheurs ont tenté de trouver de meilleures méthodes diagnostiques; la plupart sont basées sur une culture quantitative des sécrétions respiratoires. Toutes sortes de méthodes de prélèvement et de méthodes de culture sont proposées.

3.4.2 Critères diagnostiques paracliniques

3.4.2.1 Histopathologie

3.4.2.1.1 Autopsie : étalon de référence

L'autopsie constitue le seul véritable étalon de référence (« gold standard »). Les critères histopathologiques d'autopsie sont les plus fiables. La définition pathologique d'une pneumonie est la suivante: "Pneumonia is defined as the presence of foci of bronchopneumonia, characterized by an intense polymorphonuclear leukocyte accumulation within bronchioles and adjacent alveoli and disseminated within large zones of non specific alveolar damage (14)" (figure 2). Les lésions histologiques peuvent être disséminées à travers tous les segments pulmonaires et ne sont pas distribuées de façon homogène (16, 27). Elles sont prédominantes dans les zones dépendantes des poumons, probablement à cause de la gravité (28). Par ailleurs, même si la pousse d'une ou plusieurs bactéries provenant d'un spécimen pulmonaire constitue un argument important en faveur du diagnostic de pneumonie, il faut réaliser que les patients ont souvent reçu des antibiotiques avant leur décès, ce qui explique que les faux négatifs soient possibles. Des études récentes démontrent qu'un échantillonnage limité avec un seul spécimen pulmonaire ne peut exclure une pneumonie (28-30). L'étude de Kirtland et al. rapporte que la présence d'une pneumonie histologique n'a pu être démontrée de façon fiable par aucun critère clinique, aucune technique de prélèvement microbiologique distal (BTP, LBA) et n'était même pas corrélée avec les cultures de spécimens pulmonaires (31). Ceci remet en question l'étalon de référence des PNB. Un autre point important est que, malheureusement, des critères diagnostiques basés sur une autopsie sont fort utiles dans un contexte de recherche, mais ils ne sont d'aucune utilité en clinique. Cependant, pour le moment, l'autopsie demeure encore l'outil le plus fiable disponible et reste l'étalon de référence pour les PNB.

3.4.2.1.2 Biopsie pulmonaire

La biopsie pulmonaire, ouverte (donc par thoracotomie) ou fermée (à l'aiguille), est souvent considérée comme un substitut valable de l'autopsie comme étalon de référence (32). Rouby et al. ont clairement démontré que tel n'est pas le cas: le taux de faux-négatifs est de 25 %, même en ayant recours à une biopsie ouverte (14, 16). Ce manque de spécificité des biopsies pulmonaires est expliqué par le fait que les pneumonies nosocomiales sont segmentaires, bien que largement disséminées dans les poumons (16). De plus, la biopsie pulmonaire comporte un taux important de complications graves (exemple : pneumothorax, fistule bronchopleurale, etc.) et les biopsies transthoraciques sont contre-indiquées chez les patients ventilés mécaniquement (33), ce qui fait que la majorité des auteurs en déconseillent l'usage, tout particulièrement chez les patients gravement malades qui sont justement ceux qui sont le plus à risque de contracter une PNB.

3.4.2.2 Microbiologie

Les chercheurs se sont donc tournés vers la microbiologie pour tenter de trouver une méthode diagnostique ne comportant pas un risque aussi élevé de complications, tout en étant assez fiable. La présence de bactéries dans un prélèvement de sécrétions respiratoires constituerait une bonne preuve d'infection respiratoire.

Il existe un débat sur le choix de la technique à employer pour obtenir le prélèvement à mettre en culture. Plusieurs méthodes existent: biopsie pulmonaire à l'aiguille, biopsie pulmonaire au cours d'une bronchoscopie, aspiration transtrachéale ou transthoracique, aspiration trachéobronchique, culture de sécrétions endotrachéales, hémoculture, BTP (24, 32, 34), LBA (17, 35), etc. Toutes ces techniques comportent des avantages et des inconvénients. Les inconvénients majeurs sont surtout les suivants: soit que la technique est dangereuse (c'est le cas des biopsies), soit qu'elle est coûteuse ou désagréable pour le patient (c'est le cas des bronchoscopies), soit qu'elle est impraticable chez l'enfant (c'est le cas de la BTP par bronchoscopie), soit qu'elle manque de sensibilité ou de spécificité (hémoculture, cultures d'expectorations).

La pousse d'une ou plusieurs bactéries sur du tissu pulmonaire est très suggestive. Cependant, comme on l'a écrit plus haut, les faux négatifs sont nombreux et, surtout, il est souvent inapproprié dans un contexte de réanimation de faire une biopsie pulmonaire.

L'aspiration transtrachéale est une technique abandonnée, car elle s'est révélée beaucoup trop dangereuse, particulièrement chez les patients intubés (36-39).

3.4.2.2.1 Cultures de sécrétions endotrachéales

Un autre outil diagnostique est la culture de sécrétions respiratoires prélevées au niveau des voies aériennes supérieures (trachée). L'isolement de bactéries à partir de ces sécrétions ne signifie pas nécessairement qu'il y a une infection respiratoire. En effet, il peut y avoir des faux positifs pour deux raisons :

- 1) une colonisation des voies aériennes par la flore normale des voies aériennes supérieures ou par des germes saprophytes
- 2) une contamination des cultures lorsque le cathéter servant à prélever l'échantillon de sécrétions respiratoires passe au travers des voies aériennes supérieures (à moins que l'on ait utilisé un cathéter protégé à double lumière pour recueillir les sécrétions respiratoires).

Les cultures de sécrétions endotrachéales (prélèvement fait directement par le tube endotrachéal) sont sensibles mais manquent de spécificité. En effet, après une intubation endotrachéale, une colonisation trachéale se fait rapidement à partir de la flore oropharyngée. Cette flore polymicrobienne contient plusieurs organismes à haute concentration. Il est alors difficile de déterminer si l'étiologie véritable d'une culture positive est une pneumonie ou tout simplement une contamination trachéale. Ainsi, la plupart des auteurs s'accordent pour dire que la culture de sécrétions endotrachéales n'est pas un bon prédicateur de PNB (40-43). Marchand et al. ont comparé la culture de sécrétions endotrachéales avec la culture et l'histologie d'une biopsie pulmonaire chez 30 enfants (nouveau-nés à 9 ans) (44). Ils concluent que la présence de germes dans les voies aériennes supérieures n'est pas le témoin systématique d'une surinfection bronchopulmonaire mais que, par contre, lorsque ce diagnostic est prouvé, le prélèvement des sécrétions endotrachéales permet l'isolement du germe en cause. Cette hypothèse est confirmée par Kirtland et al. qui démontrent une sensibilité de 87% lorsqu'on la compare à l'histologie (31). Labenne et al. ont démontré chez des enfants intubés que cette méthode diagnostique avait une sensibilité de 93% et une spécificité de 59%. Ainsi, il s'agit d'une méthode sensible, pouvant servir de guide pour connaître le germe en cause lorsqu'une PNB est suspectée; toutefois cette méthode n'est pas assez spécifique pour être utilisée seule en soins intensifs.

3.4.2.2.2 Hémoculture

L'hémoculture est fiable, mais elle est positive seulement dans 2,5 % des cas de pneumonies prouvées (33). Ceci est dû au fait que la pneumonie n'est pas toujours acquise par voie

hématogène et que, même s'il y a pneumonie, il n'y a pas nécessairement propagation des germes au niveau sanguin. A l'opposé, il peut y avoir bactériémie sans pneumonie. L'hémoculture constitue donc un test complémentaire mais n'est pas un bon moyen diagnostique puisqu'il n'est ni spécifique, ni sensible.

3.4.2.2.3 Brossage télescopique protégé:

Le BTP permet de recueillir un échantillon distal des sécrétions bronchiques. L'hypothèse de base est que le BTP permettrait de différencier une colonisation ou une contamination d'une infection bronchopulmonaire en faisant des cultures quantitatives d'un échantillon prélevé de la façon la plus stérile possible et le plus près du site infecté possible.

Le recueil de sécrétions bronchiques distales à l'aide d'un BTP a été introduit par Wimberley et al. en 1979 (45). Un cathéter avec bouchon est introduit dans un bronchoscope, une canule interne est utilisée pour enlever le bouchon et laisser passer la brosse stérile qui servira à obtenir l'échantillon. La brosse est placée dans le segment bronchique atteint selon la radiographie pulmonaire et appliquée directement sur les sécrétions purulentes. La brosse est ensuite retirée et envoyée au laboratoire pour culture quantitative. De nombreux auteurs préconisent de faire une culture quantitative d'un échantillon de sécrétions bronchiques obtenu au cours d'une bronchoscopie par cette méthode (12, 24, 25, 32, 43, 45-83). Ces auteurs considèrent que la technique est fiable et peu dangereuse. Ils considèrent généralement que le résultat est positif s'il pousse plus de 10^3 CFU/ml (colony forming unit/ml) de bactéries, ce qui correspondrait à une concentration initiale dans les sécrétions de 10^3 à 10^6 bactéries/ml. La sensibilité de l'épreuve se situerait entre 70 % et 90 % et sa spécificité pourrait atteindre 100 % (48, 49). Certains auteurs ont rapporté une sensibilité moins bonne chez les patients recevant des antibiotiques avant la procédure (84, 85); c'est pourquoi cette technique est plus utile chez des patients ne recevant pas d'antibiotiques ou chez qui les antibiotiques ont été cessés depuis au moins 48 heures. Des résultats faussement négatifs peuvent être trouvés à cause de la région limitée de poumon qui a été échantillonnée (45, 48). Ceci peut amener des complications graves chez un patient souffrant de PNB qui ne reçoit pas d'antibiothérapie adéquate.

Les brosses utilisées pour ce type de prélèvement n'existent pas pour les enfants en Amérique du Nord. Il en existe en Europe, mais l'expérience acquise en pédiatrie est extrêmement limitée et le taux de complications graves (pneumothorax, hémorragie importante) est loin d'être négligeable (5 à 10 %) (51, 57, 70). Les autres désavantages de cette méthode sont qu'elle est coûteuse, elle doit être exécutée par un personnel spécialisé et

via bronchoscopie, donc pas toujours disponible. Il s'agit donc d'une technique invasive, sophistiquée, non facilement répétable au chevet du patient et peu appropriée en pédiatrie.

3.4.2.2.4 Lavage bronchoalvéolaire

Une autre méthode de prélèvement, le lavage bronchoalvéolaire (LBA), est utilisé depuis presque 20 ans. La procédure consiste à avancer à travers un bronchoscope un cathéter qui ira se coincer dans une bronche sous-segmentaire de la région pulmonaire atteinte. Lorsque le cathéter est bien placé, on injecte et on retire un volume de salin physiologique et on répète la procédure à 2 ou 3 reprises. Le salin est ensuite envoyé en laboratoire pour culture.

La fiabilité de la culture quantitative de sécrétions respiratoires recueillies par un LBA serait aussi bonne, sinon meilleure que celle de sécrétions recueillies par BTP. Une méta-analyse récente a démontré que le LBA et la BTP sont aussi fiables pour le diagnostic de PNB; par ailleurs le LBA serait meilleur lorsque le patient est déjà traité par antibiotiques au moment du test (86). Le LBA comporte d'autres avantages non négligeables. Un LBA permet de prélever des sécrétions respiratoires qui originent d'environ un million d'alvéoles (4, 87); c'est là un avantage important en comparaison, par exemple, au brossage protégé qui ne rend compte que de la flore qui se trouve très localement dans la bronche « brossée ». C'est peut-être la raison qui explique pourquoi le LBA est nettement supérieur au BTP pour mettre en évidence le *Pneumocystis carinii*, le Cytomégalovirus, les Mycobactéries et les infections fongiques (88, 89). De plus, on peut faire plusieurs sortes d'analyse sur un LBA: culture bactérienne quantitative, calcul de l'index bactérien, recherche de bactéries intracellulaires, détection de fibres d'élastine ou d'endotoxines, etc. Cette technique permet donc de faire une plus grande diversité de test secondairement à une seule procédure.

Un grand nombre d'auteurs considèrent que la culture quantitative de sécrétions respiratoires obtenues par un LBA constitue la meilleure approche diagnostique des PNB chez l'adulte (14, 16, 17, 26, 29, 35, 43, 48-50, 52, 54, 55, 57, 63-69, 72-74, 76, 78, 79, 83, 87, 90-121).

Le LBA n'a jamais été validé de façon formelle chez l'enfant, mais c'est une technique qui semble sécuritaire et pour laquelle il existe une assez vaste expérience en pédiatrie (6, 11, 33, 57, 70, 92, 95, 98, 100, 105, 106, 116, 122-124). Son intérêt est clair par exemple si l'on soupçonne une infection virale chez un enfant immunosupprimé (*Pneumocystis carinii*, Cytomégalovirus, *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*) (106). Cependant, peu d'études se sont intéressées à évaluer la valeur diagnostique des cultures quantitatives de LBA chez l'enfant et les résultats obtenus ne sont pas concluants (92, 125).

Il existe différentes méthodes pour faire un LBA: il peut être fait avec ou sans bronchoscopie, avec un cathéter protégé ou non.

La méthode avec bronchoscopie est avantageuse, car elle permet de viser un lobe en particulier et elle est bien validée pour le diagnostic des pneumonies. Elle est désavantageuse à trois points de vue:

- 1) il arrive que la bronchoscopie ne soit pas bien tolérée (Trouillet et al. décrivent une chute de la PaO₂ sous 60 mmHg, chez 14 patients sur 107; le danger étant plus grand encore si le patient fait un SDRA ou encore s'il n'a pas été assez sédationné pour l'empêcher de lutter contre le respirateur (126));
- 2) la méthode avec bronchoscopie est plus difficile à faire (en fait, cela est impossible si la sonde endotrachéale est de calibre $\leq 4,5$);
- 3) finalement, elle est plus coûteuse (une bronchoscopie peut coûter jusqu'à 2 500 \$ aux U.S.A.).

Le LBA non-bronchoscopique (fait à l'aveugle) présente les avantages suivants: il est très facile à réaliser au chevet, bien toléré, faisable quelle que soit la dimension de la sonde endotrachéale et peu coûteux (< 20\$). Il comporte deux désavantages:

- 1) il n'est pas encore bien validé pour diagnostiquer une PNB;
- 2) on ne peut pas viser un lobe particulier, bien que l'on sache que la sonde lors d'un LBA non-bronchoscopique se dirige spontanément vers le poumon droit dans 86% des cas (14).

Le cathéter utilisé pour faire le LBA peut être protégé ou non. Un cathéter protégé est constitué de deux cathéters (ou lumière) posés l'un par-dessus l'autre; ceci permet au cathéter interne de rester stérile lorsque le cathéter externe passe par les voies aériennes supérieures. De plus, le cathéter interne est protégé par le bouchon du cathéter externe. Le fait que le cathéter servant à faire le prélèvement soit « protégé » permet d'éliminer presque certainement toute contamination de l'échantillon. Cependant, le LBA protégé comporte lui aussi certains désavantages:

- 1) ces cathéters sont plus coûteux;
- 2) les cathéters de dimension pédiatrique sont peu disponibles pour le moment sur le marché;
- 3) les bouchons peuvent théoriquement gonfler une fois qu'ils sont détachés du cathéter, ce qui pourrait comporter un risque de boucher une bronche. Toutefois, ceci devrait être sans conséquences, car ces bouchons sont normalement résorbés en environ dix minutes (45, 70).

Plusieurs études ont été faites pour les quatre différents types de LBA : bronchoscopique non-protégé, bronchoscopique protégé, non-bronchoscopique non-protégé et non-bronchoscopique protégé.

3.4.2.2.4.1 *LBA bronchoscopique, non-protégé*

Le LBA est fait par bronchoscopie et est non-protégé dans la plupart des études disponibles dans la littérature. La sensibilité des cultures de LBA fait à l'occasion d'une bronchoscopie se situe entre 13 % (52) et 100 % (93) et sa spécificité varie de 42 % (43) à 100 % (35, 73, 78, 112, 127, 128) (tableau 3). D'une étude à l'autre, le seuil possédant la meilleure valeur globale diagnostique varie de 10^3 à 10^5 CFU/ml. Certains auteurs considèrent que cette méthode est plus utile pour exclure une pneumonie que pour la confirmer (31). En d'autres mots elle est plus fiable lorsque les cultures sont stériles.

Lors d'un LBA bronchoscopique non-protégé, la possibilité que l'échantillon contienne des sécrétions de l'arbre bronchique est un désavantage car ceci constitue une contamination (17, 37, 78). En effet, pour se rendre au site désiré, le bronchoscope doit traverser le tube endotrachéal et l'arbre bronchique supérieure. Ceci entraîne une contamination dans 89% des résultats de LBA chez des patients sans pneumonie (129), d'où la nécessité de faire des cultures quantitatives pour différencier les infections des contaminations.

3.4.2.2.4.2 *LBA bronchoscopique, protégé*

Pour éviter cette contamination et améliorer la spécificité du test, le LBA peut être fait de façon protégée lors de la bronchoscopie. Lors d'un LBA bronchoscopique protégé, le cathéter utilisé peut être muni d'un ballon au bout distal qui, une fois gonflé dans la bronche, empêche les sécrétions de l'arbre proximal et du bronchoscope contaminé de venir contaminer l'échantillon. Un bouchon au bout du cathéter est expulsé une fois le cathéter rendu à son objectif et empêche la contamination lors du passage dans les voies aériennes supérieures. Barreiro et al. ont utilisé ce cathéter et rapportent une sensibilité et une spécificité de 87% et 91% respectivement, pour les résultats de cultures quantitatives (85). Meduri et al. rapportent une sensibilité et une spécificité allant jusqu'à 100% (104). Cette méthode semblerait aussi plus fiable que la BTP chez des patients déjà traités avec des antibiotiques (129).

3.4.2.2.4.3 *LBA non-bronchoscopique, non-protégé*

Le LBA fait à l'aveugle a été introduit par Matthew et al. en 1977 (130). Son avantage par rapport au lavage par bronchoscopie est indéniable en pédiatrie, puisqu'il est faisable malgré un tube endotrachéal petit, est peu coûteux et a moins de risque de complications. Le désavantage lors d'un prélèvement fait à l'aveugle est qu'on ne sait jamais dans quelle partie du poumon le bout distal ira se loger. Deux questions sont importantes ici : où se loge le cathéter lors d'un LBA non-bronchoscopique? Quelle est l'utilité de prélever au site précis de l'infection? Deux études ont démontré que lors du LBA non-bronchoscopique, le cathéter se loge préférentiellement du côté droit (14, 131) dans 86% et 82% des cas respectivement, chez les patients intubés. Selon l'étude de Girault et al. (131), cette prédisposition pour la droite serait indépendante de la position de la tête et du raccordement au respirateur chez les patients intubés. Dans cette étude, cinq patients ont bénéficié de plus d'un prélèvement distal à l'aveugle et l'orientation du cathéter ne semblait pas reproductible d'un examen à l'autre. Certains facteurs (différent opérateur, agitation du patient, mobilisation du tube endotrachéal) pourraient être en cause.

Plusieurs auteurs pensent qu'un prélèvement ne peut être fiable que s'il est dirigé et effectué en pleine zone de condensation parenchymateuse (50, 132); d'autres considèrent que, lors d'une PNB, des bactéries peuvent être retrouvées dans tout le poumon et militent en faveur de techniques à l'aveugle (non dirigées) moins invasives (67, 133, 134). Une étude sur la BTP fait à l'aveugle suggère qu'il n'est pas nécessaire d'échantillonner le site exact de pneumonie correspondant à la zone vue sur la radiographie (135). Par contre, d'autres études moins récentes ont contredit cette hypothèse (47). Selon Rouby et al. (14), les PNB sont disséminées dans tout le poumon. De plus, le cathéter utilisé durant un LBA non-bronchoscopique se positionne le plus souvent dans les lobes inférieurs, par effet de gravité. Puisque les données histologiques démontrent une prédominance de lésions dans ces régions, l'échantillonnage à l'aveugle peut être représentatif de l'infection de tout le poumon (28). Récemment, Meduri et al. ont rapportés une étude où un échantillonnage bilatéral par LBA était fait chez des patients souffrant d'ARDS (136). Cette étude démontre qu'il y avait une poussée bactérienne significative d'un seul côté dans 60% (33/55) des cas. C'est dire que l'échantillonnage est probablement une part importante du diagnostic de PNB. Par contre, si la méthode non-bronchoscopique est reproductible sans échantillonner les deux côtés, il n'y a plus d'avantage à employer le LBA dirigé (bronchoscopique).

Les études faites chez l'adulte avec des LBA non-bronchoscopiques non-protégés démontrent une sensibilité variant de 53% à 100% et une spécificité variant de 75% à 100%, l'étalon de référence étant soit des critères cliniques, microbiologiques ou

histopathologiques (99, 107, 108). La sensibilité du LBA non-bronchoscopique non-protégé se chiffre entre 53 % et 76% (107, 108) et sa spécificité pourrait atteindre 100 % (107). Gaussorgues et al. ont comparé cette méthode à la biopsie pulmonaire ouverte (99). Ils rapportent une sensibilité de 100% (9/9) et une spécificité de 75% (3/4). De plus, les germes retrouvés par LBA étaient exactement les mêmes qu'à la biopsie dans 80% des cas (8/10). Le LBA était fait avec un cathéter à ballon et la biopsie était faite sur le même lobe ou le cathéter s'était logé (selon la radiographie).

3.4.2.2.4.4 *LBA non-bronchoscopique, protégé*

Pour éviter la contamination, le LBA fait à l'aveugle peut aussi être réalisé en utilisant un cathéter protégé à double lumière. Il s'agit donc de deux cathéters enfilés l'un dans l'autre, le cathéter intérieur étant protégé de toute contamination pendant le passage dans les voies aériennes par un bouchon biodégradable que l'on expulse une fois rendu au site de prélèvement. La première étude utilisant cette méthode chez l'humain a été décrite par Rouby et al. (14) qui l'a utilisé chez 59 patients intubés. La sensibilité du LBA protégé avec cathéter à double lumière se chiffre, chez l'adulte, entre 70 % et 80 % et sa spécificité varie de 65 % à 69 % (14, 16). C'est le seul outil diagnostique qui a été évalué de façon extensive en utilisant l'étalon de référence histologique et bactériologique (14, 28). Fait intéressant, Rouby et al. ont démontré à l'aide d'autopsies que la majorité des LBA faussement négatifs étaient en fait des PNB réelles, mais stérilisées par l'antibiothérapie que recevaient les patients (16). Dans ses deux études, le LBA non bronchoscopique protégé a permis d'identifier le germe causal dans respectivement 74% et 77% des patients démontrant une PNB à l'autopsie (14, 16). La concordance entre les bactéries isolées par LBA et les bactéries isolées par culture de spécimen pulmonaire était parfaite dans 57% des patients et partielle dans 16% des patients (14). Il semble donc que le LBA non-bronchoscopique protégé constitue une excellente méthode diagnostique des PNB. De plus, c'est un outil diagnostique qui comporte plusieurs avantages:

- 1) il recueille un échantillon représentatif de l'espace alvéolaire (contrairement à la BTP);
- 2) il ne requiert pas l'utilisation de bronchoscopie;
- 3) il permet d'éviter la contamination trachéobronchique;
- 4) il permet de faire des tests supplémentaires rapides et utiles pour guider la décision de traitement antibiotique tels coloration de Gram (visualisation directe des bactéries) et Giemsa (visualisation de cellules contenant des bactéries);
- 5) il permet d'évaluer si un spécimen est contaminé ou non avec la visualisation des cellules épithéliales et bronchiques;

6) il est moins invasif, moins coûteux et plus facile à faire que les autres méthodes. Par ailleurs, certains auteurs considèrent que la validation du LBA non-bronchoscopique protégé n'est pas encore satisfaisante (137).

Malgré toutes les différentes techniques possibles et utilisées, il faut convenir que l'on n'a pas encore démontré que le résultat de prélèvement bronchique distal est utile cliniquement (impact sur mortalité et morbidité), et plusieurs auteurs en concluent qu'il n'est pas toujours nécessaire de recourir à ces techniques pour diagnostiquer une PNB dans le contexte clinique (67). Dans une étude récente faite sur des cochons intubés, Wermert et al. ont comparé l'histologie et la culture de spécimens pulmonaires avec le BTP, le LBA et la culture de sécrétions endotrachéales (27). Selon eux, aucune technique n'est vraiment fiable pour diagnostiquer une PNB et l'utilité clinique de ces méthodes est pauvre. Pourtant, même si la controverse existe dans la littérature adulte, il est important de valider ces techniques en pédiatrie, ce qui n'a pas été fait.

3.4.2.2.5 Données pédiatriques

Les études faites chez l'adulte ne peuvent pas être transposées à la population pédiatrique. En effet, plusieurs facteurs tels changement du volume pulmonaire avec l'âge, quantité de liquide nécessaire pour faire un bon LBA, quantité de sécrétions recueillie lors de la procédure, peuvent varier énormément. De plus, la reproductibilité du LBA chez l'enfant est inconnue.

Les données sur le LBA chez l'enfant sont rares. Quelques études ont démontré l'intérêt du LBA pour trouver la cause d'une pneumonie non nosocomiale chez l'enfant immunosupprimé (92, 95, 98, 100, 105, 106, 116, 124, 138). Son utilité pour le diagnostic des pneumonies virales (CMV, RSV), fongiques (*Aspergillus*, *Candida*) et à *Pneumocystis carinii* chez ces patients est reconnue. La plupart des études ont été faites en utilisant un LBA bronchoscopique non-protégé (106, 124). Ce qui reste à déterminer, c'est la valeur du LBA pour les infections bactériennes et la valeur de cette technique lorsque faite de façon non-bronchoscopique et protégée.

Effectivement, la méthode la plus commode chez l'enfant serait de faire un LBA non-bronchoscopique protégé, mais les cathéters nécessaires destinés aux enfants n'existent pas en Amérique du Nord et ils sont disponibles en Europe depuis peu de temps. La fiabilité de cette méthode a été évaluée à quelques reprises (57, 124). Une étude récente de Labenne et al. a démontré une sensibilité et une spécificité de 72% et 88% respectivement avec cette méthode chez 93 enfants intubés, l'étalon de référence étant les données cliniques,

biologiques, radiologiques ou pathologiques. Le diagnostic était confirmé par autopsie chez 17 patients. La méthode semblait efficace pour recueillir des sécrétions distales avec un degré mineur de contamination et contribuait efficacement au diagnostic de PNB. Les auteurs ajoutent que la combinaison de LBA et BTP faits à l'aveugle améliore la sensibilité et la spécificité du diagnostic (90% et 88%) (125). Une autre étude par Durand et al. et faite chez 46 enfants de plus de 2 kg a démontré une sensibilité et une spécificité de 63% et 90% avec LBA non-bronchoscopique protégé (51). La valeur de ces études est compromise du fait que le diagnostic de pneumonie n'était validé par l'autopsie que dans une faible proportion des cas. Une étude évaluant ce test diagnostique par rapport à l'autopsie (étalon de référence) serait nécessaire pour mieux clarifier la question.

Ainsi, le LBA n'a pas encore fait ses preuves en pédiatrie, mais les données publiées à date sont très favorables à cette technique. L'utilisation du LBA non-bronchoscopique protégé semble être une technique prometteuse chez l'enfant, mais sa validité et sa reproductibilité sont encore à évaluer.

3.4.2.2.6 Seuils de positivité et calculs bactériens

3.4.2.2.6.1 *Seuils de positivité*

Lorsque l'on fait une culture bactérienne de sécrétions endobronchiques, on peut évaluer s'il y a pousse bactérienne. Même avec la protection d'un cathéter à double lumière, cela ne supprime pas parfaitement le risque de contamination (possibilité que le liquide injecté remonte dans les voies aériennes supérieures avant d'être réaspiré). Pour pallier à cette faille, l'utilisation des cultures quantitatives a été préconisée pour différencier entre germes colonisateurs des voies respiratoires supérieures et pathogènes infectant le poumon. En effet, lors d'une infection bactérienne, la quantité de bactéries au niveau de l'arbre respiratoire est habituellement plus grande que lors d'une colonisation ou une contamination. Une culture quantitative se fait en diluant l'échantillon à cultiver à plusieurs reprises et en cultivant une partie de chaque dilution; on peut alors dire le nombre exact de colonies bactériennes (CFU/ml) présentes. Il faut ensuite trouver le seuil de positivité le plus significatif et représentatif d'une vraie pneumonie. Un LBA dilue le liquide intra-alvéolaire par un facteur de 100 environ (47); il faut aussi en tenir compte quand vient le temps de choisir le meilleur seuil de positivité pour les cultures quantitatives. En fait, plusieurs seuils de positivité sont proposés dans la littérature; ils varient de 10^3 CFU/ml à 10^5 CFU/ml. Le seuil le plus souvent recommandé pour le LBA bronchoscopique non-protégé est assez haut (10^4 CFU/ml), à cause de la possibilité de contamination bronchique

(17, 35, 118). Ce seuil correspondrait à 10^5 - 10^6 bactéries/ml dans les sécrétions alvéolaires.. Ce seuil de positivité de 10^4 CFU/ml est controversé: un seuil de 10^3 CFU/ml est plus sensible mais moins spécifique; un seuil de 10^5 CFU/ml est plus spécifique mais moins sensible. De plus, ce seuil peut être influencé par la présence ou non d'un traitement antibiotique préalable. Rouby et al. ont évalué le LBA non-bronchoscopique protégé et l'ont comparé à l'autopsie (données histologiques et bactériologiques) (16). Ils concluent que le seuil de 10^3 CFU/ml utilisé comme marqueur de PNB chez les patients ventilés sous antibiothérapie ne serait pas approprié. Une concentration bactérienne de $< 10^3$ CFU/ml pourrait indiquer soit une absence de PNB ou une bronchopneumonie avec diminution de concentration bactérienne secondairement à l'antibiothérapie. Finalement, le seuil adéquat pour un LBA non-protégé n'est peut-être pas adéquat pour un LBA protégé (dans lequel la contamination est probablement de moins grande importance). Un seuil plus sensible (10^2 CFU/ml) serait peut-être plus approprié dans ce cas.

Ainsi, la décision d'utiliser un seuil de positivité plus qu'un autre reste arbitraire et peut dépendre de plusieurs facteurs. Certains auteurs pensent même que toute pousse bactérienne recueillie par LBA doit être considérée comme potentiellement responsable d'une PNB (72).

3.4.2.2.6.2 *Index bactérien*

Le seuil de 10^4 CFU/ml habituellement utilisé pour les cultures quantitatives faites à partir d'un LBA tient compte seulement de l'espèce prédominante parmi les bactéries isolées; or les pneumonies nosocomiales sont souvent causées par plusieurs germes à la fois (32) et il arrive fréquemment que l'on détecte deux ou trois germes dont le comptage se chiffre tout juste sous la barre de 10^4 CFU/ml. Il peut donc arriver qu'une culture de sécrétions respiratoires qui montre des comptages respectifs de $>10^1$ CFU/ml, $>10^2$ CFU/ml et $>10^2$ CFU/ml pour trois germes soit considérée comme négative, ce qui semble aberrant. C'est pourquoi Johanson et al. (29) ont proposé de calculer un "index bactérien" qui s'obtient en additionnant les concentrations logarithmiques des différentes espèces cultivées ($10^2 = 2$ sur l'échelle logarithmique). Dans l'exemple cité plus haut où l'on avait isolé trois bactéries, l'index bactérien se chiffrerait donc à 5 ($1 + 2 + 2$). L'index bactérien a été évalué par de nombreux auteurs pour différents seuils (tableau 3). Les meilleurs résultats sont obtenus pour un seuil de 5: la sensibilité et la spécificité d'un index bactérien ≥ 5 varient respectivement de 79 à 100 % et de 94 à 100 % (108, 127). Le problème avec cet index, c'est qu'il accorde autant d'importance à des résultats qui, en réalité, sont fort différents. Par exemple, l'index bactérien sera identique si l'on cultive deux germes à 10^4 CFU/ml et

10^2 CFU/ml ou trois germes à 10^1 , 10^3 et 10^2 CFU/ml; pourtant, le nombre total de bactéries est de 1110 dans ce dernier cas, alors qu'il est de 10100 dans le premier. En fait, comme le soulignent Marquette et al. (139), l'index bactérien est un non-sens mathématique qui revient à dire que $10^4 + 10^2 = 10^6$. Cet index est tout de même utilisé par plusieurs auteurs dans la littérature adulte (108, 118, 127) et il est important de l'évaluer également dans la population pédiatrique.

3.4.2.2.6.3 *Index d'espèce prédominante*

D'autres auteurs utilisent "l'index de l'espèce prédominante" (127, 140) qui se définit par la concentration logarithmique de l'espèce avec la concentration de germes la plus élevée. Dans l'exemple cité plus haut, cet index serait de 2, puisque c'est la concentration de la bactérie en plus grand nombre. C'est index n'est pas parfait non plus, puisqu'il ne considère que la présence d'un seul germe. Il n'a jamais été évalué dans la population pédiatrique.

3.4.2.2.6.4 *Nombre précis de bactéries*

Le "nombre précis de bactéries", qui est défini par la somme totale de bactéries, exprimées en CFU/ml, est aussi utilisé (141). Dans l'exemple cité plus haut, ce nombre serait de 210 ($10 + 100 + 100$). Cet index est peu utilisé dans la littérature car il est plus difficile à uniformiser. Il n'a jamais été utilisé dans la population pédiatrique.

3.4.2.3 Cytologie

3.4.2.3.1 Polymorphonucléaires contenant des bactéries

Un diagnostic basé sur la pousse de bactéries ne peut être posé avant que ne soit obtenu le résultat des cultures, ce qui prend deux ou trois jours. C'est pourquoi plusieurs auteurs ont tenté de savoir si l'on ne pouvait pas prouver immédiatement ce diagnostic en calculant le pourcentage de polymorphonucléaires (PMN) contenant des bactéries dans l'échantillon de sécrétions respiratoires obtenues par un LBA (48, 49, 54, 73, 96, 97, 108, 111, 121, 127, 142). La figure 3 illustre la présence de PMN contenant des bactéries (aussi appelé bactéries intracellulaires) sur un frottis avec coloration spéciale (May-Grünwald-Giemsa). Le seuil de positivité pour ce test varie de 1 à 25 % d'un auteur à l'autre (tableau 3). Certaines études ont rapporté que la seule présence de bactéries intracellulaires était

suffisante pour diagnostiquer une PNB. Pour certains, cette méthode est très spécifique mais son manque de sensibilité fait en sorte qu'elle n'est pas un bon outil pour diagnostiquer un PNB (119). Pour d'autres, il s'agit d'une méthode efficace et rapide pour diagnostiquer une PNB lorsqu'on la compare à l'histologie (121). La sensibilité de la présence PMN contenant des bactéries se chiffre entre 63% et 100% et sa spécificité, entre 46% et 100%, l'étalon de référence variant selon les études. L'étude récente de Labenne et al. faite chez des enfants intubés (125) a démontré une sensibilité et une spécificité de 55% et 89% respectivement avec un seuil de 1% (LBA non-bronchoscopique protégé). En combinant la culture du LBA et la visualisation de bactéries intracellulaires du LBA, ils obtenaient une sensibilité de 79% et une spécificité de 88%. Veber et al., dans leur étude récente, ont comparé l'examen direct d'échantillons de LBA bronchoscopique, de BTP et de cathéter télescopique protégé. Ils rapportent que le LBA avec 3% de PMN contenant des bactéries est actuellement le seul test dont la valeur prédictive pour les PNB est suffisamment élevée pour guider le choix initial d'antibiothérapie en attendant les résultats des cultures quantitatives (sensibilité : 74%; spécificité : 96%; VPP : 96%; VPN : 74%) (143). Papazian et al. ont comparé la présence de bactéries intracellulaires avec l'histologie (autopsie) chez 20 patients en utilisant deux méthodes(144). Les résultats du LBA non-bronchoscopique protégé semblaient meilleurs que ceux du LBA bronchoscopique non-protégé (sensibilité: 75% vs 71%; spécificité: 62% vs 46%). Les seuils utilisés étaient de 5% et 4% respectivement. Dans plusieurs cas, la visualisation directe était techniquement impossible (trop de neutrophiles ou neutrophiles lysés) et l'auteur considère donc que ce test diagnostique est utile comme guide initial. Par ailleurs, cette méthode est intéressante car, en plus d'être rapide, elle semblerait fiable même si le patient a déjà été traité par des antibiotiques. Une étude démontre que la sensibilité et la spécificité de ce test restent bonnes chez un groupe traité avec des antibiotiques (82% et 77% respectivement) comparativement à un groupe sans traitement antibiotique (85% et 83% respectivement) (142). Certains auteurs confirment cette hypothèse (145), alors que d'autres la contredisent (97, 136).

Bien qu'il existe encore beaucoup de controverse sur cet outil diagnostique, il peut servir de test complémentaire très utile.

3.4.2.3.2 Coloration de Gram

La visualisation directe des bactéries grâce à la coloration de Gram est aussi une technique très utilisée pour diagnostiquer rapidement une PNB. Les études chez l'adulte montrent une sensibilité allant de 44% à 100% et une spécificité allant de 74% à 100%, l'étalon de

référence variant selon les études. Plusieurs auteurs pensent que c'est un test peu fiable pour prendre une décision sur le traitement antibiotique. Croce et al. ont rapporté une sensibilité de 57% et une spécificité de 60% chez des adultes post-traumatisme, en utilisant le LBA bronchoscopique non protégé (15). D'autres pensent que ce test peut être utilisé comme indicateur précoce de PNB (35). Papazian et al. ont démontré une bonne corrélation entre les résultats histologiques de 24 patients (autopsie) et la visualisation de bactéries par coloration de Gram (144). Selon son étude, la sensibilité et la spécificité de ce test effectué par LBA bronchoscopique non protégé seraient de 56% et 100% respectivement. Meduri et al. rapportent une sensibilité et une spécificité de 57% et 87% avec la même méthode sur 341 spécimens recueillis (136). Lorsque le LBA est protégé et fait à l'aveugle, la sensibilité est de 44% et la spécificité de 87%.

On peut conclure que ce n'est pas un test qui peut être interprété seul, mais il peut donner un indice rapide de la présence de PNB.

3.4.2.3.3 Cellularité

L'intérêt principal de l'examen des cellules contenues dans un échantillon respiratoire est de permettre de préciser d'où vient l'échantillon (des cellules ciliées ou squameuses proviennent habituellement de l'arbre respiratoire supérieur) et s'il y a présence d'inflammation (présence de PMN).

La présence de >1% de cellules squameuses dans l'échantillon recueilli de LBA bronchoscopique non-protégé prédirait de façon efficace la présence de contamination par la flore oropharyngée (17).

Par ailleurs, la plupart des auteurs s'accordent pour dire que le décompte cellulaire avec différentielle obtenu par LBA a peu de valeur pour identifier les patients avec PNB (17, 35, 49, 144). Le pourcentage de neutrophiles semble être plus élevé en cas de pneumonie mais ne permet pas de différencier entre une pneumonie active et une pneumonie en résolution (35). De plus, il peut être élevé dans d'autres pathologies (ARDS, fibrose pulmonaire, pneumonie à *Pneumocystis carinii*) et faussement bas chez les patients immunosupprimés (17). Cependant, Kirtland et al. rapportent qu'un pourcentage de neutrophiles de moins de 50% permet de prédire l'absence de PNB lorsqu'on le compare à l'histologie (VPN: 100%)(31).

Ainsi, la cellularité peut donner des indices sur le diagnostic mais ne permet certainement pas de prendre de décision thérapeutique. Elle permet par ailleurs d'identifier si un échantillon prélevé est adéquat, ce qui est très important.

3.5 REPRODUCTIBILITÉ

Plusieurs études ont été faites sur les divers techniques de prélèvement distal de sécrétions respiratoires mais peu d'études ont évalué leur reproductibilité. Si un test n'est pas reproductible, on ne peut pas le considérer fiable. C'est donc une étape importante de la validation d'un nouvel outil diagnostique (validité interne).

La reproductibilité des cultures bactériennes chez des patients ventilés avec suspicion de PNB a été évaluée à quelques reprises. Gerbeaux et al. ont évalué la reproductibilité du LBA bronchoscopique non-protégé chez 44 adultes ventilés (140). Les 2 LBA étaient faits dans la même région pulmonaire, à 30 minutes d'intervalle. Vingt-huit patients ont eu 2 LBA négatifs et 14 patients ont eu 2 LBA positifs. Deux patients présentaient des LBA discordants. Ils ne rapportent que l'espèce bactérienne prédominante pour chaque LBA. Dans 88% des cas les patients étaient traités avec antibiotiques mais les antibiotiques n'avaient pas été changés depuis au moins 3 jours. Ils ont retrouvé une bonne reproductibilité qualitative (présence ou absence de bactéries) avec un pourcentage de concordance de 95,6% (kappa: 0,72). Par contre, la reproductibilité quantitative (même \log_{10} CFU/ml pour les 2 LBA) était beaucoup plus pauvre, avec un pourcentage de concordance de 26,7%. Ils concluent que le LBA bronchoscopique non-protégé a une excellente reproductibilité lorsque stérile mais que celle-ci n'est pas très bonne lorsque les LBA sont positifs.

La reproductibilité des cultures quantitatives provenant d'aspirations de sécrétions endotrachéales a été évaluée chez 21 adultes ventilés (141). Sept aspirations étaient faites par patient, sur une période de 2 jours. Le seuil utilisé était de 10^4 CFU/ml. Si plusieurs espèces bactériennes étaient retrouvées dans la même aspiration, la quantité de chaque espèce était déterminée et la moyenne quantitative de toutes les cultures était calculée. La thérapie antibiotique n'a pas été changée pendant la durée de l'étude. La variation médiane des résultats de culture quantitative, telle que calculée pour chaque patient, était de 12,3% (étendue: 0-63%), ce qui correspond à une variation d'environ 0,7 log CFU/ml. Dans 82% des cas il y avait présence de bactéries dans les cultures subséquentes. Les auteurs concluent que cette méthode est reproductible et utile dans le diagnostic de PNB chez les patients ventilés.

La première étude sur la reproductibilité des cultures de sécrétions bronchiques recueillies par BTP a été faite par Timsit et al. (75). Ils ont comparé les résultats de 2 échantillons prélevés dans le même segment pulmonaire, via bronchoscopie, dans 42 cas. L'index bactérien était calculé (somme des concentrations \log_{10} CFU/ml de chaque espèce bactérienne) et le seuil utilisé était de 10^3 CFU/ml. Dans 60% des cas, le patient recevait

des antibiotiques. La reproductibilité qualitative était de 100% (les bactéries retrouvées étaient les mêmes dans les 2 échantillons). Par contre, il y avait discordance quant à la quantité de bactéries retrouvées dans 16,7% des cas. Il n'y avait pas de différence due à la présence d'antibiotiques ou à l'ordre des prélèvements. Ils concluent que les résultats démontrent donc une pauvre reproductibilité de la technique et qu'ils doivent être interprétés avec prudence.

Marquette et al. ont ensuite fait une autre étude sur la reproductibilité de la BTP (146). Cette étude a été faite chez 22 adultes ventilés avec suspicion de PNB. Cinq échantillons étaient prélevés dans le même segment pulmonaire, par bronchoscopie. Le seuil utilisé était de 10^3 CFU/ml. La reproductibilité qualitative était parfaite (100%) puisque les bactéries retrouvées dans les 5 échantillons étaient toujours les mêmes. La reproductibilité quantitative était plus basse puisque, dans 59% des cas, les résultats quantitatifs variaient de plus d'un \log_{10} CFU/ml. Le coefficient de variation moyen des résultats positifs était de $16,2 \pm 3\%$. L'ordre du prélèvement n'était pas significatif. Ils concluent que même si la reproductibilité de ce test est acceptable, il faut être prudent en interprétant les résultats lorsque le seuil de 10^3 CFU/ml est utilisé.

Une étude plus récente sur la reproductibilité de cultures recueillies avec BTP chez 75 adultes ventilés a été effectuée par Fox et al. (147). Deux échantillons étaient prélevés durant la même bronchoscopie et dans le même segment pulmonaire. Le seuil utilisé était de 10^3 CFU/ml. Le pourcentage de concordance entre les deux échantillons recueillis était de 93% (kappa : 0,85), ce qui est excellent. Il y avait une relation significative entre l'utilisation d'antibiotiques et un résultat de culture négatif. En excluant les patients qui recevaient des antibiotiques, le pourcentage de concordance était de 94% (kappa : 0,87). Ainsi, la reproductibilité de la BTP varie de plus d'un \log_{10} CFU/ml dans une proportion significative de cas, mais cela ne change l'interprétation (positif ou négatif pour un seuil de 10^3 CFU/ml) que dans une très faible proportion des cas et les mêmes germes sont isolés chez presque tous les patients.

En conclusion, pour toutes les méthodes utilisées, la reproductibilité qualitative est excellente mais la reproductibilité quantitative est moins bonne. Dans chaque étude, des biais possibles ont été évalués (présence d'antibiotiques, ordre du prélèvement) et ne semblent pas influencer les résultats. Il faut dire que les prélèvements étaient faits chez les mêmes patients, souvent dans le même segment pulmonaire, avec le même opérateur et les échantillons étaient analysés au même laboratoire. Le seuil de positivité utilisé influence certainement la reproductibilité. La variable mesurée différait aussi beaucoup selon les études (index bactérien, espèce prédominante seulement, moyenne de toutes les espèces retrouvées). Finalement, la technique diagnostique utilisée était différente aussi. On peut

donc conclure que les études sur la reproductibilité des cultures de sécrétions bronchiques sont différentes mais qu'en général, la reproductibilité qualitative est meilleure que la reproductibilité quantitative. Par ailleurs, aucune étude n'a été faite, à date, sur la reproductibilité du LBA non-bronchoscopique protégé et aucune étude n'a été faite dans la population pédiatrique.

3.6 EFFETS D'UN TRAITEMENT ANTIBIOTIQUE PRÉALABLE

Dans plusieurs cas, le patient chez qui on veut recueillir des cultures de sécrétions respiratoires est déjà sous antibiothérapie à cause d'une suspicion clinique de PNB ou d'une autre infection en cours. Plusieurs études ont démontré qu'une antibiothérapie préalable diminue la fiabilité des prélèvements distaux tels BTP et LBA (16, 32, 69, 78). Même la visualisation directe de bactéries intracellulaires serait moins fiable (85, 97, 136). D'autres études ont contredit cette hypothèse (142) et considèrent que la sensibilité et la spécificité de ce test ne changent pas de façon significative avec un traitement antibiotique au préalable. Timsit et al. ont évalué l'effet de l'antibiothérapie au préalable donnée pour une infection autre qu'une PNB sur la fiabilité des prélèvements distaux, chez des patients avec suspicion de PNB (145). L'étude rapporte que cette antibiothérapie n'influence pas la fiabilité des cultures par BTP ou LBA, ni la visualisation directe de bactéries intracellulaires par LBA. La sensibilité et la spécificité des cultures par LBA étaient respectivement 79% et 88% dans le groupe avec antibiotiques et 82% et 81% dans le groupe sans antibiotiques, l'étalon de référence étant les données cliniques, microbiologiques ou histopathologiques. Pour la présence de bactéries intracellulaires, la sensibilité et la spécificité étaient de 56% et 100% dans le groupe avec antibiotiques et 63% et 97% dans le groupe sans antibiotiques. Il démontre par ailleurs que les germes obtenus dans le groupe avec antibiothérapie préalable sont souvent résistants aux antibiotiques. Rouby et al. ont comparé les données de LBA non-bronchoscopique protégé avec l'autopsie chez 69 patients (16). Quarante-vingt pour cent des patients était sous antibiothérapie lors du LBA. Ils suggèrent que cette technique est efficace pour évaluer la présence de PNB mais qu'un résultat négatif peut être dû au fait que l'antibiothérapie a diminué la concentration bactérienne au moment du LBA. Une méta-analyse récente comparant la valeur diagnostique de divers tests (cultures quantitatives par LBA, cultures quantitative par BTP et présence de bactéries intracellulaires par LBA) a démontré que la valeur prédictive des cultures par BTP est diminuée par la présence d'antibiothérapie préalable ($p = 0,0002$) alors qu'elle ne l'est pas pour les cultures quantitatives recueillies par LBA et la présence de bactéries intracellulaires au LBA (86).

Ainsi, il semblerait que, lorsqu'un traitement antibiotique est déjà en cours, le LBA serait une méthode diagnostique plus fiable. Par ailleurs, la reproductibilité du LBA n'a jamais été évaluée dans les mêmes circonstances.

3.7 COMPLICATIONS DU LBA

Selon le rapport de la Société européenne de pneumologie sur les LBA (148, 149), la procédure de LBA est sécuritaire. Des effets secondaires mineurs (toux, fièvre, frissons) peuvent survenir quelques heures après la procédure et sont faciles à contrôler avec des antipyrétiques. D'autres effets tels infiltration alvéolaire transitoire, détérioration de la fonction pulmonaire (capacité vitale, FEV₁, PaO₂) sont aussi possibles. La plupart des effets secondaires rencontrés sont dus à la bronchoscopie, la localisation et l'étendue de la région lavée ainsi que la quantité et la température du liquide injecté. Selon la littérature, les effets secondaires rapportés sont les suivants:

- 1) Un LBA cause une fièvre passagère dans 33 % des cas (103). La poussée fébrile se produit généralement trois heures après le LBA; elle dépasse 1°C dans 73% des cas si le patient souffre réellement d'une PNB, mais cela se produit dans moins de 17% des cas si le patient en est indemne (109). Le risque de fièvre augmente avec le volume de liquide injecté (148).
- 2) Une chute occasionnelle de la pression artérielle moyenne (PAM) de l'ordre de 8 mmHg est décrite par Pugin et Suter (109). Poussée fébrile et chute tensionnelle sont expliquées par la libération de toxines et de facteurs pyrogènes qu'un LBA provoque; la réaction inflammatoire qui semble en résulter est toutefois modérée et passagère.
- 3) Une opacité radiologique apparaît dans 18% des cas après un LBA (103). Le risque augmente avec la quantité de liquide injecté et le nombre de segments lavés (148).
- 4) Chez les patients déjà ventilés mécaniquement, les LBA faits par bronchoscopie sont associés dans 28 % des cas à une chute de plus de 15% du rapport PaO₂/FiO₂, baisse qui dure jusqu'à 24 heures dans 17% des cas (112); Guerra et Baughman décrivent dans les mêmes circonstances une chute moyenne de la PaO₂ de 1,1 kPa (8 mmHg) (101). Klein et al. rapportent une détérioration de la fonction respiratoire (diminution de la compliance pulmonaire et de la PaO₂, augmentation de la résistance pulmonaire et de la PCO₂) chez plusieurs patients après un LBA bronchoscopique (150). Ces changements étaient habituellement transitoires.
- 5) Un LBA peut aussi occasionnellement causer une tachypnée (92) ou une discrète hémoptysie (14). Un bronchospasme peut survenir chez les patients avec hyperréactivité

bronchique. Ces patients devraient recevoir un prémédication avec des bêta-agonistes en aérosol (148)..

6) Les dysrythmies cardiaques sont exceptionnelles.

7) Un pneumothorax a été rapporté chez 3 nouveau-nés, suite à la procédure (125). Un seul a nécessité un drain thoracique. Croce rapporte 5 pneumothorax (1%) chez des adultes en utilisant le LBA bronchoscopique (15).

8) Toute aspiration des voies aériennes peut déclencher une crise d'hypertension pulmonaire chez un patient à risque (SDRA, cardiopathie congénitale avec un rapport Qp/Qs élevé, hypertension pulmonaire primitive, etc.). Toutes ces complications sont plus rares et moins graves si le LBA est fait sans bronchoscopie (14).

9) Deux décès ont été rapportés suite à un LBA bronchoscopique dans la littérature: un patient a développé un sepsis (151) et l'autre un pneumothorax (152).

Meduri et al. ont rapporté les complications survenues lors de 172 bronchoscopies avec 344 LBA chez des adultes(136). Ils ont observé 14 complications bénignes et transitoires (8%) et deux complications importantes: un pneumothorax et un arrêt cardiorespiratoire nécessitant une réanimation de 5 minutes. Le deuxième patient est décédé 12 heures après la bronchoscopie secondairement à un sepsis et un SDMV progressif.

Peu d'études ont été faites chez les enfants. Schindler et al. ont fait des LBA non-bronchoscopique, non-protégé chez 28 enfants intubés. L'âge moyen était de $4,1 \pm 4$ ans (nouveau-né à 16 ans) et le poids moyen de 18 ± 15 kg. Aucune complication significative n'est survenue. Une désaturation transitoire est rapportée dans 13% des procédures. Par ailleurs, l'index d'oxygénation, l'index de ventilation, la PaO_2 et la $PaCO_2$, n'étaient pas significativement altérés par la procédure (153). Barbato et al. ont fait un sondage sur l'utilisation du LBA bronchoscopique chez les enfants en Europe. En 12 mois, 2231 LBA bronchoscopique ont été rapportés. Les effets secondaires tels bronchospasme, laryngospasme, saignement et réaction à la médication étaient occasionnels (< 5% des cas) dans la majorité des centres. La fièvre et la toux post-procédure étaient présentes dans 10% des cas (154). Il faut noter que ces effets pourraient être reliés en grande partie à la bronchoscopie elle-même.

En conclusion, les complications sont rares mais peuvent être importantes. Elles semblent être plus fréquentes lorsque le LBA est bronchoscopique. Il est donc important d'évaluer si le LBA non-bronchoscopique est plus sécuritaire pour diagnostiquer les PNB chez l'enfant intubé.

3.8 IMPACT DU LBA

La présence d'une PNB chez un patient intubé a des conséquences importantes (durée de ventilation, SDM_V, mortalité). C'est pourquoi il faut savoir reconnaître et traiter cette condition de façon précoce. De plus, il faut la traiter avec les bons antibiotiques car plusieurs bactéries sont devenues résistantes aux antibiotiques conventionnels. Plusieurs études démontrent que l'ajout des résultats de LBA entraîne un changement dans le traitement antibiotique des patients. Dans l'étude de Meduri et al. (136), il y a eu modification du traitement dans 91% des cas.

Certains auteurs ont démontré que les bactéries possédant de la résistance aux antibiotiques sont souvent associées à un taux de mortalité plus élevé chez les patients intubés avec PNB, comparativement aux bactéries qui sont sensibles aux antibiotiques conventionnels (155, 156). D'autres études ont montré que des patients recevant une antibiothérapie inadéquate selon les résultats de prélèvements de sécrétions respiratoires (LBA, BTP, sécrétions endotrachéales) ont un taux de mortalité plus élevé que ceux recevant une antibiothérapie adéquate (157, 158). Kollef et al. ont évalué l'impact clinique des résultats de LBA non-bronchoscopique chez 60 patients intubés (159). Ils rapportent qu'un changement au niveau du traitement (antibiotiques débutés, changés ou cessés) a eu lieu dans 39% des cas suite au LBA. Le taux de mortalité était significativement plus élevé chez les patients qui ont eu un traitement antibiotique débuté ou changé comparativement à ceux dont le traitement est resté le même (61% vs 33%). Par contre, les données bactériologiques obtenues par le LBA ne semblent pas avoir amélioré le pronostic des patients. Ceci serait dû au délai de 24-48 heures nécessaire pour recevoir les résultats des cultures. Ils suggèrent donc de débiter un traitement antibiotique empirique large chez tous les patients avec suspicion de PNB en attendant une confirmation par LBA. Luna et al. ont eux aussi démontré chez des patients avec PNB que le résultat de LBA bronchoscopique ne changeait pas le taux de mortalité, même si le traitement antibiotique inadéquat était corrigé (157). Le taux de mortalité est réduit chez ceux qui ont reçu un traitement antibiotique adéquat précoce seulement. Si le traitement adéquat est donné au moment du LBA ou lorsque les résultats du LBA sont disponibles, le taux de mortalité est semblable à celui des patients qui ont continué à recevoir un traitement inadéquat. Autrement dit, l'information apportée par le LBA arrive trop tard pour influencer la survie. Ceci est très important car c'est l'impact clinique du test qui est primordial. Une étude récente de Solé Violan et al. a rapporté l'impact des techniques diagnostiques invasives sur le traitement et le pronostic des patients ventilés avec suspicion de PNB (160). Cette étude randomisée faite chez des adultes comparait le traitement antibiotique basé sur des résultats de cultures quantitatives obtenues

par technique invasive (LBA bronchoscopique, BTP ou LBA non-bronchoscopique protégé) versus le traitement basé sur le jugement clinique et des cultures de sécrétions endotrachéales. Il y a eu un changement dans le traitement antibiotique chez 33% des patients dans le groupe avec technique invasive comparativement à 12% dans le groupe avec jugement clinique. Par ailleurs, il n'y avait aucune différence au niveau de la mortalité ou la morbidité dans les deux groupes. Par contre il faut mentionner que, dans plusieurs cas, même si la technique invasive démontrait l'absence de bactéries, l'antibiothérapie n'était pas cessée. Ainsi, les techniques invasives pourraient avoir un impact plus grand sur l'arrêt d'antibiotiques inadéquats et la prévention d'apparition de souches bactériennes résistantes que sur le pronostic des patients puisque, dans la plupart des cas, les patients sont traités avec une antibiothérapie empirique très large dès le départ. Une étude de Bonten et al. a démontré que l'ajout de LBA bronchoscopique aux critères cliniques de PNB aidait à réduire l'utilisation inadéquate d'antibiotiques en soins intensifs (161). Par ailleurs, ils ont évalué les coûts du LBA bronchoscopique par rapport aux coûts potentiels engendrés par l'antibiothérapie. Le rapport coût-bénéfice, bien que difficile à évaluer puisque cette étude n'était pas randomisée, ne semblait pas très avantageux pour le LBA et ce, surtout à cause des coûts de bronchoscopie. Par contre, ils suggèrent que si une méthode moins coûteuse était disponible (telle le LBA non-bronchoscopique) le rapport coût-bénéfice du LBA serait sûrement plus avantageux.

L'étude récente de Labenne et al. faite chez les enfants et utilisant un LBA non-bronchoscopique protégé (125) a démontré que ce test permettait de cesser une antibiothérapie empirique chez 38/64 patients. Vingt-huit de ces patients (74%) avaient une culture de sécrétions endotrachéales positive et auraient été traités pendant au moins 7 jours avec des antibiotiques en l'absence de tests plus poussés. On peut donc conclure que le LBA a un impact sur la décision de traitement et le type de traitement antibiotique chez les patients avec suspicion de PNB. Il n'est pas clair si cette décision diminue la mortalité; la morbidité n'a pas été bien évaluée. Par contre, il semble que le résultat de LBA permet de cesser des traitements non nécessaires chez plusieurs patients, ce qui diminue les coûts et les risques de résistance aux antibiotiques.

4. MÉTHODE

4.1 RÉSUMÉ

Il s'agit d'insérer un cathéter protégé à double lumière dans une bronche distale, via le tube endotrachéal, afin d'aller prélever des sécrétions respiratoires en lavant une région alvéolaire (figure 4). La technique est faite sans bronchoscopie, à l'aveugle. Deux prélèvements sont faits à deux heures d'intervalle, chez le même patient, pour évaluer la reproductibilité des résultats.

4.2 POPULATION

4.2.1 Critères d'inclusion et d'exclusion

Tous les patients admis aux soins intensifs pédiatriques de l'Hôpital Sainte-Justine (centre hospitalier universitaire tertiaire) ont été surveillés quotidiennement afin de vérifier s'ils répondaient aux critères d'éligibilité et aux critères d'inclusion de l'étude. Le recrutement était donc systématique et séquentiel, à partir du début de l'étude. Aucun LBA n'était effectué durant la fin de semaine à cause de la non-disponibilité des techniciens de laboratoire et de l'opérateur principal.

Nous avons déjà publié une recherche portant sur les facteurs et les marqueurs de risque des PNB et des TNB chez les enfants traités en réanimation; cette étude a montré que la présence d'une insuffisance respiratoire, d'un traumatisme crânien grave, d'une immunodéficience (congénitale ou acquise) et l'administration d'un agent curarisant à un enfant intubé augmentent de façon considérable le risque de contracter une PNB ou une TNB (123). Par ailleurs, par définition, une PNB et une TNB nosocomiales ne peuvent se produire moins de deux jours après l'admission aux soins intensifs. Les patients qui satisfaisaient les critères d'éligibilité suivants étaient donc surveillés avec encore plus d'attention afin de noter rapidement l'apparition de symptômes ou de signes suggérant une infection nosocomiale: patients intubés ayant séjourné aux soins intensifs depuis au moins deux jours et présentant au moins un des facteurs de risque cités plus haut.

Les patients éligibles présentant au moins deux des critères d'inclusion suivants étaient invités à participer à l'étude:

- 1) présence d'une température rectale $> 38,0$ °C ou $< 36,3$ °C et d'au moins deux des signes suivants (tachypnée ou bradypnée, apnées, dyspnée, ronchi à l'auscultation, wheezing à l'auscultation, toux, matité à la percussion, bradycardie);

- 2) aspect purulent ou augmentation de la quantité des sécrétions respiratoires;
- 3) hémoculture positive;
- 4) culture des sécrétions endotrachéales positive;
- 5) apparition d'une opacité radiologique ou d'un épanchement pleural.

Ces critères d'inclusion ont été choisis en se basant sur les critères du CDC déjà mentionnés auparavant. Au moins deux critères étaient nécessaires à l'inclusion et ce, afin d'augmenter la probabilité de PNB.

Les patients qui présentaient l'un des critères suivants étaient exclus de l'étude:

A) cause d'exclusion à l'admission (exclusion a priori):

- 1) âge > 18 ans
- 2) cas d'obstétrique-gynécologie
- 3) patient déjà en mort cérébrale au moment de l'admission
- 4) contre-indication à faire un LBA (bronchospasme sévère, état de choc non contrôlé, hypoxémie sévère ($\text{PaO}_2 < 60 \text{ mmHg}$ sous une FiO_2 à 1.0) (139)
- 5) cardiopathie compliquée par une hypertension pulmonaire
- 6) patients dont le médecin traitant ou les parents refusent de participer à l'étude et les patients qui refusent eux-mêmes de participer à l'étude
- 7) technicien non disponible;

B) cause d'attrition pendant l'étude (exclusion a posteriori):

- 1) cas perdu ou oublié
- 2) données manquantes importantes (ex. perte des résultats de culture)

Des données minimales sont compilées sur les patients exclus (a priori et a posteriori) afin de vérifier si l'échantillon retenu est biaisé ou non. Ces données spécifiées sur le livret d'observation comprennent des données démographiques ainsi que des données sur les raisons d'admission et la sévérité des cas.

Le LBA non-bronchoscopique chez un patient intubé est une technique considérée comme routinière dans les services de réanimation, mais un formulaire de consentement est nécessaire parce que nous effectuons le LBA à deux reprises, ce qui n'est plus une conduite habituelle. La lettre de consentement proposée se trouve en annexe (annexe 1).

Cette étude a été approuvée par le comité d'éthique de l'Hôpital Ste-Justine.

4.2.2 Taille de l'échantillon

Il y a peu de recommandations dans la littérature quant à la taille de l'échantillon nécessaire pour évaluer la reproductibilité d'un test. Un article paru en 1987 sur la taille d'échantillon nécessaire pour réaliser une étude sur la reproductibilité suggère, dans le cas d'une étude avec deux mesures par sujet, un nombre minimum de 15 sujets. Ceci correspond à une puissance de 80% et $\alpha = 0.05$ pour un coefficient de corrélation $\rho > 0,8$ (presque parfait) (162). Trois études qui ont évalué la reproductibilité de la BTP comptaient respectivement 22, 26 et 75 patients (61, 75, 147). Une étude sur la reproductibilité des cultures de sécrétions endotrachéales comptait 21 patients (141). L'étude de Gerbeaux sur la reproductibilité du LBA bronchoscopique chez l'adulte comprenait 44 patients (140). En se fiant sur ces quelques données et en évaluant l'incidence de PNB et TNB dans notre unité ainsi que le temps prévu pour compléter l'étude, nous avons décidé a priori d'inclure 30 patients ($\beta = 80\%$; $\alpha = 0.05$; $\rho > 0,9$). La taille d'échantillon retenue permet d'obtenir une précision adéquate de l'estimation des indices de concordance (183).

4.3 LAVAGE BRONCHOALVÉOLAIRE

4.3.1 Considérations techniques

La technique de LBA non-bronchoscopique protégé consiste à insérer un cathéter dans le tube endotrachéal du patient et à le pousser jusqu'à ce qu'il soit coincé dans une bronche distale (figure 5) (163)). Le cathéter utilisé est constitué de deux lumières et d'un bouchon en polyéthylène glycol (Combicath®, Plastimed Lab, ZI3 rue L., Armand, Saint Leu la Forêt, BP20 Cédex 95321, France), ce qui permet d'avoir un LBA protégé de toute contamination (figure 6). Il existe deux grandeurs de cathéter : dimension pédiatrique (45 cm) pour les enfants de moins de 1 an et dimension adulte (75 cm) pour les enfants d'un an et plus.

Une fois le cathéter coincé, il s'agit d'instiller puis d'aspirer une quantité spécifique de salin, afin d'aller laver la région alvéolaire. Dans la littérature, il existe une controverse quant à la nécessité de retirer ou non le cathéter, une fois qu'il a été coincé dans la bronche. Certains auteurs considèrent qu'il faut laisser le cathéter coincé pour faire le lavage (106), d'autres considèrent qu'il faut le retirer quelque peu (d'un ou deux cm) avant d'infuser et d'aspirer. Le danger de laisser le cathéter coincé sans le retirer est la possibilité de créer une atelectasie. Par contre, la reproductibilité de la technique devrait alors être meilleure, car le

LBA a plus de chance d'intéresser un volume pulmonaire semblable s'il est fait à partir d'une bronche dont le diamètre est fixe, ce qui devrait être le cas si l'on se sert de cathéters de même diamètre et si l'on prend soin à chaque fois de le coincer. Les cathéters Combicath™ ont justement le même diamètre externe, soit 1,9 mm, qu'ils soient de dimension pédiatrique ou adulte. Dans notre étude, nous avons préconisé la première méthode. Le cathéter servant à faire le LBA était coincé dans la bronche et le liquide était instillé directement sans retirer le cathéter.

Un autre sujet controversé concerne la qualité du liquide aspiré. Au départ, les LBA étaient faits avec des cathéters non protégés dans la plupart des publications. C'est pourquoi, dans la littérature, certains auteurs jettent la première fraction aspirée, en se disant qu'elle est forcément contaminée et en considérant que les sécrétions recueillies sont probablement d'origine bronchique ou bronchiolaire plutôt qu'alvéolaire (95, 139, 164, 165). Par ailleurs, d'autres auteurs font deux à trois lavages consécutifs puis les mélangent ensemble (17). Dans notre étude nous avons considéré que le risque de contamination était mince puisque nous avons utilisé un cathéter protégé à double lumière. Nous avons donc utilisé la deuxième méthode et gardé les trois aliquots que nous avons mélangés ensemble avant de les distribuer aux différents laboratoires.

Le volume à injecter par passage, le nombre de passages et le volume total combinant tous les passages sont aussi controversés. Chez l'adulte, on injecte généralement 25 à 50 ml à la fois. Chez l'enfant, on ne s'entend pas sur le sujet. Or, ce volume est important, car il faut en tenir compte pour interpréter correctement les résultats des cultures quantitatives en fonction de la surface alvéolaire irriguée par le LBA. Chez l'enfant, le volume à injecter varie selon les auteurs de 0,25 à 5 ml/kg par infusion (maximum: 3 à 50 ml par infusion) (92, 95, 98, 100, 105, 106). Costil et al. (164) proposent d'injecter l'équivalent de 10 à 15 % de la capacité résiduelle fonctionnelle (CRF), telle que mesurée ou évaluée en fonction de la taille ($CRF = 4,632 \times 10^{-3} \times \text{taille en cm}^2$ (166)) ou en fonction du poids ($18,5 \pm 2,7$ ml/kg selon Gerhardt et al. (166)). Dans une étude récente, Ratjen et al. ont utilisé des aliquots de 1 ml/kg chez 37 enfants âgés de 3-15 ans (167). Ils ont démontré, en mesurant des concentrations d'albumine et d'urée dans le sérum et le liquide de LBA, que la fraction de fluide épithélial alvéolaire recueillie était constante si on utilise un protocole ajusté en ml/kg. Ceci suggère qu'il est possible de comparer le résultats chez des enfants de poids différents si on utilise un protocole ajusté au poids du patient. Après avoir fait quelques LBA dans notre unité avec différents volumes, nous avons choisi un volume de 0,25 à 0,5 ml/kg par

passage (maximum: 50 ml), ce qui correspond à environ 2,5 % de la capacité résiduelle fonctionnelle.

Le nombre de passages par LBA est un autre sujet de discussion. Chez l'enfant, ce nombre varie de 3 à 7 selon les auteurs (92, 95, 98, 100, 105, 106, 164). Nous avons décidé a priori de faire trois passages au total, de les garder et de les mélanger.

Les auteurs ne s'entendent pas non plus sur le volume total maximum à injecter au cours d'un LBA: ce volume qui additionne toutes les instillations ne devrait pas dépasser 20 à 250 ml par LBA selon différents auteurs (92, 95, 98, 100, 105, 106). Nous avons décidé de ne pas dépasser un volume de 50 ml par passages et donc un volume total de 150 ml par LBA.

Une autre question importante est le délai idéal entre les deux LBA, pour assurer qu'il n'y ait pas de changements chez le patient lui-même (délai trop long) mais aussi éviter que le premier LBA embrouille les résultats du deuxième LBA (délai trop court). En effet, on peut supposer qu'un premier LBA puisse diluer les résultats d'un autre LBA fait tout de suite après. Dans la littérature, les études sur la reproductibilité des cultures de sécrétions bronchiques mentionnent des délais variés. Dans les études utilisant la BTP, les auteurs procédaient de façon consécutives sans délai (75, 146, 147). Une étude sur la reproductibilité des cultures de sécrétions endotrachéales rapporte un délai de deux heures (141) et une autre sur la reproductibilité du LBA bronchoscopique utilisait un délai de 30 minutes (140). Aucune étude n'a évalué la reproductibilité du LBA protégé non bronchoscopique. En soins intensifs pédiatriques, la majorité des patients intubés sont aspirés toutes les deux heures. L'expérience des intensivistes montre qu'il s'agit là d'un intervalle suffisant pour que les sécrétions respiratoires aient le temps de s'accumuler à nouveau. Dans notre étude, suite à une décision empirique, nous avons utilisé un délai de deux heures entre les deux LBA. Cette période apparaît assez courte pour que les résultats des deux LBA demeurent comparables, mais assez longue pour que les sécrétions soient aussi abondantes dans les deux LBA.

4.3.2 La manœuvre

La technique de LBA a été élaborée suite à la lecture de la littérature sur le sujet et à notre expérience personnelle. Les recommandations techniques publiées par le « Report of the European Society of Pneumology Task Group on LBA » (148, 149), ainsi que par différents auteurs (139, 163) ont aussi été utilisées.

4.3.2.1 Préparation

L'équipement requis pour faire correctement un LBA en pédiatrie est précisé dans le tableau 4. Les étapes préliminaires sont précisées dans le tableau 5.

4.3.2.2 Réalisation

La technique consiste à insérer un cathéter protégé à double lumière par le tube endotrachéal et d'aller "laver" une région alvéolaire à l'aide de salin physiologique que l'on retirera par la suite pour envoyer aux différents laboratoires. La méthode de lavage bronchoalvéolaire non-bronchoscopique protégé est décrite au tableau 6.

Il faut cesser le LBA si le patient présente une chute significative et persistante de la SaO₂ (ex. chute de la SaO₂ de plus de 5 % pendant plus d'une minute) ou si l'on ne parvient pas à réaspirer plus de 20% du liquide injecté après deux passages.

Un LBA se fait en injectant, puis en réaspirant plusieurs volumes consécutifs. Il est préférable de faire tous ces « passages » avec du salin physiologique plutôt qu'avec de l'eau stérile, car l'eau stérile est irritante pour les voies aériennes. Cependant, l'eau salée est bactériostatique pour le Legionella et il est préférable d'utiliser l'eau stérile lorsqu'on suspecte cette bactérie et qu'on veut l'isoler. Dans notre étude, nous avons décidé de faire les trois passages avec du salin physiologique; aucun échantillon n'était fait avec de l'eau stérile, à moins d'une suspicion de Legionella chez le patient.

4.3.3 **Échantillon de sécrétions bronchoalvéolaires**

Il est important de s'assurer que l'échantillon prélevé est semblable dans les 2 LBA pour un même patient et qu'il est adéquat. Par la suite, l'échantillon est évalué par les diverses techniques de laboratoire.

4.3.3.1 Aspect du liquide

Le liquide est clair chez un patient normal (139). Il peut être rosé ou franchement hémorragique à cause d'un traumatisme. Il peut être purulent s'il contient plusieurs polynucléaires. Il peut contenir des particules ou non, mucus ou autre. Il est habituellement légèrement turbide comparativement au salin qui ne l'est pas du tout. Tous ces éléments ont été notés pour tous les LBA chez nos patients selon une échelle prédéterminée (tableau 7); ceci nous a permis de comparer les échantillons des 2 LBA dans chaque cas.

4.3.3.2 Échantillon adéquat

Dans la littérature, divers paramètres ont été évalués pour voir si les échantillons recueillis étaient adéquats. Le paramètre qui est retenu le plus souvent est la présence de cellules épithéliales ou bronchiques. Puisque l'échantillon de LBA provient de l'espace alvéolaire et n'a pas été contaminé par les sécrétions trachéobronchiques, il ne devrait pas contenir de cellules épithéliales ou de cellules bronchiques. Un échantillon de LBA contenant plus de 10 cellules épithéliales squameuses par champ (X 40) (168), ou dans lequel plus de 1% des cellules sont des cellules épithéliales squameuses (17, 29, 48, 67), ou encore dans lequel on retrouve plus d'une cellule bronchique par champ (X 40) (14) est habituellement considéré comme contaminé et est exclu car non valable pour le diagnostic de PNB.

D'autres indices ont été évalués pour voir si un échantillon est adéquat. Le décompte des cellules recueillies ainsi que la différentielle (neutrophiles, lymphocytes, macrophages) ne peuvent différencier une infection pulmonaire d'une contamination bronchique (35).

La culture quantitative et le seuil de positivité utilisé ont aussi été évalués comme indices de contamination. Un seuil élevé de bactéries ($>10^4$ - 10^5 CFU/ml) a été recommandé pour diagnostiquer une PNB lors d'un LBA non protégé et éviter de confondre une infection avec ce qui serait une contamination bronchique (17). Par contre il a aussi été décrit que, lors de bronchopneumonies, la concentration de bactéries au niveau de la trachée peut être plus élevée que celle dans les sécrétions recueillies au niveau des bronches distales; ainsi même un résultat avec un seuil de positivité haut ne pourrait pas exclure une contamination (47). De plus, plusieurs facteurs peuvent influencer la concentration bactérienne (technique de lavage, technique de dilution...). On peut donc dire que les résultats de la culture quantitative doivent être interprétés de façon prudente car ce n'est pas un indice parfait pour déterminer si un échantillon de sécrétions respiratoires distales est adéquat.

Dans notre étude, nous avons considéré l'échantillon recueilli comme adéquat s'il contenait moins de 10 cellules épithéliales par champ (X40) ou moins de 1% de cellules épithéliales. Tout échantillon ne satisfaisant pas ces critères fut considéré comme inadéquat et exclu de l'étude.

4.3.3.3 Évaluation de l'échantillon recueilli

La figure 7 précise le cheminement de l'échantillon de sécrétions respiratoires recueilli par le LBA. Il est essentiel d'acheminer ce prélèvement au laboratoire dans les 15 minutes qui

suivent. On peut, à la rigueur, prolonger ce délai pour les examens cytologiques, mais il faut les faire en moins de quatre heures ou refroidir le prélèvement à 4 °C s'il est impossible d'agir plus rapidement (139). Plusieurs analyses peuvent être faites sur un LBA.

4.3.3.3.1 Microbiologie

4.3.3.3.1.1 Cultures quantitatives bactériennes

Préparation:

Différentes méthodes de mise en culture, avec ou sans centrifugation, sont décrites dans la littérature (17, 35, 45). Tous les échantillons de LBA doivent être mis en culture sur plusieurs types de gélose ou de bouillon de culture:

- 1) cultures aérobiques sur gélose sang, gélose chocolat et gélose MacConkey;
- 2) cultures anaérobiques sur gélose sang anaérobie, gélose chocolat et autres milieux au besoin (milieu kanamycine-vancomycine, thioglycollate, chloramphénicol, etc.) (87) (16).

Pour cette étude, les échantillons sont amenés au laboratoire de microbiologie, passés au Vortex (Fisher Vortex Genie 2, Scientific Industries Inc., Bohemia, NY) pendant 30 à 60 secondes et mis en culture. L'échantillon est ensuite ensemencé pour cultures bactériennes quantitatives. Afin d'obtenir une culture quantitative, avec seuil de positivité précis (10^1 à 10^6 CFU/ml), on procède à une séquence de dilution. La méthode de dilution utilisée est une technique conventionnelle, ce qui permet une plus grande précision au niveau de la reproductibilité. La préparation des dilutions est la suivante:

- dilution 10^{-2} : prendre 0,1 ml de l'échantillon initial et le mettre dans 9,9 ml de salin
- dilution 10^{-4} : prendre 0,1 ml du "pool" de dilution de 10^{-2} et mettre dans 9,9 ml de salin

Après chaque dilution, l'échantillon est ensemencé pour cultures aérobies et anaérobies dans une gélose sang, une gélose MacConkey et une gélose Chocolat. Ces géloses sont incubées à 37°C pendant 48 heures sous CO_2 . Les résultats des cultures sont rapportés en fonction de colonies/ml : la présence d'une colonie à une dilution de 10^{-2} signifie qu'il y a 100 colonies (10^2 CFU/ml); la présence de 10 colonies à 10^{-2} signifie qu'il y a 1000 colonies (10^3 CFU/ml). Un décompte du nombre de colonies à dilution 10^{-2} et 10^{-4} pour chaque gélose est fait. Toute pousse de 10^2 CFU/ml ou plus est rapportée. Toute pousse de moins de 10^2 CFU/ml (100 CFU/ml) n'est pas considérée significative pour l'étude.

Interprétation:

Tel que déjà mentionné, les seuils proposés pour la culture quantitative varient beaucoup (10^3 à 10^6 CFU/ml) et la zone d'incertitude est large. Puisque le prélèvement est fait avec un cathéter protégé et que la contamination bronchique devrait être évitée, nous rapporterons toute pousse bactérienne $\geq 10^2$ CFU/ml. De plus, puisqu'il s'agit d'une étude sur la reproductibilité et non sur la validité du test, le seuil choisi perd de son importance. Par ailleurs, nous analyserons les deux LBA pour d'autres seuils de positivité tels 10^3 , 10^4 et 10^5 CFU/ml afin de trouver la meilleure valeur en terme de reproductibilité.

4.3.3.3.1.2 *Autres cultures*

Sur demande, une culture pour *Legionella* est faite. On utilise préférentiellement un prélèvement fait avec de l'eau stérile. On utilise un milieu spécial (BCYE+antibio) et une dilution 1/10 est faite. L'incubation est faite à 37°C. pendant 5 jours, sous CO_2 .

Pour la culture de mycoses profondes, on utilise un milieu IMA (Inhibitory Mold Agar); pour les mycobactéries, un milieu Lowenstein. Ces cultures ne sont faites que sur demande et ne font pas partie intégrale du protocole.

4.3.3.3.2 Cytologie

4.3.3.3.2.1. *Décompte cellulaire et PMN contenant des bactéries:*

Technique de préparation et coloration :

La technique de préparation peut varier selon les différents auteurs (17, 48, 87). Nous avons procédé à une technique standard, en se référant à cette littérature et à l'expertise des hématologistes de notre centre. L'échantillon est amené au laboratoire d'hématologie, où un décompte des globules blancs avec hématimètre Fushsrosenthal (Ultraplane, C.A. Hausse & Son, MaxLevy) est fait dès l'arrivée. Si l'échantillon contient trop de globules rouges, on procède à une hémolyse. S'il contient trop de globules blancs, on procède à une dilution et on fait le décompte sur un hématimètre Neubaer (Brighline® Hematocymeter, Reichert, Buffalo, NY). Ensuite, on ajoute 2 à 4 gouttes d'albumine bovine et on effectue 2 à 4 cytopins avec une centrifugeuse (Cytospin II™, Shandon Southern Instruments, Inc., Sewickley, PA), pour obtenir 2 à 4 lames pour frottis. On procède par la suite à une coloration Giemsa ordinaire et à une coloration spéciale de May-Grünwald-Giemsa. On fait une première lecture au microscope sur 100 éléments puis une deuxième sur 500 éléments, à un agrandissement de 1000X. Le comptage des PMN contenant des bactéries et

la différentielle du frottis cellulaire (globules blancs, macrophages, cellules épithéliales) sont faits en utilisant la coloration de May-Grünwald-Giemsa, en évaluant 500 cellules.

Interprétation:

La cellularité normale chez l'adulte est de $10 \pm 10 \times 10^4$ cellules/ml avec comme différentielle: macrophages $87 \pm 7\%$, lymphocytes $15 \pm 3\%$, neutrophiles $< 2\%$ (139). Bien sûr, cette cellularité est changée dans toute pathologie pulmonaire, y compris les PNB. Une étude faite chez les enfants avec atteinte pulmonaire (toux chronique, pneumonies récurrentes) démontre les résultats de LBA suivants: décompte cellulaire total = 2,6 à $3,6 \times 10^6$; neutrophiles = 2,4% à 5,4%; lymphocytes = 13,5% à 14,5%; éosinophiles = 0,6% à 1,4% (165). Une autre étude faite chez des enfants immunosupprimés démontre que le pourcentage de neutrophiles dans le liquide recueilli par LBA est significativement plus élevé chez les patients atteints d'une infection bactérienne comparativement aux contrôles (31,4% vs 0,8% cellules/ml). Le nombre de leucocytes total était aussi plus élevé chez les patients avec infection bactérienne ($48,3 \times 10^3$ vs $22,4 \times 10^3$ cellules/ml) (169). On peut conclure que la cellularité est très variable d'un patient à l'autre.

La présence de bactéries à l'intérieur de neutrophiles est fortement suggestive qu'une infection est en cours. Or, c'est là un indice que l'on peut étudier facilement et dont les résultats sont disponibles dans les minutes faisant suite à un LBA, contrairement à la culture quantitative. C'est donc un indice dont se servent de nombreux auteurs pour reconnaître rapidement un cas de PNB, quitte à remettre en question le diagnostic plus tard quand arrive le résultat de la culture quantitative (48, 49, 54, 73, 96, 97, 108, 111, 127). Chez l'adulte, le seuil le plus performant n'est pas bien précisé, mais les données de la littérature laissent entendre que l'on est en présence d'une PNB si un échantillon de sécrétions respiratoires obtenu par LBA montre des bactéries dans plus de 2 à 7% des PMN (48). Dans la population pédiatrique, seul Labenne et al. ont évalué ce paramètre (125). Ils ont utilisé un seuil de $> 1\%$ de PMN contenant des bactéries.

Dans notre étude, nous avons utilisé un seuil plus sensible ($\geq 1\%$ de PMN contenant des bactéries) puisque nous utilisons un cathéter protégé.

4.3.3.3.2.2 Coloration de Gram et autres colorations

La coloration de Gram permet de reconnaître la présence de bactéries à Gram négatif ou positif, de quantifier leur nombre et leur morphologie. Elle permet aussi de quantifier le nombre de polynucléaires et de cellules épithéliales squameuses. Étant donné que les PNB sont polymicrobiennes dans plus du quart des cas (4, 16), on peut observer plusieurs types

de bactéries chez un nombre important de patients. Dans notre étude, nous avons rapporté la présence de toute bactérie à la coloration de Gram.

D'autres colorations sont faites si l'opérateur du LBA considère que cela est nécessaire pour le patient (Giemsa, Ziehl, encre de Chine, Gomori-Grocott, Papanicolaou, etc.), mais ces résultats ne sont pas évalués à l'occasion de l'étude.

4.4 COMPILATION DES DONNÉES

4.4.1 Livret d'observation

Les données cliniques et paracliniques compilées pour chacun des patients sont exposées dans le livret d'observation qui se trouve en annexe 2. Le livret a été testé par deux des chercheurs (FG et JL) avec cinq patients pilote avant le début de l'étude. Cet exercice a été fait pour vérifier la clarté, l'utilité, la valeur de présentation et le contenu du livret. Durant l'étude, les livrets ont été remplis quotidiennement par la personne qui faisait les LBA (FG), à partir du jour de l'entrée dans l'étude jusqu'au jour de sortie. Les réponses ont été annotées sur le livret d'observation en se servant d'un code déterminé au préalable. Les réponses codées ont ensuite été directement transcrites sur une base de données Excel™ (Microsoft Excel™ 98, 1985-1998, Microsoft Corporation)) puis analysées avec un logiciel statistique (SAS™ release 6.12, 1989-1996, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

4.4.2 Données de base

L'étude d'un patient commence avec le prélèvement LBA. Au temps zéro de l'étude, les données suivantes sont donc notées: données démographiques, données initiales et autres observations précédant le début de l'étude (questions 1.1 à 3.6 du livret).

4.4.3 Manœuvre du LBA

La méthode employée pour faire le LBA et pour réaliser les analyses cytologiques et microbiologiques est décrite plus haut (section 4.3).

Une courbe d'apprentissage était à prévoir et nous ne voulions pas commencer l'étude elle-même tant que la technique n'était pas bien maîtrisée par le médecin qui faisait le LBA et par les techniciens de laboratoire qui en faisaient l'analyse. C'est pourquoi cinq LBA, chez cinq

patients différents, ont été faits avant de commencer l'étude, ce qui nous semblait suffisant pour garantir que la technique soit bien maîtrisée.

Le premier des deux LBA était fait tôt le matin, entre 8 heures et 10 heures a.m., afin de s'assurer que les techniciens de laboratoire étaient prêts et disponibles pour faire rapidement les analyses et les mises en culture. Le deuxième LBA était fait deux heures plus tard. Aucun LBA n'était fait après 15:00 ou durant la fin de semaine afin que les échantillons soient toujours travaillés par les deux mêmes techniciens du laboratoire d'hématologie et de microbiologie. Tous les résultats étaient analysés par le même microbiologiste (PL) et le même hématologiste (AM).

Tous les LBA étaient faits par le même médecin (FG) afin de contrôler la variation qui pourrait se produire s'ils étaient faits par plusieurs opérateurs différents.

Les données de chaque manœuvre étaient recueillies par le même médecin (FG) et inscrites dans le livret d'observation (questions 4.1 à 4.2.11.5)

4.4.4 Feuille d'ordonnance

Une feuille d'ordonnances médicales était donnée au personnel médical lors de l'entrée dans l'étude de chaque patient, afin de suivre un protocole identique pour chacun d'eux (annexe 3).

4.4.5 Arrêt de l'étude d'un patient

L'étude d'un patient était considérée comme complétée à la sortie des soins intensifs ou au décès du patient. Les données sur l'état clinique du patient, les complications ultérieures ainsi que la survenue d'une PNB ou d'une TNB étaient relevées quotidiennement jusqu'à la fin de l'étude (questions 5.3 à 6.4).

4.5 CRITERES D'ÉVALUATION

Les données sur les critères d'évaluation primaires et secondaires sont recueillies dans le livret d'observation (question 5.1 à 5.2.4.4)

4.5.1 Critère d'évaluation primaire

Le critère d'évaluation primaire de l'étude est la culture quantitative des sécrétions respiratoires recueillies par le LBA avec un seuil de surveillance $\geq 10^2$ CFU/ml. L'étude sur

la reproductibilité compare les cultures quantitatives des deux LBA faits à deux heures d'intervalle chez le même patient et démontre s'il y a concordance entre les deux LBA pour la présence ou l'absence de bactéries.

4.5.2 Critères d'évaluation secondaires

4.5.2.1 Reproductibilité

4.5.2.1.1 Nombre de bactéries (quantitatif)

Pour chaque paire de LBA, on évalue la reproductibilité quantitative : isole-t-on le même nombre de bactéries dans les deux LBA? Pour ce faire, nous utilisons différents sous-groupes selon différents index :

- chaque espèce bactérienne isolée
- index bactérien
- index de l'espèce prédominante
- nombre total de bactéries

4.5.2.1.2 Type de bactéries (qualitatif)

Pour chaque paire de LBA, on évalue la reproductibilité qualitative : isole-t-on le même type de germe (espèce bactérienne) dans les deux LBA?

4.5.2.1.3 PMN contenant des bactéries

Pour chaque paire de LBA, on évalue la reproductibilité de la présence de PMN contenant des bactéries: y a-t-il présence de PMN contenant des bactéries dans les deux LBA? Le pourcentage de PMN contenant des bactéries est-il le même dans les deux LBA?

4.5.2.1.4 Coloration de Gram

Pour chaque paire de LBA, on évalue la reproductibilité de la présence de bactéries sur la coloration de Gram : y a-t-il présence de bactéries sur la coloration de Gram dans les deux LBA? Le type de bactérie (espèce) est-il le même?

4.5.2.1.5 Décompte cellulaire

Pour chaque paire de LBA, on évalue la reproductibilité du décompte cellulaire : y a-t-il la même cellularité entre les deux LBA? La différentielle du décompte est-elle la même entre les deux LBA?

4.5.2.2 Complications associées au LBA

Toutes les complications survenues durant le LBA ou dans les 24 heures suivant la procédure sont notées:

- pneumothorax
- hémoptysie ou hémorragie pulmonaire (présence de sang lors d'aspirations endotrachéales subséquentes)
- chute du rapport $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ de plus de 15%
- chute de la saturation en O_2 en deçà de 92%
- nouvelle opacité pulmonaire
- chute de la pression artérielle moyenne (> 8 mmHg)
- dysrythmie cardiaque.
- crise d'hypertension pulmonaire (PAP > 2/3 PAM)
- augmentation ou diminution de la température
- augmentation de la pression intracrânienne

Ces données permettent de vérifier l'innocuité du LBA non-bronchoscopique protégé.

4.5.2.3 Suivi du patient

Les données suivantes sont notées après les premières 24 heures suivant le premier LBA :

- durée d'intubation et ventilation mécanique (totale et post-LBA)
- besoin de réintubation ou reprise de ventilation mécanique
- syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA)
- insuffisance polyviscérale/ hémorragie gastroduodénale de stress
- apparition subséquente d'une PNB ou d'une TNB pendant le séjour aux soins intensifs
- durée de séjour dans les soins intensifs (totale et post-LBA)
- mortalité pendant le séjour aux soins intensifs

Ces données permettront de se faire une idée de l'état de santé des patients après un LBA non-bronchoscopique protégé et éventuellement d'évaluer les coûts qui leur sont attribués dans une prochaine étude.

4.5.2.4 Impact du LBA sur le traitement

Les données sur l'impact du LBA sont notées après l'arrêt de l'étude pour chaque patient. On note toute prescription d'un ou plusieurs antibiotiques ou changement des antibiotiques donnés à un patient suite au LBA (< 2 heures après LBA, de 2 heures à 72 heures suivant le LBA, > 72 heures suivant le LBA).

4.5.2.5 Valeur diagnostique du LBA

Les données sur la valeur diagnostique du LBA sont notées après que l'étude ait été terminée pour l'ensemble des patients.

L'objectif principal de la présente étude n'est pas de vérifier la valeur du LBA pour diagnostiquer une PNB mais bien d'en évaluer la reproductibilité. Il reste que l'intérêt éventuel de ce test sera de permettre de confirmer ce diagnostic. Nous vérifions donc si, dans le cadre de notre étude, certains tests (culture quantitative, bactéries intracellulaires, coloration de Gram) ont une certaine valeur comme indice diagnostique des PNB. La valeur diagnostique de chaque test est évaluée en comparaison avec l'avis de trois experts (considéré ici comme étalon de référence puisque nous ne disposons pas de données histopathologiques d'autopsie). Les experts devaient faire le diagnostic de PNB selon des données cliniques, microbiologiques et radiologiques, mais n'étaient pas au courant des résultats de LBA.

4.5.2.6 Faisabilité du LBA

Les données suivantes sur la faisabilité du LBA sont notées après l'arrêt de l'étude pour chaque patient:

- 1) impossibilité de faire un LBA (mauvaise réaction au LBA, refus des parents ou du médecin traitant, patient trop instable ou hypoxique, risque de crise d'hypertension pulmonaire ou autre complication, désaturation de plus de 5% pendant plus d'une minute lors de la procédure, moins de 20% de liquide réaspiré après deux passages)
- 2) impossibilité d'analyser le LBA (échantillon non valable car contient plus de 10 cellules épithéliales par champ ou plus de 1% de cellules épithéliales squameuses).

5. ANALYSE

5.1 DEVIS DE L'ÉTUDE

Il s'agit d'une étude descriptive longitudinale prospective d'un groupe homogène de patients admis dans un centre hospitalier pédiatrique universitaire tertiaire.

5.2 ANALYSES STATISTIQUES

Dans cette section, nous élaborerons sur les analyses de reproductibilité, leur principes de base ainsi que les analyses utilisées pour cette étude.

5.2.1. Analyses de reproductibilité: principes de base

La reproductibilité d'un test désigne en fait sa consistance. Elle permet d'évaluer si le test donne des résultats semblables lorsqu'on le répète (variabilité) (170). C'est un des critères nécessaires à évaluer pour valider un test car il constitue un indice de qualité primordial (171).

La reproductibilité peut être mesurée de différentes façons et nécessite l'utilisation de tests statistiques et d'indices spécifiques. Puisque l'analyse des résultats obtenus et de la reproductibilité d'un test est fort complexe, un rappel de quelques principes généraux est d'abord énoncé.

5.2.1.1 Tendance versus concordance

En décrivant la relation entre deux variables associées, un indice de tendance représente la force avec laquelle un changement dans une variable va être reflété par des changements dans l'autre variable et vice-versa. Ces deux variables peuvent être exprimées dans des échelles de mesures différentes (exemple: taux de cholestérol et catégorie d'âge). Des indices de tendance tels coefficient de corrélation Pearson (r), coefficient de régression (b), coefficient rho (ρ) de Spearman, tau de Kendall, coefficient de corrélation ϕ , permettent de décrire la degré de relation associative entre les variables. Lors d'études sur la reproductibilité, la tendance n'est pas suffisante. Lorsque l'on compare les deux procédures ou deux LBA, il faut savoir à quel degré ils vont produire le même résultat ou encore s'ils sont concordants entre eux. Pour évaluer le degré avec lequel le test produit les mêmes résultats dans les deux cas, on calcule des indices de concordance. La concordance

entre deux variables va établir avec quel degré une de ces variables peut servir de substitut ou d'estimation pour l'autre variable. Les indices de tendance sont inadéquats pour décrire la concordance car deux variables peuvent avoir une relation très étroite sans être concordantes (exemple: la variable A peut changer dans la même direction que la variable B mais toujours être plus élevée; deux variables peuvent avoir une corrélation inverse parfaite mais ne seront pas concordantes). C'est pourquoi des indices de concordance sont plus appropriés pour exprimer des comparaisons quantitatives entre les résultats de deux procédures telles les LBA.

5.2.1.2 Types d'échelles

Les données nominales sont exprimées en catégories, selon la variable étudiée. Dans notre cas, la variable est le résultat de LBA et les données nominales sont dichotomiques (2 catégories): présence ou absence de bactéries. Lorsque l'on utilise des données dichotomiques, les résultats sont concordants ou discordants (tout ou rien). Ainsi, soit qu'il y a présence de bactéries dans les deux LBA, soit qu'il n'y a pas présence de bactéries dans les 2 LBA.

Lorsque les données sont exprimées comme des mesures quantitatives sur une échelle continue, elles sont appelées données continues. Dans notre étude, c'est le cas par exemple de l'index bactérien. Pour mesurer la concordance et la discordance entre deux données continues, on utilise de préférence les différences absolues, moyennes, sommes des moyennes et variances. Ces entités sont alors utilisées pour construire des indices de concordance appropriés.

Que ce soit pour des données nominales ou continues, l'évaluation de la concordance entre les 2 variables nécessite deux conditions:

- 1) chaque variable est exprimée par le même genre d'échelle
- 2) chaque échelle contient le même nombre de catégories.

5.2.1.3 Rôle de la chance ou du hasard

Lorsque deux procédés sont comparés, les résultats peuvent être concordants seulement à cause du hasard (ou de la chance). Des indices de concordance idéaux devraient pouvoir corriger pour le degré de concordance dû à la chance. La considération de cette concordance reliée à la chance est très importante, surtout pour les données nominales et les échelles ordinales contenant peu de catégories. Dans ces cas, elle devient un facteur important lorsqu'une des catégories est représentée beaucoup plus souvent que les autres

(exemple: lorsque une des variables est une maladie très rare et très peu de gens la contractent).

5.2.2 Types d'analyses utilisées

5.2.2.1 Données nominales ou qualitatives

Pour évaluer la reproductibilité d'un test, tel le LBA, effectué à deux reprises chez le même individu, on utilise un tableau de contingence (figure 8). Ce tableau est utilisé pour les données dichotomiques et est composé de quatre cellules. Les résultats du LBA #1 (positif ou négatif) sont inscrits dans les 2 rangées et les résultats du LBA #2 sont inscrits dans les 2 colonnes. Il y a concordance dans les cellules « a » (les deux LBA sont positifs) et « d » (les deux LBA sont négatifs). Il y a discordance dans les cellules « b » (LBA 1 positif; LBA 2 négatif) et « c » (LBA 1 négatif; LBA 2 positif).

A partir de cette tableau, nous pouvons effectuer plusieurs analyses statistiques.

5.2.2.1.1 Pourcentage de concordance

L'approche habituelle pour évaluer la concordance avec ce type de données est de rapporter la proportion ou le pourcentage de concordance parmi les tests effectués. Dans ce cas-ci, il y a concordance dans $(a + d / N) \times 100 = \%$ de concordance. Cet indice de concordance est très simple et ignore la concordance reliée au hasard.

Dans cette étude nous avons utilisé le pourcentage de concordance pour évaluer la reproductibilité de la présence de bactéries, du nombre de bactéries et du type de bactéries retrouvées. Nous avons adopté les définitions suivantes :

- 1) il y a concordance pour la présence de bactérie lorsque des bactéries, peu importe leur nombre et leur type, sont présentes dans 2 LBA (positif/positif) ou lorsqu'il y a absence de bactéries dans les 2 LBA (négatif/négatif). Il y a discordance lorsqu'il y a présence de bactéries dans un seul des 2 LBA (positif/négatif ou négatif/positif).
- 2) il y a concordance pour le nombre de bactéries lorsque la différence de \log_{10} CFU/ml entre 2 LBA est plus petite ou égale à 1 (ex: 10^3 CFU/ml / 10^4 CFU/ml). Il y a discordance lorsque la différence est plus grande que 1 ou lorsqu'il y a pousse bactérienne dans un seul LBA (ex: 10^2 CFU/ml / 10^4 CFU/ml; négatif / 10^2 CFU/ml)
- 3) il y a concordance pour le type de bactéries lorsque les bactéries retrouvées dans les 2 LBA sont de la même espèce (ex: Staph. aureus / Staph. aureus). Il y a discordance lorsque

les bactéries ne sont pas de la même espèce ou lorsqu'il y a bactéries dans un seul LBA (ex: Staph. aureus / H. influenzae; Staph. aureus / négatif).

La concordance est exprimée à l'aide d'un pourcentage. Une concordance complète indique que pour les 2 LBA chaque espèce différente de bactérie était concordante (ex: tableau 9; patient #32). La concordance est partielle lorsqu'au moins une espèce bactérienne est concordante dans les 2 LBA (ex: tableau 9; patient #19). La concordance totale consiste en la somme des concordances complètes et partielles.

5.2.2.1.2 Test Kappa

L'indice de choix pour évaluer la reproductibilité d'un test est le score kappa (k). Il mesure la concordance entre deux variables sur une échelle nominale et tient compte de l'effet de la chance (172).

La formule est la suivante (figure 8):

$$k = \frac{p_o - p_e}{1 - p_e}$$

p_o = proportion de concordance observée = $(a + d) / N$

p_e = proportion de concordance attendue reliée à la chance = $(r_1 c_1 - r_2 c_2) / N^2$

Ainsi, k est égal à 0 si la concordance observée est égale à la concordance attendue reliée à la chance ($p_o = p_e$); k est +1 si la concordance observée est parfaite ($p_o = 1$); k est < 0 si la concordance observée est plus petite que la concordance attendue reliée à la chance ($p_o < p_e$); k est > 0 si la concordance observée est plus grande que la concordance attendue reliée à la chance ($p_o > p_e$). Donc, un score k est élevé lorsque, pour une valeur fixe de p_o , la valeur de p_e est la plus petite possible.

Le score kappa a certaines limites. Dans le cas spécial ou chaque catégorie reçoit exactement la moitié des résultats, k a une valeur minimale (-1). Le score est peu fiable lorsque la concordance ou la discordance sont totales parce qu'il ne peut plus différencier la concordance reliée à la chance de la concordance observée, la variance évaluable étant trop petite dans ces circonstances. De plus, le score kappa peut varier en fonction de la prévalence des cas dans les différentes cellules du tableau de contingence (172). Ainsi, il arrive d'avoir un indice de concordance élevé et un score k bas selon la disposition des nombres dans les cellules (une disposition très asymétrique va donner un score k plus bas).

On peut calculer l'erreur standard de k afin de procéder à un test statistique. On compare ainsi la valeur observée et la valeur attendue reliée à la chance, sous l'hypothèse nulle que $k = 0$. Le test statistique z est utilisé et permet de déterminer la valeur de p associée au score k trouvé, ce qui permet de rejeter ou accepter l'hypothèse nulle. Ceci étant dit, il faut insister sur le fait que, une fois un score k significatif, l'interprétation du degré de concordance est arbitraire. Ainsi, Landis et Koch ont suggéré les règles suivantes (173, 174):

<u>valeur de k</u>	<u>force de la concordance</u>
0 - 0.20	mauvaise (slight)
0.21 - 0.40	faible (fair)
0.41 - 0.60	modérée (moderate)
0.61 - 0.80	bonne (substantial)
0.81 - 1.00	excellente (almost perfect)

On peut aussi calculer l'intervalle de confiance (IC) à 95% pour le score kappa, qui constitue l'intervalle de valeur dans lequel nous pouvons être confiant à 95% que le score kappa que nous avons estimé se situe. Si l'intervalle de confiance ne contient pas 0, alors on peut rejeter l'hypothèse nulle et conclure que le score kappa est positif et que le test est significatif.

Dans cette étude, le test de kappa est utilisé pour vérifier la concordance entre les 2 LBA pour la présence de bactéries. Le kappa est comparé pour plusieurs seuils bactériens et pour divers facteurs confondants: cathéter long vs court, différence de volume injecté > ou <10%, antibiothérapie présente ou absente, bactéries pathogènes ou contaminants.

5.2.2.1.3 Test de Mc Nemar

Le test de Mc Nemar (figure 9) permet de tester la présence de biais systématique entre le procédé observé et le standard de référence (175). Il permet, dans notre cas, d'évaluer si le premier LBA ou le deuxième LBA surestime ou sous-estime systématiquement la présence de bactéries. On utilise les cellules discordantes (b et c) et la formule suivante:

$$X^2 = \frac{(b - c)^2}{b + c}$$

On peut tester χ^2 et obtenir une valeur de p; si $p > 0.05$, il n'y a pas de biais.

Dans cette étude, une analyse statistique de la différence entre les résultats est faite à l'aide d'un test de McNemar (176). Le test de Mc Nemar est utilisé pour vérifier l'absence de biais systématiques lors de l'analyse de la présence de bactéries. Il est aussi utilisé pour comparer plusieurs seuils bactériens et plusieurs groupes comparatifs: cathéter long vs court, volume injecté $>$ ou $<10\%$, antibiothérapie présente ou absente, bactéries pathogènes ou contaminants.

5.2.2.2 Données continues ou quantitatives

Pour des données continues, le coefficient de corrélation Pearson r est habituellement utilisé pour évaluer la concordance. Ceci n'est pas idéal, car les biais systématiques que l'on peut retrouver dans les études de reproductibilité sont totalement ignorés par les coefficients de corrélation. Le coefficient de corrélation reflète une tendance entre les résultats de deux méthodes mais ne rend pas compte de ces biais.

Dans le domaine de la psychométrie, l'approche par corrélation est très utilisée pour évaluer la consistance ou reproductibilité d'un test. On veut voir si le même test, répété à plusieurs reprises chez le même patient, donne les mêmes résultats (test-retest consistency). Puisqu'il est souvent difficile de répéter le même test à plusieurs reprises, certains indices ont été développés pour approximer cette reproductibilité (split-half consistency, internal consistency) (175). Dans notre étude, puisque nous procédons à la répétition du LBA, ces indices ne seront pas utilisés.

5.2.2.2.1 Coefficient de corrélation intraclass

La corrélation entre deux variables continues peut être évaluée avec un test T si l'on veut comparer la différence entre des moyennes, mais une approche plus appropriée pour la concordance serait d'utiliser un index qui corrige la corrélation pour les biais systématiques. Cet indice est obtenu grâce au coefficient de corrélation intraclass R_1 , qui tient compte des différentes sources de variation (175). Ce coefficient varie de -1 à $+1$, un score plus haut correspondant à une meilleure concordance. R_1 est dérivé de modèles d'analyses de variance. Dans notre cas, la variance totale parmi les différentes mesures est répartie entre trois sources: la variance due aux différences entre les méthodes (LBA), la variance due aux différences entre sujets (patients) et la variance résiduelle ou d'erreur

(inexpliquée). On peut calculer le CCI en utilisant la formule suivante si N est assez grand pour que $N/(N-1)$ se rapproche de 1 :

$$\frac{\sigma^2_{\text{pers}}}{\sigma^2_{\text{pers}} + \sigma^2_{\text{LBA}} + \sigma^2_{\text{erreur}}}$$

ou σ^2_{pers} est estimé par Var (patient); σ^2_{LBA} est estimé par Var (LBA) et σ^2_{erreur} est estimé par Var (patient \times LBA)

Ainsi, R_1 sera maximum si la variance associée aux patients est grande relativement aux autres variances, c'est-à-dire si la variance due aux différences entre sujets est grande comparativement à la variance due aux différences entre méthodes (LBA) et variance d'erreur. La signification statistique de R_1 peut être déterminée en calculant le ratio standard F. Par ailleurs, l'interprétation quantitative de R_1 dépend de son importance et une valeur minimale de +0.75 est recommandée (175).

Dans cette étude, le coefficient de corrélation intraclasse est utilisé pour 2 indices bactériens (index bactérien et index d'espèce prédominante).

Un coefficient de corrélation intraclasse est calculé en considérant un modèle avec deux facteurs aléatoires:

- patient (30)
- LBA (2)

En tenant compte des interactions entre les 2 facteurs, on retrouve un modèle contenant 3 effets:

- patient
- LBA
- patient X LBA

La décomposition de la variance et le coefficient de corrélation intraclasse ont été calculés pour chaque indice bactérien.

5.2.2.2.2 Coefficient de généralisabilité

Les études de généralisabilité sont issues de la théorie de la généralisabilité, telle que présentée par Cronbach et al. (1951) en 1951. Dans ces études le but primaire est de voir jusqu'à quel point un échantillon de mesures peut être généralisé à un univers de mesures. L'univers serait défini alors comme un ensemble de conditions de mesures qui sont plus étendues que les conditions sous lesquelles les mesures de l'échantillon ont été obtenues. Ces études analysent la stabilité des réponses dans le temps, l'équivalence de résultats obtenues par 2 formes ou plus d'un instrument, ou l'interrelation des scores sur une échelle. Les études de généralisabilité permettent de planifier des études de décision qui auront une généralisabilité adéquate. Dans les études de décision, les données sont recueillies afin de prendre une décision. Elles permettent de décrire les groupes analysés, comparer leur résultats ou évaluer la relation entre diverses variables. Par exemple, un chercheur évalue 2 groupes d'étudiants venant de 2 écoles différentes avec un même test d'intelligence. Si le but de l'étude est de déterminer si le test est également valide dans les 2 groupes, il s'agit d'une étude de généralisabilité; si le but est plutôt de comparer le niveau d'intelligence moyen entre les 2 groupes grâce à ce test et d'en tirer des conclusions à propos des différences dans le système éducationnel, il s'agit d'une étude de décision.

Dans la théorie de généralisabilité, un ensemble de conditions de mesure est appelé facette. Il peut y avoir plusieurs facettes telles occasion de mesure, phénomène mesuré et examinateur. Les conditions sous lesquelles sont prises les mesures sont considérées comme représentantes d'un ensemble de conditions plus étendu. La population d'observations qui pourraient être prises dans toutes ces conditions s'appelle l'univers d'observations admissibles. Les résultats de l'étude de généralisabilité seront utiles seulement si l'univers des observations admissibles inclut l'univers de généralisabilité du chercheur.

Dans une étude de généralisabilité, le score univers d'un examiné est défini par la moyenne des scores de l'examiné, calculée sur toutes les observations admissibles dans l'univers de généralisation. L'observateur utilise le score observé, ou une fonction du score observé, pour estimer la valeur du score univers. Il généralise ainsi de l'échantillon à la population (178).

Le coefficient de généralisabilité est défini par le ratio de la variance du score univers (score vrai) sur la variance du score observé. Elle traduit le degré de corrélation entre le score observé et le score univers de l'individu. Plus cette corrélation est élevée, plus le score observé de l'individu ressemble à celui qu'il aurait obtenu s'il avait été soumis à l'ensemble des conditions de l'univers de généralisation.

Si un dispositif de mesure tel le LBA constitue un bon instrument, alors le score observé sera représentatif de la population des conditions de mesure et sa généralisabilité sera élevée. La généralisabilité du score dépend donc de la corrélation qui existe entre le score univers vrai et le score observé dans les mêmes conditions d'observation et de mesure.

Pour faire une étude de généralisabilité, il faut procéder à quatre étapes, selon Cardinet et Tourneur (178).

- 1) Plan d'observation: on procède au choix des facettes et du nombre de niveaux de chaque facette. On précise également les interrelations (nichage, croisement) entre ces facettes.
- 2) Plan d'estimation: on détermine quelles facettes représentent un ensemble de niveaux fini ou infini et quelles facettes sont échantillonnées de façon aléatoire ou exhaustive (effet fixe).
- 3) Plan de mesure: on identifie quelles facettes sont liées au projet de mesure (facettes de différenciation) et quelles facettes sont considérées comme sources d'erreur de mesure (facettes d'instrumentation). Les composantes de variance calculées peuvent être attribuées à la variance vraie ou à la variance d'erreur, permettant ainsi le calcul du coefficient de généralisabilité et le calcul de marges d'erreur applicables aux scores observés.
- 4) Plan d'optimisation: cette phase consiste à modifier soit le plan d'observation, soit le plan d'estimation, soit le plan de mesure ou encore une combinaison des trois afin de maximiser la généralisabilité des observations. Il s'agit de trouver un équilibre entre précision de la mesure et étendue de l'univers de généralisation.

Le procédé en étapes pour notre étude est le suivant:

- 1) Plan d'observation:

Dans notre étude il y a 2 facettes: l'occasion (2 LBA) et le phénomène mesuré (bactérie). L'opérateur est toujours le même.

Dans notre cas, les facettes sont croisées car chaque condition de mesure pour la première facette est combinée à chaque condition de mesure pour la deuxième facette (chaque bactérie et chaque LBA peuvent être combinés).

Les composantes de variance pour ce design à 2 facettes seront:

- variance due au patient: σ_p^2
- variance due au LBA (facette i): σ_i^2
- variance due à la bactérie (facette j): σ_j^2
- variance due à l'interaction du patient avec LBA: σ_{pi}^2
- variance due à l'interaction du patient avec la bactérie: σ_{pj}^2
- variance due à l'interaction du LBA avec la bactérie: σ_{ij}^2
- variance résiduelle (patient x LBA x bactérie): σ_e^2

Les composantes de variance nous fournissent des informations importantes car elles nous indiquent quelles facettes sont responsables de la plus grande partie de la variance.

La définition de variance de score observé dépend du design de l'étude. Il s'agit ici d'un design de type 1 car les facettes sont croisées entre elles et avec les examinés (patients). Chaque condition de la facette i (occasion) se produit en combinaison avec chaque condition de la facette j (bactérie), et chaque patient est exposé à toutes les combinaisons de conditions. Ce design est défini par Cronbach et al. par $(p \times i \times j)$, où p représente les examinés (patients), i représente la condition de la facette i (occasion/LBA), j représente la condition de la facette j (bactérie) et X pour le croisé. Donc $(p \times i \times j)$ indique que les patients, occasions et bactéries sont tous croisés (figure 10).

2) Plan d'estimation:

Dans cette l'étude, l'univers est de type 1 puisque les 2 facettes sont aléatoires, c'est-à-dire qu'elles ne seront pas exactement les mêmes pour l'univers de généralisation et l'ensemble de mesures obtenues. Elles réfèrent à un ensemble de conditions plus extensif dans le cas de l'univers de généralisation.

3) Plan de mesure:

Dans un design 1, le score observé est la moyenne de n'_i n'_j observations, et la variance du score observé est:

$$\sigma_p^2 + (1/n'_i) \sigma_{pi}^2 + (1/n'_j) \sigma_{pj}^2 + (1/n'_i n'_j) \sigma_e^2$$

Le processus hypothétique qui consiste à mesurer un examiné sous toutes les conditions dans l'univers de généralisation puis de faire la moyenne de ces mesures produit le score univers. Le degré de généralisation de ces mesures obtenues (degré auquel ces mesures se

généralisent au score univers) pour un groupe d'examinés peut être quantifié soit par un coefficient de généralisabilité ou soit la variance d'erreur. Le coefficient de généralisabilité le plus commun est le ratio de la variance du score univers sur la variance du score observé. La variance du score univers est déterminé par l'univers de généralisation et la variance de score observé est déterminé par le design utilisé pour recueillir l'ensemble des mesures. La formulation du coefficient de généralisabilité approprié dépend de l'univers de généralisabilité et du design de l'étude. Dans notre cas (univers1, design1) le coefficient de généralisabilité est défini par:

$$\frac{\sigma_p^2}{\sigma_p^2 + (1/n'i) \sigma_{pi}^2 + (1/n'j) \sigma_{pj}^2 + (1/n'in'j) \sigma_e^2}$$

4) Plan d'optimisation:

Dans notre étude, la composante de la variance associée à l'interaction personne × bactérie est élevée car un individu qui a beaucoup d'un certain type de bactérie n'en a pas forcément beaucoup d'un autre type. Cette composante serait faible si, chez un individu donné, toutes les bactéries étaient présentes avec la même concentration, ce qui est pratiquement impossible. Chaque patient a un profil bactérien spécifique, qui est probablement un reflet de la colonisation propre de ses voies aériennes. Ainsi, chaque profil d'interaction (patient × bactérie) est indépendant des autres et constitue en lui-même un profil de pneumonie. Il peut y avoir plusieurs profils de bactéries et tous ces profils constituent une pneumonie. Puisque ce que nous cherchons est la réplique d'un profil de pneumonie, mais pas nécessairement toujours le même profil de bactéries pour chaque patient (interaction patient × bactérie), on peut ajouter à l'univers de généralisation cette interaction patient × bactérie. Pour cette raison, le plan de mesure a été modifié en ajoutant au numérateur la composante de la variance associée à l'interaction personne × bactérie. Ainsi, tous les profils bactériens sont inclus dans l'univers de généralisation. La nouvelle équation se formule ainsi:

$$\frac{\sigma_p^2 + (1/n'j) \sigma_{pj}^2}{\sigma_p^2 + (1/n'i) \sigma_{pi}^2 + (1/n'j) \sigma_{pj}^2 + (1/n'in'j) \sigma_e^2}$$

Le modèle pour notre étude de généralisabilité comprend les facteurs aléatoires suivants:

- patients (30)
- LBA ou occasion (2)
- bactérie (13)

En tenant compte des interactions entre les 3 facteurs, on retrouve un modèle contenant 7 effets:

- patients
- LBA
- bactérie
- patient X LBA
- patient X bactérie
- LBA X bactérie
- personne X LBA X bactérie

Dans notre étude, la décomposition de la variance et le coefficient de généralisabilité ont été calculés pour l'index bactérien.

5.2.2.2.3 Test T de Student apparié

Ce test est utilisé pour comparer différentes données continues entre les deux groupes de LBA (polymormonucléaires, données démographiques, etc.) Il est utilisé pour des données avec distribution normale et lorsque l'on compare des données venant du même sujet, à deux reprises différentes. Il permet de voir s'il y a une différence significative (rejet de l'hypothèse nulle) entre les données des deux groupes de LBA.

5.2.2.2.4 Test de Wilcoxon

Le test de Wilcoxon permet de voir s'il y a différence significative entre les deux groupes de LBA pour des valeurs continues qui n'ont pas une distribution normale. Il compare des données obtenues chez les mêmes sujets, à deux reprises différentes. Ce test est utilisé pour comparaison des différents indices bactériens (index bactérien, index de l'espèce prédominante, somme du nombre précis de bactéries) entre 2 LBA, ainsi que pour la comparaison de divers données (liquide injecté, liquide aspiré, cellularité, etc.)

5.2.2.2.5 Corrélation de Bland et Altman

Cette méthode permet d'évaluer de façon indépendante la concordance et la corrélation entre deux tests (179). Elle se rapporte sous forme de diagramme et s'évalue grâce à des coefficients de corrélation. Elle permet de :

- 1) mesurer la différence entre les 2 tests (moyenne des différences entre les tests \pm écart-type)
- 3) vérifier si la différence entre les 2 tests est cliniquement significative (coefficient de corrélation)
- 4) vérifier si la concordance demeure bonne tout au long de l'étendue des résultats du test (diagramme de Bland et Altman)
- 5) vérifier s'il existe une relation entre la différence moyenne entre les tests et le résultat moyen du test

Ainsi, une courbe de corrélation est faite et le coefficient de corrélation (r) est calculé. Plus le coefficient de corrélation se rapproche de 1, plus la corrélation est bonne. Dans un second temps, un diagramme de dispersion est fait en comparant la différence moyenne entre les 2 LBA et le résultat moyen des 2 LBA. La différence moyenne (Δm) et l'écart-type de la différence (ET) entre les 2 LBA est calculée. La différence moyenne devrait se situer le plus possible de zéro car le même test est utilisé dans les 2 LBA. Les limites de concordance sont ensuite calculées en utilisant la formule suivante :

$$\Delta m - 2 \text{ ET}$$

et

$$\Delta m + 2 \text{ ET}$$

La corrélation de Bland et Altman est utilisée ici pour comparer les résultats d'index bactérien et d'index d'espèce prédominante pour les 2 LBA.

5.2.3 Analyse de la valeur diagnostique du LBA

Tel que mentionné auparavant, la valeur diagnostique du LBA sera évaluée par rapport à l'avis d'experts, considéré ici comme étalon de référence. Ainsi, les résultats de cultures quantitatives à différents seuils bactériens, de l'index bactérien, de la présence de PMN contenant des bactéries et de la coloration de Gram seront évalués en utilisant la sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive (VPP), valeur prédictive négative (VPN) et valeur

globale, par rapport à notre étalon de référence. Ces valeurs sont calculées de la façon suivante (figure 11) :

$$\text{sensibilité} = \text{vrais positifs} / (\text{vrais positifs} + \text{faux négatifs})$$

$$\text{spécificité} = \text{vrais négatifs} / (\text{faux positifs} + \text{vrais négatifs})$$

$$\text{VPP} = \text{vrais positifs} / (\text{vrais positifs} + \text{faux positifs})$$

$$\text{VPN} = \text{vrais négatifs} / (\text{vrais négatifs} + \text{faux négatifs})$$

$$\text{valeur globale} = \frac{(\text{vrais positifs} + \text{vrais négatifs})}{(\text{vrais positifs} + \text{faux négatifs} + \text{faux positifs} + \text{vrais négatifs})}$$

5.2.4 Considérations statistiques

Le seuil de signification est fixé à 5% ($p < 0,05$; test bilatéral).

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type, (médiane; étendue).

Les intervalle de confiance, lorsque rapportés, sont calculés à 95%.

5.3 RÉSULTATS

Dans cette section, nous discuterons des divers résultats obtenus lors de cette étude : données démographiques, données sur les LBA, données bactériologiques et données sur la reproductibilité.

5.3.1 Données démographiques

Trente-trois patients ont été inclus dans l'étude. Deux patients ont été exclus pour une instabilité hémodynamique qui a empêché de faire le deuxième LBA. Un autre patient a été exclu a posteriori parce qu'un des échantillons a été perdu.

Les données démographiques des patients sont présentées dans le tableau 8. Sur les 30 patients, 16 étaient de sexe masculin et 14 de sexe féminin. L'âge moyen était 52 ± 53 mois (médiane: 34, étendue: 1-177) et le score de PRISM moyen à l'admission était 12 ± 7 (12, 0-31). Le diagnostic primaire était un trauma chez 6 patients, un SDRA chez 5 patients, brûlures sévères chez 4 patients, insuffisance cardiaque chez 3 patients et bronchiolite chez 3 patients. Un état post-opératoire, une maladie métabolique et une infection bactérienne grave étaient la maladie primaire chez 2 patients chacun; des diagnostics divers étaient retrouvés chez les 6 derniers patients. Dix patients (33%) présentaient un syndrome de

dysfonction multiviscérale (SDMV) le jour de leur entrée dans l'étude. Vingt et un patients (70%) étaient déjà sous antibiothérapie lorsque les LBA ont été faits; la durée de l'antibiothérapie était en moyenne 4 ± 5 jours (3; 0,5-26). La durée entre l'admission aux soins intensifs et l'entrée dans l'étude était de 18 ± 39 jours (5; 2-180). La durée de séjour aux SIP était de $46,5 \pm 74,6$ jours (23; 5-350) et la durée de la ventilation mécanique de $38,2 \pm 69,3$ jours (20; 3-345).

5.3.2 Données sur les LBA

Un total de 60 LBA (30 patients) ont été analysés. Tous les échantillons de sécrétions bronchoalvéolaires étaient adéquats (< de 10 cellules épithéliales squameuse par champ). Le cathéter utilisé était de 45 cm dans 18 LBA et de 75 cm dans 42 LBA. Un cathéter de même dimension a été utilisé pour les 2 LBA chez 28 patients. Dans 2 cas, le cathéter utilisé était de 45 cm pour le premier LBA et de 75 cm pour le deuxième LBA.

Rappelons qu'il y a eu trois passages par LBA et les trois aliquots recueillis ont été mélangés ensemble pour l'analyse des résultats. Le volume moyen total injecté (trois aliquots) durant le premier LBA était de $20,2 \pm 13,6$ ml et durant le deuxième LBA était de $18,8 \pm 12,0$ ml. Il n'y avait pas de différence significative entre les 2 LBA pour le volume total injecté (test Wilcoxon : $p=0,49$). Le volume moyen total aspiré (trois aliquots) était aussi similaire entre les 2 LBA ($6,0 \pm 3,6$ vs $5,4 \pm 2,7$; test Wilcoxon : $p=0,42$). Le pourcentage de liquide total aspiré/liquide total injecté a aussi été évalué et était approprié pour tous les LBA. Il n'y avait pas de différence entre le rapport liquide aspiré/liquide injecté entre les deux groupes de LBA (LBA#1: $32\% \pm 11\%$; LBA#2: $34\% \pm 20\%$; test Wilcoxon : $p=0,91$).

La cellularité des 2 LBA a été évaluée (LBA #1: $3145 \pm 6878 \times 10^6/L$; LBA #2: $2237 \pm 4737 \times 10^6/L$) et il n'y avait pas de différence significative entre les deux LBA (test Wilcoxon; $p=0,11$). Le pourcentage de neutrophiles sur la différentielle a aussi été évalué dans les 2 LBA (LBA #1: $65,3 \pm 23,9\%$; LBA #2: $64,2 \pm 25,7\%$) et il n'y avait pas de différence significative entre les 2 LBA (test T apparié; $p=0,31$). Finalement, la description du liquide recueilli (présence de sang, turbidité, présence de particules, couleur, viscosité) était aussi semblable entre les 2 échantillons dans chaque paire de LBA.

5.3.3 Données bactériologiques

Les résultats des cultures bactériennes quantitatives sont exprimés en \log_{10} CFU/ml et sont exposés dans le tableau 9. Il y a eu pousse bactérienne dans 26/60 LBA (43%). Treize espèces bactériennes ont été retrouvées. Il y avait plus d'une espèce bactérienne dans 17 LBA.

Le nombre précis total de bactéries (en CFU/ml) est exposé dans le tableau 10. La moyenne du nombre total de colonies bactériennes pour le LBA #1 ($458\,164 \pm 1\,325\,883$) et le LBA #2 ($221\,607 \pm 332\,010$) était similaire (test Wilcoxon : $p=0,49$; détails en annexe 4.3.3).

5.3.4 Données sur la reproductibilité

Nous examinons ici la reproductibilité selon les critères primaires et secondaires évalués: cultures bactériennes (présence, nombre, type), cytologie (PMN contenant des bactéries, coloration de Gram), reproductibilité selon divers seuils bactériens et reproductibilité selon divers facteurs confondants.

5.3.4.1 Cultures bactériennes

La reproductibilité des résultats des cultures est évaluée en comparant les variables définies plus haut:

5.3.4.1.1 Critère d'évaluation primaire: présence de bactéries

La présence ou l'absence de germes dans chacun des LBA est comparée pour chaque patient. Un seuil de surveillance de 10^2 CFU/ml a été utilisé. Tous les LBA stériles sont inclus dans l'analyse, en considérant les bactéries absentes (= 0).

Les résultats démontrent un pourcentage de concordance de 93,3% et un score kappa de 0,87 (IC 95%: 0,69-1,04) pour la présence de bactéries entre les 2 LBA (tableau 11).

L'analyse à l'aide du test de Chi carré de McNemar démontre l'absence de biais systématique ($p = 0,15$).

5.3.4.1.2 Critères d'évaluation secondaires

5.3.4.1.2.1 *Nombre de bactéries isolées*

Dans cette section nous évaluons la reproductibilité du nombre de bactéries isolées selon divers indices : 1) chaque espèce bactérienne; 2) index bactérien; 3) index d'espèce prédominante.

Pour chaque indice, divers analyses sont faites : pourcentage de concordance, score Kappa, test de Wilcoxon, coefficient de corrélation intraclasse (CCI), coefficient de généralisabilité et corrélation de Bland Altman.

5.3.4.1.2.1.1 *Chaque espèce bactérienne*

Chaque paire de LBA est évaluée en tenant compte de chaque espèce bactérienne présente. Quatorze patients ont présenté une pousse bactérienne dans au moins un LBA (tableau 12). Si l'on considère ces 14 paires de LBA et que l'on évalue le pourcentage de concordance total pour le nombre de bactéries isolées, on obtient un pourcentage de concordance de 78% (concordance complète 7/14 ou 50%; concordance partielle 4/14 ou 28%; voir tableau 13). Ceci signifie qu'il y a une bonne reproductibilité entre les 2 LBA pour le nombre de bactéries isolées.

5.3.4.1.2.1.2 *Index bactérien*

L'index bactérien, composé de la somme des \log_{10} CFU/ml de toutes les bactéries présentes dans chaque LBA, a été calculé dans tous les cas (tableau 14). L'index bactérien est > 0 dans 26 LBA.

Coefficient de généralisabilité

La variation totale observée est décomposée de manière à pouvoir évaluer la contribution de chaque effet par rapport à la variation totale. Les différentes composantes de variance pour notre étude de généralisabilité sont les suivantes:

composante	estimé
var (patient): σ_p^2	0.02365164 (3.03%)
var (LBA): σ_i^2	0.00057131 (0.07%)
var (bactérie): σ_j^2	0.01027110 (1.32%)
var (patient \times LBA): σ_{pi}^2	0.00664604 (0.85%)
var (patient \times bactérie): σ_{pj}^2	0.63258179 (81.11%)
var (LBA \times bactérie): σ_{ij}^2	0.00000000 (0.00%)
var (patient \times LBA \times bactérie): σ_e^2	0.10617448 (13.61%)

Ces résultats nous démontrent que l'interaction patient \times bactérie est responsable de la plus grande partie de la variance. C'est en fait ce que nous attendions puisque chaque individu est colonisé avec sa propre flore bactérienne et sera infecté par des bactéries qui seront différentes des bactéries chez les autres patients. Par ailleurs, la variance associée à l'interaction LBA \times patient est très petite et celle associée à l'interaction LBA \times bactérie est nulle. Ceci suggère qu'il n'y a pas beaucoup de variation due à notre instrument de mesure, le LBA, et va dans le sens d'un outil reproductible.

Le coefficient de généralisabilité pour notre modèle est calculé à 0.91, ce qui démontre une excellente reproductibilité de l'index bactérien entre les deux LBA (voir annexe 4.1 pour détails).

Coefficient de corrélation intraclasse

Le coefficient de corrélation intraclasse a été utilisé selon le modèle décrit plus haut et a été calculé à 0,82 (voir annexe 4.2.1 pour détails). Les composantes de la variance sont les suivantes:

Composante de la variance

Var (LBA)	0.09655172
Var (patient)	12.22068966
Var (patient X LBA)	2.500344828

Ceci démontre encore une fois que la variation due à notre instrument (LBA) est petite et qu'il y a une excellente reproductibilité pour l'index bactérien.

Test de Wilcoxon

Il n'y a pas de différence significative entre l'index bactérien du LBA #1 et le LBA #2 selon le test de Wilcoxon ($p=0,21$). Par ailleurs, on note que le LBA #1 a tendance à donner des index bactériens plus faibles que le LBA #2 (voir annexe 4.3.1 pour détails). Ceci est dû au 2 LBA discordants (dans ces 2 cas le premier LBA était négatif et le deuxième était positif).

Corrélation de Bland Altman

Le coefficient de corrélation (r) entre les deux LBA pour l'index bactérien est calculé à 0,833 ($p < 0,0001$; IC 95% : 0,675; 0,918). Cette corrélation est représentée à la figure 12. Le diagramme de Bland Altman (figure 13) démontre que la concordance demeure bonne tout au long de l'étendue des résultats du test. La différence moyenne (-0,6) est très près de

zéro. Les limites de concordance (-5,076 et +3,876) sont larges mais la plupart des points se retrouvent près de zéro. Il existe donc une variation dans les différences, mais elle est la plupart du temps assez petite.

Ainsi, l'index bactérien entre les 2 LBA montre une très bonne reproductibilité, quel que soit l'analyse utilisée.

5.3.4.1.2.1.3 *Index d'espèce prédominante*

L'index d'espèce prédominante est calculé en utilisant le \log_{10} CFU/ml de la bactérie qui est présente en plus grande quantité dans le LBA. L'index d'espèce prédominante a été calculé pour chacun des LBA et est > 0 dans 26 LBA (tableau 12). On peut aussi comparer cet index dans chaque paire de LBA pour évaluer la reproductibilité du nombre de bactéries.

Coefficient de corrélation intraclasse

Le coefficient de corrélation intraclasse a été utilisé selon le modèle décrit plus haut et a été calculé à 0,82 (voir annexe 4.2.2 pour détails). Les composantes de la variance sont les suivantes:

Composante de la variance

Var (LBA)	0.08390805
Var (patient)	3.82528736
Var (patient X LBA)	0.74942529

Ceci démontre que la variation due à notre instrument (LBA) est petite et qu'il y a une excellente reproductibilité pour l'index d'espèce prédominante.

Test de Wilcoxon

Il n'y a pas de différence significative entre les deux groupes de LBA pour l'index d'espèce prédominante ($p=0,06$). Par ailleurs, on note encore que le LBA #1 a tendance à donner des indices plus faibles que le LBA #2 (voir annexe 4.3.2 pour détails). Ceci est dû au 2 LBA discordants (dans ces 2 cas le premier LBA était négatif et le deuxième était positif).

Corrélation de Bland Altman

Le coefficient de corrélation entre les deux LBA pour l'index d'espèce prédominante est calculé à 0,842 ($p < 0,0001$: IC 95% : 0,691 ; 0,922). Cette corrélation est représentée à la figure 14. Le diagramme de Bland Altman (figure 15) démontre que la concordance demeure assez bonne tout au long de l'étendue des résultats du test. La différence moyenne (-0,467) est, encore ici, très près de zéro. Les limites de concordance (-2,915 et +1,981) sont étroites, ce qui démontre une petite variation dans les différences.

Ainsi, la reproductibilité de l'index d'espèce prédominante entre les 2 LBA est aussi très bonne, quel que soit l'analyse utilisée.

On peut donc conclure que la reproductibilité pour le nombre de bactéries (quantitative) est bonne entre les 2 LBA. L'index bactérien et l'index d'espèce prédominante donnent des résultats similaires. Dans 24/26 paires de LBA avec pousse bactérienne, le nombre de bactéries entre les 2 LBA est très semblable (les différences retrouvées sont dues en grande partie à 2 paires de LBA discordants : négatif / positif). Ainsi, le LBA est reproductible pour le nombre de bactéries lorsqu'il est stérile mais aussi lorsqu'il y a pousse bactérienne.

5.3.4.1.2.2 *Type de bactéries isolées*

Dans chaque LBA on peut retrouver un ou plusieurs types de bactéries (tableau 12). Pour savoir si le LBA est reproductible, il faut aussi savoir si le type de bactéries retrouvé est le même dans les deux LBA. Nous avons comparé chaque paire de LBA et analysé la concordance selon le/les types de bactéries retrouvés (tableau 13). Il y a concordance complète lorsque les 2 LBA présentent exactement toutes les mêmes espèces bactériennes et concordance partielle lorsque au moins un des types de bactéries se retrouve dans les 2 LBA.

Si l'on prend les patients chez qui il y a eu pousse bactérienne dans au moins un LBA et que l'on évalue toutes les espèces bactériennes présentes dans les 2 LBA, le pourcentage de concordance totale est de 85% (concordance complète chez 10/14 = 71% et concordance partielle chez 2/14 = 14%). Il y a discordance chez 2 patients (un LBA positif et un LBA négatif). Si l'on considère seulement l'espèce prédominante, le pourcentage de concordance complète est de 85% (12/14) et les seules discordances sont chez les 2 patients ne présentant une pousse bactérienne que dans un seul LBA.

La reproductibilité pour le type de bactéries (qualitative) est donc très bonne entre les 2 LBA. Ainsi, les germes, quoique très différents d'un patient à l'autre, sont toujours les mêmes entre les 2 LBA d'un même patient. C'est donc dire qu'il y a eu peu de contamination par la flore oropharyngée (sauf peut-être pour les 2 paires de LBA discordants) et que les mêmes bactéries ont été recueillies en utilisant un LBA non-dirigé. Ceci renforce l'hypothèse que le LBA non-bronchoscopique protégé peut s'avérer un outil fiable en soins intensifs pédiatriques.

5.3.4.2 Cytologie

5.3.4.2.1 Polymorphonucléaires contenant des bactéries

La présence de PMN contenant des bactéries (ou bactéries intracellulaires) a été évaluée pour chaque LBA. Un résultat est considéré positif s'il y a présence de $\geq 1\%$ de PMN contenant des bactéries. Quatre patients ont présenté un résultat positif. Il y avait concordance parfaite (pourcentage de concordance = 100%; kappa = 1) entre les 2 LBA chez tous les patients (4 positif/positif et 26 négatif/négatif). La différence de pourcentage entre les 2 LBA était $<1\%$ dans 3/4 patients (voir tableau 14).

Les variabilités intra et inter-observateur de cette analyse ont été analysées. Chaque échantillon a été analysé par deux observateurs différents pour étudier la variabilité inter-observateur; les 2 observateurs ont retrouvé le même résultat dans 59/60 échantillons. Vingt échantillons pris au hasard ont été évalués à deux reprises par le même observateur (à 6 mois d'intervalle) pour étudier la variabilité intra-observateur; dans tous les cas l'observateur a retrouvé le même résultat.

Il semble donc que la reproductibilité de la présence de bactéries intracellulaires est excellente et qu'il y a peu de variabilité intra et inter-observateur. Par contre, il y a eu peu de résultats positifs et on ne peut pas généraliser ces résultats.

5.3.4.2.2 Coloration de Gram

La coloration de Gram a démontré la présence de bactéries dans 14 LBA (tableau 14). Il y avait concordance entre les 2 LBA dans 25 cas sur 29 (pourcentage de concordance = 83%, kappa = 0,62). Dans 5 cas les deux colorations de Gram démontraient la présence de bactéries et dans 20 cas elles ne démontraient pas de bactéries. Il y avait discordance entre

les 2 LBA chez 4 patients (3 négatif/positif; 1 positif/négatif). Dans les 5 cas avec résultats positifs concordants, le type de bactérie retrouvé au Gram était le même.

On peut donc dire encore ici que ce test est reproductible mais, encore une fois, il y a peu de résultats positifs.

Ainsi, la cytologie semble aussi reproductible que la microbiologie lors du LBA non-bronchoscopique protégé, mais les résultats de cytologie sont plus souvent négatifs, ce qui peut amener un biais qui nous empêche de tirer des conclusions.

5.3.4.3 Reproductibilité selon le seuil bactérien

La concordance pour la présence de bactérie entre les 2 LBA a été analysée par un score de Kappa et test de McNemar. L'analyse a été faite pour plusieurs seuils de positivité (de 10^2 à 10^5 CFU/ml) afin de retrouver le seuil associé à la meilleure reproductibilité.

L'analyse a été faite en utilisant l'index bactérien et l'index de l'espèce prédominante.

5.3.4.3.1 Index bactérien

	Mc Nemar	Kappa
- seuil $\geq 10^2$:	0,16	0,87 (IC 95%: 0.69-1.04)
- seuil $\geq 10^3$:	0,16	0,87 (IC 95%: 0.69-1.04)
- seuil $\geq 10^4$:	0,08	0,79 (IC 95%: 0.57-1.01)
- seuil $\geq 10^5$:	0,05	0,71 (IC 95%: 0.45-0.96)

(voir annexe 4.4 pour détails)

5.3.4.3.2 Index espèce prédominante

	Mc Nemar	Kappa
- seuil $\geq 10^2$	0,86	0,16 (IC 95%: 0,67-1,04)
- seuil $\geq 10^3$	0,78	0,08 (IC 95%: 0,56-1,01)
- seuil $\geq 10^4$	0,67	0,05 (IC 95%: 0,38-0,95)
- seuil $\geq 10^5$	0,67	0,08 (IC 95%: 0,34-1,01)

(voir annexe 4.5 pour détails)

Il semble donc que, pour l'index bactérien et l'index d'espèce prédominante, les seuils de 10^2 CFU/ml et 10^3 CFU/ml ont une meilleure reproductibilité (figure 16). Ainsi, même lorsque le seuil du test est bas (sensibilité élevée et spécificité abaissée) la reproductibilité est bonne. Ceci confirme l'hypothèse que la culture quantitative du LBA non-bronchoscopique protégé est un test reproductible même à des seuils très bas et donc lorsque toutes les bactéries, même en petite quantité, sont considérées.

5.3.4.4 Reproductibilité selon divers facteurs confondants

5.3.4.4.1 Présence d'antibiothérapie préalable

Dans la littérature, il semble que la présence d'antibiothérapie préalable puisse influencer la reproductibilité des cultures bactériennes de sécrétions respiratoires obtenues par LBA. Dans notre étude, les deux LBA sont faits simultanément (à 2 heures d'intervalle) chez le même patient. Ainsi, l'influence d'une certaine antibiothérapie devrait être la même pour les deux prélèvements.

Une stratification en fonction de l'administration préalable d'antibiotiques a été faite (tableau 11). Il y avait présence d'antibiothérapie au préalable chez 21/30 patients (70%). On a retrouvé beaucoup plus de LBA positifs chez les patients sans antibiothérapie (15/18 ou 83%) comparativement aux patients sous antibiothérapie (11/42 ou 26%). Cette différence était statistiquement significative ($p < 0,001$). Chez les patients avec antibiothérapie, le pourcentage de concordance pour la présence de bactéries était de 95% ($kappa = 0,88$); chez les patients sans antibiothérapie le pourcentage de concordance était de 89% ($kappa = 0,61$). Il n'y avait pas de différence significative entre les kappa des deux groupes (chi carré; $p = 0,46$). Le pourcentage de concordance pour le nombre de bactéries était similaire dans le groupe avec antibiothérapie vs le groupe sans antibiothérapie (83% vs 75%) de même que la concordance pour le type de bactéries (83% vs 88%) (tableau 13).

On peut donc dire que la concordance est bonne dans les 2 cas et que la présence d'antibiothérapie n'influence pas la reproductibilité du LBA. Par ailleurs, il y a plus de LBA stériles dans le groupe avec antibiothérapie préalable, ce qui peut laisser croire que certains résultats de LBA étaient stérilisés par la présence d'antibiothérapie.

5.3.4.4.2 Type de cathéter employé

Les patients inclus dans l'étude sont stratifiés en fonction de la dimension du cathéter Combicath™ utilisé: pédiatrique (longueur de 45 cm) chez les enfants de moins de 1 an,

adulte (75 cm) chez les enfants d'un an et plus. Cette stratification en fonction de la dimension des cathéters est justifiée par le fait que les résultats des cultures quantitatives pourraient différer lorsque le LBA est fait avec des cathéters dont la longueur diffère. Dans notre étude, les 2 LBA ont été faits avec un cathéter long chez 20 patients et un cathéter court chez 8 patients. Chez 2 patients le premier LBA a été fait avec un cathéter court et le deuxième avec un cathéter long. Dans ces 2 cas, les résultats des cultures bactériennes étaient concordants (1 positif/positif et 1 négatif/négatif).

Puisque 2 cathéters de longueur différente sont utilisés dans cette étude, nous avons voulu évaluer la reproductibilité des cultures bactériennes dans les 2 groupes: cathéter long et cathéter court. Théoriquement il ne devrait pas y avoir de différence mais nous voulions nous assurer qu'une discordance entre résultats ne pouvait pas être due à un type de cathéter. Le pourcentage de concordance pour la présence de bactéries dans le groupe avec cathéter long était de 90% (kappa = 0,80) et dans le groupe avec cathéter court de 100% (kappa = 1); il n'y avait pas de différence significative entre les kappas des deux groupes (chi carré: $p = 0,128$). Les pourcentage de concordance et les score kappa pour les différents sous-groupes sont présentés dans le tableau 11.

Parmi les LBA positifs, le pourcentage de concordance pour le nombre de bactéries était meilleure dans le groupe avec cathéter long (82% vs 50%); par contre, le pourcentage de concordance pour le type de bactéries était moins bon dans le groupe avec cathéter long (82% vs 100%) (tableau 13). Ces résultats sont difficiles à interpréter à cause du petit nombre de patients dans chaque groupe, mais il ne semble pas que la longueur du cathéter ait une influence sur la reproductibilité du LBA.

5.3.4.4.3 Pourcentage de volume de liquide aspiré

Bien que chaque LBA soit fait avec une quantité prédéfinie de liquide injecté, le liquide aspiré peut être différent d'un patient à l'autre à cause de la pathologie de base, de conditions techniques difficiles ou de particularités de l'hôte. Une différence entre les 2 LBA du pourcentage de liquide aspiré de plus de 10% pourrait suggérer des difficultés techniques et une discordance dans les résultats pourrait en découler. Nous avons évalué la reproductibilité de la pousse bactérienne en divisant les patients en 2 groupes: différence entre les 2 LBA du pourcentage de volume aspiré > 10% et différence du pourcentage de volume aspiré < 10%. Il y avait 7/30 patients (23%) chez qui une différence > 10% entre le pourcentage de volume aspiré des 2 LBA était présente. Le pourcentage de concordance pour la pousse bactérienne pour le groupe avec une différence > 10% était de 100% (kappa = 1) et pour le groupe avec une différence < 10% était de 91% (kappa = 0,83) (tableau 11).

Il n'y avait pas de différence significative entre les kappas des deux groupes (chi carré; $p = 0,133$). Parmi les LBA positifs, le pourcentage de concordance pour le nombre et le type de bactéries était parfait dans le groupe avec une différence de volume $> 10\%$ (100%). Par contre, dans le groupe avec différence de volume $< 10\%$ il était un peu moins bon puisque les 2 LBA discordants se retrouvent dans ce groupe. Le pourcentage de concordance pour le nombre de bactéries était de 75% et pour le type de bactéries était de 83% (tableau 13).. Ainsi, bien qu'il y ait de petites différences entre les résultats des 2 groupes, ce facteur ne semble pas influencer la reproductibilité du LBA non-bronchoscopique protégé.

5.3.4.4 Type de bactéries

La flore bactérienne respiratoire est constituée de plusieurs dizaines d'espèces de bactéries différentes. Toutes ces bactéries n'ont pas la même virulence. Certaines peuvent être présentes dans les voies respiratoires sans causer de symptôme ou de pneumonie. D'autres sont reconnues comme pathogènes et leur présence, même en petite quantité, signe quelque chose d'anormal. Certaines autres bactéries peuvent se retrouver au niveau des cultures par hasard et ne pas être dues à une pneumonie; on les appelle alors des contaminants (tableau 1). Il est parfois difficile de juger si une bactérie est un contaminant ou indique vraiment la présence d'une pneumonie. Les microbiologistes arrivent à diviser les bactéries, selon leur étiologie et le site de prélèvement en bactéries pathogènes ou non. Nous avons évalué les différents patients de notre étude en divisant les bactéries en 3 groupes: pathogènes reconnus (#1 à 6), pathogènes probables (#7 à 10) ou contaminants possible (# 12 à 13) (tableau 9). Si l'on ne considère que les pathogènes reconnus, le pourcentage de concordance pour la présence de bactéries est de 96,7% ($kappa = 0,92$). Si l'on considère les pathogènes reconnus et probables (excluant donc les contaminants possibles), le pourcentage de concordance pour la présence de bactéries est de 93,3% ($kappa = 0,86$) (tableau 11). Si l'on considère seulement les LBA avec pousse bactérienne, le pourcentage de concordance pour le nombre de bactérie est de 8/10 ou 80% dans le groupe de pathogènes reconnus et de 9/12 ou 75% dans le groupe pathogènes reconnus et probables. Le pourcentage de concordance pour le type de bactéries est de 9/10 ou 90% pour le groupe pathogènes reconnus et de 10/12 ou 83% pour le groupe pathogènes reconnus et probables (tableau 13).

Ainsi, les pourcentages de concordances sont similaires entre les deux groupes. Les contaminants ne semblent donc pas avoir d'influence sur la reproductibilité du LBA.

5.3.5 Complications associées au LBA

Toutes les complications associées au LBA ont été relevées lors de la procédure (tableau 15). Il y a eu 26 complications relevées lors du premier LBA et 15 relevées lors du deuxième LBA. Les complications les plus fréquentes étaient bénignes et transitoires et se sont résolues spontanément sans manœuvre thérapeutique:

- 1) chute de la $SaO_2 < 92\%$ (18 cas): la baisse variait de 5 à 10%; dans un cas il y a eu désaturation jusqu'à 60%
- 2) hémoptysie (9 cas) : présence de sang lors de l'aspiration endotrachéale subséquente, sans hémorragie pulmonaire ou persistance de saignement
- 3) élévation de la pression intracrânienne (7 cas): l'élévation était en moyenne de 10 mmHg et il y avait retour à la pression intracrânienne de base après la manœuvre en moins de 5 minutes
- 4) chute du rapport PaO_2/FiO_2 (1 cas): la patiente a été extubée le lendemain de la manœuvre
- 5) chute de la pression artérielle moyenne > 8 mmHg pendant quelques secondes (2 cas)
- 6) bradycardie transitoire à 65/min pendant quelques secondes (1 cas)
- 7) chute de la température de $>1^\circ C$ (1 cas)

Deux complications graves sont survenues: un patient de 1 mois de vie (3,5 kg) avec SDRA a présenté un pneumothorax lors du 2ème LBA et a nécessité un drainage thoracique; il a été extubé dans les 24 heures suivantes et n'a pas eu de séquelles. Un patient de 9 ans a présenté une aggravation importante de son hypertension intracrânienne et a dû être exclu de l'étude car il était trop instable pour subir le deuxième LBA.

Le nombre total de complications était significativement moins élevé (chi carré : $p < 0,05$) après le deuxième LBA (15/30) comparativement au premier LBA (26/30). Ceci peut suggérer que, lors du deuxième LBA, il y avait une meilleure connaissance du patient et de sa réaction à la manœuvre, amenant une adaptation de l'examineur durant la procédure.

Dans les 24 heures qui ont suivi les LBA il n'y a pas eu de complication importante (tableau 15). On note une nouvelle opacité radiologique chez 3 patients; 2 patients présentent une atelectasie transitoire et un patient avec brûlure d'inhalation présente un infiltrat suggérant un ARDS. On note une désaturation chez 4 patients et une chute du rapport PaO_2/FiO_2 chez 4 patients, qui semblent être en relation avec la maladie de base. Chez 13 patients, il y aura soit une hausse ou une baisse de la température de plus de $1^\circ C$ (mais ne dépassant pas $2^\circ C$).

5.3.6 Suivi des patients

Le suivi des patients (tableau 16) durant la période d'étude démontre une durée moyenne de ventilation post-LBA de $23,4 \pm 51,8$ jours (médiane: 10; étendue: 1-289). Il y a eu échec d'extubation et réintubation avec reprise de ventilation mécanique chez 4 patients. On dénote un SDRA chez 2 patients, une HGDS chez 2 patients et une SDMVs chez 8 patients. Un patient est décédé des séquelles d'une anoxie cérébrale sévère par aspiration de corps étranger. La durée du suivi des patients était de $25,6 \pm 51,8$ jours (12,5; 2-289) et la durée de séjour aux soins intensifs de $46,5 \pm 74,7$ jours (23; 5-350).

5.3.7 Impact du LBA sur le traitement

Il y a eu prescription d'antibiotique, changement d'antibiotiques ou arrêt d'antibiotiques après les LBA chez 21/30 patients (70%). Dans 6 cas, un changement de prescription s'est faite dans les 2 heures suivant le LBA; dans 12 cas, entre 2 heures et 72 heures après les LBA; dans 2 cas, plus de 72 heures après les LBA. Dans 2 cas il y a 2 changements de prescription durant la période suivant les LBA.

On constate donc qu'il existe une association entre les résultats de LBA et un changement au niveau du traitement antibiotique.

5.3.8 Valeur diagnostique du LBA

Nous avons demandé à trois experts indépendants de réviser les dossiers des 30 patients inclus dans l'étude (méthode Delphi). Étaient mis à leur disposition les notes d'évolution, les résultats de laboratoire, les rapports de radiologie et de pathologie, les paramètres cliniques (signes vitaux), les prescriptions médicales ainsi que les notes d'infirmières pour la période allant de 2 jours avant les LBA au lendemain des LBA (4 jours en tout). Les résultats des LBA n'étaient pas donnés.

Chaque expert devaient, après avoir lu le dossier, répondre à 2 questions:

1) y-a-t'il PNB ou TNB selon les critères du CDC?

Chaque expert devait cocher la présence ou l'absence de critères du CDC pour une PNB et une TNB selon le dossier. La réponse est donnée en fonction de ces critères seulement et il s'agit d'une réponse objective (voir questionnaire en annexe 5)

2) y-a-t'il PNB ou TNB selon votre jugement clinique?

Chaque expert devait répondre à cette question selon leur jugement, sans aucun critère au préalable. Il s'agit ici d'une réponse subjective. Ceci était considéré comme notre étalon de référence.

Les réponses des trois experts étaient compilées pour chaque patient. Une PNB ou TNB était considérée présente si au moins deux des trois experts la confirmaient. Lorsqu'il n'y avait pas consensus, un second tour était fait et les experts devaient se reprononcer. Si le consensus n'était pas atteint après le second tour, une rencontre entre les trois experts était organisée pour discuter ouvertement des cas non résolus.

Pour ce qui est du diagnostic selon les critères de CDC, il y a eu consensus au premier tour dans tous les cas (3/3 pour 19 patients; 2/3 pour 11 patients). Pour le diagnostic selon l'avis des experts, il y a eu consensus au premier tour pour 26 patients (3/3 pour 10 patients; 2/3 pour 16 patients). Il y a eu consensus au deuxième tour pour 3 patients (2/3 pour les 3 patients). Une rencontre entre les 3 experts a été nécessaire pour arriver à un consensus pour un patient.

Selon les critères du CDC, il y avait PNB chez 27/30 patients (90%), TNB chez 1/30 (3%) patients et absence de PNB ou TNB chez 2/30 patients (7%) (tableau 17).

Selon l'avis des experts, il y avait PNB chez 10/30 patients (33%), TNB chez 8/30 patients (27%) et absence de PNB ou TNB chez 12/30 patients (40%) (tableau 17).

Il y avait concordance entre le diagnostic par critère de CDC et le diagnostic selon l'avis des experts chez 12/30 patients (40%). On note donc une grande différence entre les 2 méthodes de diagnostic, avec un plus grand nombre de PNB diagnostiqué pas les critères de CDC.

Sur les 14 patients avec au moins un LBA positif, il y a eu 13 diagnostics de PNB et 1 diagnostic de TNB selon les critères de CDC. Selon l'avis des experts, il y avait 7 PNB, 4 TNB et 3 patients sans PNB ou TNB. Il y a concordance entre le diagnostic de PNB et la présence de bactéries sur le LBA chez 13/14 patients si l'on considère les critères de CDC et chez 7/14 patients si l'on considère l'avis des experts. Il y a concordance entre les critères de CDC, l'avis des experts et la présence de bactéries au LBA chez seulement 9/30 patients (7 avec PNB et 2 sans PNB ou TNB).

La valeur diagnostique LBA pour diagnostiquer une PNB a été évaluée selon les critères du CDC (tableau 18) et selon l'avis des experts (tableau 19). La valeur globale du LBA était meilleure selon l'avis des experts, considéré ici comme étalon de référence.

Selon l'avis des experts, une culture positive (seuil $\geq 10^2$ CFU/ml) suite à un LBA non-bronchoscopique protégé a une sensibilité de 70% et une spécificité de 65% (VPP: 50%; VPN: 81%). La valeur diagnostique des cultures bactériennes avec un seuil de 10^3 , 10^4 , 10^5 , ainsi que des PMN contenant des bactéries, de la coloration de Gram, d'un index bactérien ≥ 5 , des critères du CDC et des cultures de sécrétions endotrachéales ont aussi été évalués (tableau 19). Les meilleurs résultats sont obtenus avec l'index bactérien ≥ 5 et les cultures bactériennes (seuil de 10^2 et 10^3 CFU/ml). La coloration de Gram, les PMN contenant des bactéries et les cultures avec seuil $\geq 10^4$ ont une bonne spécificité (80 à 95%) mais sont peu sensibles (30 à 50%). Les critères du CDC et les cultures de sécrétions endotrachéales sont très sensibles (100% et 90% respectivement) mais peu spécifiques (15% et 40%).

La présence de pousse bactérienne sur les sécrétions endotrachéales a aussi été évaluée (tableau 20). Il y avait présence de bactéries chez 21/30 patients (70%). Selon les critères du CDC, il y avait dans ce groupe 20 PNB et 1 TNB. Selon l'avis des experts, il y avait 9 PNB, 7 TNB et 5 patients sans infection. De ces 21 patients avec sécrétions endotrachéales positives, 12 ont présenté un LBA positif (57%). Il y a donc 9 patients (43%) qui ont des bactéries au niveau de la trachée sans en avoir au niveau alvéolaire. Par ailleurs, si on considère seulement les patients avec LBA positif, 12/14 (86%) ont présenté une pousse bactérienne au niveau de la trachée. Dans tous les cas sauf un il s'agissait des mêmes bactéries dans le LBA et les sécrétions endotrachéales. Ceci démontre que, lorsqu'il y a PNB, les sécrétions endotrachéales reflètent bien l'agent microbien en cause. Cependant, la présence de sécrétions endotrachéales ne signe pas nécessairement une PNB et peut être le reflet d'une trachéite ou d'une contamination. La présence de bactéries dans les sécrétions endotrachéales constitue donc un test sensible mais peu spécifique pour diagnostiquer une PNB (sensibilité: 90%; spécificité: 40%; VPP: 43%; VPN: 89% selon l'avis des experts).

En conclusion, la meilleure méthode de diagnostic d'une PNB serait sûrement de combiner plus d'un test; ainsi on pourrait utiliser tout d'abord un test très sensible (critères CDC) et ensuite procéder chez ces patients à un test plus spécifique (cultures bactériennes de LBA). Il s'agirait donc de combiner un test de dépistage avec un test de confirmation.

Bien sûr, la valeur diagnostique du LBA non-bronchoscopique protégé devrait être évaluée en utilisant l'étalon de référence idéal pour les PNB, c'est-à-dire l'autopsie. En effet, notre étalon de référence, bien que le meilleur disponible pour cette étude, n'est pas parfait. Les réponses des experts sont subjectives et peuvent être erronées. Ceci pourrait sous-estimer ou surestimer la valeur diagnostique du LBA telle que présentée dans cette étude.

5.3.9 Faisabilité du LBA

Deux patients ont dû être exclus de l'étude car ils étaient trop instables pour subir le deuxième LBA (hypertension intracrânienne; instabilité hémodynamique). Par ailleurs, pour tous les LBA effectués, l'échantillon était adéquat et il n'y a eu aucun problème technique. La dimension du cathéter, la quantité de volume injecté et aspiré ainsi que la technique de culture et de frottis en laboratoire étaient adéquats. Cette technique est donc considérée comme facilement faisable dans la population pédiatrique.

6. DISCUSSION

6.1 POURQUOI FAIRE UN LAVAGE BRONCHOALVÉOLAIRE NON-BRONCHOSCOPIQUE PROTÉGÉ?

Les pneumonies nosocomiales bactériennes chez les enfants intubés sont difficiles à diagnostiquer cliniquement et l'utilisation de méthodes plus invasives de culture de sécrétions bronchiques peut être inconfortable pour le patient, voire même dangereux.

Le LBA non-bronchoscopique protégé comporte plusieurs avantages non négligeables qui en font un outil intéressant en soins intensifs pédiatriques:

- 1) il permet de prélever un échantillon représentatif de toute une région alvéolaire
- 2) il permet d'éviter une contamination par la flore oropharyngée grâce à son cathéter protégé par un bouchon intégré
- 3) le cathéter est de calibre adéquat pour passer à travers une sonde endotrachéale de petit calibre (< 4.5) et est donc utilisable chez le nouveau-né; il est aussi disponible en 2 longueurs différentes, ce qui permet une meilleure adaptation pour les enfants de moins de 1 an
- 4) la technique est facile à appliquer et peut être effectuée au chevet du patient, sans bronchoscopie
- 5) la technique est moins coûteuse que les autres techniques avec bronchoscopie ou brosse télescopique protégée
- 6) la technique est sécuritaire et les complications sont rares

Par ailleurs, le LBA non-bronchoscopique protégé est une technique qui est faite à l'aveugle et qui n'a jamais été évaluée dans la population pédiatrique quant à sa reproductibilité et sa validité par rapport à l'autopsie.

6.2 REPRODUCTIBILITÉ

Cultures bactériennes

L'objectif de cette étude était d'évaluer la reproductibilité des résultats de sécrétions bronchiques obtenues par un LBA non-bronchoscopique protégé. Cette étude démontre que la reproductibilité est excellente pour la présence de bactéries (pourcentage de concordance : 93%; kappa; 0,87). Elle est très bonne pour le type de bactéries (pourcentage de concordance : 85%) et bonne pour le nombre de bactéries (pourcentage de concordance : 78%).

La reproductibilité de l'index bactérien et de l'index d'espèce prédominante était très bonne et était semblable (CCI= 0,82 dans les 2 cas). Ceci prouve que le LBA est reproductible lorsque l'on considère toutes les bactéries présentes (même celles en petites quantités) aussi bien que lorsque l'on ne considère que les bactéries en quantité prédominante.

Il n'y a aucune étude dans la littérature sur la reproductibilité du LBA non-bronchoscopique protégé à laquelle nous pourrions comparer nos résultats. Des études chez l'adulte sur la reproductibilité du LBA bronchoscopique non-protégé et de la BTP ont démontré une reproductibilité qualitative (type de bactéries) meilleure que la reproductibilité quantitative (nombre de bactéries) (75, 140).

Notre étude a démontré un taux acceptable de LBA positifs (26/60) et il y a eu discordance pour la présence de bactéries dans seulement deux cas. Le type de bactéries retrouvées était le même dans les deux LBA dans la plupart des cas. Le nombre de bactéries (log 10 CFU/ml) était moins reproductible; ceci ne semble pas être dû à un phénomène technique ou de l'hôte. Divers facteurs tels le type de cathéter utilisé, la présence d'antibiothérapie au préalable, la quantité de volume aspiré et le type de bactéries retrouvées ne semble pas non plus être en cause puisque dans tous les cas, la concordance était semblable. Il faut donc se demander si la précision des cultures quantitatives est assez bonne pour rechercher une si petite différence entre les résultats. En effet, la reproductibilité des cultures quantitatives in vitro pour évaluer la variabilité du test lui-même n'a pas pu être fait. Il se pourrait que le test comporte lui-même sa propre variabilité et qu'il influence nos résultats.

PMN contenant des bactéries

La présence de PMN contenant des bactéries est un outil diagnostique qui semble très reproductible (pourcentage de concordance: 100%; kappa : 1), mais peu de patients ont démontré un test positif. Par ailleurs, il n'y avait pas de variabilité intra ou inter-observateur. Selon l'avis des experts, c'est un test très spécifique (95%) mais peu sensible (30%). Il serait justifié de l'utiliser comme test complémentaire à un autre test plus sensible, tels les critères cliniques, mais il faut interpréter avec prudence un résultat négatif.

Seuils bactériens

La reproductibilité était meilleure avec un seuil bactérien de 10^2 et 10^3 CFU/ml (kappa = 0,87) et semble moins bonne avec des seuils plus élevés. Dans la littérature, le seuil de 10^3 CFU/ml est utilisé pour la BTP (75) mais un seuil de 10^4 CFU/ml est utilisé pour le LBA. L'étude de Gerbeaux et al. sur la reproductibilité du LBA bronchoscopique non-protégé est faite avec un seuil de 10^4 CFU/ml (140). Nos résultats semblent meilleurs avec un seuil de 10^3 ; ceci peut être dû au fait que nous utilisons un cathéter protégé, ce qui peut éliminer la

contamination par la flore oropharyngée et donc abaisser le seuil de bactéries nécessaires pour diagnostiquer une PNB.

6.3 VALEUR DIAGNOSTIQUE

L'utilisation du LBA non-bronchoscopique protégé a été étudiée une seule fois chez l'enfant (125). Dans cette étude effectuée sur 103 enfants intubés et ventilés, la sensibilité et la spécificité du LBA avec un seuil de culture de 10^2 CFU/ml étaient de 86% et 70% respectivement. La culture des sécrétions endotrachéales s'est avérée très sensible (93%) mais peu spécifique (41%), alors que la présence de PMN contenant des bactéries était un test spécifique (89%) mais moins sensible (55%).

L'objectif primaire de notre étude était de vérifier la reproductibilité du LBA non-bronchoscopique protégé. Nous nous sommes quand même permis d'évaluer la valeur diagnostique de cet outil en prenant l'avis de 3 experts indépendants comme étalon de référence. Ces experts se fiaient aux données cliniques et paracliniques des patients. Ceci n'est pas idéal et la validité du LBA non-bronchoscopique protégé devrait être évaluée avec l'autopsie, qui constitue le meilleur étalon de référence pour les PNB à ce jour. En effet, la validation d'un test doit toujours être faite en utilisant le meilleur étalon de référence disponible; ceci permet de classer les patients correctement et d'éviter des erreurs dans les résultats de sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive et négative. Il est possible que notre étalon de référence (l'avis des experts) ne soit pas adéquat dans chaque cas et que certains patients aient été mal classés, mais ceci consistait en notre meilleur outil disponible lors de cette étude.

Ainsi, selon l'avis des experts, la sensibilité et la spécificité du LBA non-bronchoscopique semble assez bonne (70% et 65% avec un seuil de 10^2 CFU/ml) et correspond aux données retrouvées dans la littérature (tableau 3). L'index bactérien ≥ 5 semble aussi être un très bon indice diagnostique (valeur globale de 73%). Les autres tests sont soit trop peu sensibles (PMN contenant des bactéries, coloration de Gram, culture bactérienne avec seuil $\geq 10^4$ ou 10^5 CFU/ml) ou trop peu spécifiques (critères CDC, cultures de sécrétions endotrachéales)

6.4 FAISABILITÉ

Nous avons démontré grâce à cette étude que le LBA non-bronchoscopique protégé est une technique facile à utiliser chez l'enfant intubé et qui comporte peu de risque de complications majeures. Elle permet de recueillir des échantillons de sécrétions

bronchiques adéquats et non contaminés. Elle permet d'aspirer une quantité de liquide suffisante pour faire les tests nécessaires sans injecter une quantité importante de liquide dans les poumons. C'est aussi une technique peu coûteuse et très accessible.

6.5 POINTS FORTS ET LIMITES DE L'ÉTUDE

Points forts

Cette étude a été faite de façon prospective et a inclus tous les patients consécutifs avec suspicion de PNB sur une période de 27 mois, avec suivi quotidien des patients. Des critères stricts d'inclusion et d'exclusion ont été utilisés afin de réduire les biais de sélection.

Tous les LBA ont été effectués par le même opérateur, toutes les analyses ont été faites par les mêmes techniciens et tous les résultats ont été évalués par les mêmes médecins (microbiologiste, hématologiste). Ceci permet d'éliminer des variations dues à la technique, aux techniciens ou à l'interprétation des résultats. La variabilité intra-sujet est aussi éliminée puisque les 2 LBA étaient effectués chez le même patient, à deux heures d'intervalle. Tout ceci contribue à une meilleure validité interne du test.

Différents index et différents seuils ont été évalués pour analyser les résultats de façon adéquate. Les tests statistiques utilisés étaient conformes aux données de la littérature et l'échantillon était de dimension requise.

L'utilisation de 3 experts indépendants pour poser a posteriori le diagnostic des PNB et TNB constitue présentement une des meilleures méthodes pour valider un test comme le LBA, hormis l'autopsie.

Limites

Certaines variations entre les résultats de LBA ont été observées et la reproductibilité n'est pas parfaite. Dans 2 cas, seulement le deuxième LBA était positif. La cause de ces variations est difficile à expliquer.

L'influence du premier LBA sur le deuxième est peu probable puisqu'il y avait 2 heures d'intervalle entre les 2 procédures. Une contamination du deuxième échantillon par le passage au préalable du cathéter dans les poumons est aussi peu probable car le cathéter est introduit à l'aveugle et la possibilité qu'il se loge les deux fois exactement au même endroit est mince. Une variation due à une différence de dilution entre les 2 échantillons n'est pas non plus en cause car le rapport de liquide aspiré/liquide injecté était semblable entre les 2 échantillons dans chaque cas. De plus, la description du liquide recueilli (présence de sang, turbidité, présence de particules, couleur, viscosité) était aussi semblable entre les 2

échantillons dans les 2 cas discordants. Finalement, le décompte cellulaire et la différentielle était aussi similaire entre les 2 échantillons dans ces 2 cas. La présence d'antibiothérapie préalable et le type de cathéter employé ne semblent pas avoir eu une influence sur la concordance des résultats en général et ne devraient pas être la cause de ces variations. Finalement, ces différences pourraient être dues à la variation de la culture quantitative *in vitro*, que nous n'avons pas évaluée.

Ces variations peuvent aussi être dues au fait que les PNB soient hétérogènes et qu'il y ait présence de bactéries dans certains segments pulmonaires seulement. On sait qu'habituellement les PNB sont focales mais que les bactéries sont disséminées dans tout le poumon, même lorsque la radiographie pulmonaire suggère un processus infectieux localisé (16). Par contre, certaines études rapportent que le décompte bactériologique peut être très différent d'une région à l'autre (jusqu'à 50 fois plus élevé d'une région à l'autre) (47). De plus, d'autres études ont démontré qu'il existe des variations de résultats même si deux prélèvements sont faits dans le même segment pulmonaire, par le même opérateur (75). Il y a donc encore controverse à savoir si les prélèvements devraient être faits à l'aveugle ou non (50, 67). Mais l'importance demeure l'implication clinique et si le LBA fait à l'aveugle est un test reproductible pour la présence de bactéries, les petites variations dans le nombre de bactéries retrouvées ne devraient pas avoir un impact clinique significatif. L'information supplémentaire apportée par un LBA bronchoscopique par rapport à un LBA non-bronchoscopique est probablement négligeable.

Un deuxième point important est la validité externe du test. Plusieurs démarches ont été mises en place pour éviter toute variabilité des résultats qui ne seraient pas due au LBA lui-même, contribuant ainsi à une grande validité interne du test. Le désavantage de ces démarches est que le LBA non-bronchoscopique protégé ne serait peut-être pas aussi reproductible et fiable dans un autre milieu; ainsi sa validité externe, ou généralisation à l'extérieur de notre milieu est difficile à évaluer.

6.6 CONCLUSION

Pour entreprendre la validation d'un test, plusieurs critères doivent être analysés. Entre autres, il faut évaluer la validité interne, le pouvoir discriminant, la faisabilité et l'utilité du test. Dans cette étude, nous avons évalué la reproductibilité du test, qui constitue un critère majeur de validité interne. Nous avons démontré que le LBA non-bronchoscopique protégé a une reproductibilité très satisfaisante, qu'il s'agisse de la présence de bactérie à la culture, du nombre ou du type de bactéries retrouvées, de la présence de PMN contenant des

bactéries ou de la coloration de Gram. Nous avons aussi évalué la sécurité du LBA et sa faisabilité qui semblent toutes deux adéquates. Nous avons aussi démontré son utilité et l'impact de cet outil sur le traitement donné aux patients. Finalement, nous avons évalué la valeur diagnostique de cet outil en utilisant l'avis de trois experts indépendants comme étalon de référence. Ceci n'est sûrement pas l'idéal mais les résultats obtenus laissent croire que cet outil pourrait être fiable pour diagnostiquer un PNB dans la population pédiatrique.

Même si cette méthode a déjà été utilisée en adulte et que la validation a été démontré dans cette population, il est important de répéter ces études chez les enfants. En fait, on ne peut pas comparer les deux populations ni transposer les résultats obtenus en adulte chez les enfants. Ceci est dû au fait qu'il y a plusieurs facteurs différents dont il faut tenir compte chez les enfants : le volume de liquide injecté doit varier en fonction du poids, la longueur du cathéter utilisé peut changer, les types de pathogènes retrouvés ne sont pas les mêmes, les causes d'insuffisance respiratoire sont différentes, etc. Ainsi, une prochaine étude évaluant la validité du LBA non-bronchoscopique protégé en milieu pédiatrique est maintenant prévue et sera faite en utilisant l'autopsie comme étalon de référence. Une étude coût-bénéfice sera aussi prévue pour compléter la validation de ce nouveau test en pédiatrie.

7. TABLEAUX ET FIGURES

7.1 TABLEAUX :

Tableau 1 : Liste des germes selon leur pathogénicité

Pathogène reconnu	Pathogène probable	Contaminant possible
<i>H. influenzae</i> <i>S. aureus</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>Pseudomonas (autre espèce)</i> <i>X. Maltophilia</i> <i>M. catarrhalis</i>	<i>Strept. hémolytique</i> <i>Neisseria saprophyte</i> <i>Neisseria (autre espèce)</i> <i>Bacteroides</i> <i>Bifidobacterium</i>	<i>Streptocoque (autre espèce)</i> <i>Staphylocoque (autre espèce)</i>

Tableau 2: Critères du Centers for Disease Control (CDC) pour le diagnostic de pneumonie et trachéite nosocomiales

Pneumonie nosocomiale:

Le CDC considère qu'un patient souffre d'une pneumonie nosocomiale infectieuse s'il répond à n'importe laquelle des quatre définitions suivantes au moins 48 heures après son entrée aux soins intensifs:

1. Râles à l'auscultation ou matité à la percussion et l'un des critères suivants:
 - 1.1- augmentation ou changement de l'aspect des sécrétions respiratoires (expectoration ou autres);
 - 1.2- hémoculture positive;
 - 1.3- culture d'une ou plusieurs bactéries pathogènes dans les sécrétions bronchiques obtenues par aspiration transtrachéale, par brossage bronchique ou sur une biopsie pulmonaire.

2. Apparition d'une nouvelle anomalie radiologique (condensation, cavité, effusion pleurale) et l'un des critères suivants:
 - 2.1- augmentation ou changement de l'aspect des sécrétions respiratoires (expectoration ou autres);
 - 2.2- hémoculture positive;
 - 2.3- culture d'une ou plusieurs bactéries pathogènes dans les sécrétions bronchiques obtenues par aspiration transtrachéale, par brossage bronchique ou sur une biopsie pulmonaire;
 - 2.4- culture d'un virus ou détection d'un antigène viral dans les sécrétions bronchiques;
 - 2.5- taux diagnostique d'IgM spécifique ou augmentation par quatre du titre d'anticorps IgG contre un virus respiratoire;
 - 2.6- démonstration histopathologique d'une pneumonie.

3. Patient ≤ 12 mois: observation d'au moins deux des signes entre parenthèses (apnée, tachypnée, bradycardie, wheezing, ronchi, toux) et l'un des critères suivants:
 - 3.1- augmentation des sécrétions respiratoires produites;
 - 3.2- apparition de sécrétions respiratoires dont l'aspect est purulent;
 - 3.3- hémoculture positive;
 - 3.4- culture d'une ou plusieurs bactéries pathogènes dans les sécrétions bronchiques obtenues par aspiration transtrachéale, par brossage bronchique ou sur une biopsie pulmonaire;
 - 3.5- culture d'un virus ou détection d'un antigène viral dans les sécrétions bronchiques;
 - 3.6- taux diagnostique d'IgM spécifique ou augmentation par quatre du titre d'anticorps IgG contre un virus respiratoire;
 - 3.7- histopathologie compatible avec une pneumonie.

4. Patient >12 mois: apparition d'une anomalie radiologique nouvelle ou progressive (condensation, cavité, effusion pleurale) et l'un des critères suivants:
 - 4.1- augmentation des sécrétions respiratoires produites;
 - 4.2- apparition de sécrétions respiratoires dont l'aspect est purulent;
 - 4.3- hémoculture positive;
 - 4.4- culture d'une ou plusieurs bactéries pathogènes dans les sécrétions bronchiques obtenues par aspiration transtrachéale, par brosse bronchique ou sur une biopsie pulmonaire;
 - 4.5- culture d'un virus ou détection d'un antigène viral dans les sécrétions bronchiques;
 - 4.6- taux diagnostique d'IgM spécifique ou augmentation par quatre du titre d'anticorps IgG contre un virus respiratoire;
 - 4.7- histopathologie compatible avec une pneumonie.

Trachéite nosocomiale:

Le CDC considère qu'un patient souffre d'une bronchite, d'une bronchiolite ou d'une trachéite nosocomiale infectieuse s'il ne **présente pas d'évidence clinique ou radiologique de pneumonie** et s'il remplit les conditions suivantes:

1. Patient >12 mois avec apparition au moins 48 heures après l'admission aux soins intensifs à la fois de 2 des critères entre parenthèses (fièvre>38°C, toux, augmentation ou changement de l'aspect des sécrétions respiratoires, ronchis, wheezing) et de l'un des critères suivants:
 - 1.1- culture d'une ou plusieurs bactéries dans les sécrétions trachéobronchiques;
 - 1.2- antigène bactérien positif sur des sécrétions trachéobronchiques.
2. Patient ≤12 mois avec apparition au moins 48 heures après l'admission aux soins intensifs à la fois de 2 des critères entre parenthèses (fièvre>38°C, toux, augmentation ou changement de l'aspect des sécrétions respiratoires, ronchi, wheezing, dyspnée, apnée, bradycardie) et de l'un des critères suivants:
 - 2.1- culture d'une ou de plusieurs bactéries dans les sécrétions trachéobronchiques;
 - 2.2- antigène bactérien positif sur des sécrétions trachéobronchiques

Tableau 3 : Diagnostic des pneumonies nosocomiales bactériennes par lavage bronchoalvéolaire : revue de la littérature**

A) LBA non protégé						
1) avec bronchoscopie		<u>Cas</u>	<u>Sensibilité</u>	<u>Spécificité</u>	<u>VPRP</u>	<u>VPRN</u>
- culture quantitative avec un seuil de CFU/mL						
• Aubas (127):	≥ 10 ¹ CFU/mL	80	1,0 (28/28)	0,44 (23/52)	0,49	1
• Aubas (127):	≥ 10 ² CFU/mL	80	0,96 (27/28)	0,57 (29/52)	0,54	0,97
• Aubas (127):	≥ 10 ³ CFU/mL	80	0,89 (25/28)	0,85 (44/52)	0,76	0,94
• Aubas (127):	≥ 10 ⁴ CFU/mL	80	0,43 (12/28)	0,85 (51/52)	0,76	0,94
• Aubas (127):	≥ 10 ⁵ CFU/mL	80	0,13 (4/28)	1,0 (52/52)	1	0,68
• Bello (135)	≥ 10 ⁴ CFU/mL	110	0,48(42/88)	0,95(21/22)	0,98	0,31
• Bye* (92)	+ ou -	29	1,0(17/17)	1,0(12/12)	1	1
• Cantral (93):	≥ 10 ³ CFU/mL	338	1,0 (20/20)	0,5(174/318)	0,12	1
• Cantral (93):	≥ 10 ⁵ CFU/mL	338	0,55 (11/20)	1,0 (318/318)	1	0,97
• Chastre (121)	≥ 10 ⁴ CFU/mL	20	0,91(10/11)	0,78(7/9)	0,83	0,87
• Chastre (48):	≥ 10 ⁵ CFU/mL	18	0,6 (3/5)	0,85 (11/13)	0,6	0,85
• Croce (15)	≥ 10 ⁵ CFU/mL	232	0,89	1	1	0,93
• El-Ebiary (52):	≥ 10 ³ CFU/mL	49	1(26/26)	0,56(13/23)	0,72	1
• El-Ebiary (52):	≥ 10 ⁴ CFU/mL	49	0,62(16/26)	0,7(16/23)	0,7	0,62
• El-Ebiary (52):	≥ 10 ⁵ CFU/mL	49	0,25 (7/26)	0,74 (17/23)	0,54	0,47
• El-Ebiary (40)	≥ 10 ³ CFU/mL	54	0,38(10/26)	0,64(18/28)	0,5	0,53
• El-Ebiary (40)	≥ 10 ⁴ CFU/mL	54	0,27(7/26)	0,82(23/28)	0,58	0,55
• El-Ebiary (40)	≥ 10 ⁵ CFU/mL	54	0,15(4/26)	0,89(25/28)	0,57	0,53
• El-Ebiary (40)	≥ 10 ⁶ CFU/mL	54	0,04(1/26)	1(28/28)	1	0,53
• Guerra (101):	> 10 ⁴ CFU/mL	54	0,6 (18/30)	1,0 (24/24)	1	0,67
• Jordá (56):	≥ 10 ⁵ CFU/mL	33	0,59 (17/29)	1,0 (6/6)	1	0,66
• Jourdain (118)	≥ 10 ⁴ CFU/mL	141	0,82(47/57)	0,85(71/84)	0,78	0,88
• Kahn (17)	> 10 ⁵ CFU/mL	41	1,0 (13/13)	1,0 (28/28)	1	1
• Kirkpatrick (102):	≥ 10 ⁴ CFU/mL	8	∅	1,0 (8/8)	∅	∅
• Kirtland (31)	≥ 10 ⁴ CFU/mL	39	0,63	0,96	0,91	0,79
• Martos (64):	≥ 10 ⁵ CFU/mL	10	∅	0,7 (7/10)	∅	∅
• Middleton (180)	≥ 10 ⁴ CFU/mL	12	0,75(3/4)	0,75(6/8)	0,6	0,86
• Papazian (68):	≥ 10 ³ CFU/mL	20	0,55 (6/11)	0,56 (5/9)	0,6	0,5
• Papazian (119)	≥ 10 ³ CFU/mL	64	0,46	0,83	0,55	0,78
• Pugin (108):	≥ 10 ⁵ CFU/mL	40	0,33 (5/15)	∅	∅	∅
• Rodríguez (72):	≥ 10 ⁵ CFU/mL	22	∅	0,72 (16/22)	∅	∅
• Roger (111):	≥ 10 ⁵ CFU/mL	46	0,96 (24/25)	0,9 (19/21)	0,92	0,95
• Sauaia (112):	≥ 10 ⁴ CFU/mL	18	0,38 (5/13)	1,0 (5/5)	1	0,38
• Solé-Violán (128):	≥ 10 ⁵ CFU/mL	45	0,76 (19/25)	1,0 (20/20)	1	0,77
• Solé-Violán (73):	≥ 10 ⁵ CFU/mL	30	0,88 (14/16)	1,0 (14/14)	1	0,88
• Thorpe (35):	≥ 10 ⁵ CFU/mL	92	0,87 (13/15)	1,0 (77/77)	1	0,97
• Timsit (120)	≥ 10 ³ CFU/mL	103	0,87	0,73	∅	∅
• Timsit (120)	≥ 10 ⁴ CFU/mL	103	0,77	0,77	∅	∅
• Torres (78):	≥ 10 ³ CFU/mL	32	0,72 (18/25)	0,71 (5/7)	0,9	0,29
• Torres (78):	≥ 10 ⁵ CFU/mL	32	0,12 (3/25)	1,0 (7/7)	1	0,2
• Torres (79):	≥ 10 ⁵ CFU/mL	27	∅	0,78 (21/27)	∅	∅
• Torres (43):	≥ 10 ⁴ CFU/mL	26	0,50 (7/14)	0,42 (5/12)	0,6	0,55

- culture quantitative avec un index bactérien

• Aubas (127):	≥ 1	80	1,0 (28/28)	0,42 (22/52)	0,48	1
• Aubas (127):	≥ 2	80	0,96 (27/28)	0,52 (27/52)	0,52	0,96
• Aubas (127):	≥ 3	80	0,96 (27/28)	0,75 (39/52)	0,68	0,98
• Aubas (127):	≥ 4	80	0,89 (25/28)	0,83 (43/52)	0,74	0,93
• Aubas (127):	≥ 5	80	0,79 (22/28)	0,94 (49/52)	0,88	0,89
• Aubas (127):	≥ 6	80	0,57 (16/28)	0,88 (46/52)	0,73	0,79
• Aubas (127):	≥ 7	80	0,46 (13/28)	1,0 (52/52)	1	0,78
• Jourdain (118)	≥ 6	141	0,75(43/57)	0,85(71/84)	0,77	0,84
• Pugin (108)	≥ 5	40	1,0 (15/15)	1,0 (25/25)	1	1

- PMN contenant des bactéries (bactéries intracellulaires)

• Allaouchiche (181)	≥ 10 %	48	0,63(10/16)	0,94(30/32)	0,83	0,83
• Allaouchiche (142)	> 2 %	163	0,84	0,8	0,69	0,9
• Aubas (127):	≥ 5 %	80	0,39 (11/28)	0,98 (51/52)	0,91	0,75
• Chastre (48):	≥ 25 %	18	1,0 (5/5)	1,0 (13/13)	1	1
• Chastre (49):	> 7 %	63	0,86 (12/14)	0,96 (47/49)	0,86	0,96
• Chastre (121)	≥ 5 %	20	0,91(10/11)	0,89(8/9)	0,91	0,89
• Domart (96):	>5%	144	0,94 (60/64)	0,96 (77/80)	0,95	0,95
• Dotson (97):	> 7 %	49	0,64 (9/14)	0,97 (34/35)	0,9	0,87
• Jaumain (54):	> 2 %	163	0,84 (47/56)	0,8 (86/107)	0,69	0,9
• Meduri (136)	> 2 %	341	0,48(37/77)	0,93(246/264)	0,67	0,86
• Papazian (119)	≥ 0 %	85	0,19(5/6)	0,98(58/79)	0,19	0,98
• Papazian (144)	≥ 4 %	20	0,71	0,46	0,42	0,75
• Pugin (108):	≥ 0 %	40	0,73 (11/15)	1,0 (25/25)	1	0,86
• Roger (111):	> 3 %	46	0,64 (16/25)	0,95 (20/21)	0,94	0,69
• Solé-Violán (73):	≥ 4 %	30	0,63 (10/16)	1,0 (14/14)	1	0,7
• Timsit (120)	≥ 2 %	103	0,74	0,96	∅	∅
• Timsit (120)	≥ 5 %	103	0,59	0,98	∅	∅
• Veber (143)	> 3 %	60	0,74 (25/34)	0,96 (25/26)	0,96	0,74
• Veber (143)	≥ 5 %	60	0,56 (19/34)	1(26/26)	1	0,63

- coloration de Gram: présence ou non d'une bactérie par champ à 40 X

• Allaouchiche (142)	+ ou -	163	0,92	0,77	0,69	0,91
• Aubas (127):	+ ou -	80	0,68 (19/28)	0,83 (43/52)	0,68	0,83
• Croce (15)	+ ou -	232	0,57	0,6	0,47	0,69
• Domart (96):	> 1 bactérie	144	0,94 (60/64)	0,66 (53/80)	0,69	0,93
• Meduri (136)	+ ou -	334	0,57(44/77)	0,87(224/257)	0,57	0,87
• Papazian (144)	+ ou -	24	0,56(5/9)	0,1(15/15)	1	0,79
• Thorpe (35):	+ ou -	92	0,73 (11/15)	1,0 (77/77)	1	0,95

2) à l'aveugle, sans bronchoscopie

Cas Sensibilité Spécificité VPRP VPRN

- culture quantitative avec un seuil de... CFU/mL

• Gaussorgues (99):	> 0	13	1,0 (9/9)	0,75 (3/4)	0,9	1
• Phillips (182)	≥ 10 ³ CFU/mL	51	0,91 (32/35)	0,75 (12/16)	0,89	0,8
• Piperno (107):	≥ 10 ⁵ CFU/mL	70	0,76 (45/59)	1,0 (11/11)	1	0,44
• Pugin (108):	≥ 10 ⁵ CFU/mL	40	0,53 (8/15)	∅	∅	∅

- culture quantitative avec un index bactérien ≥ 5							
• Pugin (108)	≥ 5	40	0,8 (12/15)	0,96 (24/25)	0,92	0,89	
- PMN contenant des bactéries							
• Labenne* (57):	$> 1 \%$	72	0,65 (17/26)	0,98 (45/46)	0,94	0,83	
• Pugin (108):	$\geq 0 \%$	40	0,6 (9/15)	1,0 (25/25)	1	0,81	

B) LBA protégé

		<u>Cas</u>	<u>Sensibilité</u>	<u>Spécificité</u>	<u>VPRP</u>	<u>VPRN</u>
<u>1) avec bronchoscopie:</u>						
- culture quantitative avec un seuil de... CFU/mL						
• Barreiro (85)	$\geq 10^4$ CFU/mL	90	0,86(30/35)	0,91(50/55)	0,86	0,91
• Meduri (65):	$\geq 10^4$ CFU/mL	15	1,0 (2/2)	0,92 (12/13)	1	0,92
• Meduri (129)	$\geq 10^4$ CFU/mL	46	0,92(12/13)	0,97(32/33)	0,92	0,97
• Meduri (104):	$\geq 10^4$ CFU/mL	23	1,0 (9/9)	1,0 (14/14)	1	1
- PMN contenant des bactéries						
• Barreiro (85)	$>2\%$	87	0,75(24/32)	0,98(54/55)	0,96	0,87
• Meduri (104):	$>2\%$	16	1,0(7/7)	1,0(8/8)	1	1
• Meduri (129)	$>2\%$	43	0,8(8/10)	1	Ø	Ø
- coloration de Gram: présence ou non d'une bactérie par champ à 40 X						
• Barreiro (85)	+ ou -	43	0,96(23/24)	0,74(14/19)	0,82	0,93
• Meduri (104):	+ ou -	22	1,0(9/9)	1,0(14/14)	1	1
• Meduri (129)	+ ou -	45	0,92(12/13)	0,97(31/32)	0,92	0,97

2) à l'aveugle, sans bronchoscopie:

		<u>Cas</u>	<u>Sensibilité</u>	<u>Spécificité</u>	<u>VPRP</u>	<u>VPRN</u>
- culture quantitative avec un seuil de... CFU/mL						
• Labenne* (125)	$\geq 10^2$ CFU/mL	93	0,86(25/29)	0,7(45/64)	0,6	0,92
• Labenne* (125)	$\geq 10^3$ CFU/mL	93	0,83(24/29)	0,75(48/64)	0,6	0,91
• Labenne* (125)	$\geq 10^4$ CFU/mL	93	0,72(21/29)	0,88(56/64)	0,72	0,88
• Labenne* (125)	$\geq 10^5$ CFU/mL	93	0,48(14/29)	0,89(57/64)	0,67	0,79
• Rouby (14):	culture + ou -	59	0,8 (24/30)	0,65 (19/29)	0,71	0,76
• Rouby (16)	$\geq 10^3$ CFU/mL	69	0,70 (28/40)	0,69 (20/29)	0,76	0,62
• Durand(51)	$\geq 10^3$ CFU/mL	46	0,63	0,7		
- PMN contenant des bactéries						
• Labenne* (125)	93	$\geq 1 \%$	0,55(16/29)	0,89(57/64)	0,7	0,81
• Labenne* (125)	93	$\geq 2 \%$	0,41(12/19)	0,89(57/64)	0,63	0,77

• Labenne* (125)	93	≥ 3 %	0,38(11/29)	0,91(58/64)	0,65	0,76
• Labenne* (125)	93	≥ 5 %	0,28(8/29)	0,92(59/64)	0,62	0,74
• Papazian (144)	≥ 5 %	21	0,75	0,62	0,55	0,8
– coloration de Gram: présence ou non d'une bactérie par champ à 40 X						
• Papazian (144)	+ ou –	24	0,44(4/9)	0,87(13/15)	0,67	0,72

*Études pédiatriques

** L' étalon de référence varie d' une étude à l' autre (données cliniques, radiologiques, microbiologiques ou histopathologiques); il faut se référer à chacun des articles pour plus de détails

LBA : lavage bronchoalvéolaire

CFU : colony forming units

PMN : polymorphonucléaires

Tableau 4 . Lavage bronchoalvéolaire non-bronchoscopique protégé : matériel nécessaire

1. Salin physiologique 0,9% non bactériostatique et sans agent de conservation: 0,25 à 0,5 cc/kg par passage (minimum: 2 ml; maximum: 50 ml par passage), à température ambiante. Trois passages sont faits lors d'un lavage bronchoalvéolaire.
2. Eau stérile non bactériostatique et sans agent de conservation: 0,25 à 0,5 cc/kg par passage (minimum: 2 ml; maximum: 10 ml par passage), à température ambiante. Ce passage est indiqué seulement si l'on compte faire des cultures pour le *Legionella*.
2. Gants stériles jetables
3. Quatre seringues jetables de 10, 20, 30, ou 60 ml pour les différents passages. Il est préférable d'utiliser une seringue de plus grand volume pour avoir un meilleur effet de succion (exemple: prendre une seringue de 20 ml si on injecte 8 ml par passage).
4. Éprouvettes stériles pour déposer le liquide obtenu et l'acheminer aux différents laboratoires.
5. Bol pour verser le surplus de liquide, s'il y a lieu.
6. Cathéter protégé à double lumière de type Combicath (Laboratoire pharmaceutique Plastimed, Saint-Leu-la-Forêt, France). Dimension pédiatrique (45 cm) si patient < 1 an; dimension adulte (75 cm) si patient \geq 1 an.
8. Connecteur qui permet de garder le tube endotrachéal branché sur le respirateur durant la manoeuvre et qui possède un orifice d'environ 1mm de diamètre pour permettre le passage du cathéter: cheminée pour bronchoscope ("Airway connector", Mallinckrodt, Galvany, Italy).
9. Formulaire pour décompte cellulaire, bactériologie, virologie, mycologie, séro-immunologie et biochimie selon le cas.

Tableau 5. Lavage bronchoalvéolaire non-bronchoscopique protégé : Étapes préliminaires

1. Installer un oxymètre de pouls (alarme à 92%).
2. Pré-oxygéner le malade pendant 3 à 5 minutes avec une FiO_2 de 100%.
3. Rassembler le matériel nécessaire et remplir les formulaires.
4. Utiliser une sédation appropriée pour le patient (midazolam: 0,1 mg/kg I.V. ± fentanyl 2 mcg/kg I.V.); curarisation au besoin (vécuronium: 0,1 mg/kg). Administrer du salbutamol (0,2 à 0,8 ml en inhalation) si le patient est bronchospastique.
5. Installer le connecteur (cheminée pour bronchoscope) entre le tube endotrachéal et le circuit du respirateur. (Lorsque l'orifice du connecteur qui permet de passer le cathéter est trop grand et ne permet pas de maintenir la PEEP (pression positive en fin d'expiration) du patient pendant le LBA, on peut l'obstruer avec un Tegadem que l'on percera à l'aide d'une aiguille 22G ou obstruer l'orifice avec son doigt après avoir poussé le cathéter).
6. Vérifier si le patient tolère d'être ventilé avec la cheminée pour bronchoscope (une ventilation manuelle avec ambu approprié peut être tentée si la ventilation mécanique par le respirateur est mal tolérée). Il faut annuler le LBA si le malade ne le tolère pas.
7. Préparer les seringues avec le salin physiologique et l'eau stérile (au besoin). Il faut compter une seringue par passage. Les liquides doivent être à température ambiante (environ 20°C.) car un liquide trop froid peut causer un bronchospasme et un liquide trop chaud peut brûler les voies aériennes.
8. Tourner la tête de l'enfant à gauche pour faciliter le passage du cathéter dans la bronche souche droite.
9. Se laver les mains, mettre un masque et une blouse non stérile.

Tableau 6. Lavage bronchoalvéolaire non-bronchoscopique protégé : Réalisation

Personne responsable de la ventilation:

1. Elle doit s'assurer que la ventilation est maintenue en tout temps et doit être prête à fournir une ventilation manuelle si la saturation du patient chute. Elle doit surveiller le saturomètre et aviser la personne qui fait le LBA de toute chute de la saturation en oxygène.
2. Elle doit porter un gant (non stérile) et être prête à obstruer l'orifice du connecteur, une fois le cathéter rendu dans le poumon, pour éviter une fuite d'air et une baisse de la PEEP (pression positive en fin d'expiration).

Personne responsable de faire le LBA:

1. Enfiler les gants stériles.
2. Retirer de l'enveloppe le cathéter à LBA, de façon stérile.
3. Introduire le cathéter par l'orifice du connecteur et le pousser jusqu'à ce qu'il soit coincé dans une bronche (sensation de résistance)..Pousser ensuite le cathéter interne. Si le cathéter interne ne peut être poussée, retirer tout le cathéter d'environ un cm et réessayer. Il faut bien pousser le cathéter interne jusqu'à ce qu'il se coince à son tour pour bien bloquer la bronchiole dans laquelle il se situe.
4. Faire obstruer l'orifice du connecteur par lequel passe le cathéter par la personne qui s'occupe de la ventilation.
5. Prélèvement de l'échantillon de sécrétions respiratoires:
 - les trois premiers passages: instiller dans le cathéter 0,25-0,5 cc/kg (minimum: 2 ml; maximum: 50 ml) de salin physiologique; réaspirer avec la même seringue. Si la résistance semble trop grande et le liquide ne revient pas, retirer d'un ou deux mm le cathéter pour permettre une meilleure succion. Répéter en changeant de seringue à chaque passage, jusqu'à concurrence de trois passages. Si on n'arrive pas à aspirer au moins 20% du liquide injecté après deux passages, il vaut mieux cesser le LBA, car le liquide s'accumule dans les poumons et peut causer des problèmes de ventilation par la suite.
 - le quatrième passage (à faire seulement si culture pour Legionella): Instiller dans le cathéter 0,25-0,5 cc/kg (minimum: 2 ml; maximum: 10 ml) d'eau stérile et procéder à la manoeuvre décrite ci-dessus.
7. Mettre le liquide prélevé dans des éprouvettes stériles et les acheminer soi-même aux différents laboratoires, avec les formulaires appropriés. Un volume minimum de 2 ml est nécessaire pour faire des analyses microbiologiques et cytologiques.
8. Noter dans le dossier du patient l'heure de la procédure, la quantité de liquide injectée et aspirée, ainsi que la survenue de désaturation ou de toute autre complication.
9. Enlever le connecteur et procéder à une aspiration trachéobronchique habituelle (sans salin physiologique).

Tableau 7 : Description macroscopique de l'échantillon prélevé:

Présence de sang:	0. pas de sang 1. rosé ou rouge, mais on voit à travers la seringue 2. rouge opaque
Turbidité:	0. eau de roche 1. opalescent
Présence de particules:	0. non 1. oui
Couleur:	0. blanc 1. rose ou rouge 2. beige ou jaune 3. autre
Viscosité:	0. comme de l'eau 1. visqueux

Tableau 8 : Données démographiques des patients

Patients (N)	30
Sexe M:F (N)	16:14
Âge (mois)*	52 ± 53; 34 (1-177)
Score PRISM à l'admission*	12 ± 7; 12 (0-31)
SDMV N(%)	10 (33%)
Mortalité N(%)	1 (3%)
Durée de ventilation mécanique (jours)*	38 ± 69; 20 (3-345)
Durée de séjour aux SIP (jours)*	47 ± 75; 23 (5-350)
Indication de ventilation mécanique (N):	
traumatisme	6
SDRA	5
brûlure	4
bronchiolite	3
insuffisance cardiaque	3
état post-opératoire	2
désordre métabolique	2
septicémie ou infection bactérienne	2
syndrome thoracique aigu	1
transplantation hépatique	1
aspiration de corps étranger	1
Antibiothérapie préalable au LBA N(%)	21 (70%)
Durée d'antibiothérapie (jours)*	4 ± 5; 3 (0,5-26)

*moyenne ± deviation standard; médiane (étendue)

PRISM: Pediatric Risk of Mortality score

SDRA: syndrome de détresse respiratoire aiguë

SDMV: syndrome de défaillance multiviscérale

SIP: soins intensifs pédiatriques

Tableau 9 : Cultures quantitatives des lavages bronchoalvéolaires (LBA)

PatientΔ	LBA	Bactéries* (log ₁₀ CFU/ml)												
		#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7	#8	#9	#10	#11	#12	#13
1	1													
	2													
2	1													
	2													
3	1													
	2													
4	1													
	2													
7	1	2							2					
	2	3							4					
8	1													
	2							4			2	2	2	
9	1	3		2		2					3		2	
	2	3		2		2					3		3	
10	1													
	2													
11	1													
	2													
12	1			2									4	
	2			2									4	
13	1		2											5
	2													5
14	1													
	2													
15	1													
	2													
16	1	5												
	2	5												
17	1													
	2													
18	1													
	2													
19	1								4	4				
	2								5					
20	1													
	2													
21	1												2	2
	2												2	2
22	1													
	2													
23	1													
	2													
24	1													
	2													
25	1	2	2					2					2	
	2	2	2					2					2	
26	1	6	2											
	2	6	4											
27	1													
	2													
28	1													
	2													5
30	1	3												
	2	3												
31	1													
	2													
32	1			5	5									
	2			5	5									
33	1							3						
	2							5						

* chaque colonne correspond à un type de bactéries (#1 à #13); le nombre de bactéries retrouvées est exprimé en log₁₀CFU/ml (ex: 5 = 10⁵ CFU/ml); les cellules vides indiquent l'absence de bactéries
 Δ chaque rangée correspond à un patient; pour chaque patient il y a 2 LBA

Tableau 10: Nombre précis de bactéries (CFU/ml) pour chaque lavage bronchoalvéolaire (LBA)

Patient #	LBA #	Bactérie (CFU/ml)*													Somme totale		
		#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7	#8	#9	#10	#11	#12	#13			
7	1	100							100								200
	2	2500						80000									82500
8	1																0
	2						20000				100	100					20300
9	1	2000		500		800					1500	6000					10800
	2	2000		500		300				2000	1000						5800
12	1			100													50100
	2			400								50000	25000				25400
13	1		300													100000	100300
	2														200000		200000
16	1	350000															350000
	2	900000															900000
19	1								80000								90000
	2							100000									100000
21	1												700		100		800
	2												700		100		800
25	1	400	400														1200
	2	800	300					200					200				1700
26	1	5000000	900														5000900
	2	1000000	10000														1010000
28	1																0
	2														100000		100000
30	1	8000															8000
	2	6000															6000
32	1			400000													800000
	2			200000	200000												400000
33	1										2000						2000
	2										250000						250000

* chaque colonne correspond à un type de bactéries (#1 à #13); le nombre de bactéries retrouvées est exprimé en CFU/ml; les cellules vides indiquent l'absence de bactéries

Δ chaque rangée correspond à un patient; pour chaque patient il y a 2 LBA

Tableau 11: Pourcentage de concordance et score kappa pour la présence de bactéries; données pour l'ensemble des lavages bronchoalvéolaires (LBA) et différents sous-groupes

PRÉSENCE DE BACTÉRIES

groupe	N *	tableau de contingence **	kappa	% concordance				
groupe complet	30	<table border="1"> <tr> <td>12</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>16</td> </tr> </table>	12	0	2	16	0,87	93,3%
12	0							
2	16							
Antibiothérapie préalable	21	<table border="1"> <tr> <td>5</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>1</td> <td>15</td> </tr> </table>	5	0	1	15	0,88	95,2%
5	0							
1	15							
∅ antibiothérapie préalable	9	<table border="1"> <tr> <td>7</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>1</td> <td>1</td> </tr> </table>	7	0	1	1	0,61	88,9%
7	0							
1	1							
Cathéter long	20	<table border="1"> <tr> <td>9</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>9</td> </tr> </table>	9	0	2	9	0,8	90,0%
9	0							
2	9							
Cathéter court	8	<table border="1"> <tr> <td>2</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>0</td> <td>6</td> </tr> </table>	2	0	0	6	1	100,0%
2	0							
0	6							
Différence volume >10%	7	<table border="1"> <tr> <td>2</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>0</td> <td>5</td> </tr> </table>	2	0	0	5	1	100,0%
2	0							
0	5							
Différence volume <10%	23	<table border="1"> <tr> <td>10</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>11</td> </tr> </table>	10	0	2	11	0,83	91,3%
10	0							
2	11							
Pathogènes reconnus	30	<table border="1"> <tr> <td>9</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>0</td> <td>20</td> </tr> </table>	9	1	0	20	0,92	96,7%
9	1							
0	20							
Pathotènes reconnus et probables (contaminants exclus)	30	<table border="1"> <tr> <td>10</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>1</td> <td>18</td> </tr> </table>	10	1	1	18	0,86	93,3%
10	1							
1	18							

* N = nombre de patients dans le groupe

** table de contingence pour les 2 LBA:

		LBA #2	
		positif	négatif
LBA #1	positif	a	b
	négatif	c	d

Tableau 12: Résultats des cultures quantitatives de tous les LBA positifs, avec l'index bactérien (IB) et l'index de l'espèce prédominante (IEP)

Patients¶ #	LBA #	Bactéries° (log ₁₀ CFU/ml)													IB	IEP
		HI	SA	PA	PO	XM	MC	SH	NS	NO	B	BS	SO	SS		
7†	1	2							2						4	2
	2	3							4						7	4
8	1													0	0	
	2							4			2	2	2	10	4	
9*†	1	3		2		2					3		2	12	3	
	2	3		2		2					3		3	13	3	
12*†	1			2									4	6	4	
	2			2									4	6	4	
13	1		2											5	7	5
	2													5	5	5
16*†	1	5												5	5	
	2	5												5	5	
19	1								4	4				8	4	
	2								5					5	5	
21*†	1												2	2	4	2
	2												2	2	4	2
25*†	1	2	2					2					2	8	2	
	2	2	2					2					2	8	2	
26†	1	6	2											8	6	
	2	6	4											10	6	
28	1													0	0	
	2												5	5	5	
30*†	1	3												3	3	
	2	3												3	3	
32*†	1			5	5									10	5	
	2			5	5									10	5	
33†	1						3							3	3	
	2						5							5	5	

¶ tous les autres patients avaient 2 LBA avec culture négative

°types de bactéries:

HI: *H. influenzae*

SA: *S. aureus*

PA: *P. aeruginosa*

PO: *Pseudomonas* (autre)

XM: *X. maltophilia*

MC: *M. catarrhalis*

SH: *Strept. hemolytique*

NS: *Neisseria saprophyte*

NO: *Neisseria* (autre)

B: *Bacteroides*

BS: *Bifidobacterium spp.*

SO: *Streptococcus* (autre)

SS: *Staphylococcus* (autre)

*Concordance complète entre les 2 LBA pour le nombre de bactéries

†Concordance complète entre les 2 LBA pour le type de bactéries

Tableau 13: Pourcentage de concordance pour le nombre et le type de bactéries; données pour l'ensemble des LBA et pour différents sous-groupes

NOMBRE DE BACTÉRIES

groupe	N*	n **	% n/N	concordance complète	concordance partielle	concordance totale
tous les LBA	30	14	47%	(7/14)50%	(4/14)28%	(11/14)78%
antibiothérapie préalable	21	6	29%	(4/6) 67%	(1/6) 16%	(5/6) 83%
Ø antibiothérapie préalable	9	8	89%	(3/8) 37,5%	(3/8) 37,5%	(6/8) 75%
cathéter long	20	11	55%	(6/11) 55%	(3/11) 27%	(9/11) 82%
cathéter court	8	2	25%	(1/2) 50%	–	(1/2) 50%
pathogènes reconnus	30	10	33%	(7/10)70%	(1/10)10%	(8/10)80%
pathogènes reconnus et probables	30	12	40%	(6/12)50%	(3/12)25%	(9/12)75%
différence volume > 10%	7	2	29%	(2/2) 100%	–	(2/2) 100%
différence volume < 10%	23	12	52%	(8/12) 66%	(2/12) 17%	(10/12) 83%

TYPE DE BACTÉRIES

groupe	N*	n**	% n/N	concordance complète	concordance partielle	concordance totale
tous les LBA	30	14	47%	(10/14)71%	(2/14)14%	(12/14)85%
antibiothérapie au préalable	21	6	29%	(4/6) 67%	(1/6) 16%	(5/6) 83%
Ø antibiothérapie au préalable	9	8	89%	(6/8) 75%	(1/8) 13%	(7/8) 88%
cathéter long	20	11	55%	(8/11) 72%	(1/11) 1%	(9/11) 82%
cathéter court	8	2	25%	(2/2) 100%	–	(2/2) 100%
pathogènes reconnus	30	10	33%	(9/10)90%	–	(9/10)90%
pathogènes reconnus et probables	30	12	40%	(9/12)75%	(1/12)8%	(10/12)83%
différence volume > 10%	7	2	29%	(2/2) 100%	–	(2/2) 100%
différence volume < 10%	23	12	52%	(8/12) 66%	(2/12) 17%	(10/12) 83%

* nombre de patients dans le groupe

** nombre de patients avec au moins un LBA positif dans le groupe

définition de concordance:

complète: concordance pour tous les germes dans les 2 LBA

partielle: concordance pour au moins un germe dans les 2 LBA

totale: concordance complète + partielle

Tableau 14: Résultats de l'index bactérien, l'index de l'espèce prédominante, la coloration de Gram et les polymorphonucléaires contenant des bactéries (PMNCB) pour l'ensemble des lavage bronchoalvéolaires (LBA)

patient #	LBA #	Index bactérien	Index espèce prédominante	Coloration de Gram	PMNCB (%)
1	1	0	0	négatif	0
	2	0	0	négatif	0
2	1	0	0	négatif	0
	2	0	0	négatif	0
3	1	0	0	négatif	0
	2	0	0	négatif	0
4	1	0	0	négatif	0
	2	0	0	négatif	0
7	1	4	2	négatif	0
	2	7	4	cocci-	0
8	1	0	0	négatif	0
	2	10	4	négatif	0
9	1	12	3	cocci+/-; bacilli-	5
	2	13	3	cocci+/-; bacilli-	6
10	1	0	0	négatif	0
	2	0	0	négatif	0
11	1	0	0	négatif	0
	2	0	0	négatif	0
12	1	6	4	négatif	0
	2	6	4	bacilli-	0
13	1	7	5	négatif	0
	2	5	5	négatif	0
14	1	0	0	négatif	0
	2	0	0	négatif	0
15	1	0	0	négatif	0
	2	0	0	négatif	0
16	1	5	5	négatif	0
	2	5	5	négatif	0
17	1	0	0	négatif	0
	2	0	0	négatif	0
18	1	0	0	négatif	0
	2	0	0	négatif	0
19	1	8	4	cocci-	0
	2	5	5	cocci-	0
20	1	0	0	négatif	0
	2	0	0	négatif	0
21	1	4	2	cocci-	0
	2	4	2	négatif	0
22	1	0	0	négatif	0
	2	0	0	négatif	0
23	1	0	0	bacilli-	0
	2	0	0	bacilli-	0
24	1	0	0	négatif	0
	2	0	0	négatif	0
25	1	8	2	négatif	0
	2	8	2	négatif	0
26	1	8	6	cocci+	13
	2	10	6	cocci+	8
27	1	0	0	négatif	0
	2	0	0	négatif	0
28	1	0	0	négatif	0
	2	5	5	négatif	0
30	1	3	3	négatif	0
	2	3	3	négatif	0
31	1	0	0	négatif	0
	2	0	0	NA	0
32	1	10	5	bacilli-	1
	2	10	5	bacilli-	1
33	1	3	3	négatif	8
	2	5	5	cocci-	7

Tableau 15: Complications survenues durant le lavage bronchoalvéolaire et dans les 24 heures suivant la procédure

Complications durant la procédure	LBA 1	LBA 2
Pneumothorax	0	1
Hémoptysie	6	3
Chute du rapport PaO ₂ /FiO ₂	0	1
Chute de la SaO ₂ en deça de 92%	13	5
Chute de la PAM > 8 mmHg	1	1
Dysrythmie cardiaque	1	0
Crise hypertension pulmonaire	0	0
Augmentation de la température > 1°C	0	0
Diminution de la température > 1°C	1	1
Hypertension intracrânienne	4	3
total	26	15

Complications < 24 heures post-LBA	#
Pneumothorax	0
Hémoptysie	0
Chute du rapport PaO ₂ /FiO ₂	4
Chute de la SaO ₂ en deça de 92%	4
Apparition opacité radiologique	3
Chute de la PAM > 20 mmHg	0
Dysrythmie cardiaque	0
Crise hypertension pulmonaire	0
Augmentation de la température > 1°C	4
Diminution de la température > 1°C	9
total	26

PAM: pression artérielle moyenne

Tableau 16: Données sur le suivi des patients

Patient #	Suivi post-LBA										Suivi total aux SIP	
	Durée VM (jours)	Durée d'intubation (jours)	Réintubation (oui/non)	Reprise VM (oui/non)	SDRA (oui/non)	HGDS (oui/non)	SDMV (oui/non)	Décès (oui/non)	Durée séjour (jours)	Durée totale VM (jours)	Durée séjour (jours)	Durée totale VM (jours)
1	4	4							5	9	10	9
2	2	2	oui	oui					4	6	8	6
3	5	5							6	11	12	11
4	9	9							10	22	23	22
7	11	11							14	26	29	26
8	21	21							23	25	27	25
9	32	32							32	214	214	214
10	9	9							11	13	14	13
11	7	7							8	18	19	18
12	36	12							12	40	46	40
13	14	14							18	23	27	23
14	58	58	oui	oui		oui			63	61	66	61
15	1	1		oui					2	4	5	4
16	8	8							21	21	34	21
17	2	2							3	3	7	3
18	33	33	oui	oui			oui		38	40	45	40
19	7	7							11	19	23	19
20	1	1							3	7	9	7
21	11	11					oui		13	14	16	14
22	22	22					oui		24	22	26	22
23	5	5							6	8	9	8
24	2	2							2	6	6	6
25	8	8						oui	9	13	15	13
26	23	23			oui		oui		53	59	73	59
27	24	24	oui	oui					22	36	187	36
28	7	7							8	10	11	10
30	11	11							16	25	33	25
31	289	350							289	345	350	345
32	26	26					oui		27	32	34	32
33	13	13							15	16	18	16

SIP: soins intensifs pédiatriques; VM: ventilation mécanique; SDR: syndrome de détresse respiratoire aiguë;
 HGDS: hémorragie gastro-duodénale de stress; SDMV: syndrome de défaillance multiviscérale

Tableau 17 : Présence de pneumonie et trachéite selon les critères de CDC, l'avis des experts et les résultats de LBA

patient	E1 CDC	E1 avis	E2 CDC	E2 avis	E3 CDC	E3 avis	CDC final	avis final	LBA ≥ 2	LBA ≥ 3	LBA ≥ 4	LBA ≥ 5	PMCB	Gram	IB ≥ 5	CSE
1	t	t	p	0	p	t	p	t	neg	neg	neg	neg	neg	neg	0	pos
2	p	t	p	t	p	t	p	t	neg	neg	neg	neg	neg	neg	0	pos
3	0	0	0	0	0	0	0	0	neg	neg	neg	neg	neg	neg	0	neg
4	p	p	p	0	p	p	p	p	neg	neg	neg	neg	neg	neg	0	neg
7	t	t	p	0	t	t	t	t	pos	pos	pos	neg	neg	pos	7	pos
8	p	t	p	p	p	p	p	p	pos	pos	pos	neg	neg	neg	10	pos
9	p	p	p	p	p	p	p	p	pos	pos	neg	neg	pos	pos	13	pos
10	p	p	p	0	p	0	p	0	neg	neg	neg	neg	neg	neg	0	neg
11	p	p	p	t	p	t	p	t	neg	neg	neg	neg	neg	neg	0	pos
12	p	p	p	p	p	p	p	p	pos	pos	pos	neg	neg	pos	6	pos
13	p	p	p	p	p	p	p	p	pos	neg	neg	neg	neg	neg	8	pos
14	p	0	p	0	t	0	p	0	neg	neg	neg	neg	neg	neg	0	neg
15	p	p	p	0	0	0	p	0	neg	neg	neg	neg	neg	neg	0	neg
16	p	p	p	0	t	0	p	0	pos	pos	pos	pos	neg	neg	5	pos
17	p	t	p	t	p	0	p	t	neg	neg	neg	neg	neg	neg	0	pos
18	p	p	p	0	0	0	p	0	neg	neg	neg	neg	neg	neg	0	pos
19	p	p	p	p	p	p	p	p	pos	pos	pos	pos	neg	pos	8	pos
20	p	t	p	0	0	0	p	0	neg	neg	neg	neg	neg	neg	0	neg
21	p	t	p	t	0	0	p	t	pos	neg	neg	neg	neg	pos	4	neg
22	0	0	p	0	0	0	0	0	neg	neg	neg	neg	neg	neg	0	neg
23	p	t	p	0	p	0	p	0	neg	neg	neg	neg	neg	pos	0	pos
24	p	p	p	0	p	t	p	0	neg	neg	neg	neg	neg	neg	0	pos
25	p	t	p	p	p	0	p	t	pos	neg	neg	neg	neg	neg	0	pos
26	p	p	p	p	p	p	p	p	pos	pos	pos	pos	pos	pos	10	pos
27	p	p	p	p	0	0	p	p	neg	neg	neg	neg	neg	neg	2	pos
28	p	0	p	0	p	0	p	0	pos	pos	pos	pos	neg	neg	5	neg
30	p	t	p	p	p	0	p	0	pos	pos	neg	neg	neg	neg	3	pos
31	p	p	p	p	p	0	p	p	neg	neg	neg	neg	neg	neg	0	pos
32	p	p	p	t	p	0	p	p	pos	pos	pos	pos	pos	pos	10	pos
33	p	t	p	p	p	t	p	t	pos	pos	pos	pos	pos	pos	5	pos

E = expert p = pneumonie t = trachéite 0 = absence de pneumonie ou trachéite pos = positif neg = négatif
 CDC = réponse selon critères du Centers for disease Control avis = réponse selon l'avis de l'expert
 final = réponse finale selon consensus des 3 experts LBA = résultat des cultures de lavage bronchoalvéolaire selon seuil indiqué
 PMNCB = résultat des polymorphonucléaires contenant des bactéries Gram = résultat de la coloration de Gram
 IB = résultat d'index bactérien ≥ 5 CSE = résultat de culture de sécrétions endotrachéales

Tableau 18: Validité de divers tests pour diagnostiquer une pneumonie nosocomiale bactérienne selon les critères du Centers for Disease Control

	Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN	Valeur globale
culture LBA: seuil $\geq 10^2$ CFU/ml	48%	67%	93%	13%	50%
culture LBA: seuil $\geq 10^3$ CFU/ml	37%	67%	91%	11%	40%
culture LBA: seuil $\geq 10^4$ CFU/ml	30%	67%	89%	60%	33%
culture LBA: seuil $\geq 10^5$ CFU/ml	22%	100%	100%	13%	30%
PMN contenant des bactéries	15%	100%	100%	12%	23%
coloration de Gram	30%	67%	89%	10%	33%
index bactérien ≥ 5	41%	67%	92%	11%	43%
cultures sécrétions ET	74%	67%	95%	22%	73%

VPP: valeur prédictive positive; VPN: valeur prédictive négative;

PMN: polymorphonucléaire; ET: endotrachéal

Tableau 19: Validité de divers tests pour diagnostiquer une pneumonie nosocomiale bactérienne selon l'avis des experts (étalon de référence)

	Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN	Valeur globale
Critères CDC	100%	15%	37%	100%	43%
Cultures SE	90%	40%	43%	89%	57%
LBA					
culture: seuil $\geq 10^2$ CFU/ml	70%	65%	50%	81%	67%
culture: seuil $\geq 10^3$ CFU/ml	60%	75%	55%	79%	70%
culture: seuil $\geq 10^4$ CFU/ml	50%	80%	56%	76%	70%
culture: seuil $\geq 10^5$ CFU/ml	30%	85%	50%	71%	67%
PMN contenant bactéries	30%	95%	75%	73%	73%
coloration de Gram	50%	81%	56%	77%	73%
index bactérien ≥ 5	70%	75%	58%	83%	73%

VPP: valeur prédictive positive; VPN: valeur prédictive négative; CDC: Centers for disease control; SE: sécrétions endotrachéales; LBA: lavage bronchoalvéolaire; PMN: polymorphonucléaire

Tableau 20: Résultats des cultures de sécrétions endotrachéales, de LBA et des critères de CDC pour chaque catégorie de patients (PNB, TNB, absence de PNB ou TNB) selon l'avis des experts*

Patient avec PNB selon avis des experts

patient #	CSE	Cultures LBA #1	Cultures LBA #2	critères CDC
4				p
8	SA, HI		SH, B, BS, SO	p
9	SA, PA	HI, PA, XM, B, SO	HI, PA, XM, B, SO	p
12	PA	PA, SO	PA, SO	p
13	SA, HI	SA, SS	SS	p
19	NS	NS, NO	NS	p
26	SA, HI	HI, SA	HI, SA	p
27	K, SA, E			p
31	SM, E			p
32	PO	PA, PO	PA, PO	p

Patient avec TNB selon avis des experts

patient #	CSE	Cultures LBA #1	Cultures LBA #2	critères CDC
1	SA			p
2	MC, SA			p
7	HI	HI, NS	HI, NS	t
11	MC			p
17	SH, HI			p
21		SO, SS	SO, SS	p
25	HI, SA	HI, SA, SH, SO	HI, SA, SH, SO	p
33	MC	MC	MC	p

Patients sans PNB ou TNB selon avis des experts

patient #	CSE	Cultures LBA #1	Cultures LBA #2	critères CDC
3				0
10				p
14				p
15				p
16	HI	HI	HI	p
18	E, SS, XM			p
20				p
22				0
23	HI			p
24	HI			p
28			SS	p
30	SA	HI	HI	p

*les cellules vident indiquent l'absence de bactéries

LBA: Lavage bronchoalvéolaire; CDC: Centers for Disease Control; CSE: culture de sécrétions endotrachéales

PNB: pneumonie nosocomiale bactérienne; TNB: trachéite nosocomiale bactérienne;

p = pneumonie; t = trachéite ; 0 = absence de pneumonie ou trachéite

B: Bacteroides; BS: Bifidobacterium spp.; E: enterobacter; HI: H. influenzae; K: Klebsiella;

MC: M. catarrhalis ; NS: Neisseria saprophyte; NO: Neisseria (autre); PA: P. aeruginosa;

PO: Pseudomonas (autre); SA: S. aureus; SH: Strept. hemolytique.; SO: Streptococcus (autre)

SS: Staphylococcus (autre); SM: Serratia marcescens; XM: X. maltophilia

7.2 FIGURES

Figure 1: Pathogénèse des pneumonies nosocomiales

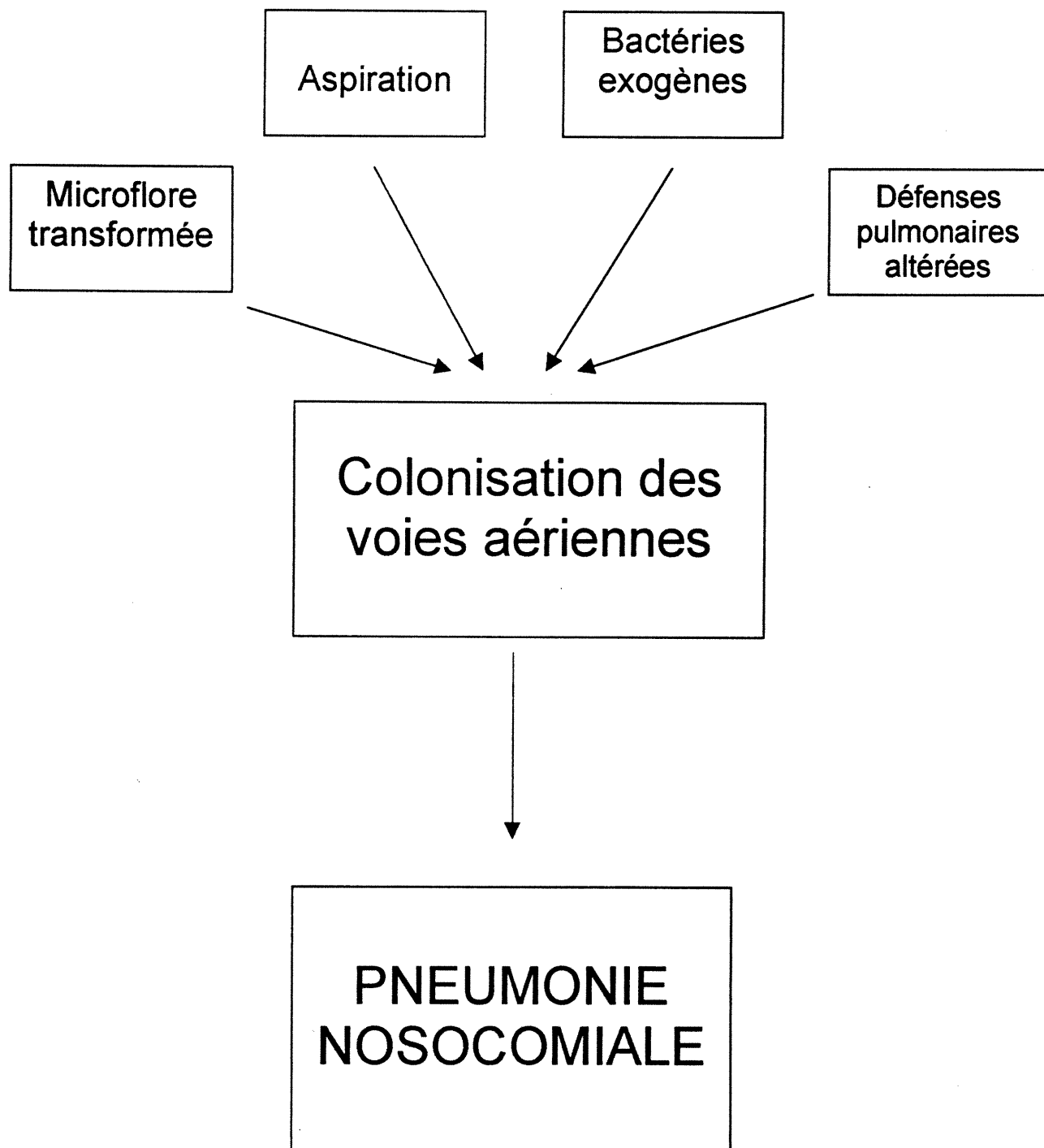


Figure 2 :

Spécifications :

Coloration : HPS (Hématoxyline-Phloxine-Safran)

Grossissement : 2.5X, 10X, 20X

Source : Hôpital Ste-Justine, Montréal, Canada

Figure 3 :

Spécifications :

Coloration : May-Grünwald-Giemsa

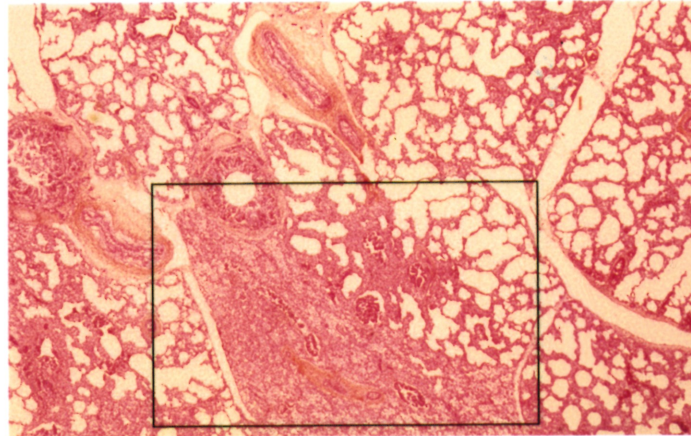
Grossissement : 100X

Source : Hôpital Ste-Justine, Montréal, Canada

Figure 2:

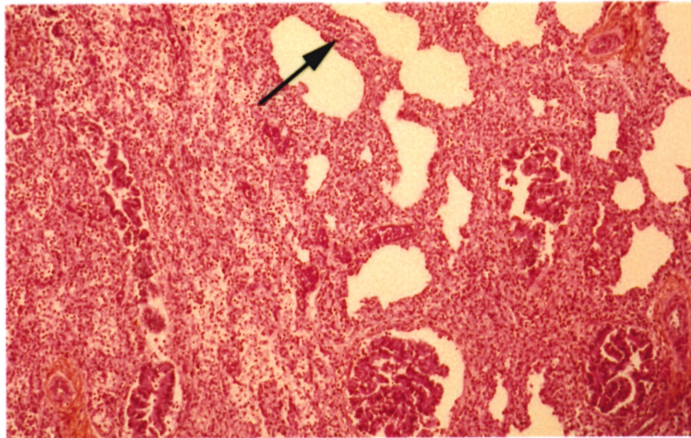
Histopathologie de tissu pulmonaire avec pneumonie nosocomiale bactérienne (trois photos du même champ à différents agrandissements)

2.5X



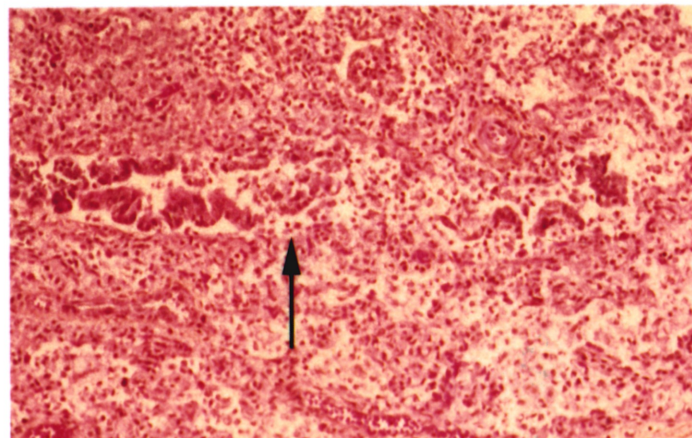
Lame histologique de tissu pulmonaire démontrant un foyer de consolidation (encadré noir)

10X



Lame histologique de tissu pulmonaire démontrant des alvéoles hyperdistendues avec parois épaissies suite à une accumulation de polymorphonucléaires (flèche noire)

20X



Lame histologique de tissu pulmonaire démontrant un foyer d'infection avec présence de plages polymorphonucléaires intra-alvéolaires de façon diffuse ainsi qu'une bronche avec foyer de destruction épithéliale (flèche noire)

Figure 3:

Frottis démontrant la présence de neutrophiles (encadré noir) contenant des bactéries (flèche) dans des sécrétions respiratoires recueillies lors du lavage bronchoalvéolaire

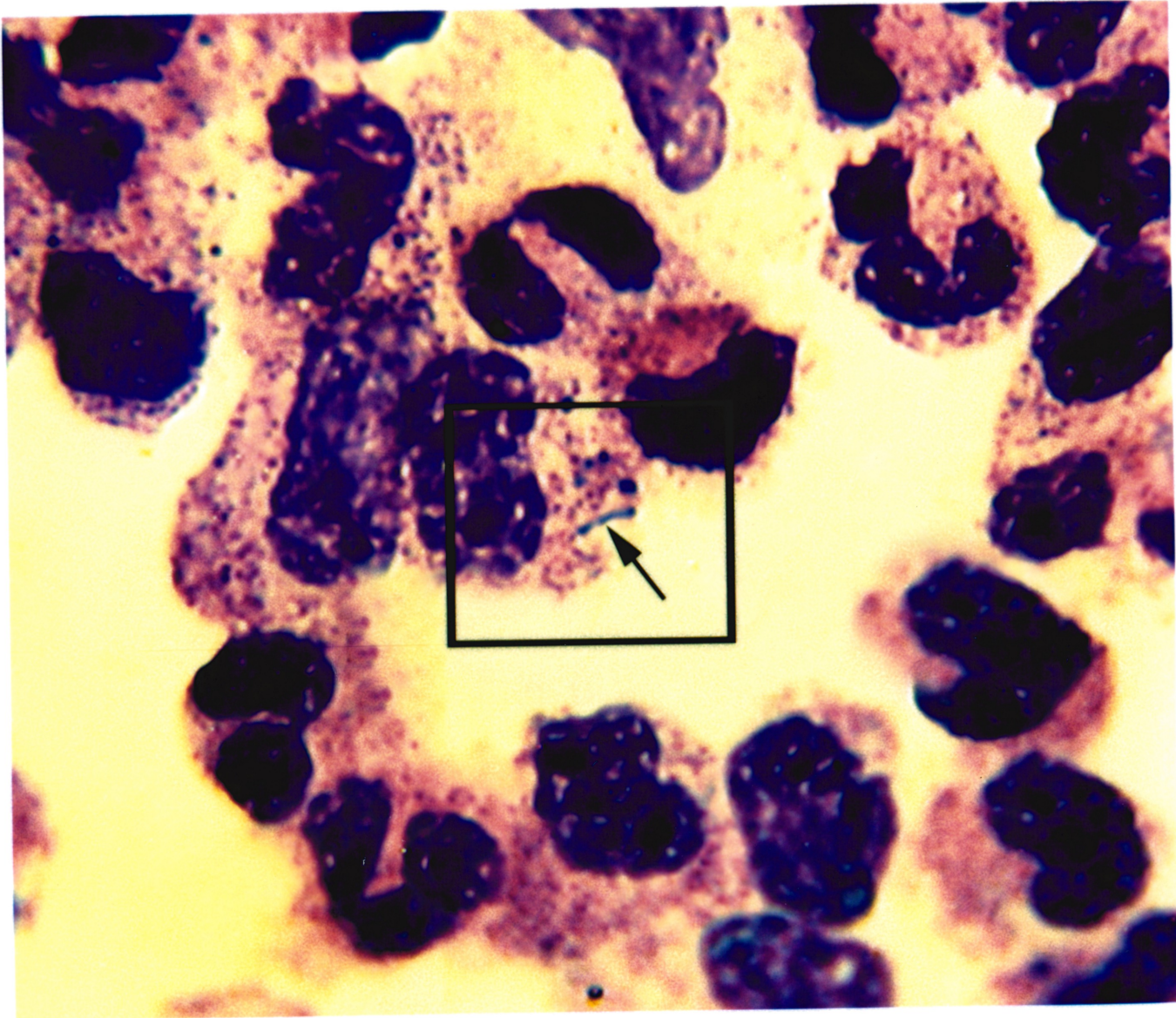


Figure 4: Technique de lavage bronchoalvéolaire non-bronchoscopique protégé

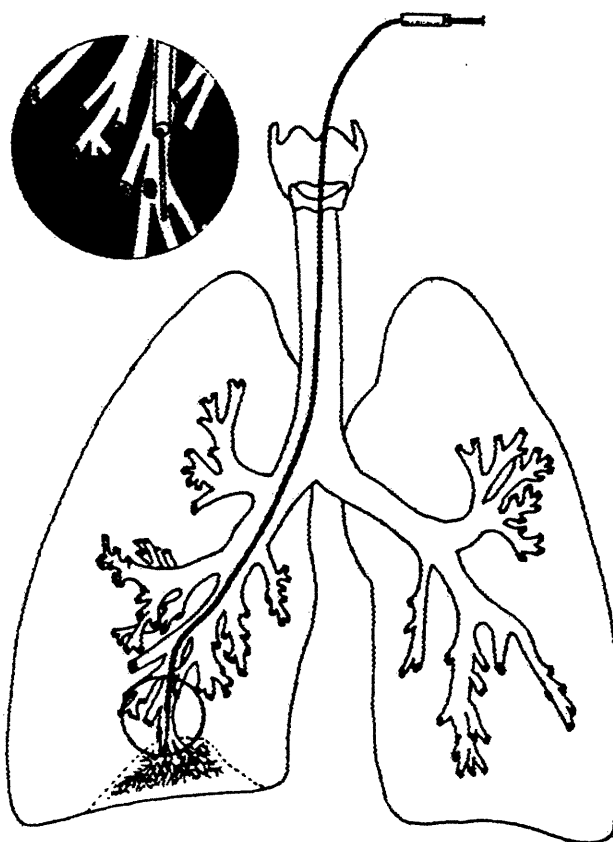


Figure 5 : Cathéter à double lumière dans une bronchiole distale lors du lavage bronchoalvéolaire non-bronchoscopique protégé

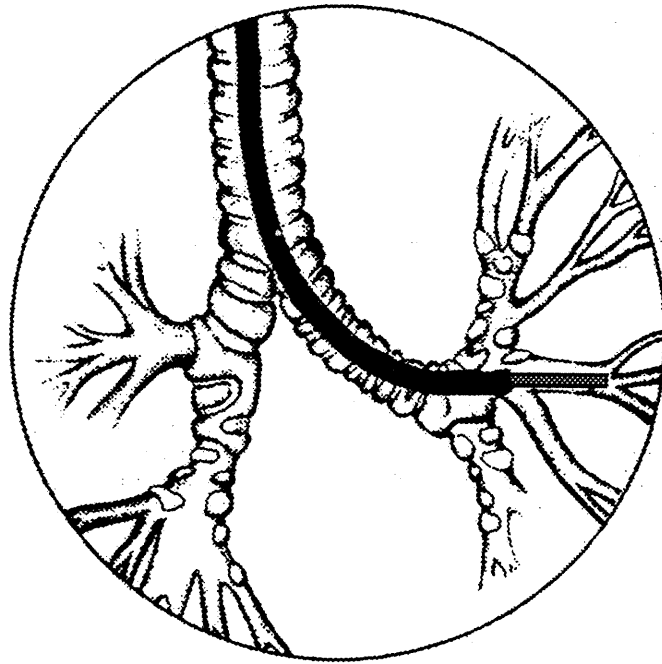


Figure 6:

Photo du cathéter à double lumière et du connecteur utilisé lors du lavage bronchoalvéolaire non-bronchoscopique protégé

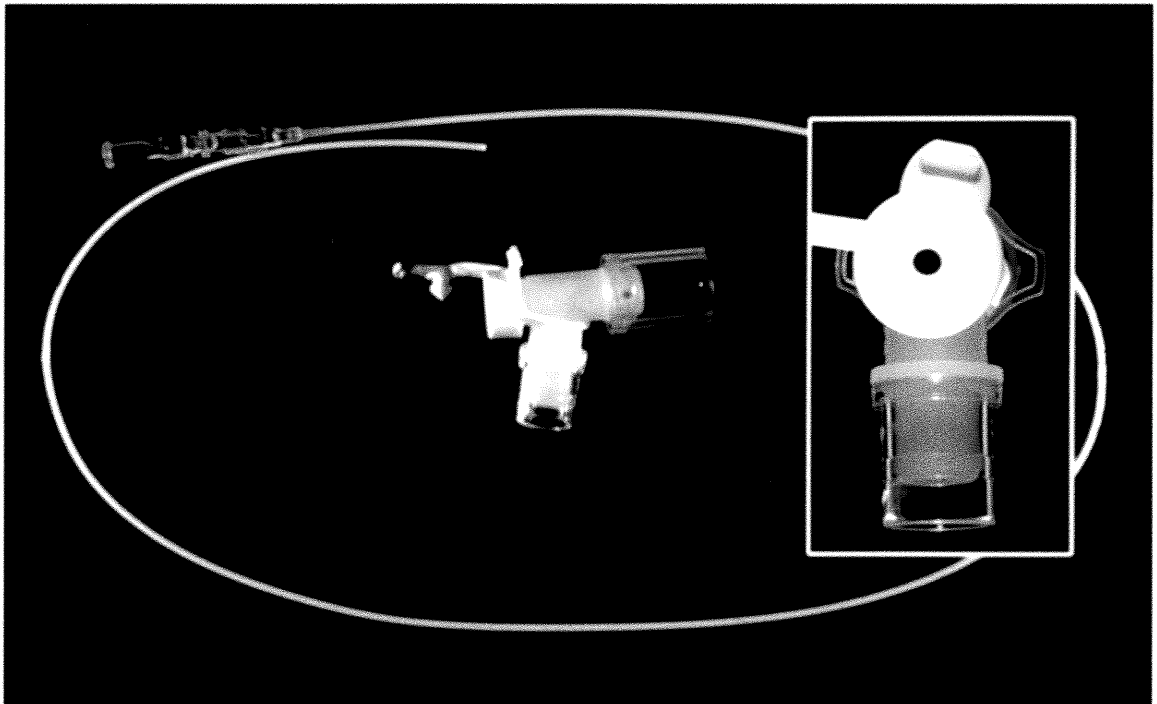


Figure 7: Cheminement de l'échantillon recueilli

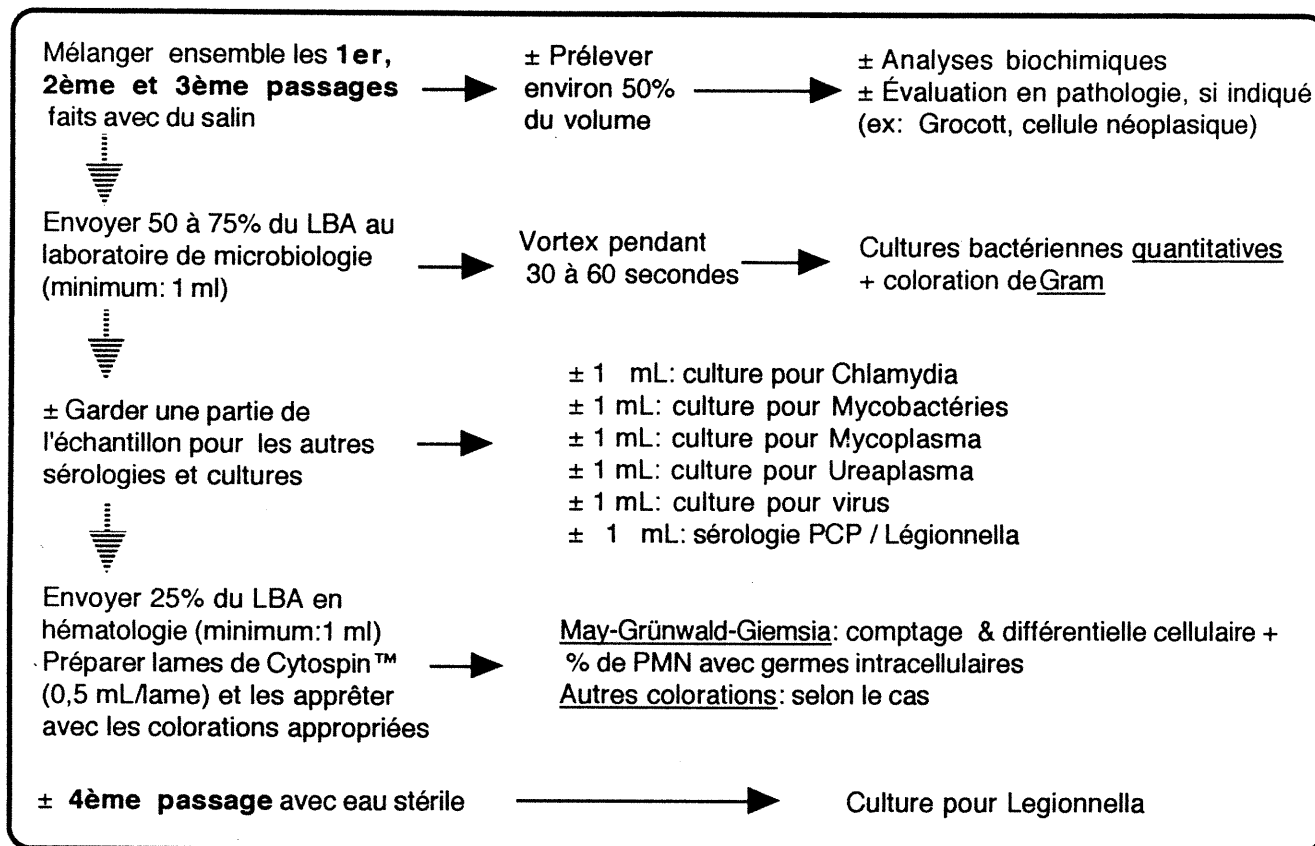


Figure 8: Tableau de contingence pour évaluer la reproductibilité:

		LBA #2		
		positif	négatif	
LBA #1	positif	a	b	r_1
	négatif	c	d	r_2
		c_1	c_2	N

Pourcentage de concordance = $(a + d) / N \times 100$

Kappa = $(p_o - p_e) / (1 - p_e)$

$p_o = (a + d) / N$

$p_e = (r_1 c_1 - r_2 c_2) / N^2$

Figure 9: Tableau de contingence pour analyse de McNemar

		LBA #2	
		positif $\geq 10^2$ CFU/ml	négatif $< 10^2$ CFU/ml
LBA #1	positif $\geq 10^2$ CFU/ml	a	b
	négatif $< 10^2$ CFU/ml	c	d

Chi carré de McNemar: $X^2 = (b - c)^2 / (b + c)$

Le LBA est considéré positif selon le seuil bactérien choisi

(ex: si seuil $\geq 10^2$ CFU/ml, un LBA positif contient ≥ 100 CFU/ml)

Figure 10: Diagramme de Cronbach

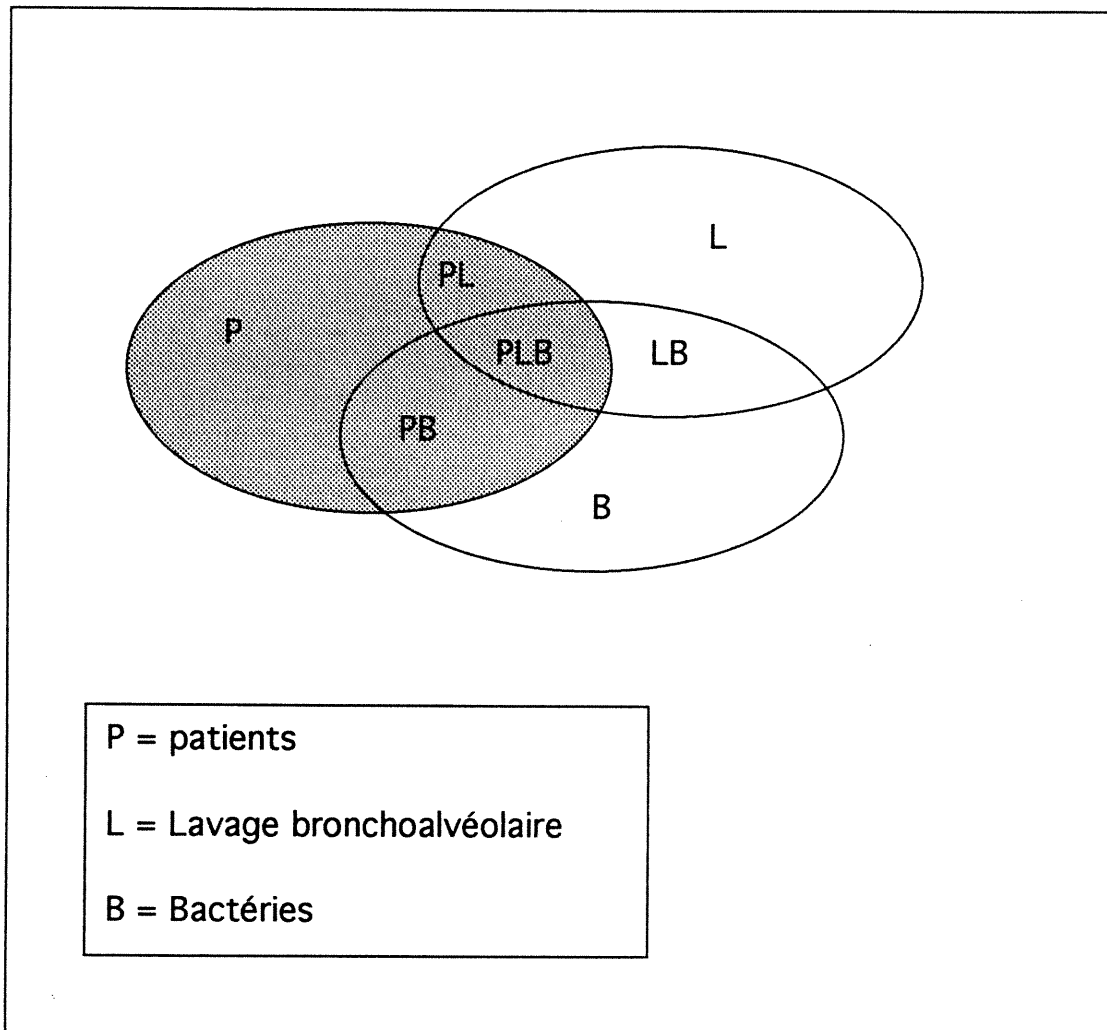


Figure 11: Tableau de contingence utilisé pour évaluer la sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive et négative d'un test

		Étalon de référence	
		Vrais positifs	Faux positifs
Résultats du test	Vrais positifs	Vrais positifs	Faux positifs
	Faux négatifs	Faux négatifs	Vrais négatifs

sensibilité = vrais positifs / (vrais positifs + faux négatifs)

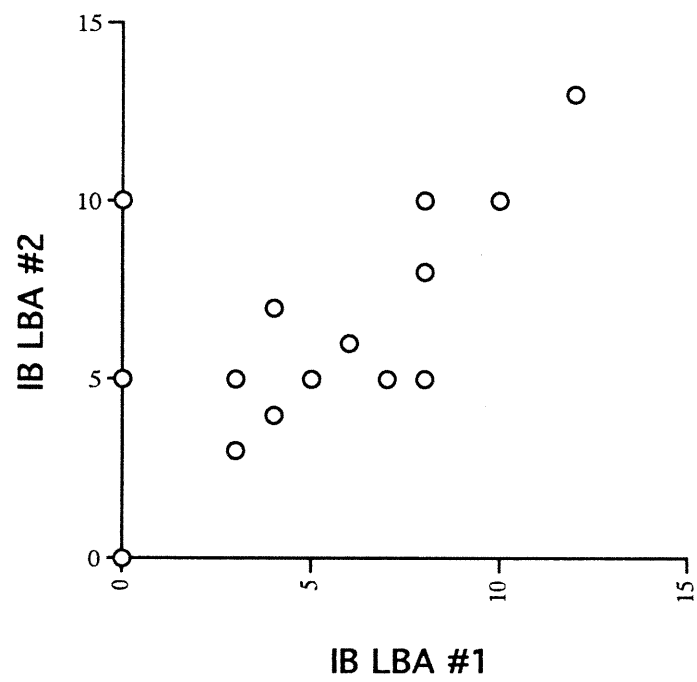
spécificité = vrais négatifs / (faux positifs + vrais négatifs)

VPP = vrais positifs / (vrais positifs + faux positifs)

VPN = vrais négatifs / (vrais négatifs + faux négatifs)

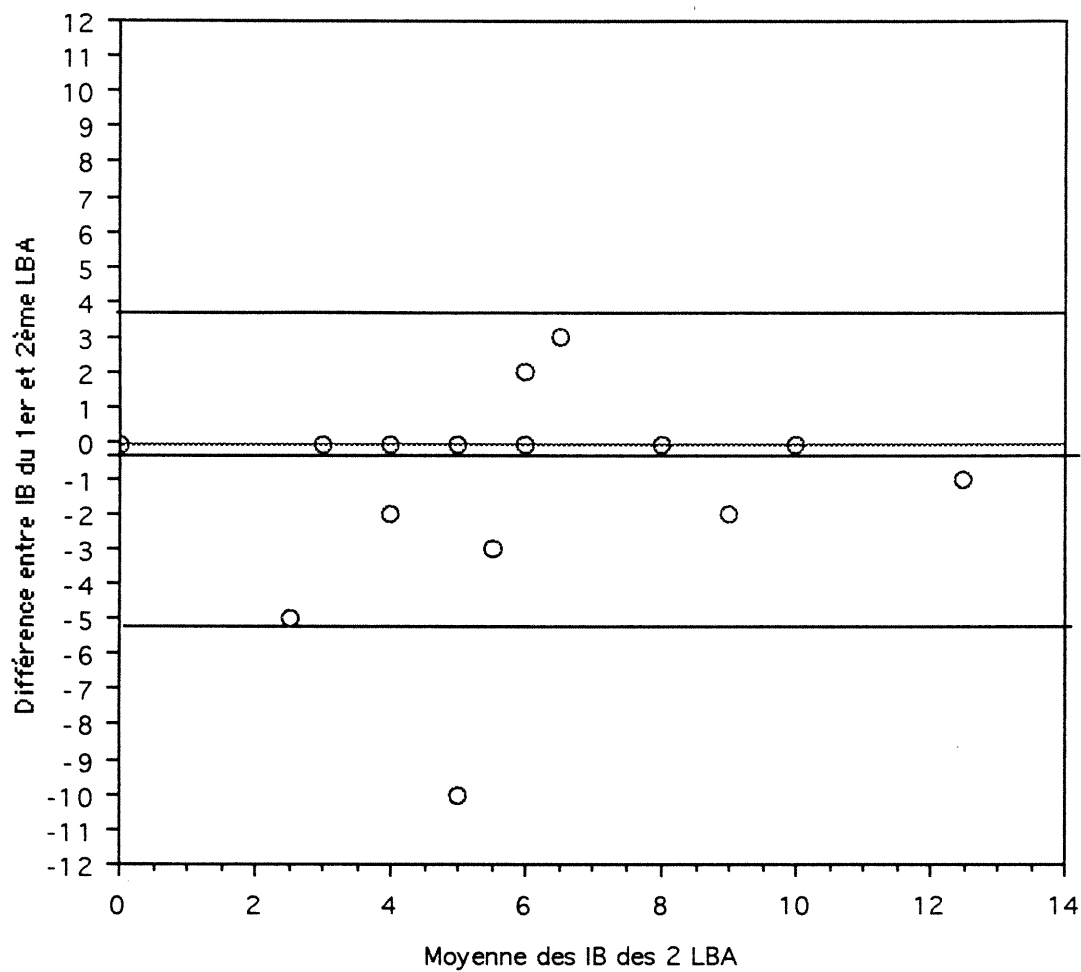
valeur globale = $\frac{\text{vrais positifs} + \text{vrais négatifs}}{\text{vrais positifs} + \text{faux négatifs} + \text{faux positifs} + \text{vrais négatifs}}$

Figure 12: Corrélation entre l' index bactérien (IB) des 2 LBA



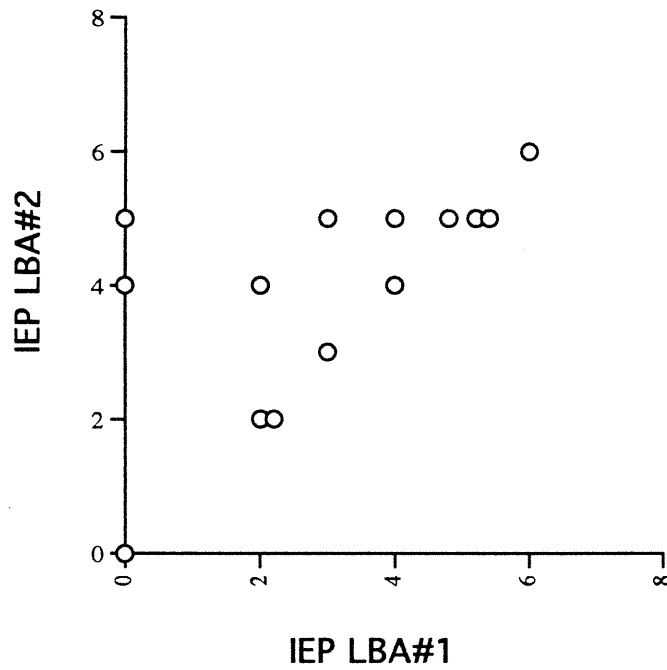
$r = 0,833$; $p < 0,0001$ (Fisher)

Figure 13: Diagramme de Bland Altman pour l'index bactérien (IB) entre les 2 LBA: différence moyenne entre les résultats obtenus par les 2 LBA en fonction de leur moyenne



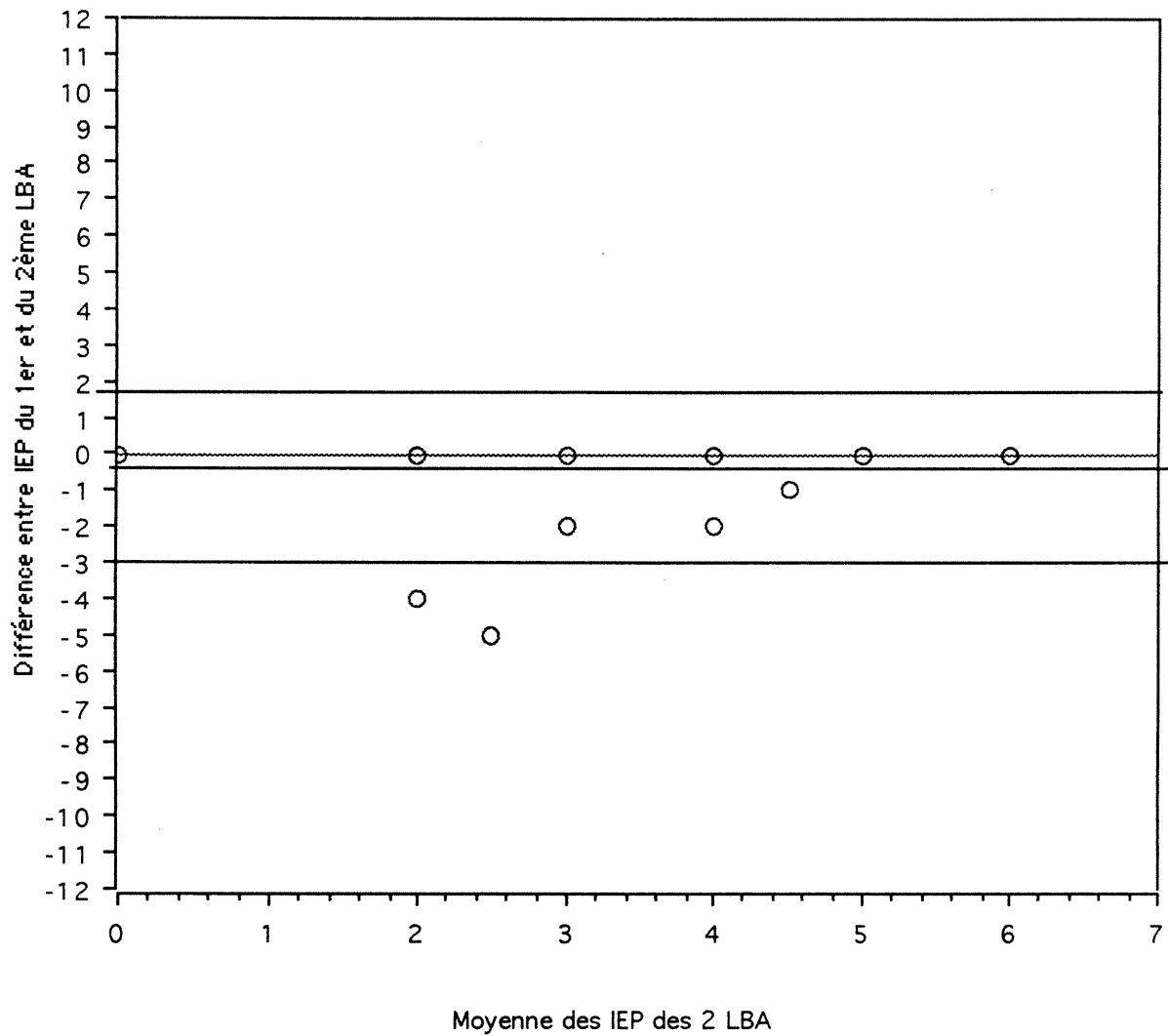
Différence moyenne entre l'IB des 2 LBA: -0,6
Limites de concordance: -5,076; +3,876

Figure 14: Corrélation entre l'index d'espèce prédominante des 2 LBA



$r = 0,842$; $p < 0,0001$ (Fisher)

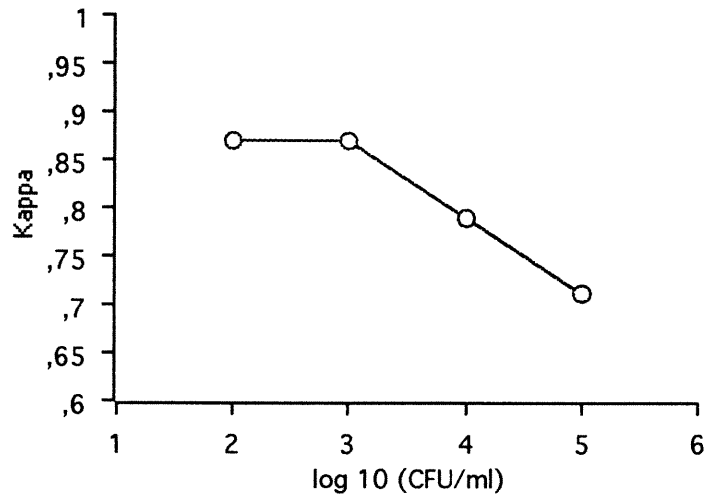
Figure 15: Diagramme de Bland Altman pour l'index d'espèce prédominante (IEP) entre les 2 LBA: différence moyenne entre les résultats obtenus par les 2 LBA en fonction de leur moyenne



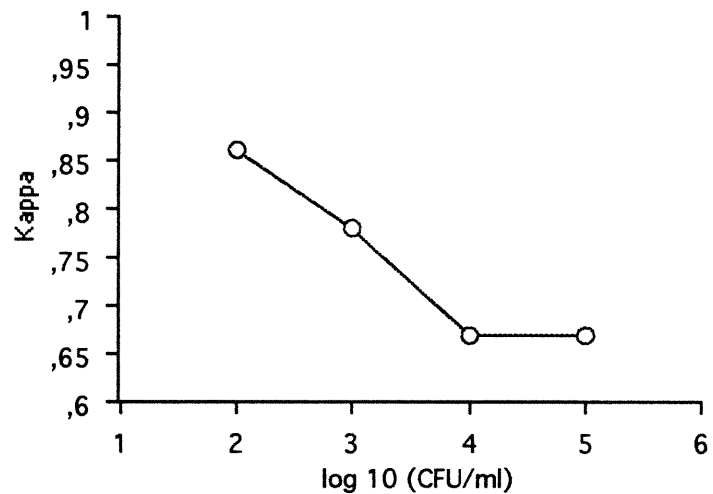
Différence moyenne entre l'IB des 2 LBA: -0,467
Limites de concordance: -2,915; +1,981

Figure 15: Diagramme démontrant la reproductibilité pour différents seuils bactériens de cultures quantitatives, selon l'index bactérien (a) et l'index d'espèce prédominante (b)

a) index bactérien



b) index d'espèce prédominante



Les seuils sont exprimés sur l'axe des X en log₁₀ CFU/ml (ex: 10³ = 3 sur l'échelle logarithmique). La reproductibilité est évaluée par le score Kappa sur l'axe des Y.

IX - BIBLIOGRAPHIE :

1. Fayon M, Tucci M, Lacroix J, Farrell CA, Gauthier M, Lafleur L, et al. Nosocomial bacterial pneumonia and tracheitis in pediatric intensive care: A prospective study. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997;155:162-9.
2. Singh-Naz N, Sprague BM, Patel KM, Pollack MM. Risk factors for nosocomial infection in critically ill children: A prospective cohort study. *Crit. Care Med.* 1996;24:857-8.
3. Bergen GA, Toney F. Infection versus colonization in the critical care unit. *Critical Care Clinics* 1998;14(1):71-90.
4. Bonten MJM, Gaillard CA, Wouters EFM, van Tiel FH, Stobberingh EE, van der Geest S. Problems in diagnosing nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients: A review. *Crit. Care Med.* 1994;22:1683-91.
5. Lacroix J, Skippen P, Cox P, Langley JM, Matlow A, Barker G, et al. Nosocomial infections in the PICU. In: Fuhrman BP, Zimmerman JJ, editors. *Pediatric critical care*. 2nd ed. St-Louis: Mosby Year Book; 1998. p. 1035-59.
6. Milliken J, Tait GA, Ford-Jones EL, Mindorff CM, Gold R, Mullins G. Nosocomial infection in a pediatric intensive care unit. *Crit. Care Med.* 1988;16:233-7.
7. Fagon JY, Chastre J, Domart Y. Nosocomial pneumonia in patients receiving continuous mechanical ventilation. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1991;139:877-84.
8. Jiménez P, Torres A, Rodríguez-Roisin R, et al. Incidence and etiology of pneumonia acquired during mechanical ventilation. *Crit. Care Med.* 1989;17:882-5.
9. Torres A, Aznar R, Gatell JM, Jiménez P, González J, Ferrer A, et al. Incidence, risk, and prognosis factors of nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1990;142:523-8.
10. Celis R, Torres A, Gatell JM, Almela M, Rodríguez-Roisin R, Agustí-Vidal A. Nosocomial pneumonia. A multivariate analysis of risk and prognosis. *Chest* 1988;93:318-24.
11. Pollock EMM, Ford-Jones EL, Rebeyka I., et al. Early nosocomial infections in a pediatric cardiovascular surgery patients. *Crit. Care Med.* 1990;18:378-84.
12. Zucker A, Pollack M, Katz R. Blind use of the double-lumen plugged catheter for diagnosis of respiratory tract infections in critically ill children. *Crit. Care Med.* 1984;12:867-70.
13. Ford-Jones EL, Mindorff CM, Langley JM, Allen U, Nàvès L, Patrick ML, et al. Epidemiologic study of 4684 hospital-acquired infections in pediatric patients. *Pediatr Infect Dis J* 1989;8:668-75.

14. Rouby JJ, Rossignon MD, Nicolas MH, de Lassale EM, Cristin S, Grosset J, et al. A prospective study of protected bronchoalveolar lavage in the diagnosis of nosocomial pneumonia. *Anesthesiology* 1989;71:679-85.
15. Croce MA, Fabian TF, Waddle-Smith L, Melton SM, Minard G, Kudsk A, et al. Utility of Gram's stain and efficacy of quantitative cultures for posttraumatic pneumonia. *Ann. Surg.* 1998;227:743-55.
16. Rouby JJ, de Lassale EM, Poete P, Nicolas MH, Bodin L, Jarlier V, et al. Nosocomial bronchopneumonia in the critically ill: Histologic and bacteriologic aspects. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1992;146:1059-66.
17. Kahn FW, Jones JM. Diagnosing bacterial respiratory infection by bronchoalveolar lavage. *J Infect Dis* 1987;155:862-869.
18. Tobin MJ, Grenvik A. Nosocomial lung infection and its diagnosis. *Crit. Care Med.* 1984;12:191-9.
19. Lecfoe MS, Fox GA, Leasa DJ. Accuracy of portable chest radiography in the critical care setting. *Chest* 1994;105:885-7.
20. Wunderink RG, Woldenberg LS, Zeiss J, Day CM, Ciemins J, Lacher DA. The radiologic diagnosis of autopsy-proven ventilator-associated pneumonia. *Chest* 1992;101:458-63.
21. Bekemeyer WB, Crapo RO, Calhoun S, Cannon CY, Clayton PD. Efficacy of chest radiography in a respiratory intensive care unit: a prospective study. *Chest* 1985;88:691-6.
22. Andrews CP, Coalson JJ, Smith JD, Johanson WG. Diagnosis of nosocomial bacterial pneumonia in acute, diffuse lung injury. *Chest* 1981;80:254-8.
23. Bell RC, Coalson JJ, Smith JD, Johanson WG. Multiple organ system failure and infection in adult respiratory distress syndrome. *Ann. Intern. Med.* 1983;99:293-8.
24. Fagon JY, Chastre J, Hance AJ, Guiguet M, Trouillet JL, Domart Y, et al. Detection of nosocomial lung infection in ventilated patients: Use of a protected specimen brush and quantitative culture techniques in 147 patients. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1988;138:110-6.
25. Fagon JY, Chastre J, Hance AJ, Domart Y, Trouillet JL, Gibert C. Evaluation of clinical judgment in the identification and treatment of nosocomial pneumonia in ventilated patients. *Chest* 1993;103:547-53.
26. Solé-Violan J, Rodríguez de Castro F, Rey A, Freixinet J, Aranda a, Caminero J, et al. Comparison of bronchoscopic diagnostic techniques with histological findings in brain dead organ donors without suspected pneumonia. *Thorax* 1996;51:929-31.

27. Wermert D, Marquette CH, Copin MC, Wallet F, Fraticelli A, Ramon P, et al. Influence of pulmonary bacteriology and histology on the yield of diagnostic procedures in ventilator-acquired pneumonia. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1998;158:139-47.
28. Rouby JJ, Poete P, Martin de Lassalle E, et al. Histologic and bacteriologic aspects of human nosocomial pneumonia. *Am. Rev. Resp. Dis.* 1992;146:1059-66.
29. Johanson WG, Seidenfeld JJ, Gomez P, de los Santos R, Coalson JJ. Bacteriologic diagnosis of nosocomial pneumonia following prolonged mechanical ventilation. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1988;137:259-64.
30. Fabregas N, Torres a, El-Ebiary M, Ramirez J, Hernandez C, Gonzalez J, et al. Histopathologic and microbiologic aspects of ventilator-associated pneumonia. *Anesthesiology* 1996;84:760-71.
31. Kirtland SH, Corley DE, Winterbauer RH, Springmeyer SC, Casey KR, Hampson NB, et al. The diagnosis of ventilator-associated pneumonia: a comparison of histologic, microbiologic and clinical criteria. *Chest* 1997;112:445-57.
32. Chastre J, Viau F, Brun P, Pierre J, Dauge MC, Bouchama A, et al. Prospective evaluation of the protected specimen brush for the diagnosis of pulmonary infections in ventilated patients. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1984;130:924-9.
33. Jacobs RF. Pneumonia. In: Donowitz LG, editor. *Hospital acquired infection in the pediatric patient.* 11^{ère} ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1988. p. 17-32.
34. Holzapfel L, Chastang C, Coupry A, Demingeon G, Bedock B, Tempelhoff G, et al. Absence de valeur prédictive additionnelle du brossage distal protégé chez des malades sous ventilation mécanique présentant des critères cliniques de pneumopathies nosocomiales. *Réan. Urg.* 1992;1:137.
35. Thorpe JE, Baughman RP, Frame PT, Wessler TA, Staneck JL. Bronchoalveolar lavage for diagnosing acute bacterial pneumonia. *J. Infect. Dis.* 1987;155:855-61.
36. Bartlett JG. Diagnostic accuracy of transtracheal aspiration bacteriologic studies. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1977;115:777-.
37. Bartlett JG, Finegold SM. Bacteriology of expectorated sputum with quantitative culture and wash technique compared to transtracheal aspirates. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1978;117:1019-27.
38. Jordan GW, Wong GA, Hoepfich PD. Bacteriology of the lower respiratory tract as determined by fiber-optic bronchoscopy and transtracheal aspiration. *J. Infect. Dis.* 1976;134:428-35.
39. Spencer CD, Beaty HN. Complications of transtracheal aspiration. *N. Engl. J. Med.* 1972;286:304-6.
40. El-Ebiary M, Torres A, González J, Puig de la Bellacasa J, García C, Jiménez de Anta MT, et al. Quantitative cultures of endotracheal aspirates for the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1993;148:1552-7.

41. Papazian L, Thomas P, Garbe L, Guignon I, Thirion X, Charrel J, et al. Bronchoscopic or blind sampling techniques for the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1995;152:1982-91.
42. Salata RA, Ellner JJ. Bacterial colonization of the tracheobronchial tree. *Clin. Chest Med.* 1988;91:623-33.
43. Torres A, El-Ebiary M, Padró L, González J, Puig de la Bellacasa J, Ramirez J, et al. Validation of different techniques for the diagnosis of ventilator-associated pneumonia: Comparison with immediate postmortem pulmonary biopsy. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1994;149:324-31.
44. Marchand S, Borderon J, Borderon JC, Grangeponce MC, Gold F, Laugier J. Diagnostic des infections broncho-pulmonaires chez l'enfant en unité de soins intensifs. *Ann. Pédiatr. (Paris)* 1985;32:593-6.
45. Wimberley N, Faling LJ, Bartlett JG. A fiberoptic bronchoscopy technique to obtain uncontaminated lower airway secretions for bacterial culture. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1979;119:337-43.
46. Baigelman W, Bellin S, Cupples A, Berenberg MJ. Bacteriologic assessment of the lower respiratory tract in intubated patients. *Crit. Care Med.* 1986;14:864-8.
47. Baughman RP, Thorpe JE, Staneck J, Rashkin M, Frame PT. Use of the protected specimen brush in patients with endotracheal or tracheostomy tubes. *Chest* 1987;91:233-6.
48. Chastre J, Fagon JY, Soler P, Bornet M, Domart Y, Trouillet JL, et al. Diagnosis of nosocomial pneumonia in intubated patients undergoing ventilation: Comparison of the usefulness of bronchoalveolar lavage and the protected specimen brush. *Am. J. Med.* 1988;85:499-506.
49. Chastre J, Fagon JY, Soler P, Domart Y, Pierre J, Dombret MC, et al. Quantification of BAL cells containing intracellular bacteria rapidly identifies ventilated patients with nosocomial pneumonia. *Chest* 1989;95:190-2S.
50. Chastre J, Fagon JY. Invasive diagnostic testing should be routinely used to manage ventilated patients with suspected pneumonia. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1994;150:570-4.
51. Durand P, Coseron-Zerbib M, Costa Y, Devictor D, Huault G. Évaluation du prélèvement distal protégé pour le diagnostic de pneumopathie nosocomiale chez l'enfant ventilé mécaniquement. *Réan. Urg.* 1994;3:649.
52. El-Ebiary M, Torres A, González J, Puig de la Bellacasa J, Celis R, Padró L, et al. Diagnosis of ventilator-associated pneumonia: Diagnostic value of quantitative culture of endotracheal aspirates. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1991;143:A108.
53. Higuchi JH, Coalson JJ, Johanson WG. Bacteriologic diagnosis of nosocomial pneumonia in primates. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1982;125:53-7.

54. Jaumain H, Allaouichiche B, Gagnieu MC, Jacquet B. Diagnostic précoce des pneumopathies nosocomiales sous ventilation mécanique: peut-on déterminer un seuil de germes intracellulaires? *Réan. Urg.* 1994;3:648.
55. Jiménez P, Saldías F, Meneses M, Silva ME, Wilson MG, Otth L. Diagnostic fiberoptic bronchoscopy in patients with community-acquired pneumonia. *Chest* 1993;103:1023-7.
56. Jordá R, Parras F, Ibañez J, Reina J, Bergadá J, Raurich JM. Diagnosis of nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients by the blind protected telescoping catheter. *Intensive Care Med.* 1993;19:377-82.
57. Labenne M, Rambaud C, Poyart C, Jouvét P, Goldfarb B, Rambaud C, et al. Intérêt du brossage distal protégé et du lavage bronchoalvéolaire non fibroscopique dans le diagnostic des pneumopathies nosocomiales de l'enfant ventilé. *Réan. Urg.* 1994;3:649.
58. Lambert RS, Vereen LE, George RB. Comparison of tracheal aspirates and protected brush catheter specimens for identifying pathogenic bacteria in mechanically ventilated patients. *J. Am. Med. Sci.* 1989;297:377-82.
59. Lorch DG, John JF, Tomlinson JR, Miller KS, Sahn SA. Protected transbronchial needle aspiration and protected specimen brush in the diagnosis of pneumonia. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1987;136:565-9.
60. Marquette CH, Hérenge E, Mathieu D, Courcol R, Ramon P. Diagnostic des pneumopathies nosocomiales sous ventilation assistée: absence de reproductibilité du brossage protégé perfibroscopique. *Réan. Urg.* 1992;1:137.
61. Marquette CH, Hérenge F, Saulnier F, Nevierre R, Mathieu D, Courcol R, et al. Protected specimen brush in the assessment of ventilator-associated pneumonia: Repeatability of the protected brush specimen. *Chest* 1993;103:243-7.
62. Marquette CH, Georges H, Wallet F, Ramon P, Saulnier F, Nevierre R, et al. Diagnostic efficiency of endotracheal aspirates with quantitative bacterial cultures in intubated patients with suspected pneumonia: Comparison with the protected brush specimen. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1993;148:138-44.
63. Marquette CH. Diagnostic des pneumopathies acquises en ventilation mécanique. *Réanimation Urgence* 1994;3:1-2.
64. Martos JA, Ferrer M, Torres A, González J, Puig de la Bellacasa J, Celis R, et al. Specificity of quantitative cultures of protected brush specimen and bronchoalveolar lavage in mechanically ventilated patients. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1990;141:A276.
65. Meduri GU, Beals D, Maijub AG. Protected bronchoalveolar lavage for collection of uncontaminated lower respiratory tract secretions. *Chest* 1989;96:187S.

66. Meduri GU, Mauldin GL, Wunderink RG, Leeper KV, Jones CB, Tolley E, et al. Causes of fever and pulmonary densities in patients with clinical manifestations of ventilator-associated pneumonia. *Chest* 1994;106:221-35.
67. Niederman MS, Torres A, Summer W. Invasive diagnostic testing is not needed routinely to manage suspected ventilator-associated pneumonia. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1994;150:565-9.
68. Papazian L, Thomas P, Garbe L, Pradal M, Perrin G, Saux P, et al. Diagnostic des bronchopneumopathies nosocomiales: à propos de la mauvaise sensibilité de la brosse télescopique protégée. *Réan. Urg.* 1992;1:1023.
69. Pham LH, Brun-Buisson C, Legrand P, Rauss A, Verra F, Brochard L, et al. Diagnosis of nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients: Comparison of a plugged telescoping catheter with the protected specimen brush. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1991;143:1055-61.
70. Rigal E, Roze JC, Villers D, Derriennic M, David-Melon V, Lacroix-Mechinaud F, et al. Prospective evaluation of the protected specimen brush for the diagnosis of pulmonary infections in ventilated newborns. *Pediatr. Pulmonol.* 1990;8:268-72.
71. Rodríguez de Castro F, Violán JS, Lafarga Capuz B, Caminero Luna J, González Rodríguez B, Manzano Alonso JL. Reliability of the bronchoscopic protected brush in the diagnosis of pneumonia in mechanically ventilated patients. *Crit. Care Med.* 1991;19:171-5.
72. Rodríguez de Castro F, Solé J, Elcuaz R. Quantitative cultures of protected brush specimens and bronchoalveolar lavage in ventilated patients without suspected pneumonia. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1994;149:320-3.
73. Solé-Violán J, Rodríguez de Castro F, Rey A, Martín-Gonzalez JC, Cabrera-Navarro P. Usefulness of microscopic examination of intracellular organisms in lavage fluid in ventilator-associated pneumonia. *Chest* 1994;106:889-94.
74. Sörensen J, Forsberg P, Håkanson E, Maller F, Sederholm C, Sörén L, et al. A new diagnostic approach to the patient with severe pneumonia. *Scand. J. Infect. Dis.* 1989;21:33-41.
75. Timsit JF, Misset B, Francoual S, Goldstein FW, Vaury P, Carlet J. Is protected specimen brush a reproducible method to diagnose ICU-acquired pneumonia? *Chest* 1993;104:104-8.
76. Timsit JF, Misset B, Lescale O, Carlet J. Enquête sur les modalités de réalisation de la fibroscopie avec brosse de Wimberley (pour le diagnostic des pneumonies nosocomiales) chez les malades en ventilation mécanique. *Réan. Urg.* 1994;3:3-8.
77. Torres A, Puig de la Bellacasa J, Rodríguez-Roisin R, Jimenez de Anta MT, Agustí-Vidal A. Diagnostic value of telescoping plugged catheters in mechanically ventilated patients with bacterial pneumonia using the Metras catheter. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1988;138:117-20.

78. Torres A, Puig de la Bellacasa J, Xaubet A, González J, Rodríguez-Roisin R, Teresa M, et al. Diagnostic value of quantitative cultures of bronchoalveolar lavage and telescoping plugged catheters in mechanically ventilated patients with bacterial pneumonia. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1989;140:306-10.
79. Torres A, Martos A, Puig de la Bellacasa J, Ferrer M, El-Ebiary M, González J, et al. Specificity of endotracheal aspiration, protected specimen brush, and bronchoalveolar lavage in mechanically ventilated patients. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1993;147:952-7.
80. Torzillo PJ, McWilliam DB, Young IH, Woog RH, Benn R. Use of protected telescoping brush system in the management of bacterial pulmonary infection in intubated patients. *Br. J. Dis. Chest* 1985;79:125-31.
81. Villers D, Derriennic M, Germaud P, Baron D, Nicolas F, Courtieu AL. Reliability of the bronchoscopic protected catheter brush in intubated and ventilated patients. *Chest* 1985;88:527-30.
82. Wimberley NW, Bass JB, Jr, Boyd BW, Kirkpatrick MB, Serio RA, Pollock HM. Use of a bronchoscopic protected catheter brush for the diagnosis of pulmonary infections. *Chest* 1982;81:556-62.
83. Xaubert A, Torres A, Marco F, Puig de la Bellacasa J, Faus R, Agustí-Vidal A. Pulmonary infiltrates in immunocompromised patients. Diagnostic values of telescoping plugged catheter and bronchoalveolar lavage. *Chest* 1989;95:130-5.
84. Potgieter PD, Hammond MJ. Etiology and diagnosis of pneumonia requiring ICU admission. *Chest* 1992;101:199-203.
85. Barreiro B, Dorca J, Manresa F, Catala I, Esteban L, Verdaguer R, et al. Protected bronchoalveolar lavage in the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Eur. Respir. J.* 1996;9:1500-7.
86. de Jaeger A, Litalien C, Lacroix J, Guertin MC, Infante-Rivard C. A meta-analysis evaluating the diagnostic accuracy of protected specimen brush and of bronchoalveolar lavage to diagnose bacterial nosocomial pneumonia. *Crit. Care Med.* 1999;27:2548-60.
87. Meduri GU, Baselski V. The role of bronchoalveolar lavage in diagnosing nonopportunistic bacterial pneumonia. *Chest* 1991;100:179-90.
88. Baughman RP, Dohn MN, Frame PT. The continuing utility of bronchoalveolar lavage to diagnose opportunistic infection in AIDS patients. *Am. J. Med.* 1994;97:515-22.
89. Baughman RP, Dohn MN, Loudon RG. Bronchoscopy with bronchoalveolar lavage in tuberculosis and fungal infections. *Chest* 1991;99:92-7.
90. Antonelli M, Moro ML, Capelli O, De Blasi RA, D'Errico RR, Conti G, et al. Risk factors for early onset pneumonia in trauma patients. *Chest* 1994;105:224-8.

91. Braun J, Dalhoff K, Schaaf B, Wood WG, Wießmann KJ. Characterization of protein-antiproteinase imbalance in bronchoalveolar lavage from patients with pneumonia. *Eur. J. Respir.* 1994;7:127-33.
92. Bye MR, Bernstein L, Shah K, Ellaurie M, Rubinstein A. Diagnostic bronchoalveolar lavage in children with AIDS. *Pediatr. Pulmonol.* 1987;3:425-8.
93. Cantral DE, Tape TG, Reed EC, Spurzem JR, Rennard SI, Thompson AB. Quantitative culture of bronchoalveolar lavage for the diagnosis of bacterial pneumonia. *Am. J. Med.* 1993;95:601-7.
94. Costabel U, Teschler H, Guzman J. Bronchiolitis obliterans organizing pneumonia: The cytological and immunocytological profile of bronchoalveolar lavage. *Eur. Respir. J.* 1992;5:791-7.
95. de Blic J, McKelvie P, le Bourgeois M, Blanche S, Benoist MR, Scheinmann P. Value of bronchoalveolar lavage in the management of severe acute pneumonia and interstitial pneumonitis in the immunocompromised child. *Thorax* 1987;42:759-65.
96. Domart Y, Chastre J, Fagon JY, Soler P, Montravers P, Pierre J, et al. Évaluation comparative du lavage bronchoalvéolaire et de l'aspiration bronchique dans l'approche initiale des malades suspects de pneumopathie nosocomiale sous ventilation assistée. *Réanimation Urgence Soins Intensifs* 1989;5:468.
97. Dotson RG, Pingleton SK. The effect of antibiotic therapy on recovery of intracellular bacteria from bronchoalveolar lavage in suspected ventilator-associated nosocomial pneumonia. *Chest* 1993;103:541-6.
98. Frankel LR, Smith DW, Lewiston NJ. Bronchoalveolar lavage for diagnosis of pneumonia in the immunocompromised child. *Pediatrics* 1988;81:785-8.
99. Gaussorgues P, Piperno D, Bachmann P, Boyer F, Jean G, Gérard M, et al. Comparison of nonbronchoscopic bronchoalveolar lavage to open lung biopsy for the bacteriologic diagnosis of pulmonary infections in mechanically ventilated patients. *Intensive Care Med.* 1989;15:94-8.
100. Grigg J, van den Borre C, Malfroot A, Pierard D, Wang D, Dab I. Bilateral fiberoptic bronchoalveolar lavage in acute unilateral pneumonia. *J. Pediatr.* 1993;122:606-8.
101. Guerra LF, Baughman RP. Use of bronchoalveolar lavage to diagnose bacterial pneumonia in mechanically ventilated patients. *Crit. Care Med.* 1990;18:169-73.
102. Kirkpatrick MB, Bass JB. Quantitative bacterial cultures of bronchoalveolar lavage fluids and protected brush catheter specimens from normal subjects. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1989;139:546-8.
103. Meduri GU, Stover DE, Greeno RA, Nash T, Zaman MB. Bilateral bronchoalveolar lavage in the diagnosis of opportunistic pulmonary infections. *Chest* 1991;100:1272-6.
104. Meduri GU, Wunderink RG, Leeper KV, Beals DH. Management of bacterial pneumonia in ventilated patients. *Chest* 1992;101:500-8.

105. Nathe JC, Grimfled A, Boccan-Gibod L, Chevalier JY, Monier S, Costil J. Lavage bronchoalvéolaire par technique non fibroscopique chez l'enfant en ventilation mécanique. *Réan. Soins. Intens. Méd. Urg.* 1987;2:233.
106. Pattishall EN, Noyes BE, Orenstein DM. Use of bronchoalveolar lavage in immunocompromised children with pneumonia. *Pediatr. Pulmonol.* 1988;5:1-5.
107. Piperno D, Gaussorgues P, Valon B, Payré J, Fouque P, Robert D. Intérêt diagnostique du lavage broncho-alvéolaire non fibroscopique dans les pneumopathies en ventilation mécanique. *Rev. Mal. Respir.* 1987;4:17-21.
108. Pugin J, Auckenthaler R, Mili N, Janssens JP, Lew PD, Suter PM. Diagnosis of ventilator-associated pneumonia by bacteriologic analysis of bronchoscopic and nonbronchoscopic "blind" bronchoalveolar lavage fluid. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1991;143:1121-9.
109. Pugin J, Suter PM. Diagnostic bronchoalveolar lavage in patients with pneumonia produces sepsis-like systemic effects. *Intensive Care Med.* 1992;18:6-10.
110. Pugin J, Auckenthaler R, Delaspre O, van Gessel E, Suter PM. Rapid diagnosis of Gram negative pneumonia by assay of endotoxin in bronchoalveolar lavage fluid. *Thorax* 1992;47:547-9.
111. Roger-Moreau I, de Barbeyrac B, Ducoudre M, Hilbert G, Gbikpi-Benissan G, Cardinaud JP, et al. Evaluation of bronchoalveolar lavage for the diagnosis of bacterial pneumonia in ventilated patients. *Ann. Biol. Clin.* 1992;50:587-91.
112. Sauaia A, Moore FA, Moore EE, Haenel JB, Kaneer L, Read RA. Diagnosing pneumonia in mechanically ventilated patients: Endotracheal aspirate versus bronchoalveolar lavage. *J. Trauma* 1993;35:512-7.
113. Stover DE, White DA, Romano PA, Gellene RA. Diagnosis of pulmonary disease in acquired immune deficiency syndrome. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1984;130:659-62.
114. Stover DE, Zaman MB, Hajdu SI, Lange M, Gold J, Armstrong D. Bronchoalveolar lavage in the diagnosis of diffuse pulmonary infiltrates in the immunosuppressed host. *Ann. Intern. Med.* 1984;101:1-7.
115. White DA, Gellene RA, Gupta S, Cunningham-Rundles C, Stover DE. Pulmonary cell populations in the immunosuppressed patient. *Chest* 1985;88:352-9.
116. Winthrop AL, Waddell T, Superina RA. The diagnosis of pneumonia in the immunocompromised child: Use of bronchoalveolar lavage. *J. Pediatr. Surg.* 1990;25:878-80.
117. Wunderink RG, Russell GB, Mezger E, Adams D, Popovich J. The diagnostic utility of the antibody-coated bacteria test in intubated patients. *Chest* 1991;99:84-8.

131. Girault C, Saigne D, Jusserand D, Chevron V, Leroy J, Bonmarchand G. Évaluation technique du prélèvement bronchique distal protégé à l'aveugle par cathéter en réanimation. *Réan. Urg.* 1997;6(6):667-74.
132. De Castro FR, J.S. V, Capuz BL, Luna JC, Rodriguez BG, Alonso JLM. Reliability of the bronchoscopic protected catheter brush in the diagnosis of pneumonia in mechanically ventilated patients. *Crit. Care Med.* 1991;19:171-5.
133. Jourdain B, Novara A, Joly-Guillou ML, Dombret MC, Calvat S, Trouillet JL, et al. Role of quantitative cultures of endotracheal aspirates in the diagnosis of nosocomial pneumonia. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1995;152:241-6.
134. Godard J, Allaouchiche B. Bronchopneumopathies nosocomiales en réanimation: valeur des différents outils diagnostiques. *Ann. Fr. Anesth. Réanim.* 1994;13:699-704.
135. Bello S, Tejada A, Chacon E, Villuendas MC, Senar A, Gascon M, et al. Blind protected specimen brushing versus bronchoscopic techniques in the aetiological diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Eur. Respir. J.* 1996;9:1494-9.
136. Meduri GU, Reddy RC, Stanley T, El-Zeky F. Pneumonia in acute respiratory distress syndrome: a prospective evaluation of bilateral bronchoscopic sampling. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1998;158:870-5.
137. Cook DJ, Brun-Buisson C, Guyatt GH, Sibbald WJ. Evaluation of new diagnostic technologies: Bronchoalveolar lavage and the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Crit. Care Med.* 1994;22:1314-22.
138. Krafte-Jacobs B, Carver J, Wilkinson J. Comparison of gastric intramucosal pH and global perfusional deficits in pediatric septic shock. *Crit. Care Med.* 1994;22:A165.
139. Marquette CH, Copin MC, Wallet F. Le lavage broncho-alvéolaire en réanimation: indications, techniques, retentissement et résultats. In: Société de réanimation de langue française, editor. *Actualités en réanimation et urgences.* Paris: Arnette; 1995. p. 341-53.
140. Gerbeaux P, Ledoray V, Boussuges A, Molenat F, Jean P, Sainty JM. Diagnosis of nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1998;157:76-80.
141. Bergmans DCJJ, Bonten MJM, De Leeuw PW, Stobberingh EE. Reproducibility of quantitative cultures of endotracheal aspirates from mechanically ventilated patients. *J. Clin. Microbiol.* 1997;35(3):796-8.
142. Allaouchiche B, Jaumain H, Dumontet C, Motin J. Early diagnosis of ventilator-associated pneumonia: Is it possible to define a cutoff value of infected cells in BAL fluid? *Chest* 1996;110:1558-65.

143. Veber B, Souweine B, Gachot B, Chevret S, Bedos JP, Decre D, et al. Comparisons of direct examination of three types of bronchoscopy specimens used to diagnose nosocomial pneumonia. *Crit. Care Med.* 2000;28(4):962-8.
144. Papazian L, Autillo-Touati A, Thomas P, Bregeon F, Garbe L, Saux P, et al. Diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Anesthesiology* 1997;87(2):268-76.
145. Timsit JF, Misset B, Renaud B, Goldstein FW, Carlet J. Effect of previous antimicrobial therapy on the accuracy of the main procedures used to diagnose nosocomial pneumonia in patients who are using ventilation. *Chest* 1995;108:1036-40.
146. Marquette CH, Herengt F, Mathieu D, Saulnier F, Courcol R, Ramon P. Diagnosis of pneumonia in mechanically ventilated patients: Repeatability of the protected specimen brush. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1993;147:211-4.
147. Fox GA, Leasa DJ, Sibbald WJ, McCormack DG. Reproducibility of protected brush catheter specimen cultures in critically ill patients with suspected pneumonia. *Can. Respir. J.* 1995;2:173-8.
148. Klech H, Pohl W, for the European Society of Pneumology Task Group on BAL. Technical recommendations and guidelines for bronchoalveolar lavage (BAL). *Eur. Respir. J.* 1989;2:561-85.
149. DeBlic J, Midulla F, Barbato A, Clement A, Dab I, Eber E, et al. Bronchoalveolar lavage in children. *Eur. Respir. J.* 2000;15:217-31.
150. Klein U, Karzai W, Zimmermann P, Hannemann U, Koschel U, Brunner JX, et al. Changes in pulmonary mechanics after fiberoptic bronchoalveolar lavage in mechanically ventilated patients. *Intensive Care Med.* 1998;24:1289-93.
151. de Fijter JW, van der Hoeven JG, Eggelmeijer F, et al. Sepsis syndrome and death after bronchoalveolar lavage. *Chest* 1993;104:1296-7.
152. Cazzadori A, Di Perri G, Bonora S, Lanzafame M, Allegranzi B, Concia E. Fatal pneumothorax complicating BAL in a bone marrow transplant recipient with bronchiolitis obliterans. *Chest* 1997;111:1468-9.
153. Schindler MB, Cox PN. A simple method of bronchoalveolar lavage. *Anaesth. Intensive Care* 1994;22:66-8.
154. Barbato A, Magarotto M, Crivellaro M, Novello Jr A, Cracco A, de Blic J, et al. Use of paediatric bronchoscope, flexible and rigid, in 51 european centres. *Eur. Respir. J.* 1997;10:1761-6.
155. Rello J, Torres A, Ricart M, et al. Ventilator-associated pneumonia by *Staphylococcus aureus*: comparison of methicillin-resistant and methicillin-sensitive episodes. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1994;150:1545-9.

156. Meyer KS, Urban C, Eagan JA, et al. Nosocomial outbreak of Klebsiella infection resistant to late-generation cephalosporins. *Ann. Intern. Med.* 1993;119:353-8.
157. Luna CM, Vujacich P, Niederman MS, Vay C, Gherardi C, Matera J, et al. Impact of BAL data on the therapy and outcome of ventilator-associated pneumonia. *Chest* 1997;111:676-85.
158. Alvarez-Lerma F. Modification of empiric antibiotic treatment in patients with pneumonia acquired in the intensive care unit: ICU-acquired pneumonia study group. *Intensive Care Med.* 1996;22:387-94.
159. Kollef H, Ward S. The influence of mini-BAL cultures on patient outcomes: Implications for the antibiotic management of ventilator-associated pneumonia. *Chest* 1998;113:412-20.
160. Solé Violan J, Arroyo Fernandez J, Bordes Benitez A, Cardenosa Cendrero JA, Rodriguez de Castro F. Impact of quantitative invasive diagnostic techniques in the management and outcome of mechanically ventilated patients with suspected pneumonia. *Crit Care Med* 2000;28:2737-2741.
161. Bonten JM, Gergmans DCJJ, Stobberingh EE, van der Geest S, De Leeuw PW, van Tiel FH, et al. Implementation of bronchoscopic techniques in the diagnosis of ventilator-associated pneumonia to reduce antibiotic use. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997;156:1820-4.
162. Donner A, Eliasziw M. Sample size requirements for reliability studies. *Statistics in Medicine* 1987;6:441-8.
163. Rouby JJ. Bronchoalveolar lavage in the diagnosis of nosocomial pneumonia. *Intensive Care World* 1993;10:145-50.
164. Costil J, Mathe JC, Grimfeld A. Diagnostic étiologique des pneumopathies aiguës graves du nourrisson et de l'enfant. *Rev. Prat.* 1989;39:1840-3.
165. Pohunek P, Pokorna H, Striz I. Comparaison of cell profiles in separately evaluated fractions of bronchoalveolar lavage fluid in children. *Thorax* 1996;51:615-8.
166. Polgar G, Promadhat V. Pulmonary function testing in children. Techniques and standards. Philadelphia: W.B. Saunders Co.; 1971.
167. Ratjen F, Bruch J. Adjustment of bronchoalveolar lavage volume to body weight in children. *Pediatr. Pulmonol.* 1996;21:184-8.
168. Craven DE, Kunches LM, Kilinsky V, Lichtenberg DA, Make BJ, McCabe WR. Risk factors for pneumonia and fatality in patients receiving continuous mechanical ventilation. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1986;133:792-6.
169. Ratjen F, Costabel U, Havers W. Differential cytology of bronchoalveolar lavage fluid in immunosuppressed children with pulmonary infiltrates. *Arch. Dis. Child.* 1996;74:507-11.

170. Riegelman RK. Studying a study and testing a test. Boston: Little, Brown & Co; 1981.
171. Assessment OoT. Identifying health technologies that work. Searching for evidence. Pittsburgh: Congress of the United States 1994:308.
172. Feinstein AR, Cicchetti DV. High agreement but low kappa:I. The problems of two paradoxes. *J Clin Epidemiol* 1990;43:543-549.
173. Landis RJ, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977;33:159-74.
174. Grenier B. Évaluation de la décision médicale: Introduction à l'analyse médico-économique. 1996:412.
175. Kramer M, Feinstein AR. Clinical biostatistics. LIV. The biostatistics of concordance. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1981;29:111-23.
176. Fleiss JL. Statistical methods for rates and proportions. 2e ed. New York: John Wiley & Sons; 1981.
177. Cronbach LJ, Gleser GC, Rajaratnam N. Theory of generalizability: A liberalization of reliability theory. *Brit J Math. and Stat. Psychol.* 1963;16:137-73.
178. Cardinet J, Tourneur Y. Assurer la mesure. Berne; 1985.
179. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986;1:307-10.
180. Middleton R, Broughton WA, Kirkpatrick MB. Comparison of four methods for assessing airway bacteriology in intubated, mechanically ventilated patients. *Am. J. Med. Sci* 1992;304:239-45.
181. Allaouchiche B, Mohammedi I, Gagnieu MC, Motin J. Intérêt de l'étude cytologique du lavage broncho-alvéolaire pour le diagnostic précoce des pneumopathies nosocomiales chez le traumatisé thoracique. *Ann. Fr. Anesth. Réanim.* 1994;13:177-81.
182. Phillips JO, Metzler MH, Huckfeldt RE, Keller ME, McBride CL. A prospective study of non-bronchoscopic bronchoalveolar lavage compared to protected specimen brush in the diagnosis of nosocomial pneumonia in the ventilated ICU patient. *Crit Care Med* 1999;27:A142.
183. Fleiss. Statistical methods for rates and proportions. 2nd Edition. John Wiley & Sons. 1981. New York, USA. p.221.

X - ANNEXES

Annexe 1 :

Lettre de consentement

Montréal, le 2 janvier 1996

Objet: lettre de consentement

Chère madame, cher monsieur,

Votre enfant est présentement hospitalisé dans le service des soins intensifs pédiatriques de l'Hôpital Sainte-Justine. Par la présente, nous vous demandons la permission de faire deux lavages bronchoalvéolaires consécutifs chez votre enfant. Ce test est indiqué parce que l'on craint que votre enfant ait contracté une pneumonie infectieuse: il nous permettra de savoir si votre enfant souffre réellement d'une telle pneumonie et il nous permettra de trouver quel est le germe en cause. Ce test pourrait donc s'avérer utile à votre enfant. Il faut réaliser cependant que nous répéterons le test: ceci pourrait améliorer les chances de préciser le diagnostic et la cause de l'état respiratoire de votre enfant, mais cela augmente aussi le risque associé à ce test.

Un lavage bronchoalvéolaire peut causer les complications suivantes: baisse de la quantité d'oxygène contenu dans le sang, chute de la pression artérielle et poussée fébrile. La littérature médicale rapporte que ces complications sont bénignes et transitoires. En fait, la littérature provenant du milieu des soins intensifs pour adultes suggère que le lavage bronchoalvéolaire est un test utile et sans grands dangers, mais l'on ne connaît pas réellement les conséquences de ce test chez l'enfant. C'est pour tenter de répondre à ces questions que cette étude est entreprise.

Nous vous demandons, par la présente lettre, la permission de faire cette étude. En cas de refus de votre part, nous continuerons de traiter votre enfant comme auparavant. Si vous acceptez, nous trouverons peut-être une meilleure façon d'ajuster le traitement des enfants traités en réanimation.

Vous pouvez vous retirer de l'étude en tout temps, sans préjudices de notre part pour votre enfant ou pour vous-même. Si vous avez des questions pendant que l'étude est faite, vous pouvez rejoindre le Dr France Gauvin ou le Dr Jacques Lacroix en appelant à 345-4708.

Je vous remercie de votre collaboration,

Jacques Lacroix, M.D.

France Gauvin M.D.

J'ai lu cette lettre. Par ma signature, j'atteste que je suis d'accord pour que l'on réalise l'étude en question chez mon enfant.

_____ (père ou mère)

_____ (témoin)

Signé le _____ 199_.

Annexe 2 :

Livret d'observation

IVRET D'OBSERVATION:

-----Imprimer ci-haut la carte de l'Hôpital-----

REPRODUCTIBILITÉ DE L'ANALYSE DES SÉCRÉTIONS RESPIRATOIRES OBTENUES PAR UN LAVAGE BRONCHOALVÉOLAIRE NON-BRONCHOSCOPIQUE PROTÉGÉ CHEZ L'ENFANT INTUBÉ

----- Remplir les trois sections qui suivent pour tous les patients susceptibles de souffrir d'une PNB ou d'une TNB -----

1. Données démographiques

- 1.1 Numéro du dossier:
- 1.2 Sexe: 1 = féminin, 2 = masculin
- 1.3 Date de naissance (jour/mois/année)/...../19.....
- 1.4 Date d'admission aux soins intensifs pédiatriques (jour/mois/année)/...../19.....
- 1.5 Admis en... (noter la spécialité du médecin traitant): 1. chirurgie cardiaque; 2. neurochirurgie; 3. chirurgie générale;
4. pédiatrie; 5. autre spécialité (préciser.....).

1.6 Critères d'**éligibilité** pour entrer dans l'étude: patient intubé qui a séjourné aux soins intensifs depuis au moins deux jours et qui présente au moins l'un des facteurs de risque suivants (un seul critère suffit pour considérer le patient éligible, mais il faut cocher tous les critères présents):

- 1.6.1 insuffisance respiratoire
- 1.6.2 ventilation mécanique
- 1.6.3 traumatisme crânien
- 1.6.4 immunodéficience
- 1.6.5 administration d'un agent curarisant

1.7 Raisons de l'**inclusion** du cas (cocher tous les symptômes ou signes présents au moment du premier LBA):

- 1.7.1 Tachypnée ou bradypnée ¹
- 1.7.2 Apnées

¹ Nous considérerons qu'il y a bradypnée ou tachypnée, bradycardie ou tachycardie, si un patient présente une fréquence respiratoire ou cardiaque inférieure ou supérieure aux normes précisées dans le tableau suivant par un écart dépassant une déviation standards (moyenne \pm écart type; tiré de Iliff A et al. Child Dev 1952;23:237-45 et de Morlay CJ et al. Arch Dis Child 1990;65:834-7):

FRÉQUENCERESPIRATOIRE			FRÉQUENCECARDIAQUE		
Âge	Garçons	Filles	Âge	Garçons	Filles
			1e-3e jour de vie	116 \pm 11	116 \pm 11
			4e-7e jour de vie	121 \pm 13	121 \pm 13
			8e-14e jour de vie	141 \pm 11	141 \pm 11
< 1 mois	30-80	30-80	< 1 mois	130 \pm 22	130 \pm 22
1-6 mois	42 \pm 12	42 \pm 12	1 mois à 1 an	135 \pm 18	126 \pm 21
7-12 mois	31 \pm 8	30 \pm 6			
1-2 ans	26 \pm 4	27 \pm 4	1-2 ans	105 \pm 16	104 \pm 17
2-3 ans	25 \pm 4	25 \pm 3	2-3 ans	93 \pm 12	93 \pm 9
3-4 ans	24 \pm 3	24 \pm 3	3-4 ans	87 \pm 9	89 \pm 9
4-5 ans	23 \pm 2	22 \pm 2	4-5 ans	84 \pm 8	84 \pm 8
7-8 ans	20 \pm 3	20 \pm 2	7-8 ans	75 \pm 8	76 \pm 8
10-11 ans	19 \pm 2	19 \pm 3	10-11 ans	67 \pm 7	69 \pm 8
15-16 ans	17 \pm 3	18 \pm 3	15-16 ans	61 \pm 8	65 \pm 8

- 1.7.3 Dyspnée
- 1.7.4 Ronchi à l'auscultation
- 1.7.5 Wheezing à l'auscultation
- 1.7.6 Toux
- 1.7.7 Matité à la percussion
- 1.7.8 Aspect purulent des sécrétions respiratoires lors des aspirations endotrachéales
- 1.7.9 Augmentation de la quantité de sécrétions respiratoires lors des aspirations endotrachéales
- 1.7.10 Bradycardie (définition: voir note de pied de page précédente)
- 1.7.11 Fièvre (température rectale > 38,0 °C)
- 1.7.12 Hypothermie (température rectale < 36,0 °C)
- 1.7.13 Hémoculture positive
- 1.7.14 Culture des sécrétions endotrachéales positives
- 1.7.15 Opacité radiologique apparue depuis moins de 24 heures
- 1.7.16 Épanchement pleurale sur radiographie
- 1.8 Cause d'exclusion à l'entrée dans l'étude (noter le critère; NB: un seul critère suffit pour exclure un patient):
0. pas d'exclusion;
1. âge > 18 ans;
2. cas d'obstétrique-gynécologie;
3. patient déjà en mort cérébrale au moment de l'admission;
4. contre-indication de faire un LBA;
5. cardiopathie compliquée par une hypertension pulmonaire;
6. patients dont le médecin traitant refuse de participer à l'étude ou patient qui refuse lui-même de participer à l'étude;
7. technicien ou assistante de recherche non disponible;
8. autre raison (préciser.....)
- 1.9 Cause d'exclusion a posteriori (noter le critère):
0. pas d'exclusion; 1. cas perdu ou oublié; 2. données manquantes; 3. autre (préciser.....)

2 Données initiales

- 2.1 Date d'entrée dans l'étude où s'est fait le LBA ou encore date où aurait dû se faire le LBA/...../199.....
- 2.2 Âge à l'entrée dans l'étude (en mois) mois
- 2.3 Score de PRISM (voir annexe) le jour de l'entrée dans l'étude
- 2.4 Diagnostic(s) de base (cocher un plusieurs diagnostics):
- 2.4.1 Insuffisance respiratoire
- 2.4.2 SDRA (ARDS)
- 2.4.3 Asthme
- 2.4.4 Bronchiolite
- 2.4.5 Obstruction des voies aériennes supérieures (ex. laryngite)
- 2.4.6 Choc
- 2.4.7 État septique²
- 2.4.8 Hypotension³
- 2.4.9 Cardiopathie congénitale
- 2.4.10 Traumatisme crânien sévère (Glasgow ≤ 8)

² Un état septique est présent si un patient présente au moins 2 des signes suivants: température corporelle > 38 °C ou < 36 °C; tachycardie; tachypnée ou PaCO₂ < 4,3 kPa (32 mmHg); globules blancs > 12 000/mm³, < 4000/mm³, ou > 10 % de cellules immatures.

³ Définition d'hypotension: il y a hypotension si la TA systolique ou diastolique mesurée au bras par un brassard de taille adéquate est < 2 DS pour l'âge ou si la TA baisse de 20 mmHg sans que cela puisse être expliqué par l'administration d'un médicament comme un narcotique pour traiter une douleur ou un hypotenseur pour traiter une crise hypertensive. Les normes de TA en fonction de l'âge sont [Lowrey]:

Âge	Systolique ± 2 DS	Diastolique ± 2 DS*	Âge	Systolique ± 2 DS	Diastolique ± 2 DS*
0-1 ans	96 ± 30	65 ± 25	2 ans	99 ± 25	65 ± 25
4 ans	99 ± 20	65 ± 20	6 ans	100 ± 15	60 ± 10
8 ans	105 ± 15	60 ± 10	10 ans	110 ± 17	60 ± 10
12 ans	115 ± 19	60 ± 10	14 ans	118 ± 20	60 ± 10
16 ans	120 ± 16	65 ± 10			

* Diastolique estimé par le 1^o bruit de Korotkof.

2.4.11 Polytraumatisme grave ⁴	<input type="radio"/>
2.4.12 Infection bactérienne (préciser.....)	<input type="radio"/>
2.4.13 Infection virale (diagnostic clinique; préciser.....)	<input type="radio"/>
2.4.14 Trisomie 21	<input type="radio"/>
2.4.15 Immunodéficiences (préciser.....)	<input type="radio"/>
2.4.16 Transplantation (préciser.....)	<input type="radio"/>
2.4.17 Cancer (préciser.....)	<input type="radio"/>
2.4.18 Autres (préciser.....)	<input type="radio"/>
2.5 Poids en kg le jour de l'admission (noter le poids le jour du LBA si admis depuis plus d'un mois)	kg

3. Autres observations précédant le début de l'étude d'un patient (avant le 1er LBA)

3.1 Bactériémie:		<i>oui</i>	<i>non</i>
3.1.1 hémoculture positive; exclut contamination)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
3.1.2 noter le germe trouvé			
3.2 Hémorragie gastroduodénale de stress ⁵	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
3.3 Insuffisance polyviscérale ⁶	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
3.4 Score de PRISM le jour de l'arrivée aux soins intensifs (échelle décrite en annexe)			
3.5 Cultures bactériennes (ne rien écrire si non fait):		(culture positive ou négative):	+ -
3.5.1 sécrétions bronchiques ou trachéales	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
3.5.2 hémoculture(s)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
3.5.3 autre culture (spécifier:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
3.5.4 autre culture (spécifier:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
3.5.5 autre culture (spécifier:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
3.6 Le patient recevait-il un ou des antibiotiques au moment des LBA (nombre de jours)?.....	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

⁴ Polytraumatisme: traumatisme crânien majeur (score de Glasgow ≤ 8) ou atteinte de plusieurs systèmes après un traumatisme accidentel (fractures multiples, rupture d'un organe interne, contusion d'un organe interne, etc.).

⁵ Définition d'une hémorragie gastroduodénale de stress: il y a HGDS si un patient présente après son admission aux SIP une hématomèse ou un retour quelconque de sang par un tube de Levin. Comme il se doit, une sonde gastrique sera mise en place chez tout patient qui présente un méléna ou une rectorragie afin de vérifier s'il y a du sang dans l'estomac et si la cause du saignement est une hémorragie digestive haute.

⁶ Définition d'insuffisance polyviscérale (multiple organ system failure) (Wilkinson Crit Care Med 1986;14:271): il y a insuffisance polyviscérale si l'on observe la défaillance simultanée d'au moins 2 systèmes selon les critères suivants. Respiratoire: 1) fréquence respiratoire $>90/\text{min}$ (<1 an) ou $>70/\text{min}$ (≥ 1 an); 2) $\text{PaCO}_2 >65$ torr; 3) $\text{PaO}_2 <40$ torr quelle que soit la FiO_2 (en autant qu'il n'y a pas de cardiopathie congénitale cyanogène); 4) besoin post-opératoire d'une ventilation mécanique pendant plus de 24 heures ou 5) $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 <200$ en l'absence de cardiopathie congénitale. Cardiovasculaire: 1) PA systolique <40 mmHg (<1 an) ou <50 mmHg (≥ 1 an); 2) fréquence cardiaque <50 ou $>220/\text{min}$ (<1 an) ou <40 ou $>200/\text{min}$ (≥ 1 an); 3) arrêt cardiaque; 4) pH sérique $<7,20$ avec PaCO_2 normale ou 5) besoin d'un médicament inotrope en perfusion continue. Neurologique: 1) score de Glasgow <5 ; 2) pupilles dilatées et es. Hématologique: 1) hémoglobine <50 g/L; 2) globules blancs $<3000/\text{mm}^3$; 3) compte de plaquettes $<20\,000/\text{mm}^3$. Rénale aiguë: 1) BUN $>5,55$ mmol/L (>100 mg/dL); 2) créatinine sérique >200 mmol/L ($>2,0$ mg/dL) en l'absence d'une insuffisance rénale chronique; 3) dialyse.

----- Remplir les sections qui suivent seulement si la lettre de consentement est signée -----

4. Manœuvre étudiée: les lavages bronchoalvéolaires

4.1 Description du premier LBA

- 4.1.1 Cathéter employé: 1. pédiatrique (40 cm); 2. adulte (75 cm)
- 4.1.2 Volume total infusé mL
- 4.1.3 Volume total aspiré mL
- 4.1.4 Rapport du volume aspiré ÷ volume injecté %
- 4.1.5 Pression artérielle au début ou juste avant le LBA, prise au brassard (systolique/diastolique) / mmHg
- 4.1.6 Pression artérielle à la fin du LBA, prise au brassard (systolique/diastolique) / mmHg
- 4.1.7 Température rectale au début ou juste avant le LBA °C
- 4.1.8 Température rectale après le LBA °C
- 4.1.9 Complications au cours du LBA (cocher toutes les complications observées):
- 4.1.9.1 Impossibilité de faire le 1er LBA O
- LBA impossible parce que ... (cocher toutes les bonnes réponses)*
- 4.1.9.1.1 ... assistante de recherche non disponible O
- 4.1.9.1.2 ... techniciens de laboratoire non disponibles O
- 4.1.9.1.3 ... patient considéré comme trop instable pour subir le LBA O
- 4.1.9.1.4 ... patient déjà hypoxique O
- 4.1.9.1.5 ... patient à risque de présenter une crise d'hypertension pulmonaire O
- 4.1.9.1.6 ... chute de la SaO₂ de plus de 5 % pendant plus d'une minute O
- 4.1.9.1.7 ... on réaspire moins 20 % du volume injecté après 2 passages O
- 4.1.9.1.8 ... autre raison (préciser.....) O
- 4.1.9.2 Impossibilité d'analyser le 1er LBA O
- Analyse du 2e LBA impossible parce que ... (cocher toutes les bonnes réponses)*
- 4.1.9.2.1 ... plus de 10 cellules épithéliales squameuses par champ O
- 4.1.9.2.2 ... taux de cellules épithéliales squameuses > 1 % O
- 4.1.9.3 Pneumothorax O
- 4.1.9.4 Hémoptysie O
- 4.1.9.5 Chute > 15 % du rapport PaO₂/FiO₂ O
- 4.1.9.6 Chute de la SaO₂ en-deçà de 92 % O
- 4.1.9.7 Apparition d'une opacité radiologique O
- 4.1.9.8 Chute de la PAM calculée $\{(PA_{syst} + PA_{diast}) \div PA_{syst}\} > 8$ mmHg O
- 4.1.9.9 Dysrythmie cardiaque (préciser.....) O
- 4.1.9.10 Crise d'hypertension pulmonaire O
- 4.1.9.11 Augmentation de la température de plus de 2 °C O
- 4.1.9.12 Augmentation de la température de plus de 1 °C O
- 4.1.9.13 Chute de la température de plus de 1 °C O
- 4.1.9.14 Chute de la température de plus de 2 °C O
- 4.1.9.15 Augmentation de la pression intracrânienne PIC) pendant le LBA? O
- 4.1.9.15.1 PIC au début ou juste avant le LBA mmHg
- 4.1.9.15.2 PIC la plus élevée pendant le LBA mmHg
- 4.1.9.15.3 PIC après le LBA mmHg
- 4.1.10 Heure de réalisation du premier LBA heures..... minutes
- 4.1.11 Description macroscopique de l'échantillon prélevé (noter le bon numéro):
- 4.1.11.1 Présence de sang: 0. pas de sang; 1. rosé ou rouge, mais on voit à travers la seringue; 2. rouge opaque
- 4.1.11.2 Turbidité: 0. eau de roche; 1. opalescent
- 4.1.11.3 Présence de particules: 0. non; 1. oui
- 4.1.11.4 Couleur: 0. blanc; 1. rose ou rouge; 2. beige ou jaune; 3. vert; 4. autre.....
- 4.1.11.5 Viscosité: 0. comme de l'eau; 1. visqueux

2 Description du deuxième LBA

- 4.2.1 Cathéter employé: 1. pédiatrique (40 cm); 2. adulte (75 cm)
- 4.2.2 Volume total infusé mL
- 4.2.3 Volume total aspiré mL
- 4.2.4 Rapport du volume aspiré ÷ volume injecté %
- 4.2.5 Pression artérielle au début ou juste avant le LBA, prise au brassard (systolique/diastolique) / mmHg
- 4.2.6 Pression artérielle après le LBA, prise au brassard (systolique/diastolique) / mmHg
- 4.2.7 Température rectale au début ou juste avant le LBA °C
- 4.2.8 Température rectale après le LBA °C
- 4.2.9 Complications au cours du LBA (cocher toutes les complications observées):
- 4.2.9.1 Impossibilité de faire le 2e LBA
- LBA impossible parce que ... (cocher toutes les bonnes réponses)*
- 4.2.9.1.1 ... mauvaise réaction au lier LBA
- 4.2.9.1.2 ... les parents refusent que l'on fasse un 2e LBA
- 4.2.9.1.3 ... patient considéré comme trop instable pour subir le LBA
- 4.2.9.1.4 ... patient déjà hypoxique
- 4.2.9.1.5 ... patient à risque de présenter une crise d'hypertension pulmonaire
- 4.2.9.1.6 ... chute de la SaO₂ de plus de 5 % pendant plus d'une minute
- 4.2.9.1.7 ... on réaspire moins de 20 % du volume injecté après 2 passages
- 4.2.9.1.8 ... autre raison (préciser.....)
- 4.2.9.2 Impossibilité d'analyser le 2e LBA
- Analyse du 2e LBA impossible parce que ... (cocher toutes les bonnes réponses)*
- 4.2.9.2.1 ... plus que 10 cellules épithéliales squameuses par champ
- 4.2.9.2.2 ... taux de cellules épithéliales squameuses > 1 %
- 4.2.9.3 Pneumothorax
- 4.2.9.4 Hémoptysie
- 4.2.9.5 Chute > 15 % du rapport PaO₂/FiO₂
- 4.2.9.6 Chute de la SaO₂ en-deçà de 92 %
- 4.2.9.7 Apparition d'une opacité radiologique
- 4.2.9.8 Chute de la PAM calculée {(PA_{systolique} + PA_{diastolique}) ÷ PA_{systolique}} > 8 mmHg
- 4.2.9.9 Dysrythmie cardiaque (préciser.....)
- 4.2.9.10 Crise d'hypertension pulmonaire
- 4.2.9.11 Augmentation de la température de plus de 2 °C
- 4.2.9.12 Augmentation de la température de plus de 1 °C
- 4.2.9.13 Chute de la température de plus de 1 °C
- 4.2.9.14 Chute de la température de plus de 2 °C
- 4.2.9.15 Augmentation de la pression intracrânienne (PIC) pendant le LBA?
- 4.2.9.15.1 PIC au début ou juste avant le LBA mmHg
- 4.2.9.15.2 PIC la plus élevée pendant le LBA mmHg
- 4.2.9.15.3 PIC après le LBA mmHg
- 4.2.10 Heure de réalisation du deuxième LBA heures minutes
- 4.2.11 Description macroscopique de l'échantillon prélevé (noter le bon numéro):
- 4.2.11.1 Présence de sang: 0. pas de sang; 1. rosé ou rouge, mais on voit à travers la seringue; 2. rouge opaque
- 4.2.11.2 Turbidité: 0. eau de roche; 1. opalescent
- 4.2.11.3 Présence de particules: 0. non; 1. oui
- 4.2.11.4 Couleur: 0. blanc; 1. rose ou rouge; 2. beige ou jaune; 3. vert; 4. autre.....
- 4.2.11.5 Viscosité: 0. comme de l'eau; 1. visqueux

5. Évaluation de la répétabilité du LBA

5.1 Critère d'évaluation primaire: cultures quantitatives

5.1.1 Cultures quantitatives: résultats exprimés en CFU/mL

	<i>1^{ier} LBA</i>	<i>2^e LBA</i>
5.1.1.1 Résultats de la culture quantitative tels que notés en CFU/mL ⁷
	<i>oui</i>	<i>non</i>
5.1.1.2 La différence entre les deux LBA dépassent-elles 1 log ₁₀ CFU/mL?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

5.1.2 Cultures quantitatives: CFU/mL par volume injecté pendant le LBA

	<i>1^{ier} LBA</i>	<i>2^e LBA</i>
5.1.2.1 Résultats de la culture quantitative notés en CFU/mL par volume injecté
	<i>oui</i>	<i>non</i>
5.1.2.2 La différence entre les deux LBA dépassent-elles 1 log ₁₀ CFU/mL par volume injecté?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

5.2 Critères d'évaluation secondaires de la répétabilité

5.2.1 Répétabilité des espèces bactériennes isolées

	<i>1^{ier} LBA</i>	<i>2^e LBA</i>
5.2.1.1 Reproductibilité in vivo de la culture qualitative (une culture des 2 LBA): (<i>présence de la bactérie</i>)	<i>oui</i>	<i>non</i>
5.2.1.1.1 <i>Hæmophilus influenzae</i>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.2.1.1.2 <i>Moraxella</i> (Branhamelle) <i>catarrhalis</i>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.2.1.1.3 <i>Klebsiella</i> species (préciser l'espèce: <i>Klebsiella</i>) ..	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.2.1.1.4 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.2.1.1.5 <i>Serratia marcescens</i>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.2.1.1.6 <i>Proteus</i> species (préciser l'espèce: <i>Proteus</i>) ..	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.2.1.1.7 <i>Acinetobacter</i>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.2.1.1.8 <i>Escherichia coli</i>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.2.1.1.9 Autre bactérie à Gram négatif (préciser) ..	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.2.1.1.10 Autre bactérie à Gram négatif (préciser) ..	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.2.1.1.11 <i>Staphylococcus aureus</i>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.2.1.1.12 <i>Staphylococcus</i> à coagulase négative	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.2.1.1.13 <i>Streptococcus</i> species (préciser l'espèce: <i>Streptococcus</i>) ..	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.2.1.1.14 <i>Streptococcus pneumoniae</i>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.2.1.1.15 Autre bactérie à Gram positif (préciser) ..	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.2.1.1.16 Autre bactérie à Gram positif (préciser) ..	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
	<i>oui</i>	<i>non</i>
5.2.1.3 A-t-on trouvé exactement les mêmes germes dans les deux LBA?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.2.1.4 Reproductibilité in vitro de la coloration de Gram: a-t-on fait exactement les mêmes observations?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.2.1.4.1 Résultat du 1 ^{ier} LBA:		
.....		
.....		
.....		
5.2.1.4.2 Résultat du 2 ^e LBA:		
.....		
.....		
.....		

Noter le compte en CFU/mL pour la bactérie la plus nombreuse.

5.2.2 Répétabilité de l'index bactérien

	<i>1ier LBA</i>	<i>2e LBA</i>
5.2.2.1 Résultats de l'index bactérien
	<i>oui</i>	<i>non</i>
5.2.2.2 A-t-on trouvé exactement le même index bactérien — à 1 log ₁₀ près — dans les deux LBA?	○	○

5.2.3 Répétabilité du taux de neutrophiles contenant des bactéries

	<i>1ier LBA</i>	<i>2e LBA</i>
5.2.3.1 Résultats du comptage du taux de PMN contenant des bactéries%%
	<i>oui</i>	<i>non</i>
5.2.3.2 A-t-on trouvé le même taux de PMN contenant des bactéries — à 1 % près — dans les 2 LBA? ...	○	○
	<i>1ier</i>	<i>2ième</i>
5.2.3.3 Répétabilité intra-observateur du taux de PMN contenant des bactéries
5.2.3.4 Répétabilité inter-observateur du taux de PMN contenant des bactéries

5.2.4 Répétabilité du décompte cellulaire

	<i>1ier LBA</i>	<i>2e LBA</i>
5.2.4.1 Cellules épithéliales%%
5.2.4.2 Décompte de globules blancs, exprimé en cellules X 10 ⁹ /L
5.2.4.2.1 Taux de PMN%%
5.2.4.2.2 Taux d'hystiocytes-monocytes%%
5.2.4.2.3 Taux de lymphocytes%%
	<i>1ier</i>	<i>2ième</i>
5.2.4.3 Répétabilité intra-observateur du décompte de globules blancs, exprimé en cellules X 10 ⁹ /L
5.2.4.4 Répétabilité inter-observateur du décompte de globules blancs, exprimé en cellules X 10 ⁹ /L

5.3 Autres critères d'évaluation des LBA: valeur diagnostique, complications, impact, etc.

5.3.1 Le patient a présenté l'un des critères d'évaluation secondaires suivants pendant les 24 heures suivant le LBA: <i>oui</i>	<i>non</i>
5.3.1.1 Au moins 2 des 3 experts considèrent qu'il y a une pneumonie nosocomiale ⁸	○ ○

⁸ *Définition de pneumonie nosocomiale: le CDC (Center for Disease Control. CDC definitions for nosocomial infections. Am Rev Resp Dis 1888;139:1058-9) considère qu'un patient souffre d'une pneumonie nosocomiale bactérienne s'il répond à n'importe laquelle des quatre définitions suivantes au moins 48 heures après son entrée aux soins intensifs:*

1. *Rôles à l'auscultation ou matité à la percussion et l'un des critères suivants:*
 - 1.1- *augmentation ou changement de l'aspect des sécrétions respiratoires (expectoration ou autres);*
 - 1.2- *hémoculture positive;*
 - 1.3- *culture d'une ou plusieurs bactéries pathogènes dans les sécrétions bronchiques obtenues par aspiration transtrachéale, par brosse bronchique ou sur une biopsie pulmonaire.*
 2. *Apparition d'une nouvelle anomalie radiologique (condensation, cavité, effusion pleurale) et l'un des critères suivants:*
 - 2.1- *augmentation ou changement de l'aspect des sécrétions respiratoires (expectoration ou autres);*
 - 2.2- *hémoculture positive;*
 - 2.3- *culture d'une ou plusieurs bactéries pathogènes dans les sécrétions bronchiques obtenues par aspiration transtrachéale, par brosse bronchique ou sur une biopsie pulmonaire;*
 - 2.4- *démonstration histopathologique d'une pneumonie.*
 3. *Patient ≤12 mois: observation d'au moins deux des signes entre parenthèses (apnée, tachypnée, bradycardie, wheezing, ronchi, toux) et l'un des critères suivants:*
 - 3.1- *augmentation des sécrétions respiratoires produites;*
 - 3.2- *apparition de sécrétions respiratoires dont l'aspect est purulent;*
 - 3.3- *hémoculture positive;*
 - 3.4- *culture d'une ou plusieurs bactéries pathogènes dans les sécrétions bronchiques obtenues par aspiration transtrachéale, par brosse bronchique ou sur une biopsie pulmonaire;*
 - 3.5- *histopathologie compatible avec une pneumonie.*
- Patient >12 mois: apparition d'une nouvelle anomalie radiologique (condensation, cavité, effusion pleurale) et l'un des critères cités plus haut en 3.*

<i>Avis indépendant des experts (cocher la bonne réponse: oui ou non):</i>		<i>oui</i>	<i>non</i>
5.3.1.1.1	Avis du premier expert: il y a une pneumonie	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.3.1.1.2	Avis du deuxième expert: il y a une pneumonie	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.3.1.1.3	Avis du troisième expert: il y a une pneumonie	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.3.1.2	Au moins 2 des 3 experts considèrent qu'il y a une trachéobronchite nosocomiale ⁹	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
<i>Avis indépendant des experts (cocher la bonne réponse: oui ou non):</i>		<i>oui</i>	<i>non</i>
5.3.1.2.1	Avis du premier expert: il y a une trachéobronchite	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.3.1.2.2	Avis du deuxième expert: il y a une trachéobronchite	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.3.1.2.3	Avis du troisième expert: il y a une trachéobronchite	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.3.1.3	Complications au cours des 24 heures suivant le premier LBA:	<i>oui</i>	<i>non</i>
5.3.1.3.1	Pneumothorax (diagnostic radiologique)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.3.1.3.2	Nouvelle opacité pulmonaire (diagnostic radiologique)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.3.1.3.3	Hémorragie pulmonaire (vue lors d'une aspiration; diagnostic clinique)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.3.1.3.4	Hémoptysie (diagnostic clinique)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.3.1.3.5	Chute > 15 % du rapport PaO ₂ /FiO ₂	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.3.1.3.6	Chute de la SaO ₂ en-deçà de 92 %	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.3.1.3.7	Apparition d'une opacité radiologique	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.3.1.3.8	Chute de la PAM calculée > 20 mmHg ¹⁰	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.3.1.3.9	Dysrythmie cardiaque (préciser.....)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.3.1.3.10	Crise d'hypertension pulmonaire ¹¹	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.3.1.3.11	Augmentation de la température de plus de 2 °C	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.3.1.3.12	Augmentation de la température de plus de 1 °C	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.3.1.3.13	Chute de la température de plus de 1 °C	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.3.1.3.14	Chute de la température de plus de 2 °C	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.3.2	Complications observées après les premières 24 heures suivant le premier LBA, mais pendant le séjour aux soins intensifs.		
5.3.2.1	Durée de l'intubation endotrachéale (en jours) après les LBA		jours
5.3.2.2	Durée de la ventilation mécanique (en jours) après les LBA		jours
5.3.2.3	Réintubation après les LBA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.3.2.4	Reprise d'une ventilation mécanique après les LBA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.3.2.5	ARDS après les LBA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.3.2.6	Hémorragie gastroduodénale de stress	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.3.2.7	Insuffisance polyviscérale	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.3.2.7.1	insuffisance respiratoire	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.3.2.7.2	insuffisance cardiovasculaire	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.3.2.7.3	insuffisance neurologique	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.3.2.7.4	hématologie	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.3.2.7.5	insuffisance rénale aiguë	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.3.2.8	Décès	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

⁹ **Définition d'une bronchite ou trachéite nosocomiale:** le CDC considère qu'un patient souffre d'une bronchite ou d'une trachéite nosocomiale s'il ne présente pas de signes cliniques ni d'anomalies radiologiques compatibles avec une pneumonie et s'il répond à n'importe laquelle des deux définitions suivantes au moins 48 heures après son entrée aux soins intensifs:

1- Observation d'au moins 2 des critères entre parenthèses (température > 38°C, toux, augmentation ou changement de l'aspect des sécrétions respiratoires, ronchi, wheezing) et de l'un des critères suivants:

1.1- culture d'une ou plusieurs bactéries dans les sécrétions trachéobronchiques;

1.2- antigène bactérien positif sur des sécrétions trachéobronchiques.

2- Patient ≤12 mois: observation d'au moins 2 des critères entre parenthèses (température > 38°C, toux, augmentation ou changement de l'aspect des sécrétions respiratoires, ronchi, wheezing, dyspnée, apnée, bradycardie) et de l'un des critères suivants:

2.1- culture d'une ou plusieurs bactéries dans les sécrétions trachéobronchiques;

2.2- antigène bactérien positif sur des sécrétions trachéobronchiques.

¹⁰ PAM calculée = {(PASyst + PAdiastolique) ÷ PASystolique}.

Définition d'une crise d'hypertension pulmonaire: augmentation de la pression artérielle pulmonaire moyenne de plus de 10 mmHg, telle qu'observée à l'aide d'un cathéter artériel pulmonaire.

- 5.3.3 Complications observées plus de 3 jours après les LBA, mais pendant le séjour aux soins intensifs.
- | | | |
|--|-----------------------|-----------------------|
| 5.3.3.1 Pneumonie nosocomiale | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| 5.3.3.2 Trachéobronchite nosocomiale | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
- 5.3.4 Impact possible des LBA: prescription d'un antibiotique ou changement des antibiotiques...
- | | | |
|--|-----------------------|-----------------------|
| 5.3.4.1 ... dans les deux heures faisant suite aux LBA | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| 5.3.4.2 ... plus de deux heures, mais moins de 72 heures après les LBA | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| 5.3.4.3 ... plus de 72 heures après les LBA | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |

6. Divers

- 6.1 Date de la sortie des soins intensifs ou du décès (jour/mois/année)/...../199.....
- 6.2 Durée totale de la ventilation mécanique (en jours) jours
- 6.3 Durée de la surveillance du patient pour l'étude, du jour du LBA à la sortie des soins intensifs (en jours) jours
- 6.4 Durée totale du séjour aux soins intensifs (en jours) jours

ÉCHELLE CLINIMÉTRIQUE PRISM¹²

variable	<1 an	≥1 an	Pointage	J0	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9
Fréquence respiratoire/min ...	0 (apnée)	0 (apnée)	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	61-90	51-70	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	>90	>70	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Fréquence cardiaque/min ...	>160	>150	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	<90	<80	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
TA systolique (mmHg)	>160	>200	6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	130-160	150-200	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	55-65	65-75	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	40-54	50-64	6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	<40	<50	7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Variable	Tout âge	Pointage	J0	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9
TA diastolique (mmHg) ...	>110	6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Score de Glasgow*	<8	6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Réaction pupillaire	inégale ou dilatée	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	fixe et dilatée	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Rapport PaO ₂ /FiO ₂ **	200-300	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
PaCO ₂ (torr)***	<200	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	51-65	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	>65	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Bicarbonates: mmol/L	<16 ou > 32	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Temps de Quick/PTT	1.5 x contrôle	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Potassium: mmol/L	<3.0	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	3.0-3.5	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	6.5-7.5	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	>7.5	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Calcium total: mmol/L	<1.75	6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	1.75-2	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	3-3.75	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	>3.75	6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Glucose: mmol/L	<2.22	8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	2.22-3.33	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	13.88-22.22	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	>22.22	8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Bilirubine totale: mmol/L ...	>60	6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

SCORE DE PRISM TOTAL:

J0 J1 J2 J3 J4 J5 J6 J7 J8 J9
 --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---

¹² * Ne pas inclure le score de Glasgow dans le compte de PRISM si sédation, anesthésie ou paralysie iatrogénique. ** Ne pas inclure la PaO₂ dans le compte de PRISM si shunt intracardiaque ou insuffisance respiratoire chronique. Valable seulement si prélèvement artériel. *** La CO₂ peut être mesurée sur un prélèvement capillaire.

Annexe 3 :

Ordonnances médicales

Reproductibilité des lavages |
 bronchoalvéolaires en soins |
 intensifs pédiatriques |
 |
 |

Ordonnances médicales |-----Imprimer ci-haut la carte de l'Hôpital--

Soins infirmiers:

1) Cinq minutes avant le lavage bronchoalvéolaire (LBA), mettre le patient sous une FiO₂ de 100%. Laisser le Dr France Gauvin faire le LBA puis procéder à une aspiration habituelle sans infusion de salin.

2) Juste avant et après le LBA, noter les données suivantes sur la feuille de signes vitaux:

- Fréquence respiratoire
- Fréquence cardiaque
- Pression artérielle
- SaO₂ par oxymétrie de pouls, en indiquant la FiO₂
- Température rectale

3) Surveillance cardio-respiratoire étroite pendant une heure après le LBA

Analyses de laboratoire:

1) Analyses cytologiques (ces analyses seront faites en hématologie):

- Coloration de May-Grünwald-Giemsa
- Comptage et différentielle des globules blancs et macrophages.
- Comptage et taux des cellules épithéliales squameuses
- Évaluation du taux de neutrophiles contenant des bactéries

2) Analyses microbiologiques (ces analyses seront faites en bactériologie):

- Coloration de Gram et identification des bactéries.

N.B.: il faut prescrire d'autres colorations si cela est indiqué pour le malade: Giemsa, Ziehl, encre de Chine, Gomori-Grocott, Papanicolaou, KOH, huile rouge, etc.

- Cultures de l'échantillon (3 passages faits avec salin): cultures pour aérobie et anaérobie (géloses sang, chocolat et MacConkey).

N.B.: Il faut en outre choisir un milieu spécial si l'on pense à certains germes particuliers: milieu de Löwenstein pour les Mycobactéries; milieu IMA pour

mycoses profondes; milieu pour le *Mycoplasma pneumoniae*; milieu de Sabouraud pour les levures et les moisissures; cultures virales, etc.

- Au besoin, culture du 4^{ème} passage du LBA (passage fait avec de l'eau stérile) pour isoler le *Legionella*.

- Autres:

- Culture des sécrétions bronchiques 3 fois par semaine chez les patients intubés.

- Radiographie du poumon au moins une fois, le lendemain du lavage.

Traitement:

1) Cinq minutes avant le lavage, administrer midazolam 0,1 mg/kg i.v.± fentanyl 2 mcg/kg i.v.

2) Tous les autres traitements doivent être faits selon la volonté du médecin traitement.

Pour toute question ou information, contacter Dr. France Gauvin au 345-4788.

Annexe 4 :

Analyses statistiques

4.1) ÉTUDE DE GÉNÉRALISABILITÉ :

variation selon les personnes
Moyenne sur les 2 BAL et les 13 bactéries

PERSON	N Obs	Mean	Std Dev	N
1	26	0	0	26
2	26	0	0	26
3	26	0	0	26
4	26	0	0	26
5	26	0.4230769	1.0648221	26
6	26	0.3846154	0.9829313	26
7	26	0.9615385	1.2800240	26
8	26	0	0	26
9	26	0	0	26
10	26	0.4615385	1.1740790	26
11	26	0.4615385	1.3922864	26
12	26	0	0	26
13	26	0	0	26
14	26	0.3846154	1.3587324	26
15	26	0	0	26
16	26	0	0	26
17	26	0.5000000	1.4212670	26
18	26	0	0	26
19	26	0.3076923	0.7358930	26
20	26	0	0	26
21	26	0	0	26
22	26	0	0	26
23	26	0.6153846	0.9413574	26
24	26	0.6923077	1.7836868	26
25	26	0	0	26
26	26	0.1923077	0.9805807	26
27	26	0.2307692	0.8152395	26
28	26	0	0	26
29	26	0.7692308	1.8397324	26
30	26	0.3076923	1.1231823	26

Variation selon les BAL
Moyenne sur les 30 personnes et les 13 bactéries

BAL	N Obs	Mean	Std Dev	N
1	390	0.2000000	0.8181740	390
2	390	0.2461538	0.9408868	390

Variation selon les bactéries
Moyenne sur les 30 personnes et les 2 BAL

BACT	N Obs	Mean	Std Dev	N
BACT1	60	0.7166667	1.5847971	60
BACT10	60	0.3000000	1.0134686	60
BACT11	60	0.1666667	0.9051017	60
BACT12	60	0.0666667	0.3620407	60
BACT13	60	0.1333333	0.7471225	60
BACT2	60	0.3833333	0.9758380	60
BACT3	60	0.1333333	0.6234586	60
BACT4	60	0.2500000	0.9850579	60
BACT5	60	0.0666667	0.5163978	60
BACT6	60	0.2000000	0.7083043	60
BACT7	60	0.3166667	1.1422794	60
BACT8	60	0.1333333	0.5956528	60
BACT9	60	0.0333333	0.2581989	60

Décomposition de la variance

MODÈLE

3 facteurs aléatoires

- personne (30)
- BAL (2)
- bactérie (13)

En tenant compte des interactions entre les 3 facteurs, on se retrouve avec un modèle contenant 7 effets:

- personne
- BAL
- bactérie
- personne x BAL
- personne x bactérie
- BAL x bactérie
- personne x BAL x bactérie

La variation totale observée (les sujets n'ont pas tous les mêmes bactéries et les réponses aux deux BAL ne sont pas forcément les mêmes pour un sujet donné) est décomposée de manière à pouvoir évaluer la contribution des 7 effets ci haut à la variation totale.

ÉVALUATION DE LA CONTRIBUTION DE CHAQUE EFFET À LA VARIATION TOTALE

Variance négative traitée selon la méthode de Cronbach

Variance Component	Estimate
Var(PERSON)	0.02365164 (3.03%)
Var(BAL)	0.00057131 (0.07%)
Var(BACT)	0.01027110 (1.32%)
Var(PERSON*BAL)	0.00664604 (0.85%)
Var(PERSON*BACT)	0.63258179 (81.11%)
Var(BAL*BACT)	0.00000000 (0.00%)
Var(PERSON*BAL*BACT)	0.10617448 (13.61%)

- ❖ La composante associée à l'interaction personne x bactérie est élevée (quelle que soit la méthode utilisée pour corriger la variance négative). Cela signifie qu'un individu qui a beaucoup d'un certain type de bactérie n'en a pas forcément beaucoup d'un autre type. Cette composante serait faible si, par exemple, chez un individu donné, toutes les bactéries étaient présentes avec la même concentration.

Calcul de coefficient de généralisibilité pour l'index bactérien :

$$\sigma_p^2 + (1/n'i) \sigma_{pi}^2 + \frac{\sigma_p^2 + (1/n'j) \sigma_{pj}^2}{(1/n'j) \sigma_{pj}^2 + (1/n'in'j) \sigma_e^2}$$

$$0.02365164 + (1/2) 0.00664604 + (1/13) 0.63258179 + (1/26) 0.10617448$$

$$0.02365164 + 0.00332303 + \frac{0.02365164 + 0.04866014}{0.04866014 + 0.00408363}$$

$$\frac{0.07231205}{0.07962571}$$

$$= 0.9081$$

4.2 COEFFICIENTS DE CORRÉLATION INTRACLASSE POUR LES INDICES BACTÉRIENS :

MODÈLE

2 facteurs aléatoires

- personne (30)
- BAL (2)

En tenant compte des interactions entre les 2 facteurs, on se retrouve avec un modèle contenant 3 effets:

- personne
- BAL
- personne x BAL

4.2.1 Index bactérien

Variance Component

Var (BAL)	0.09655172
Var (PERSON)	12.22068966
Var (PERSON*BAL)	2.50344828

$$ICC = 0,8246$$

4.2.2 Index de l'espèce prédominante

Variance Component

Var (BAL)	0.08390805
Var (PERSON)	3.82528736
Var (PERSON*BAL)	0.74942529

$$ICC = 0,8211$$

$$CCI = \frac{\sigma_{pers}^2}{\sigma_{pers}^2 + \sigma_{BAL}^2 + \sigma_{erreur}^2}$$

où σ_{BAL}^2 est estimé par Var(BAL), σ_{pers}^2 est estimé par Var(PERSON) et σ_{erreur}^2 est estimé par Var(PERSON*BAL)

4.3 COMPARAISON DES INDICES BACTÉRIENS (LBA1 VS LBA2)

TEST DE WILCOXON

4.3.1 Index bactérien

DIFF	Frequency	Percent	Cumulative Frequency	Cumulative Percent
-10	1	3.3	1	3.3
-5	1	3.3	2	6.7
-3	1	3.3	3	10.0
-2	2	6.7	5	16.7
-1	1	3.3	6	20.0
0	22	73.3	28	93.3
2	1	3.3	29	96.7
3	1	3.3	30	100.0

Variable=DIFF indice BAL1 - BAL2

N	30
Mean	-0.6
Std Dev	2.23761

Sgn Rank -9.5 Pr>=|S| 0.2109 -> Test de Wilcoxon

4.3.2 Index de l'espèce prédominante

DIFF	Frequency	Percent	Cumulative Frequency	Cumulative Percent
-5	1	3.3	1	3.3
-4	1	3.3	2	6.7
-2	2	6.7	4	13.3
-1	1	3.3	5	16.7
0	25	83.3	30	100.0

Variable=DIFF indice maximum BAL1 - BAL2

N	30
Mean	-0.46667
Std Dev	1.224276

Sgn Rank -7.5 Pr>=|S| 0.0625 -> Test de Wilcoxon

4.3.3 Nombre précis de bactéries

DIFF	Frequency	Percent	Cumulative Frequency	Cumulative Percent
-550000	1	3.3	1	3.3
-248000	1	3.3	2	6.7
-100000	1	3.3	3	10.0
-99700	1	3.3	4	13.3
-82300	1	3.3	5	16.7
-20300	1	3.3	6	20.0
-10000	1	3.3	7	23.3
-500	1	3.3	8	26.7
0	17	56.7	25	83.3
2000	1	3.3	26	86.7
5000	1	3.3	27	90.0
24700	1	3.3	28	93.3
400000	1	3.3	29	96.7
3990900	1	3.3	30	100.0

Variable=DIFF indice précis BAL1 - BAL2

N	30
Mean	110393.3
Std Dev	745412.4

Sgn Rank -10.5 Pr>=|S| 0.4973 -> Test de Wilcoxon

C) Seuil ≥ 4 :

		LBA #2		
		négatif	positif	
LBA #1	négatif	17	3	20
	positif	0	10	10
		17	13	30

McNemar's Test

Statistic = 3.000 DF = 1 Prob = 0.083

Simple Kappa Coefficient

Kappa = 0.791 ASE = 0.112 95% Confidence Bounds
0.571 1.010

D) Seuil ≥ 5

		LBA #2		
		négatif	positif	
LBA #1	négatif	18	4	22
	positif	0	8	8
		18	12	30

McNemar's Test

Statistic = 4.000 DF = 1 Prob = 0.046

Simple Kappa Coefficient

Kappa = 0.706 ASE = 0.131 95% Confidence Bounds
0.449 0.962

4.5 KAPPAS ET TESTS DE MCNEMAR POUR L'INDEX D'ESPÈCE PRÉDOMINANTE SELON DIFFÉRENTS SEUILS :

A) Seuil ≥ 2 :

		LBA #2		
		négatif	positif	
LBA #1	négatif	16	2	18
	positif	0	12	12
		16	14	30

McNemar's Test

Statistic = 2.000 DF = 1 Prob = 0.157

Simple Kappa Coefficient

Kappa = 0.865 ASE = 0.091 95% Confidence Bounds
0.686 1.044

B) Seuil ≥ 3 :

		LBA #2		
		négatif	positif	
LBA #1	négatif	18	3	21
	positif	0	9	9
		18	12	30

McNemar's Test

Statistic = 3.000 DF = 1 Prob = 0.083

Simple Kappa Coefficient

Kappa = 0.783 ASE = 0.116 95% Confidence Bounds
0.555 1.010

Annexe 5 :

Questionnaire aux experts

Montréal, le 10 octobre 1999

De: France Gauvin et Jacques Lacroix
Département de pédiatrie
Hôpital Sainte-Justine

Re: évaluation d'un cas possible de pneumopathie nosocomiale.

Cher Docteur,

vous avez accepté de collaborer à l'étude présentement en cours portant sur la reproductibilité du lavage bronchoalvéolaire (LBA) chez des patients à risque de présenter une infection respiratoire nosocomiale bactérienne acquise en soins intensifs pédiatriques. Je vous demande donc d'étudier les documents joints à cette lettre. Les pièces du dossier qui accompagnent cette lettre incluent les éléments suivants:

- 1) **notes d'évolution écrites par les médecins**
- 2) feuilles de **prescription** écrites
- 3) feuille-résumé des résultats de **laboratoire**
- 4) résultats de **microbiologie** (virologie, sérologie virale et bactériologie)
- 5) résultats de **pathologie**, s'il y a lieu (biopsie pulmonaire, lavage bronchique par bronchoscopie, etc.)
- 6) rapport des **radiographies** pulmonaires
- 7) **notes d'évolution écrites par les infirmières**
- 8) feuille des **signes vitaux**
- 9) bilan des **ingestas et excretas**
- 10) feuilles **d'aspiration endotrachéale** sur lesquelles est décrit l'aspect des sécrétions endotrachéales
- 11) **feuille de départ** de l'hôpital.

Pour les items 1 à 10, nous incluons les données du dossier de l'avant-veille, la veille, le jour même et le lendemain du LBA.

Les résultats quantitatifs des cultures bactériennes des LBA ne vous sont évidemment pas fournis puisqu'ils constituent l'élément à comparer à la présence ou non de pneumopathie nosocomiale.

Le patient en question pourrait avoir fait une infection respiratoire nosocomiale (pneumonie ou trachéite bactérienne), telle que cela est définie pour notre étude par les critères du CDC¹:

1(Center for Disease Control. CDC definitions for nosocomial infections. Am Rev Resp Dis 1988;139:1058-9).

Pneumonie nosocomiale:

le CDC considère qu'un patient souffre d'une pneumonie nosocomiale bactérienne s'il répond à n'importe laquelle des **quatre** définitions suivantes au moins 48 heures après son entrée aux soins intensifs:

1. Râles à l'auscultation ou matité à la percussion *et l'un* des critères suivants:
 - 1.1-augmentation ou changement de l'aspect des sécrétions respiratoires (expectoration ou autres);
 - 1.2-hémoculture positive;
 - 1.3-culture d'une ou plusieurs bactéries pathogènes dans les sécrétions bronchiques obtenues par aspiration transtrachéale, par brosse bronchique ou sur une biopsie pulmonaire.

2. Apparition d'une nouvelle anomalie radiologique (condensation, cavité, effusion pleurale) *et l'un* des critères suivants:
 - 2.1-augmentation ou changement de l'aspect des sécrétions respiratoires (expectoration ou autres);
 - 2.2-hémoculture positive;
 - 2.3-culture d'une ou plusieurs bactéries pathogènes dans les sécrétions bronchiques obtenues par aspiration transtrachéale, par brosse bronchique ou sur une biopsie pulmonaire;
 - 2.4-culture d'un virus ou détection d'un antigène viral dans les sécrétions bronchiques ou sur une biopsie pulmonaire;
 - 2.5-taux diagnostique d'IgM spécifique ou augmentation par quatre du titre d'anticorps IgG contre un virus respiratoire;
 - 2.6-démonstration histopathologique d'une pneumonie.

3. Patient ≤ 12 mois: observation d'au moins deux des signes entre parenthèses (apnée, tachypnée, bradycardie, wheezing, ronchi, toux) *et l'un* des critères suivants:
 - 3.1-augmentation des sécrétions respiratoires produites;
 - 3.2-apparition de sécrétions respiratoires dont l'aspect est purulent;
 - 3.3-hémoculture positive;
 - 3.4-culture d'une ou plusieurs bactéries pathogènes dans les sécrétions bronchiques obtenues par aspiration transtrachéale, par brosse bronchique ou sur une biopsie pulmonaire;
 - 3.5-culture d'un virus ou détection d'un antigène viral dans les sécrétions bronchiques ou sur une biopsie pulmonaire;
 - 3.6-taux diagnostique d'IgM spécifique ou augmentation par quatre du titre d'anticorps IgG contre un virus respiratoire;
 - 3.7- histopathologie compatible avec une pneumonie.

4. Patient > 12 mois: apparition d'une nouvelle anomalie radiologique (condensation, cavité, effusion pleurale) *et l'un* des critères suivants:
 - 4.1-augmentation des sécrétions respiratoires produites;
 - 4.2-apparition de sécrétions respiratoires dont l'aspect est purulent;
 - 4.3-hémoculture positive;
 - 4.4-culture d'une ou plusieurs bactéries pathogènes dans les sécrétions bronchiques obtenues par aspiration transtrachéale, par brosse bronchique ou sur une biopsie pulmonaire;
 - 4.5-culture d'un virus ou détection d'un antigène viral dans les sécrétions bronchiques ou sur une biopsie pulmonaire;
 - 4.6-taux diagnostique d'IgM spécifique ou augmentation par quatre du titre d'anticorps IgG contre un virus respiratoire;
 - 4.7- histopathologie compatible avec une pneumonie.

Trachéite nosocomiale:

Le CDC considère qu'un patient souffre d'une bronchite ou d'une trachéite nosocomiale s'il ne présente **pas de signes cliniques ni d'anomalies radiologiques compatibles avec une pneumonie** et s'il répond à n'importe laquelle des **deux** définitions suivantes au moins 48 heures après son entrée aux soins intensifs:

1. Patient >12 mois sans évidence clinique ou radiographique d'une pneumonie et observation d'au moins 2 des critères entre parenthèses (température > 38°C, toux, augmentation ou changement de l'aspect des sécrétions respiratoires, ronchi, wheezing) et de l'un des critères suivants:
 - 1.1-culture d'une ou plusieurs bactéries dans les sécrétions trachéobronchiques;
 - 1.2-antigène bactérien positif sur des sécrétions trachéobronchiques.

2. Patient ≤12 mois sans évidence clinique ou radiographique d'une pneumonie et observation d'au moins 2 des critères entre parenthèses (température > 38°C, toux, augmentation ou changement de l'aspect des sécrétions respiratoires, ronchi, wheezing, dyspnée, apnée, bradycardie) et de l'un des critères suivants:
 - 2.1-culture d'une ou de plusieurs bactéries dans les sécrétions trachéobronchiques;
 - 2.2-antigène bactérien positif sur des sécrétions trachéobronchiques;
 - 2.3-taux diagnostique d'IgM spécifique ou augmentation par quatre du titre d'anticorps IgG contre un virus respiratoire.

Une **colonisation bactérienne** des voies aériennes n'est pas une pneumopathie nosocomiale et se définit ainsi:

à partir d'un échantillon de sécrétions prélevées dans la trachée ou les bronches, isolement d'une flore normale des voies aériennes supérieures ou pousse de plusieurs germes (>2 germes) en petites quantités sans symptomatologie respiratoire chez le patient et sans apparition de pus (>25 PMN/champ).

Nous vous demandons de remplir la feuille-réponse qui accompagne cette lettre. La première interrogation demande que vous répondiez à la question suivante:

le patient remplit-il les critères cliniques du CDC de pneumopathie nosocomiale (pneumonie ou trachéite)?

La deuxième interrogation demande que vous vous prononciez sur la question suivante:

considérez-vous que le patient a fait une pneumopathie nosocomiale bactérienne (pneumonie ou trachéite)?

Il est fondamental, pour que cet exercice soit valable, que les experts ne se consultent pas entre eux.

Nous vous remercions de votre collaboration,

France Gauvin et Jacques Lacroix

ÉTUDE SUR LA REPRODUCTIBILITÉ DES LAVAGES BRONCHOALVÉOLAIRES (LBA) POUR LE DIAGNOSTIC DES PNEUMOPATHIES NOSOCOMIALES BACTÉRIENNES (PNB) ACQUISES EN SOINS INTENSIFS PEDIATRIQUES. FORMULAIRE DE REPOSE D'UN EXPERT

----- Les questions 1 à 4 sont remplies par les Dr France Gauvin ou Jacques Lacroix -----

Nom de l'expert:

1- Numéro attribué à l'expert:

2- Patient:

 2.1 numéro de dossier:

 2.2 âge:

3- Admis aux soins intensifs... le (jour/mois/an) ____/____/199__ à ____h ____min.

4- Date du LBA: le (jour/mois/an) ____/____/199__ à ____h ____min.

----- Les questions 5 à 8 sont remplies par l'expert -----

5- **Pneumonie nosocomiale:** indiquer si le patient a présenté ou non les signes suivants (cocher oui ou non pour tous les choix appropriés). Vous devez répondre oui ou non pour chaque critère principal (5.1,5.2,5.3,5.4) et répondre à chaque sous-critère par la suite. Lorsque des signes cliniques ou radiologiques sont mis entre parenthèses dans la définition du critère principal, veuillez entourer celui ou ceux qui sont applicables au patient.

oui non

5.1. Râles à l'auscultation ou matité à la percussion:

 5.1.1- augmentation ou changement de l'aspect des sécrétions respiratoires

 5.1.2- hémoculture positive.....

 5.1.3- culture d'une ou plusieurs bactéries pathogènes dans les sécrétions bronchiques obtenues par aspiration transtrachéale, par brosse bronchique ou sur une biopsie pulmonaire.....

5.2. Apparition d'une nouvelle anomalie radiologique (condensation, cavité, effusion pleurale):..... *oui non*

 5.2.1- augmentation ou changement de l'aspect des sécrétions respiratoires

 5.2.2- hémoculture positive.....

 5.2.3- culture d'une ou plusieurs bactéries pathogènes dans les sécrétions bronchiques obtenues par aspiration transtrachéale, par brosse bronchique ou sur une biopsie pulmonaire.....

 5.2.4- culture d'un virus ou détection d'un antigène viral dans les sécrétions bronchiques ou sur une biopsie pulmonaire;

- 5.2.5- taux diagnostique d'IgM spécifique ou augmentation par quatre du titre d'anticorps IgG contre un virus respiratoire;
- 5.2.6- démonstration histopathologique d'une pneumonie.....

oui non

5.3-Patient ≤12 mois:

Observation d'au moins deux des signes entre parenthèses (apnée, tachypnée, bradycardie, wheezing, ronchi, toux):.....

- 5.3.1- augmentation ou changement de l'aspect des sécrétions respiratoires
- 5.3.2- apparition de sécrétions respiratoires dont l'aspect est purulent;
- 5.3.3- culture d'une ou 2 bactéries dans les sécrétions bronchiques ou sur une biopsie pulmonaire;
- 5.3.4- culture d'un virus ou détection d'un antigène viral dans les sécrétions bronchiques ou sur une biopsie pulmonaire;
- 5.3.5- taux diagnostique d'IgM spécifique ou augmentation par quatre du titre d'anticorps IgG contre un virus respiratoire;
- 5.3.6- histopathologie compatible avec une pneumonie

oui non

5.4-Patient > 12 mois:

Apparition d'une nouvelle anomalie radiologique (condensation, cavité, effusion pleurale):.....

- 5.4.1- augmentation ou changement de l'aspect des sécrétions respiratoires; ...
- 5.4.2- hémoculture positive;
- 5.4.3- culture d'une ou deux bactéries dans les sécrétions bronchiques ou sur une biopsie pulmonaire;
- 5.4.4- culture d'un virus ou détection d'un antigène viral dans les sécrétions bronchiques ou sur une biopsie pulmonaire;
- 5.4.5- taux diagnostique d'IgM spécifique ou augmentation par quatre du titre d'anticorps IgG contre un virus respiratoire;
- 5.4.6- histopathologie compatible avec une pneumonie

6- Trachéite nosocomiale: indiquer si le patient a présenté ou non les signes suivants (cocher oui ou non pour tous les choix appropriés). Vous devez répondre oui ou non pour chaque critère principal (6.1 et 6.2) et répondre à chaque sous-critère par la suite. Lorsque des signes cliniques ou radiologiques sont mis entre parenthèses dans la définition du critère principal, veuillez entourer celui ou ceux qui sont applicables au patient.

oui non

- absence d'anomalie radiologique compatible avec une pneumonie
- absence de signes cliniques compatibles avec une pneumonie.....

6.1-Patient > 12 mois:

oui non

Observation d'au moins 2 des critères entre parenthèses (température > 38°C, toux, augmentation ou changement de l'aspect des sécrétions respiratoires, ronchi, wheezing):

6.1.1-culture d'une ou plusieurs bactéries dans les sécrétions trachéobronchiques.....

6.1.2-antigène bactérien positif sur des sécrétions trachéobronchiques.....

6.2-Patient ≤12 mois:

oui non

Observation d'au moins 2 des critères entre parenthèses (température > 38°C, toux, augmentation ou changement de l'aspect des sécrétions respiratoires, ronchi, wheezing):

6.2.1- culture d'une ou plusieurs bactéries dans les sécrétions trachéobronchiques.....

6.2.2-antigène bactérien positif sur des sécrétions trachéobronchiques.....

6.2.3-taux diagnostique d'IgM spécifique ou augmentation par quatre du titre d'anticorps IgG contre un virus respiratoire.....

7- Diagnostic de pneumonie nosocomiale:

oui non

7.1 Le patient remplit les critères cliniques du CDC.....

7.2 Avis du consultant: "je considère que ce patient a fait une pneumonie nosocomiale bactérienne"

8- Diagnostic de trachéite nosocomiale:

oui non

8.1 Le patient remplit les critères cliniques du CDC.....

8.2 Avis du consultant: "je considère que ce patient a fait une trachéite nosocomiale bactérienne"

Avez-vous des commentaires? Si votre avis n'est pas en accord avec les critères cliniques du CDC, veuillez expliquer pourquoi.

_____ (votre signature s.v.p.)

Veuillez retourner ce formulaire à France Gauvin. Merci!

Annexe 6 :

Article

Soumission à la revue scientifique

American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine

**REPRODUCIBILITY OF BLIND PROTECTED BRONCHOALVEOLAR
LAVAGE IN MECHANICALLY-VENTILATED CHILDREN**

France Gauvin, MD¹, Jacques Lacroix, MD¹, Marie-claude Guertin, ph.D² ; François Proulx, MD¹, Catherine Ann Farrell, MD¹, Albert Moghrabi, MD³, Pierre Lebel, MD⁴, Clément Dassa, ph.D⁵

¹Division of Pediatric Intensive Care, Department of Pediatrics, Sainte-Justine Hospital

²Department of Mathematics and Statistic

³Division of Hematology, Department of Pediatrics, Sainte-Justine Hospital

⁴Department of Microbiology, Sainte-Justine Hospital

⁵Department of Social and Preventive Medicine, Faculty of Medicine

Université de Montréal, Québec, Canada

Supported by : Fondation de l'Hôpital Sainte-Justine

Running head : Reproducibility of blind protected BAL

Subject Category : 11 / 44 / 107

Word count: 4300

Corresponding author:

Dr. France Gauvin
Sainte-Justine Hospital
Department of Pediatrics
3175 Côte Ste-Catherine
Montréal, Québec, Canada
H3T 1C5
Phone : (514) 345-4788
Fax : (514) 345-4822
E-mail : gauvinf@hotmail.com

Abstract:

Blind protected bronchoalveolar lavage (BAL) appears to be an interesting tool in the diagnosis of bacterial nosocomial pneumonia (BNP) in mechanically-ventilated children, but its reproducibility has never been evaluated. This study evaluates the reproducibility, feasibility and safety of blind protected BAL in mechanically-ventilated children. Two blind protected BAL were done, at a 2-hour interval, in 30 patients. The reproducibility of microbiologic and cytologic results was studied. A total of 60 BAL was analyzed. Bacterial growth was present in 26/60 BAL (43%). Reproducibility for the presence of bacteria on quantitative cultures was excellent (concordance: 93%; kappa: 0.86). Concordance for the type of bacteria isolated was 86% and for the number of bacteria was 79%. Reproducibility for the presence of neutrophil containing bacteria was perfect (concordance: 100%; kappa: 1) although only a few BAL had a positive result (8/60). Blind protected BAL was feasible in all patients and all samples were considered adequate for analysis. Complications were mostly benign and transitory except in two cases: one pneumothorax and one significant increase in intracranial pressure. Overall, blind protected BAL is a reproducible test in mechanically-ventilated children, is easily feasible and is usually well tolerated.

Word count: 191

Key words: Bronchoalveolar lavage; Pneumonia; Pediatric intensive care units; Critical care; Reproducibility of results.

Introduction:

Bacterial nosocomial pneumonia (BNP) is an important issue in pediatric intensive care unit (PICU). The best way to diagnose BNP is still a matter of debate. Autopsy remains the gold standard (1), but is not clinically useful. Clinical criteria alone may not be sufficiently reliable (2, 3). Over the years, new diagnostic techniques such as bronchoscopic bronchoalveolar lavage (BAL) and use of a protected specimen brush have been studied and are now widely used in adults (4-15). The reproducibility of these bronchoscopic methods is reasonable in adults (16-19) and they are now considered to be the best methods to diagnose BNP in this population. In the PICU, these bronchoscopic methods are not easily applicable, mainly due to the small size of endotracheal tube and to complications associated with these procedures (20-22). Moreover, the experience with these methods in the PICU is still limited and their validity in mechanically-ventilated children remains to be determined.

BAL can be done blindly (without bronchoscopy), and can be performed with a catheter that is protected (double-lumen catheter) or not. In adults, the sensitivity and specificity of blind protected BAL range from 70% to 80% and 65% to 69% respectively (1, 23). It is easy to perform and safe to use. However, it has been studied only once in mechanically-ventilated children (24): sensitivity and specificity were 83% and 75% respectively, using clinical, radiological and pathological criteria as reference. It has never been validated by comparison to a gold standard (autopsy) in pediatric patients.

The first step in evaluating the validity of blind protected BAL in the diagnosis of BNP in mechanically-ventilated children would be to estimate its reproducibility. The latter has not been evaluated so far, in a pediatric or adult population.

The primary objective of this study is to evaluate the reproducibility, in mechanically-ventilated children, of microbiologic and cytologic analyses of respiratory secretions

collected by blind protected BAL. The second objective is to evaluate the safety and faisability of this technique in the pediatric population.

Methods:**Patients:**

This prospective descriptive study was carried out over a 27 month period (January 1996 to April 1998). All patients 18 years old or less and admitted to the PICU of Ste-Justine Hospital were followed daily. Mechanically-ventilated patients with recognized risk factors for nosocomial pneumonia (25) (such as respiratory insufficiency, head trauma, immunodeficiency, administration of paralyzing agents) who were in PICU for more than 48 hours, were eligible for inclusion in the study. Patients with suspicion of nosocomial pneumonia who demonstrated at least two of the following criteria were included: 1) rectal temperature $>38^{\circ}\text{C}$ or $<36,3^{\circ}\text{C}$ and two of the following respiratory signs: tachypnea, bradypnea, apnea, dyspnea, cough, ronchi/wheezing on auscultation; 2) purulent aspect or increased amount of endotracheal secretions; 3) positive culture of endotracheal secretions; 4) positive blood culture; 5) new radiological infiltrate or new pleural effusion. Patients were excluded for the following reasons: age > 18 years, pregnancy, brain death, contraindication to perform a BAL (severe bronchospasm, pulmonary hypertension, cardio-pulmonary instability, severe hypoxemia), refusal from attending physician or parent to participate in the study, loss of specimen or important data, impossibility to complete BAL (insufficient withdrawal of respiratory secretions, complication during procedure). Informed consent was obtained from the parents. This study was approved by the Research Ethics Committee of Sainte-Justine Hospital.

Bronchoalveolar lavage:

All BAL were done using a protected double lumen catheter (Combicath®, Plastimed, Saint Leu la Forêt, France) and were performed by the same operator (FG). A 45 cm catheter was used for patients less than 1 year old and a 75 cm catheter for patients 1 year or older. To avoid large leaks around the catheter and maintain the positive end-expiratory pressure

(PEEP) during the procedure, we inserted an airway connector (Mallinckrodt Medical, Galvani, Italy) between the endotracheal tube and the ventilator circuit (Figure 1). This adapter allowed the catheter to pass through a 1 mm hole and to continue mechanical ventilation during the procedure. BAL was performed twice, at a 2-hour interval, in each patient. All patients were pre-oxygenated with a fraction of inspired oxygen (FiO_2) of 1.0 for 3-5 minutes prior to the procedure and they were sedated using midazolam and fentanyl. No topical anesthesia was used; a paralyzing agent was given only when necessary. Unless contraindicated, the head of the patient was turned to the left to direct the catheter into the right bronchus. Vital signs were monitored prior, during and after the procedure (heart rate, respiratory rate, blood pressure, temperature, arterial oxygen saturation and intracranial pressure when available). The catheter was inserted into the sterile adapter and pushed through the endotracheal tube into the airway until wedged. At this time the polyethylene glycol plug was ejected by pushing in the inner lumen of the catheter. Sterile saline was then injected into the catheter and withdrawn by manual suction into sterile syringes used for infusion. Each BAL was composed of 3 aliquots of 0.25 to 0.5 ml/kg of saline. The BAL was considered adequate if at least 20% of instilled fluid was retrieved. The three samples were put together in a sterile test-tube and brought to the laboratory within 10 minutes. The sample was considered satisfactory if it contained less than 10 epithelial cells/field (X40) or if not more than 1% of the cells were squamous epithelial cells (1, 26, 27). All complications during the procedure or during the 24 hours following the procedure were reported by the main operator (FG).

Specimen evaluation:

One portion of the sample was sent for quantitative culture and Gram stain in the microbiology laboratory. A conventional dilution technique was used to obtain a precise positivity threshold ranging from 10^1 to 10^6 colony forming unit per milliliter (CFU/ml). The diluted sample was plated on blood, chocolate and MacConkey agar for aerobic and

anaerobic cultures. The same microbiologist (PL) analyzed all cultures. All bacterial culture growth of at least 10^2 CFU/ml were considered significant and reported.

Another portion of the sample was taken to the hematology laboratory where a cell count with differential was done immediately with an hematimeter (Fushsrosenthal Ultraplane, C.A. Hausse & Son, MaxLevy). Subsequently, bovine albumin was added, 2 to 4 cytopins (Cytospin II™, Shandon Southern Instruments, Sewickley, PA) were done and the sample was processed for May-Grunwald-Giemsa coloration. The count was done on 500 cells (1000X). All samples were analyzed by the same hematologist (AM). Samples showing $\geq 1\%$ of neutrophils containing bacteria were reported.

Reproducibility analysis:

The two BAL done in each patient were analyzed for reproducibility. The criteria under analysis were quantitative bacterial cultures (presence, number and type of bacteria, bacterial index, predominant species index) and cytologic tests (neutrophil containing bacteria, Gram stain).

Reproducibility of BAL was assessed by concordance percentage, kappa score and intraclass correlation coefficient (CCI). Concordance percentage was used for reproducibility of the presence of bacteria, the number of bacteria and the type of bacteria between the two BAL.

For the presence of bacteria, the two BAL from a given patient were considered concordant if bacteria were found in both (positive/positive) or if both were sterile (negative/negative). They were considered discordant if there was bacteria found in one BAL only (positive/negative or negative/positive). For the number of bacteria, two BAL were considered concordant if the result of quantitative culture (predominant species) showed a difference in $\log_{10}\text{CFU/ml} \leq 1$ (ex: $10^2/10^3$). Results were discordant if the difference was $> 1 \log_{10}\text{CFU/ml}$ or if there was bacterial growth in only one BAL (ex: $10^3/10^5$; negative/ 10^2). For the type of bacteria, there was concordance between the two BAL if the

predominant bacteria found in both BAL were from the same species (ex: *Staph. aureus/Staph. aureus*). Results were considered discordant if bacteria were not from the same species or if there was bacteria in only one BAL (ex: *Staph. aureus/H. influenzae; Staph. aureus/negative*).

The Kappa score was used to evaluate the reproducibility of the presence of bacteria on quantitative culture, on Gram stain as well as presence of neutrophil containing bacteria (NCB) between the two BAL. Kappa score was also used to evaluate agreement for different bacterial thresholds, ranging from 10^2 to 10^5 CFU/ml. According to Landis et al., a score higher than 0.6 implies a substantial agreement and a score higher than 0.8 represents almost perfect agreement (28, 29).

An intraclass correlation coefficient (CCI) was calculated to compare both bacterial index (BI) and predominant species index (PSI) between the two BAL in all patients. The BI represents the sum of the log of all species obtained by the BAL (27) and the PSI refers to the log of the species in highest concentration only (4, 30). A CCI is considered good if it is higher than 0.75 (31).

In a further analysis, stratification between patients with or without prior antibiotic treatment was done to see if it could influence reproducibility of the technique. Analysis was done using Chi square test.

Descriptive data are expressed as mean \pm SD; median (range). Continuous data between the two BAL was compared using Student paired *t* test (parametric data) or Wilcoxon signed-rank (non-parametric data). Categorical data was compared using Chi square analysis. Absence of systematic difference (bias) between the two BAL for the same patient was evaluated by the McNemar test. Statistical significance was established at $p < 0.05$.

Results:

Demographic data:

Thirty-three patients were included in the study. Two patients were excluded for hemodynamic instability that precluded the second BAL. Another patient was excluded because of loss of the sample from the second BAL. Demographic data of the remaining 30 patients are presented in table 1. Significant severity of illness was present in these patients, who suffered from various underlying disease processes. Primary diagnosis was mainly trauma (n=6), ARDS (n=5) and severe burns (n=4). Ten patients (33%) had multiple organ dysfunction syndrome (MODS) on the day of entry in the study. Twenty-one patients (70%) received antibiotic therapy since 4 ± 5 days before BAL was performed. Length of stay in the PICU was 47 ± 75 days. One death occurred during the study and was unrelated to the BAL.

BAL data:

Thirty pairs of BAL were analyzed. All specimens were considered satisfactory. The ratio of fluid aspirated/fluid injected was appropriate and similar for both BAL (BAL#1: $32\% \pm 11\%$; BAL#2: $34\% \pm 20\%$; $p=0.91$). The length of the catheter used was 45 cm in 18 BAL and 75 cm in 42 BAL.

The amount of fluid injected was similar between the two BAL (BAL #1: 20.2 ± 13.6 ml; BAL #2: 18.8 ± 12.0 ; $p = 0.49$), as well as the amount of aspirated fluid (BAL #1: 6.0 ± 3.6 ml; BAL #2: 5.4 ± 2.7 ; $p = 0.42$). Cellularity of the BAL was analyzed and there was no difference between the two BAL (BAL #1: $3145 \pm 6878 \times 10^6/L$; BAL #2: $2237 \pm 4737 \times 10^6/L$; $p = 0.11$). Differential count showed no difference in the percentage of neutrophils between the two BAL (BAL #1: $65.3 \pm 23.9 \times 10^6/L$; BAL #2: $64.2 \pm 25.6 \times 10^6/L$; $p = 0.31$).

Bacteriologic data:

Results of bacterial cultures are shown in table 2. There was bacterial growth ($\geq 10^2$ CFU/ml) in 26/60 BAL (43%). Thirteen different bacterial species were found (table 3). There was more than one bacterial species in 17 BAL. There was concordance between the two BAL for presence of bacteria in 28/30 patients (16 negative/negative; 12 positive/positive). Results were discordant in two patients (2 negative/positive). These results indicate excellent reproducibility (concordance percentage: 93%; kappa : 0.86). No systematic bias was detected between the two BAL groups ($p = 0.16$).

Among the 14 patients with at least one positive culture, we assessed concordance for the number and type of bacteria isolated. For the number of bacteria, we found a concordance percentage of 79% (considering the bacteria in highest concentration). For the type of bacteria, the concordance percentage was 86%; discordant results are those of the 2 patients with one positive BAL and one negative BAL.

The BI was calculated for each BAL and was positive in 26 BAL (table 2). There was no significant difference between the BI of BAL #1 and BAL #2 (Wilcoxon; $p = 0.21$). The ICC for the BI was calculated at 0.82, which demonstrates good reproducibility. The PSI was also evaluated for each BAL (table 2). Comparison between the PSI of BAL #1 and BAL #2 for all patients showed no significant difference (Wilcoxon; $p = 0.06$). The ICC for PSI was calculated at 0.82, which also represents good reproducibility.

Cytologic data:

Neutrophils containing bacteria (NCB) were reported for each BAL (table 2). A positive result was present in 8 BAL. There was perfect agreement (concordance percentage: 100%; kappa: 1) between the two BAL in all patients (26 negative/negative and 4 positive/positive). Inter and intra-observer repeatability were assessed for this test and agreement was excellent in both cases (98% and 100% respectively).

Gram stain was also evaluated for each BAL and was positive for presence of bacteria in 14 BAL (table 2). Results were concordant in 25/29 BAL (5 positive/positive and 20 negative/negative), which indicates substantial agreement (concordance percentage: 83%; kappa: 0.62). In the five patients with positive Gram stain in both BAL, the type of bacteria reported was the same.

Bacterial threshold:

Using the BI and the PSI, different thresholds for quantitative cultures were evaluated (10^2 CFU/ml to 10^5 CFU/ml). For each threshold, the kappa score indicated substantial agreement (> 0.6) and the Mc Nemar test showed no systematic bias ($p > 0.05$). Reproducibility was best at a threshold of 10^2 CFU/ml or 10^3 CFU/ml for both index (figure 2).

Confounding factors:

There was prior antibiotic treatment in 21/30 patients (70%). BAL cultures were more frequently positive among patients without prior antibiotic treatment than among patients with prior antibiotic treatment (83% vs 26%; $p < 0.001$). However, the presence of antibiotics did not modify reproducibility. Concordance percentage for presence of bacteria was 95% in the group with antibiotics vs 89% in the group without antibiotics. There was no significant difference between the kappa score of the 2 groups (0.88 vs 0.61; $p = 0.46$). Concordance percentages for the number of bacteria isolated (83% vs 75%) and the type of bacteria isolated (83% vs 87%) were also similar in both groups.

Other factors, such as the length of the catheter used, the amount of fluid retrieved and the type of bacteria found were also evaluated and did not have an effect on reproducibility of the method.

Complications:

Adverse events during the procedure are detailed in table 4. Most adverse events were benign, transient, and did not require any treatment: lowest oxygen saturation noted was 80% and lasted for less than 2 minutes; average increase in intracranial pressure was 10 mm Hg and returned to baseline within five minutes without additional therapy; bradycardia and a drop in blood pressure occurred in one patient but resolved spontaneously within seconds. In two patients, significant complications were observed: one patient (one month-old) with ARDS developed a pneumothorax during the second BAL, that required chest tube insertion for drainage. Another patient (9 years old) with head injury, developed increased intracranial hypertension during the first BAL and was excluded from the study because he remained too unstable. No significant complications occurred in any patients in the 24 hours following the BAL. There were significantly more adverse events during the first BAL compared to the second BAL (83% vs 47%; $p < 0,05$).

Discussion:Blind protected BAL:

The incidence of BNP in PICU is low (1.2%) but the attributable mortality rate is significant (8%) (32). New techniques have been used over the years to help diagnose PNB. In adults, bronchoscopic BAL is considered one of the most reliable methods and several authors use it to obtain quantitative cultures, calculate the BI and obtain cytologic results (4, 6, 10-15, 26, 33-38). Non-bronchoscopic BAL has also been used in the past 10 years with good results (8, 39). The advantages of doing a blind (non-bronchoscopic) BAL include ease of performance at the bedside, feasibility through small endotracheal tubes (< 4.0), less discomfort for the patient and low cost. The disadvantage is that, without bronchoscopy, it is difficult to predict in which part of the lung the sample will be taken. Some authors consider that a bronchial aspirate is reliable only if directed toward the affected lung region (40, 41). Others consider that when a nosocomial pneumonia is present, bacteria can be found in all parts of the lungs; therefore a blind method should not weaken the validity of a BAL (42-44). In our study, we did not assess the position of the catheter during blind BAL, but the method was reproducible. Therefore, it seems that bronchoscopic sampling is not necessary to obtain appropriate samples of bronchial secretions. Moreover, the accrual of information that one can obtain from a bronchoscopy with respect to a blind BAL is probably small (sensitivity of blind BAL: 76% to 100% vs bronchoscopic BAL: 43% to 100% (39, 45, 46); specificity of blind BAL: 75% to 100% vs bronchoscopic BAL: 50% to 100% (4, 5, 7, 11)).

BAL can be done with or without a protected catheter. The use of a protected catheter generates a sample without contamination from upper airway flora. Such protected method could be more reliable for the precise diagnostic of NBP and does not require more manipulations than the non-protected method.

Therefore, the combination of a blind (non-bronchoscopic) and a protected method seems ideal for the pediatric population, with regards to reproducibility, safety and costs; however, its validity as a diagnostic marker of BNP still remains to be estimated with autopsy as the reference standard.

Bacterial threshold:

Choosing the best threshold that will confirm the diagnosis of BNP is difficult. In the literature, the most frequently used threshold for BAL is 10^4 CFU/ml (10, 12, 26). This threshold is used mainly for bronchoscopic non-protected BAL. A lower threshold (10^3 CFU/ml) would be more sensitive and a higher threshold (10^5 CFU/ml) more specific. In our study, the objective was not to find the best threshold to diagnose BNP but to evaluate the reproducibility of blind protected BAL. Therefore, we analysed the data with a very sensitive threshold (10^2 CFU/ml) to include all significant bacterial growth in the analysis. We also considered that it was appropriate to look at a low threshold because most contaminant should be excluded with a protected catheter.

We evaluated the reproducibility of the blind protected BAL, using the BI and PSI, at different threshold of bacterial growth (10^2 CFU/ml to 10^5 CFU/ml). Our results show a better reproducibility at a lower threshold, showing that the method is better when all bacteria (even in small amount) are taken into account. Using a more sensitive threshold is then probably appropriate for this type of instrument.

Reproducibility:

Before evaluating the validity of a diagnostic test, a study to assess its reproducibility needs to be done. The only study on reproducibility of BAL in the literature was done in adults by Gerbeaux et al. with bronchoscopic non-protected BAL (30). In that study, reproducibility was evaluated in 44 ventilated adults with suspected BNP. The two BAL were performed in the same lung area with a 30 minutes interval. The qualitative

repeatability for bacteria (presence or absence) was excellent (concordance: 96%; kappa: 0.72). The quantitative repeatability (same \log_{10} for both BAL) was poorer (27%). According to their study, BAL seemed to have an excellent repeatability when sterile, but did not when positive. They used a threshold of 10^4 CFU/ml and reported only the predominant species for each BAL. Our study is different because it was done in pediatric patients instead of adults and with blind protected BAL instead of bronchoscopic non-protected BAL. In our study, the reproducibility of blind protected BAL was excellent for the presence of bacteria on quantitative culture (93%). It was also very good for the type of bacteria isolated (85%) and for the number of bacteria isolated (78%). The BI and the PSI were also highly reproducible. Reproducibility was best with a bacterial threshold of 10^2 CFU/ml and 10^3 CFU/ml. This is different from Gerbeaux's study, which reported a better reproducibility at a threshold of 10^4 CFU/ml (30). This could be due to the fact that we used a protected catheter, which could eliminate contamination by the upper airways, resulting in a lower threshold for pneumonia.

The presence of NCB has been validated in adults as a diagnostic tool to assess rapidly the possibility of pneumonia in mechanically-ventilated patients. Several authors consider it accurate and reliable (4, 6, 8, 34, 35, 47-49). A study done in intubated pediatric patients with blind protected BAL has shown a sensitivity and specificity of 55% and 89% using a threshold of 1% (24). The reproducibility of NCB has not been evaluated so far. In our study, concordance between the two BAL was perfect. Furthermore, inter and intra-observer repeatability was excellent, suggesting that this test is easily reproducible. However, only a few patients demonstrated a positive result and we did not study the diagnostic value of this test. A subsequent study to evaluate its validity in the diagnosis of BNP in mechanically-ventilated children is required before using this test routinely in PICU.

In the literature, some data show that the administration of antibiotics prior to a BAL can modulate the results of the bacterial cultures (23, 50-53). In our study, the fact that some

patients were treated with antibiotics prior to the BAL did not seem to influence the reproducibility, even though the proportion of positive BAL was higher in the group without antibiotics. Other factors, such as the length of the catheter used, the amount of fluid recovered and the type of bacteria found were also analyzed and did not seem to influence reproducibility.

Another important factor that could influence reproducibility is the amount of fluid instilled during BAL. In our study, we used 0.25 to 0.5 ml/kg of saline for each aliquot. Even if the weight of patients varied considerably (3.5 kg to 52.4 kg), we found good reproducibility between BAL using this approach.

Complications:

Complications were frequent but most were transitory and benign. There were more complications during the first BAL compared to the second one. This could suggest a better knowledge of the patients and adaptation on the part of the operator during the second BAL. Even though blind protected BAL is considered fairly safe, two significant complications were observed. Blind protected BAL is less invasive and probably safer than bronchoscopic BAL, but it should be done by a qualified operator and the patient should be monitored carefully during and after the procedure. Complications could probably be avoided with better sedation and use of paralyzing agents in unstable patients.

Limitations and strengths of the study:

Our study shows that the reproducibility of quantitative cultures, even if very good, was not perfect. In two cases, only the second BAL was positive. The reason for these variations is difficult to explain. We do not believe that a washout effect of the first BAL on the second one was an important factor since there was a 2-hour interval between the two procedures. A contamination of the second sample by the prior BAL is unlikely because the technique was done blindly and the chance that the catheter tip arrived exactly at the same site both

times is small. A variation due to a different dilution of the two samples is also unlikely because the amount of fluid injected and aspirated, as well as the cellularity of fluid aspirated, were similar in both samples in all patients. The possibility that the concentration of bacteria is different in certain lungs segments could explain these variations. We know that variations of results can exist even if two samples are taken from the same segment, with the same operator (18). The fact that the samples are taken blindly or directed bronchoscopically does not seem to eliminate the variations between the results. These variations could be impossible to avoid. Moreover, whatever the causes of discordant BAL, this was a rare event in our hands, and it should not affect significantly the validity of blind protected BAL to diagnose BNP in mechanically-ventilated children.

This study has a number of strengths. We evaluated prospectively all consecutive patients with at least one risk factor for BNP and included those who were in the PICU for more than 48 hours and displayed at least two signs (clinical, radiological or microbiologic) of respiratory infection. By assessing all consecutive patients prospectively and by using strict inclusion and exclusion criteria, the possibility of selection bias is low and generalizability of the results to all mechanically-ventilated children must be good. All BAL were done by the same operator to avoid inter-observer variability. All analyses were done by the same technicians and all results were evaluated by the same experts (one hematologist and one microbiologist) to exclude the possibility of variability due to the technique or interpretation of the results. Intra-subject variability was also excluded because the 2 BAL were done in the same patient, at a 2-hour interval. Finally, the sample size of the study was appropriate (54) and its power was very good.

This is, to our knowledge, the first study to evaluate reproducibility of blind protected BAL in the pediatric population. Besides showing that reproducibility is good with this tool, we also showed that blind protected BAL can be appropriately done in mechanically-ventilated children, using the technique described earlier.

In conclusion, results of quantitative and qualitative cultures of lower respiratory tract secretions collected by a blind protected BAL are reproducible in mechanically-ventilated children. This procedure is easily accomplished at the bedside, yields adequate samples of bronchoalveolar secretions and is usually safe. Further studies are required to estimate the validity of blind protected BAL as a diagnostic marker of BNP in mechanically-ventilated children, using autopsy as the reference standard. Clinical utility of this technique and patient outcome should also be evaluated.

References:

1. Rouby, J. J., M. D. Rossignon, M. H. Nicolas, E. M. de Lassale, S. Cristin, J. Grosset, and P. Viars. 1989. A prospective study of protected bronchoalveolar lavage in the diagnosis of nosocomial pneumonia. *Anesthesiology* 71:679-85.
2. Andrews, C. P., J. J. Coalson, J. D. Smith, and W. G. Johanson. 1981. Diagnosis of nosocomial bacterial pneumonia in acute, diffuse lung injury. *Chest* 80:254-8.
3. Bell, R. C., J. J. Coalson, J. D. Smith, and W. G. Johanson. 1983. Multiple organ system failure and infection in adult respiratory distress syndrome. *Ann. Intern. Med.* 99:293-8.
4. Aubas, S., P. Aubas, X. Capdevila, H. Darbas, J. P. Roustan, and J. Du Cailar. 1994. Bronchoalveolar lavage for diagnosing bacterial pneumonia in mechanically ventilated patients. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 149:860-6.
5. Cantral, D. E., T. G. Tape, E. C. Reed, J. R. Spurzem, S. I. Rennard, and A. B. Thompson. 1993. Quantitative culture of bronchoalveolar lavage for the diagnosis of bacterial pneumonia. *Am. J. Med.* 95:601-7.
6. Chastre, J., J. Y. Fagon, M. Bornet-Lecso, S. Calvat, M. C. Dombret, R. Al Khani, F. Basset, and C. Gibert. 1995. Evaluation of bronchoscopic techniques for the diagnosis of nosocomial pneumonia. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 152:231-40.
7. El-Ebiary, M., A. Torres, J. González, J. Puig de la Bellacasa, R. Celis, L. Padró, I. Morata, and R. Rodríguez-Roisin. 1991. Diagnosis of ventilator-associated pneumonia: Diagnostic value of quantitative culture of endotracheal aspirates. *Am. Rev. Respir. Dis.* 143:A108.
8. Pugin, J., R. Auckenthaler, N. Mili, J. P. Janssens, P. D. Lew, and P. M. Suter. 1991. Diagnosis of ventilator-associated pneumonia by bacteriologic analysis of bronchoscopic and nonbronchoscopic "blind" bronchoalveolar lavage fluid. *Am. Rev. Respir. Dis.* 143:1121-9.

9. Rodríguez de Castro, F., J. Solé, and R. Elcuaz. 1994. Quantitative cultures of protected brush specimens and bronchoalveolar lavage in ventilated patients without suspected pneumonia. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 149:320-3.
10. Thorpe, J. E., R. P. Baughman, P. T. Frame, T. A. Wesseler, and J. L. Staneck. 1987. Bronchoalveolar lavage for diagnosing acute bacterial pneumonia. *J. Infect. Dis.* 155:855-61.
11. Torres, A., M. El-Ebiary, L. Padró, J. González, J. Puig de la Bellacasa, J. Ramirez, A. Xaubet, M. Ferrer, and R. Rodríguez-Roisin. 1994. Validation of different techniques for the diagnosis of ventilator-associated pneumonia: Comparison with immediate postmortem pulmonary biopsy. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 149:324-31.
12. Jourdain, B., M. L. Joly-Guillou, M. C. Dombret, S. Calvat, J. L. Trouillet, C. Gibert, and J. Chastre. 1997. Usefulness of quantitative cultures of BAL fluid for diagnosing nosocomial pneumonia in ventilated patients. *Chest* 111:411-8.
13. Papazian, L., C. Martin, B. Meric, J. F. Dumon, and F. Gouin. 1993. A reappraisal of blind bronchial sampling in the microbiologic diagnosis of nosocomial bronchopneumonia. *Chest* 103:236-42.
14. Solé-Violán, J., F. R. de Castro, J. C. Luna, A. B. Benítez, and J. L. M. Alonso. 1993. Comparative efficacy of bronchoalveolar lavage and telescoping plugged catheter in the diagnosis of pneumonia in mechanically ventilated patients. *Chest* 103:386-90.
15. Timsit, J. F., B. Misset, F. W. Goldstein, P. Vaury, and J. Carlet. 1995. Reappraisal of distal diagnostic testing in the diagnosis of ICU-acquired pneumonia. *Chest* 108:1632-9.
16. Marquette, C. H., F. Herengt, D. Mathieu, F. Saulnier, R. Courcol, and P. Ramon. 1993. Diagnosis of pneumonia in mechanically ventilated patients: Repeatability of the protected specimen brush. *Am. Rev. Respir. Dis.* 147:211-4.

17. Fox, G. A., D. J. Leasa, W. J. Sibbald, and D. G. McCormack. 1995. Reproducibility of protected brush catheter specimen cultures in critically ill patients with suspected pneumonia. *Can. Respir. J.* 2:173-8.
18. Timsit, J. F., B. Misset, S. Francoual, F. W. Goldstein, P. Vaury, and J. Carlet. 1993. Is protected specimen brush a reproducible method to diagnose ICU-acquired pneumonia? *Chest* 104:104-8.
19. Gerbeaux, P., V. Ledoray, F. Molenat, A. Boussuges, and J. M. Sainty. 1995. Reproductibilité du lavage broncho-alvéolaire dans le diagnostic des pneumopathies nosocomiales en réanimation. *Réanim Urgences* 4:759.
20. Durand, P., M. Coseron-Zerbib, Y. Costa, D. Devictor, and G. Huault. 1994. Évaluation du prélèvement distal protégé pour le diagnostic de pneumopathie nosocomiale chez l'enfant ventilé mécaniquement. *Réanim Urgences* 3:649.
21. Labenne, M., C. Rambaud, C. Poyart, P. Jouvét, B. Goldfarb, C. Rambaud, M. Burghard, G. Sebag, P. Hubert, and M. Cloup. 1994. Intérêt du brossage distal protégé et du lavage bronchoalvéolaire non fibroscopique dans le diagnostic des pneumopathies nosocomiales de l'enfant ventilé. *Réanim Urgences* 3:649.
22. Rigal, E., J. C. Rozé, D. Villers, M. Derriennic, V. David-Melon, F. Lacroix-Mechinaud, and A. Mouzard. 1990. Prospective evaluation of the protected specimen brush for the diagnosis of pulmonary infections in ventilated newborns. *Pediatr. Pulmonol.* 8:268-72.
23. Rouby, J. J., E. M. de Lassale, P. Poete, M. H. Nicolas, L. Bodin, V. Jarlier, Y. Le Charpentier, J. Grosset, and P. Viars. 1992. Nosocomial bronchopneumonia in the critically ill: Histologic and bacteriologic aspects. *Am. Rev. Respir. Dis.* 146:1059-66.
24. Labenne, M., C. Poyart, C. Rambaud, B. Goldfarb, B. Pron, P. Jouvét, C. Delamare, G. Sebag, and P. Hubert. 1999. Blind protected specimen brush and bronchoalveolar lavage in ventilated children. *Crit. Care Med.* 27:2537-43.

35. Allaouchiche, B., H. Jaumain, C. Dumontet, and J. Motin. 1996. Early diagnosis of ventilator-associated pneumonia: Is it possible to define a cutoff value of infected cells in BAL fluid? *Chest* 110:1558-65.
36. Bye, M. R., L. Bernstein, K. Shah, M. Ellaurie, and A. Rubinstein. 1987. Diagnostic bronchoalveolar lavage in children with AIDS. *Pediatr. Pulmonol.* 3:425-8.
37. Croce, M. A., T. F. Fabian, L. Waddle-Smith, S. M. Melton, G. Minard, A. Kudsk, and E. Pritchard. 1998. Utility of Gram's stain and efficacy of quantitative cultures for posttraumatic pneumonia. *Ann. Surg.* 227:743-55.
38. Kirtland, S. H., D. E. Corley, R. H. Winterbauer, S. C. Springmeyer, K. R. Casey, N. B. Hampson, and D. F. Dreis. 1997. The diagnosis of ventilator-associated pneumonia: A comparison of histologic, microbiologic and clinical criteria. *Chest* 112:445-57.
39. Piperno, D., P. Gaussorgues, B. Valon, J. Payré, P. Fouque, and D. Robert. 1987. Intérêt diagnostique du lavage broncho-alvéolaire non fibroscopique dans les pneumopathies en ventilation mécanique. *Rev. Mal. Respir.* 4:17-21.
40. Chastre, J., and J. Y. Fagon. 1994. Invasive diagnostic testing should be routinely used to manage ventilated patients with suspected pneumonia. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 150:570-4.
41. De Castro, F. R., V. J.S., B. L. Capuz, J. C. Luna, B. G. Rodriguez, and J. L. M. Alonso. 1991. Reliability of the bronchoscopic protected catheter brush in the diagnosis of pneumonia in mechanically ventilated patients. *Crit. Care Med.* 19:171-5.
42. Niederman, M. S., A. Torres, and W. Summer. 1994. Invasive diagnostic testing is not needed routinely to manage suspected ventilator-associated pneumonia. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 150:565-9.
43. Jourdain, B., A. Novara, M. L. Joly-Guillou, M. C. Dombret, S. Calvat, J. L. Trouillet, C. Gibert, and J. Chastre. 1995. Role of quantitative cultures of endotracheal aspirates in the diagnosis of nosocomial pneumonia. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 152:241-6.

44. Godard, J., and B. Allaouchiche. 1994. Bronchopneumopathies nosocomiales en réanimation: valeur des différents outils diagnostiques. *Ann. Fr. Anesth. Réanim.* 13:699-704.
45. Gaussorgues, P., D. Piperno, P. Bachmann, F. Boyer, G. Jean, M. Gérard, P. Léger, and D. Robert. 1989. Comparison of nonbronchoscopic bronchoalveolar lavage to open lung biopsy for the bacteriologic diagnosis of pulmonary infections in mechanically ventilated patients. *Intensive Care Med.* 15:94-8.
46. Phillips, J. O., M. H. Metzler, R. E. Huckfeldt, M. E. Keller, and C. L. McBride. 1999. A prospective study of non-bronchoscopic bronchoalveolar lavage compared to protected specimen brush in the diagnosis of nosocomial pneumonia in the ventilated ICU patient. *Crit. Care Med.* 27:A142.
47. Chastre, J., J. Y. Fagon, P. Soler, Y. Domart, J. Pierre, M. C. Dombret, C. Gibert, and A. J. Hance. 1989. Quantification of BAL cells containing intracellular bacteria rapidly identifies ventilated patients with nosocomial pneumonia. *Chest* 95:190-2S.
48. Jaumain, H., B. Allaouchiche, M. C. Gagnieu, and B. Jacquet. 1994. Diagnostic précoce des pneumopathies nosocomiales sous ventilation mécanique: peut-on déterminer un seuil de germes intracellulaires? *Réanim Urgences* 3:648.
49. Solé-Violán, J., F. Rodríguez de Castro, A. Rey, J. C. Martín-Gonzalez, and P. Cabrera-Navarro. 1994. Usefulness of microscopic examination of intracellular organisms in lavage fluid in ventilator-associated pneumonia. *Chest* 106:889-94.
50. de Jaeger, A., C. Litalien, J. Lacroix, M. C. Guertin, and C. Infante-Rivard. 1999. A meta-analysis evaluating the diagnostic accuracy of protected specimen brush and of bronchoalveolar lavage to diagnose bacterial nosocomial pneumonia. *Crit. Care Med.* 27:2548-60.
51. Chastre, J., F. Viau, P. Brun, J. Pierre, M. C. Dauge, A. Bouchama, A. Akesbi, and C. Gibert. 1984. Prospective evaluation of the protected specimen brush for the diagnosis of pulmonary infections in ventilated patients. *Am. Rev. Respir. Dis.* 130:924-9.

52. Pham, L. H., C. Brun-Buisson, P. Legrand, A. Rauss, F. Verra, L. Brochard, and F. Lemaire. 1991. Diagnosis of nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients: Comparison of a plugged telescoping catheter with the protected specimen brush. *Am. Rev. Respir. Dis.* 143:1055-61.
53. Torres, A., J. Puig de la Bellacasa, A. Xaubet, J. González, R. Rodríguez-Roisin, M. Teresa, M. T. Jiménez De Anta, and A. Agustí-Vidal. 1989. Diagnostic value of quantitative cultures of bronchoalveolar lavage and telescoping plugged catheters in mechanically ventilated patients with bacterial pneumonia. *Am. Rev. Respir. Dis.* 140:306-10.
54. Donner, A., and M. Eliasziw. 1987. Sample size requirements for reliability studies. *Statistics in Medicine* 6:441-8.

Table 1: Demographic data of the patients

Patients (N)	30
Sex male:female (N)	16:14
Age (months)*	52 ± 53; 34 (1-177)
Weight (kg)*	20 ± 16; 15 (3.5 – 52.4)
PRISM score on admission*	12 ± 7; 12 (0-31)
Indication for mechanical ventilation (N):	
trauma	6
ARDS	5
burns	4
bronchiolitis	3
cardiac failure	3
postsurgical status	2
metabolic disorder	2
bacterial infection	2
acute chest syndrome	1
liver transplantation	1
foreign body aspiration	1
Prior antibiotics: N(%)	21 (70%)
Length of antibiotic therapy prior to BAL(days)*	4 ± 5; 3 (0,5-26)
MODS N(%)	10 (33%)
Length of mechanical ventilation (days)*	38 ± 69; 20 (3-345)
Length of stay in PICU (days)*	47 ± 75; 23 (5-350)
Mortality N(%)	1 (3%)

* mean ± standard deviation; median (range)

ARDS: acute respiratory distress syndrome;

BAL: bronchoalveolar lavage

MODS: multiple organ dysfunction syndrome;

PICU: pediatric intensive care unit

Table 2: Results of bacterial culture, bacterial index, predominant species index, Gram stain and neutrophils containing bacteria (NCB) for all bronchoalveolar lavages (BAL)

patient #	BAL #	Bacterial culture	Bacterial index	Predominant species index	Gram stain	NCB (%)
1	1	negative	0	0	negative	0
	2	negative	0	0	negative	0
2	1	negative	0	0	negative	0
	2	negative	0	0	negative	0
3	1	negative	0	0	negative	0
	2	negative	0	0	negative	0
4	1	negative	0	0	negative	0
	2	negative	0	0	negative	0
7	1	positive	4	2	negative	0
	2	positive	6	3	cocci-	0
8	1	negative	0	0	negative	0
	2	positive	10	4	negative	0
9	1	positive	12	3	cocci+/-;bacilli-	5
	2	positive	13	3	cocci+/-;bacilli-	6
10	1	negative	0	0	negative	0
	2	negative	0	0	negative	0
11	1	negative	0	0	negative	0
	2	negative	0	0	negative	0
12	1	positive	6	4	negative	0
	2	positive	6	4	bacilli-	0
13	1	positive	7	5	negative	0
	2	positive	5	5	negative	0
14	1	negative	0	0	negative	0
	2	negative	0	0	negative	0
15	1	negative	0	0	negative	0
	2	negative	0	0	negative	0
16	1	positive	5	5	negative	0
	2	positive	5	5	negative	0
17	1	negative	0	0	negative	0
	2	negative	0	0	negative	0
18	1	negative	0	0	negative	0
	2	negative	0	0	negative	0
19	1	positive	8	4	cocci-	0
	2	positive	5	5	cocci-	0
20	1	negative	0	0	negative	0
	2	negative	0	0	negative	0
21	1	positive	4	2	cocci-	0
	2	positive	4	2	negative	0
22	1	negative	0	0	negative	0
	2	negative	0	0	negative	0
23	1	negative	0	0	bacilli-	0
	2	negative	0	0	bacilli-	0
24	1	negative	0	0	negative	0
	2	negative	0	0	negative	0
25	1	positive	8	2	negative	0
	2	positive	8	2	negative	0
26	1	positive	8	6	cocci+	13
	2	positive	10	6	cocci+	8
27	1	negative	0	0	negative	0
	2	negative	0	0	negative	0
28	1	negative	0	0	negative	0
	2	positive	5	5	negative	0
30	1	positive	3	3	negative	0
	2	positive	3	3	negative	0
31	1	negative	0	0	negative	0
	2	negative	0	0	Not analysed	0
32	1	positive	10	5	bacilli-	1
	2	positive	10	5	bacilli-	1
33	1	positive	3	3	negative	8
	2	positive	5	5	cocci-	7

Table 3: Quantitative cultures results of bronchoalveolar lavages (BAL)*

Patients #	BAL #	Bacteria ‡ (log ₁₀ CFU/ml) †												
		HI	SA	PA	PO	SM	MC	SH	NS	NO	B	BS	SO	SS
7	1	2							2					
	2	3							3					
8	1													
	2							4			2	2	2	
9	1	3		2		2					3		2	
	2	3		2		2					3		3	
12	1			2									4	
	2			2									4	
13	1		2											5
	2													5
16	1	5												
	2	5												
19	1								4	4				
	2								5					
21	1												2	2
	2												2	2
25	1	2	2					2					2	
	2	2	2					2					2	
26	1	6	2											
	2	6	4											
28	1													
	2													5
30	1	3												
	2	3												
32	1			5	5									
	2			5	5									
33	1						3							
	2						5							

* BAL specimens with no significant growth have been omitted in this table

† Results are expressed in log₁₀CFU/ml (ex: 3 on the log scale = 10³ CFU/ml)

‡ Species of bacteria:

HI: *Haemophilus influenzae*

PA: *Pseudomonas aeruginosa*

SM: *Serratia maltophilia*

SH: *Streptococcus hemolytic*

NO: *Neisseria* (other species)

BS: *Bifidobacterium sp.*

SS: *Staphylococcus* (other species)

SA: *Staphylococcus aureus*

PO: *Pseudomonas* (other species)

MC: *Moraxella catarrhalis*

NS: *Neisseria saprophyticus*

B: *Bacteroides sp.*

SO: *Streptococcus* (other species)

Table 4: Complications during bronchoalveolar lavage (BAL)

Complications	LBA #1 (N)	LBA #2 (N)
Pneumothorax	0	1
Hemoptysis	6	3
Decrease in PaO ₂ /FiO ₂ ratio (> 15%)	0	1
Decrease in SaO ₂ (< 92%)	13	5
New radiological opacity	0	0
Decrease in MAP (> 8 mmHg)	1	1
Bradycardia	1	0
Pulmonary hypertensive crisis	0	0
Increase in intracranial pressure	4	3

N: number of cases

PaO₂: Arterial partial pressure of oxygen

FiO₂: Inspired fraction of oxygen

SaO₂: Oxygen saturation

MAP: Mean arterial pressure

Figure 1 : Picture of the protected catheter and the connector used for blind protected BAL

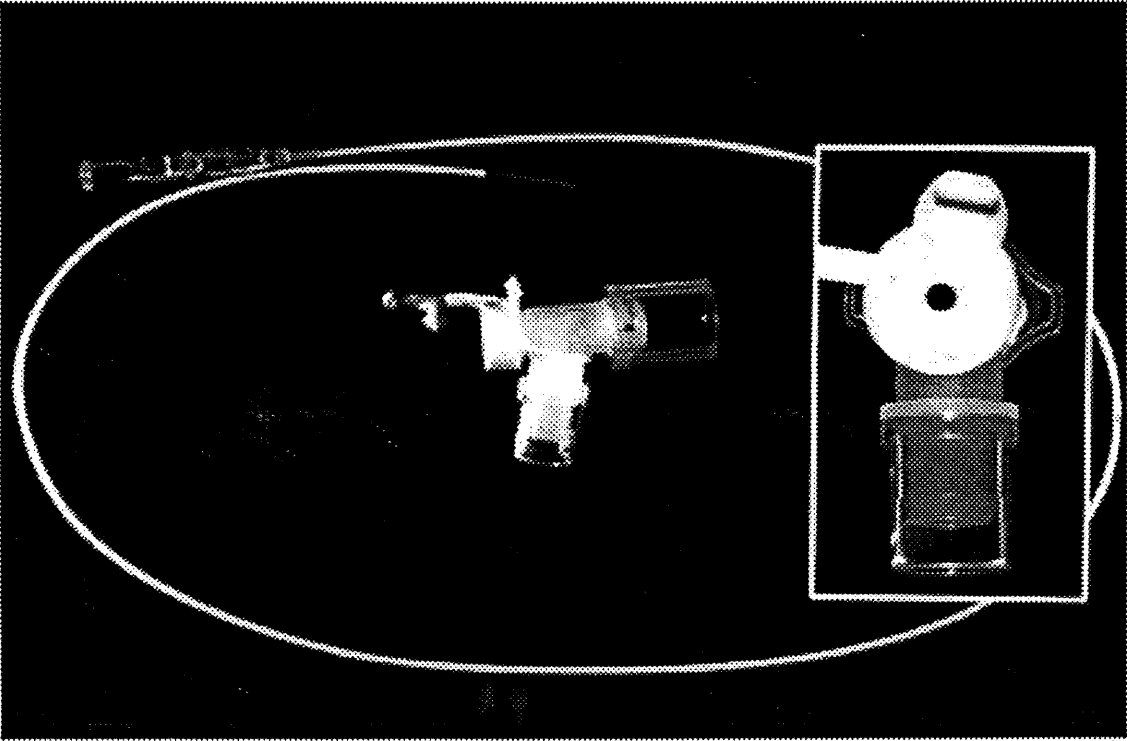
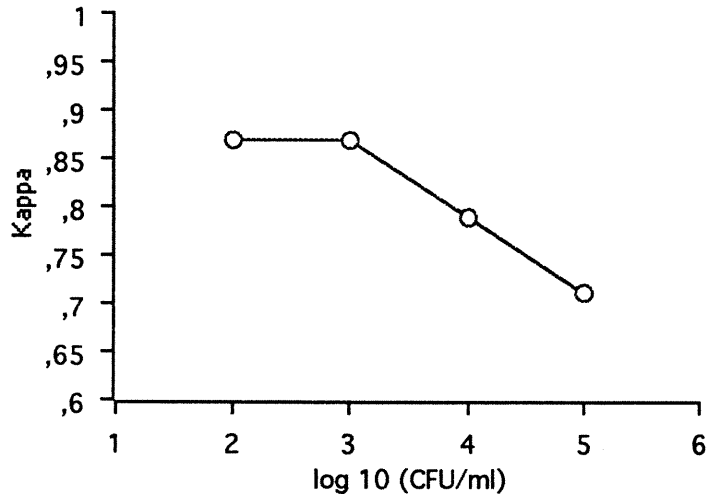
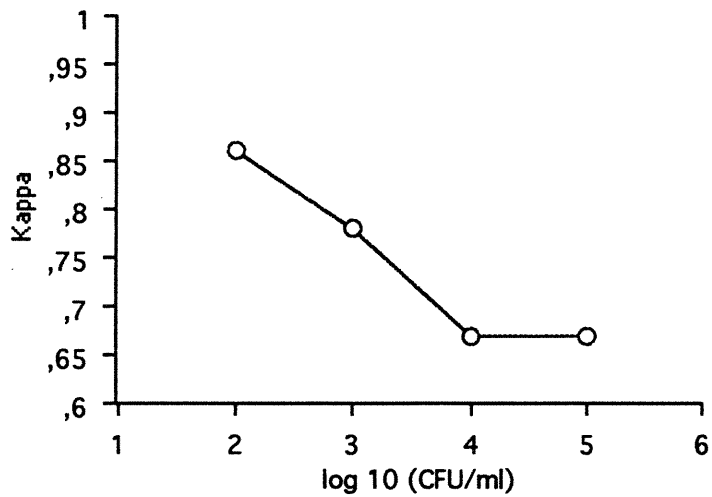


Figure 2: Diagram showing reproducibility for different thresholds of quantitative cultures using the bacterial index (a) and the predominant species index (b). Thresholds are expressed on the x axis with the log 10 in CFU/ml (ex: $10^3 = 3$ on the log scale). Reproducibility is evaluated by the kappa score on the y axis.

a) bacterial index



b) Predominant species index



REMERCIEMENTS :

Remerciements particuliers à Dr. Lacroix et Dr. Dassa pour leur support soutenu et précieux, à Dr. Proulx, Dr. Farrell et Dr. Chaïbou pour leur expertise essentielle, à Marie-Claude Guertin pour son talent avec les statistiques, à Dr. Moghrabi et Dr. Lebel pour leur intérêt et leur travail minutieux au laboratoire, à Dr. Oigny pour son aide avec les notions d'histopathologie et à Stéphane Dedelis pour les magnifiques photos.