



Denis GALLOT ^{1,3}, Vincent SAPIN ^{2,3}

Menace d'accouchement prématuré et marqueurs de rupture prématurée des membranes : de la physiopathologie au diagnostic

RÉSUMÉ

La menace d'accouchement prématuré et la rupture prématurée des membranes sont deux situations cliniques fréquentes rencontrées quotidiennement en obstétrique, pour lesquelles une prise en charge optimale doit permettre d'éviter des complications graves pour le fœtus et la future mère. Dans le cadre du diagnostic clinico-biologique de la menace d'accouchement prématuré, les marqueurs biologiques (principalement la fibronectine) ont fait la preuve de leur utilité mais l'échographie du col semble rendre un service équivalent avec une disponibilité immédiate pour l'obstétricien. En revanche, l'utilisation de nouveaux marqueurs biologiques (Insulin-like Growth factor Binding Protein-1 ou Placental Alpha 1-Microglobulin) lorsqu'elle est réalisée au sein des laboratoires a permis de grandement améliorer le diagnostic de la rupture prématurée des membranes, et ce principalement lors de formes cliniques frustrées.

MOTS-CLÉS

Menace d'accouchement prématuré, rupture prématurée des membranes, marqueurs biologiques

Threatened preterm labour and biological markers of premature rupture of membranes : from patho-physiology to diagnosis

SUMMARY

The threatened preterm labour and the premature rupture of the membranes are two frequent clinical situations met daily in obstetrics, for which an optimal diagnosis and treatment had to be developed to avoid serious complications for the foetus and the mother. Concerning the clinical and biological diagnosis of the threatened preterm labour, the biological markers (mainly the fibronectin) seem to be useful but ultrasonographic examination of the uterine cervix appears effective as well. On the other hand, the use of new biological markers (Insulin-like Growth Factor Binding Protein-1 or Placental Alpha 1-Microglobulin) when they are realised within the laboratories improve the diagnosis of the premature rupture of the membranes, and this mainly for the time of frustrate clinical forms.

KEYWORDS

Threatened preterm labour, premature rupture of membranes, biological markers

¹CHU Clermont-Ferrand — Maternité Hôtel-Dieu — Pôle Gynécologie-Obstétrique-Reproduction Humaine — Boulevard Léon Malfrey — F-63000, Clermont-Ferrand
Tél. : 04 73 75 00 99 — Fax : 04 73 75 05 65 — E-Mail : dgallot@chu-clermontferrand.fr

²CHU Clermont-Ferrand — Laboratoire de Biochimie Médicale, Centre de Biologie — Rue Montalembert — F-63000, Clermont-Ferrand
Tél. : 04 73 75 18 00 — Fax : 04 73 75 18 55 — E-Mail : vsapin@chu-clermontferrand.fr

³Université d'Auvergne — JE2447 ARDEMO — Faculté de Médecine — 28, place Henri Dunant — F-63000, Clermont-Ferrand — Tél. : 04 73 17 81 74 — Fax : 04 73 27 61 32

NOTE

Cet article constitue l'adaptation de la présentation « Menace d'accouchement prématuré et marqueurs de rupture prématurée des membranes : de la physiopathologie au diagnostic » donnée dans le cadre des 16^{es} Journées Nationales du Collège National de Biochimie des Hôpitaux (Paris, 25-26 janvier 2007).

I - La menace d'accouchement prématuré

La menace d'accouchement prématuré (MAP) se définit comme l'association de contractions utérines et de modifications du col utérin avant 37 semaines d'aménorrhée (SA)(1). Elle expose au risque d'accouchement prématuré dont les conséquences peuvent être gravissimes (décès, séquelles psychomotrices...) surtout pour les enfants nés avant 32 SA (grands prématurés) voire avant 28 SA (très grands prématurés). Le taux de prématurité en France avoisine les 7 % dont près d'un tiers correspond à une prématurité « consentie ». Celle-ci est décidée par l'équipe obstétricale qui organise la naissance plutôt que de poursuivre l'exposition du fœtus à un contexte pathologique identifié (retard de croissance et risque asphyxique essentiellement). Le risque de prématurité « spontanée » se situe donc vers 5 % tandis que près de 20 % des patientes sont considérées en menace d'accouchement prématuré sur des arguments cliniques à tel ou tel moment de leur grossesse. Ceci illustre la nécessité pour le clinicien de disposer de critères de sévérité permettant d'isoler le sous-groupe de patientes présentant un haut risque d'évoluer réellement vers un accouchement prématuré. Cette situation justifie la mise en œuvre d'une corticothérapie de maturation pulmonaire fœtale (surtout avant 34 SA) voire un transfert *in utero* vers un autre établissement pour optimiser l'accueil du nouveau-né (2).

L'évaluation clinique des modifications du col utérin (raccourcissement, dilatation, ramollissement, présentation plongeante) n'a une valeur prédictive positive satisfaisante que pour les modifications très marquées telles qu'une dilatation de plus de 3 cm (3). La grande majorité des patientes présentent des modifications cervicales plus discrètes pour lesquelles l'évaluation clinique ne permet pas de distinguer le sous-groupe à haut risque. De multiples marqueurs biologiques ont été évalués afin de venir en aide au clinicien. Seuls certains d'entre eux ont montré une association significative avec le risque d'accouchement prématuré (4). Dans le sérum maternel, il s'agit d'une élévation de l'alphafoetoprotéine (odd ratio 8,3), des phosphatases alcalines (odd ratio 6,8), de l'Intersitital Cell Adhesion Molecule-1 (odd ratio 4,5) ou des défensines (odd ratio 5,4). Dans l'endocol, il s'agit de l'interleukine-6 (odd ratio 3,9) ou de la fibronectine fœtale. Dans les sécrétions vaginales il s'agit de la fibronectine (odd ratio 27,6) ou d'une élévation du pH (odd ratio 2,5). En fait, seule l'élévation de la fibronectine recueillie par écouvillonnage dans le cul de sac vaginal apparaît suffisamment spécifique pour être utilisée en pratique clinique (5). La valeur seuil retenue est de 50 ng/mL et la valeur prédictive négative apparaît alors excellente (98 %). D'autres marqueurs plus récemment étudiés comme l'Insulin-like Growth Binding Protein I

phosphorylée (endocol), l'oestriol (salive) et la Corticotropin Releasing Hormone (plasma) n'ont pas été retenus en pratique quotidienne pour diagnostiquer une MAP.

En dehors de la biologie, il est possible d'obtenir l'image échographique du col utérin, idéalement par voie transvaginale ou transpérinéale. Différentes mesures sont alors possibles, notamment la longueur du canal cervical ainsi que la dilatation de l'orifice interne (entonnoir). De nombreuses publications ont confirmé l'augmentation du risque d'accouchement prématuré à mesure que le col se raccourcit (6). Il apparaît que la persistance d'une longueur supérieure à 25 mm permet de surseoir à des thérapeutiques lourdes. Lorsque la longueur est inférieure à 15 mm, l'accouchement prématuré va survenir dans 50 % des cas. L'examen échographique a l'intérêt d'être facilement disponible et rapide pour l'obstétricien, familier de cette technique. Son surcoût est très modeste compte tenu de l'existence de plus en plus fréquente d'un appareil d'échographie dédié à l'accueil des urgences obstétricales. Une étude a montré que la fibronectine et l'échographie du col ont une valeur prédictive positive équivalente (50 %) tandis que l'association des deux tests n'augmente pas cette valeur prédictive de manière significative (52 %) (7). Ceci explique sans doute le désintérêt relatif de certains obstétriciens pour la fibronectine qui garde en revanche toute sa valeur lorsque l'échographie du col n'est pas disponible.

II - La rupture prématurée des membranes

Les membranes amniotiques ou fœtales (amnios + chorion) sont physiologiquement peu susceptibles de se réparer spontanément. Dans le cadre d'une grossesse normale, des agressions mineures pourront être circonscrites et la rupture ne surviendra qu'à l'occasion de l'accouchement à terme. A l'opposé si ces membranes amniotiques sont constitutivement fragiles, elles seront très sensibles à des agressions mécaniques, inflammatoires ou infectieuses entraînant des fissures non réparables qui risquent de conduire à une rupture avant terme (prématurée) des membranes. Cette rupture conduit à la perte de liquide amniotique et favorise l'entrée de germes pathogènes dans une sphère devant rester physiologiquement stérile. De fait, la rupture prématurée de membranes (RPM) peut entraîner une chorio-amnionite et déboucher sur une menace d'accouchement prématuré.

La rupture de la poche des eaux occasionne classiquement un écoulement vaginal de liquide amniotique qui apparaît clair, abondant, d'odeur fade et parfois teinté ou mêlé à des particules de vernix. En condition physiologique, la rupture de la poche survient au cours du travail d'accouchement lorsque la dilatation est complète (rupture tempestive

Menace d'accouchement prématuré et marqueurs de rupture prématurée des membranes : de la physiopathologie au diagnostic

de la poche des eaux) ; elle est alors facile à repérer. La survenue d'une rupture avant l'entrée en travail (délai de latence non consensuel pouvant varier de 1 à 24 heures) constitue une rupture prématurée des membranes même si elle se produit après 37 SA. L'incidence rapportée de cet événement varie de 2 à 15 % (voire 25 %) selon le délai de latence retenu. Les conséquences de la rupture varient selon les circonstances de survenue et notamment selon l'âge gestationnel. Elles justifient une prise en charge médicale dont la mise en œuvre impose d'avoir pu établir le diagnostic (corticothérapie de maturation pulmonaire fœtale, antibiothérapie, éventuel transfert ou déclenchement).

1. Diagnostic clinique

Dans 80 % des cas, l'écoulement est abondant, continu, accru par la mobilisation du fœtus ou les mouvements maternels. La patiente évoque le diagnostic qui sera aisément confirmé dès l'admission en milieu obstétrical ; elle sera d'autant moins surprise qu'elle approche du terme (8). Le recours à un test biologique est alors inutile. En revanche si l'écoulement est plus faible, s'il est mêlé de sang ou s'il survient précocement au cours de la grossesse son identification est moins aisée. La suspicion de rupture des membranes est ainsi un motif fréquent de consultation (8 % des patientes à partir de 34 SA avec un diagnostic positif retenu dans 75 % des cas (9)). En cas de suspicion, l'examen clinique doit comporter la pose d'un spéculum stérile et non lubrifié. Il permet la réalisation de prélèvements bactériologiques et peut permettre de visualiser le liquide qui sourd du col et finit par baigner la valve postérieure et le cul-de-sac vaginal. L'écoulement peut être favorisé par la mobilisation de l'utérus, le changement de position, la toux : il faut parfois être patient ! Le risque de faux négatif de l'examen au spéculum a été estimé à 12 % dans une population suspecte de rupture (9). C'est lorsque l'examen au spéculum reste douteux (écoulement non visualisé ou suspecté d'une autre nature : urine, hydorrhée gravidique, leucorrhée) que des examens complémentaires ou des tests biologiques sont nécessaires.

2. Examens complémentaires

L'évaluation échographique de la quantité de liquide amniotique par la mesure de la flèche ou de l'index amniotique a été proposée comme test diagnostique. S'il est vrai qu'un anamnios observé au deuxième trimestre dans un contexte de suspicion de rupture est un argument précieux, la pertinence de cette approche est très nettement remise en cause par deux situations cliniques fréquentes : l'oligoamnios spontané en fin de grossesse et la persistance d'une quantité de liquide subnormale après rupture (10). Les tests d'injection intra-amniotique de colorant consistaient à injecter de l'indigo carmin ou du phénol-sulfonephtaleine (PSP) par voie transabdominale puis à repérer l'éventuel écoulement vaginal coloré. Au risque d'induire une rupture suite au geste invasif s'ajoutaient les risques fœtaux d'un geste difficile en cas d'anamnios ainsi que les risques d'effets toxiques exercés par le colorant (atrésie du grêle). Ces approches ont été abandonnées.

III - Les tests biologiques (tableau I)

Historiquement, trois tests ont été utilisés pour mettre en évidence directement le liquide amniotique ou des composés dans les sécrétions recueillies au niveau de l'endocol d'une patiente suspecte de RPM. Le test d'évaporation consistait à étaler les sécrétions sur une lame et à les chauffer jusqu'à évaporation complète. En cas de présence de liquide amniotique il persiste un résidu blanchâtre (sensibilité et spécificité discutables et opérateurs dépendantes). Le test de cristallisation consistait à observer au microscope une lame enduite de sécrétions cervicales sans coloration. La visualisation de structures en feuilles de fougères (Fern test) signalait la présence de liquide amniotique mais la sensibilité n'était que de 42 % et la spécificité de 76 % (11). D'autres auteurs ont proposé de colorer les lames au sulfate de bleu de Nil (cellules cutanées fœtales en rouge, autres cellules en bleu), au pinacyanole 0,25 % (cellules grassieuses

Tableau I
Caractéristiques des principaux tests biologiques utilisés pour le diagnostic de rupture prématurée des membranes. VPP : Valeur prédictive positive ; VPN : valeur prédictive négative.

Tests	Principe	Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN
Test de cristallisation	Visualisation de dépôts sur lames de verre	42 %	76 %	nd	nd
pH	Indicateur coloré sensible au pH	73-91 %	72-83 %	53-75 %	92-96 %
Diamine-oxydase	Dosage radio-enzymatique	84-91 %	100 %	100 %	89-98 %
Alpha-foeto-protéine	Dosage immuno-enzymatique	93-98 %	90-98 %	96 %	97 %
IGFBP-1	Recherche par immuno-chromatographie	95-100 %	93-98 %	98 %	97 %

foétales), ou à l'éosine aqueuse (squames foétales). Ces méthodes (Verni test) étaient destinées à mettre en évidence des cellules foétales présentes dans le liquide amniotique ce qui limitait leur usage aux âges gestationnels les plus avancés (test au bleu de Nil inutilisable avant 32-34 SA avec un taux de faux positif de 5 % et de faux négatif de 15 %).

De nombreux tests analysant le contenu des sécrétions cervico-vaginales ont été rapportés. Le marqueur biologique idéal se définit comme une molécule strictement spécifique du liquide amniotique, présente à tous les âges gestationnels, de dégradation lente et aisément détectable y compris à de faibles concentrations. Ceci permettra d'éviter les faux positifs dus à la contamination par un autre compartiment biologique (type sang maternel, urine ou liquide séminal), ainsi que les faux négatifs liés à une date de rupture inadéquate, une disparition trop rapide du marqueur ou à une détection impossible sur de faibles écoulements. Il devra aussi être dosé en utilisant une technologie analytique simple et accessible, être rendu dans des délais compatibles avec la notion d'urgences obstétricales et d'un coût peu élevé.

1. Mesure de pH

La présence de liquide amniotique modifie le pH cervical normal (pH=5-6) vers des valeurs plus élevées (6,5-7,5) (12). La mesure du pH est aisément réalisable à l'aide de méthodes colorimétriques sur bandelette (Amnicator®, Nitrazine test®, Amniosure®...). Néanmoins, tout processus d'alcalinisation du prélèvement endocervical (antiseptiques, mucus, sperme, sang, urines alcalines) induit des faux positifs perturbant la spécificité du test (72 à 83 % pour une sensibilité de 73 à 91 %). Cette technique est très fortement développée au sein des services d'obstétrique et restreinte dans les laboratoires.

2. Dosage de la diamine oxydase

La diamine oxydase (DAO) est une enzyme synthétisée par le placenta et détectable dans le liquide amniotique dès 20 SA. Son dosage dans les sécrétions vaginales a été le premier test biologique sérieux pour la détection de la RPM. Son dosage s'appuyait classiquement sur une technique radioanalytique (putrescine marquée au carbone 14) impliquant le recours à un laboratoire spécialisé, ce qui explique son abandon actuel. La sensibilité oscille entre 84 et 91 % (12). Si la spécificité a souvent été rapportée proche de 100 %, il faut néanmoins retenir que la DAO circule également dans le sang maternel à des concentrations comparables à celles du liquide amniotique si bien que tout prélèvement souillé de sang est susceptible de conduire à un faux positif. La même remarque s'applique au dosage de l'alpha-foetoprotéine (AFP), de l'hormone choriono-gonadotrophique (hCG), de la prolactine (PRL), de l'urée, de la créatinine et des lactates.

3. Fibronectine foetale

La présence de fibronectine foetale dans le canal cervical a été proposée comme test diagnostique de la rupture des membranes. Des kits de dépistage immuno-enzymologique (RapidfFN®, Fetal Fibronectin Immunoassay®, Rom Check Membrane®...) donnent des résultats rapides avec une sensibilité de 84 % et une spécificité de 83 %, en se basant sur des seuils décisionnels différents de ceux de la RPM (13). Toutefois la fibronectine est inutilisable avant 24 SA (présence physiologique dans l'endocol), est fortement influencée par l'entrée en travail et est donc finalement proposée uniquement comme un marqueur de MAP.

4. L'Insulin-like Growth factor Binding Protein-1

L'Insulin-like Growth factor Binding Protein-1 (IGFBP-1) est une protéine synthétisée par la caduque et le foie foetal. Elle est présente dans le liquide amniotique tandis qu'elle est absente des sécrétions vaginales et que sa concentration sérique maternelle est environ 400 à 700 fois plus faible que sa concentration amniotique. Elle n'est ni modifiée par l'entrée en travail, ni par des infections vulvo-vaginales. Sa détection est possible à l'aide de bandelettes utilisant le principe de l'immunochromatographie (Actim-Prom®). Sa sensibilité est de 95 à 100 % pour une spécificité de 93 à 98 % (14). Ces caractéristiques obtenues au sein des laboratoires, en font le meilleur marqueur de rupture des membranes à l'heure actuelle. Une étude récente a, de plus, démontré l'avantage économique de ce test pour la prise en charge de patientes suspectes de RPM (15).

5. D'autres marqueurs d'intérêt

Un autre marqueur, la protéine Placentale Alpha 1-Microglobulin (PAMG-1) d'origine placentaire peut être recherché en utilisant également un test immuno-chromatographique (Amniotest®). D'apparition commerciale plus récente, les caractéristiques analytiques de ce test sont encore en cours d'études. Une étude expérimentale destinée à identifier de nouveaux marqueurs protéiques de la rupture en identifiant des protéines contenues dans le liquide amniotique mais absentes du sang maternel (approche protéomique) a été menée (16). Deux protéines candidates (agrénine, perlecan) ont pu être isolées et font actuellement l'objet d'une évaluation préclinique.

IV - Conclusion

Afin d'apporter le plus d'informations possibles aux obstétriciens, les tests biologiques proposés dans le cadre diagnostique de la MAP ou de la RPM doivent être utilisés à bon escient. Pour la MAP, la recherche de fibronectine sera restreinte lorsque

Menace d'accouchement prématuré et marqueurs de rupture prématurée des membranes : de la physiopathologie au diagnostic

l'échographie n'est pas informative. Le diagnostic clinique de rupture prématurée des membranes est le plus souvent évident. Dans les autres cas la recherche d'IGFBP-1 dans le cul-de-sac vaginal est le test le plus opportun. En dépit des multiples approches décrites, le diagnostic de rupture des membranes est parfois difficile. La littérature nous montre que bien souvent les auteurs sont obligés de se fier à un test de référence discutable, une évolution clinique défavorable ou à un faisceau d'arguments car ils n'ont pas accès au diagnostic certain de RPM. S'il est possible que le retard au diagnostic ne nuise pas systématiquement à la mère ou au fœtus (9), il semble préférable de

ne pas négliger la suspicion de rupture. Une période d'observation en hospitalisation se justifie pour guetter une récurrence de l'écoulement. Dans ce contexte l'immobilisation au lit est à proscrire tandis que l'intérêt clinique des nouvelles garnitures comprenant un polymère changeant de couleur au contact du liquide amniotique reste à évaluer (17). La détection préventive de patientes susceptibles de développer une RPM constitue le nouveau challenge des tests biologiques. Concernant cette problématique particulière, la détection de polymorphismes de certaines métalloprotéases (MMP1, 7 et 8) et de protéines de choc thermique (HSP-47 et 70) constitue une voie prometteuse.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) GOFFINET F., KAYEM G., Diagnosis and prognosis of preterm labor: physical examination and ultrasonography, *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod.*, 2002, 31, 5S22-5S34.
- (2) CROWLEY P., Prophylactic corticosteroids for preterm birth, *Cochrane Database Syst. Rev.*, 2000, 2:CD000065.
- (3) IAMS JD, JOHNSON FF, PARKER M., A prospective evaluation of the signs and symptoms of preterm labor, *Obstet. Gynecol.*, 1994, 84, 227-230.
- (4) GOLDENBERG RL, IAMS JD, MERCER BM, MEIS PJ, MOAWAD A., DAS A., MIODOVNIK M., VANDORSTEN PJ, CARITIS SN, THURNAU G., DOMBROWSKI MP ; Maternal-Fetal Medicine Units Network. The preterm prediction study: toward a multiple-marker test for spontaneous preterm birth, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2001, 185, 643-651.
- (5) LOCKWOOD CJ, SENYEI AE, DISCHE MR, CASAL D, SHAH KD, THUNG SN, JONES L, DELIGDISCH L, GARITE TJ, Fetal fibronectin in cervical and vaginal secretions as a predictor of preterm delivery, *N. Engl. J. Med.*, 1991, 325, 669-674.
- (6) IAMS JD, GOLDENBERG RL, MEIS PJ, MERCER BM, MOAWAD A., DAS A., THOM E., MCNELLIS D., COPPER RL, JOHNSON F., ROBERTS JM, The length of the cervix and the risk of spontaneous premature delivery. *N. Engl. J. Med.*, 1996, 334, 567-572.
- (7) ROZENBERG P., GOFFINET F., MALAGRIDA L., GIUDICELLI Y., PERDU M., HOUSSIN I., Safe-Femme , Nisand I., Evaluating the risk of preterm delivery: a comparison of fetal fibronectin and transvaginal ultrasonographic measurement of cervical length, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1997, 176, 196-199.
- (8) VERSPYCK E., LANDMAN T., MARPEAU L., Diagnostic methods and prognostic criteria in the case of premature rupture of membranes (except the markers of infection). *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod.*, 1999, 28, 626-634.
- (9) LADFORS L., MATTSSON L., ERIKSSON M., FALL O., Is a speculum examination sufficient for excluding the diagnosis of ruptured fetal membranes? *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, 1997, 76, 739-742.
- (10) ROBSON M., TURNER M., STRONGE J., O'HERLIHY C., Is amniotic fluid quantitation of value in the diagnosis and conservative management of pre-labour membrane rupture at term? *Br. J. Obstet. Gynecol.*, 1990, 97, 324-328.
- (11) GIBBS RS, BLANCO JD, Premature rupture of the membranes. *Obstet. Gynecol.*, 1982, 60, 671-679.
- (12) DE MEEUS J., SIMA OLE B., BASCOU V., MAGNIN G., Biological diagnosis of premature rupture of membranes: respective values of diamine oxidase activity compared to vaginal fluid pH. *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod.*, 1997, 26, 730-733.
- (13) PATERNOSTER D., PIGNATARO R., STELLA A., BERTOLDINI M., BRACCIANTE R. Comparative analysis of premature labor markers. *Acta Biomed. Ateneo Parmense*, 2000, 71, 331-336.
- (14) GAUCHERAND P., SALLE B., SERGEANT P., GUIBAUD S., BRUN J., BIZOL-LON CA, RUDIGOZ RC, Comparative study of three vaginal markers of the premature rupture of membranes. Insulin like growth factor binding protein 1 diamine-oxidase pH. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, 1997, 76, 536-540.
- (15) FORZY G., DENOIT V., DALLEMAGNE V., DUBOIS C., DELGRANCHE A., HOUZÉ D., DHONDT JL, Interest of Prom-Test in the follow-up of premature rupture of membranes. *Ann. Biol. Clin.* 2007, 65 313-316.
- (16) VUADENS F., BENAY C., CRETZAZ D., GALLOT D., SAPIN V., SCHNEIDER P., BIENVENUT WV, LÉMERY D., QUADRONI M., DASTUGUE B., TISSOT JD, Identification of biologic markers of the premature rupture of fetal membranes : proteomic approach. *Proteomics*, 2003, 3, 1521-1525.
- (17) BORNSTEIN J., GEVA A., SOLT I., FAIT V., SCHOENFELD A., SHOHAM HK, SOBEL J., Noninvasive diagnosis of premature ruptured amniotic membranes using a novel polymer. *Am. J. Perinatol.*, 2006, 23, 351-354.