

**MEMOIRE
POUR LE DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
DE BIOLOGIE MEDICALE**

**Soutenu publiquement le 17 octobre 2017
Par Mme Angélique GOUGEON**

**Conformément aux dispositions du Décret du 10 septembre 1990
tient lieu de**

THESE EN VUE DU DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

**Bactériémies à *Pseudomonas aeruginosa* : analyse de 181 épisodes bactériémiques
documentés dans deux établissements hospitaliers du Nord de la France**

Membres du jury:

| | |
|-----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Présidente : | Madame le Docteur Anne GOFFARD |
| Assesseurs : | Madame le Professeur Karine FAURE Monsieur le Docteur Nicolas ETTAHAR Madame le Docteur Marie-Noëlle NOULARD |
| Directeur de thèse : | Monsieur le Docteur Christian CATTOEN |



Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE
CEDEX

☎ 03.20.96.40.40 - 📠 : 03.20.96.43.64

<http://pharmacie.univ-lille2.fr>



Université Lille 2 – Droit et Santé

Président : Professeur Xavier VANDENDRIESSCHE

Vice-présidents :
Professeur Alain DUROCHER
Professeur Régis BORDET
Professeur Eric BOULANGER
Professeur Frédéric LOBEZ
Professeur Murielle GARCIN
Professeur Annabelle DERAM
Professeur Muriel UBEDA SAILLARD
Monsieur Ghislain CORNILLON
Monsieur Pierre RAVAUX
Monsieur Larbi AIT-HENNANI
Madame Nathalie ETHUIN
Madame Ilona LEMAITRE

Directeur Général des Services: Monsieur Pierre-Marie ROBERT

Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Doyen : Professeur Damien CUNY
Vice-Doyen, 1^{er} assesseur : Professeur Bertrand DECAUDIN
Assesseur en charge de la pédagogie Dr. Annie STANDAERT
Assesseur en charge de la recherche Pr. Patricia MELNYK
Assesseur délégué à la scolarité Dr. Christophe BOCHU
Assesseur délégué en charge des relations internationales Pr. Philippe CHAVATTE
Assesseur délégué en charge de la vie étudiante M. Thomas MORGENROTH

Chef des services administratifs : Monsieur Cyrille PORTA

Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

| Civ. | NOM | Prénom | Laboratoire |
|------|--------------|-----------|---------------------|
| Mme | ALLORGE | Delphine | Toxicologie |
| M. | BROUSSEAU | Thierry | Biochimie |
| M. | DECAUDIN | Bertrand | Pharmacie Galénique |
| M. | DEPREUX | Patrick | ICPAL |
| M. | DINE | Thierry | Pharmacie clinique |
| Mme | DUPONT-PRADO | Annabelle | Hématologie |
| M. | GRESSIER | Bernard | Pharmacologie |
| M. | LUYCKX | Michel | Pharmacie clinique |
| M. | ODOU | Pascal | Pharmacie Galénique |
| Mme | RENNEVILLE | Aline | Hématologie |
| M. | STAELS | Bart | Biologie Cellulaire |

Liste des Professeurs des Universités

| Civ. | NOM | Prénom | Laboratoire |
|------|--------------------|-----------------|-----------------------------------------|
| M. | ALIOUAT | EI Moukhtar | Parasitologie |
| Mme | AZAROUAL | Nathalie | Physique |
| M. | BERTHELOT | Pascal | Onco et Neurochimie |
| M. | CAZIN | Jean-Louis | Pharmacologie – Pharmacie clinique |
| M. | CHAVATTE | Philippe | ICPAL |
| M. | COURTECUISSÉ | Régis | Sciences végétales et fongiques |
| M. | CUNY | Damien | Sciences végétales et fongiques |
| Mme | DELBAERE | Stéphanie | Physique |
| M. | DEPREZ | Benoît | Laboratoire de Médicaments et Molécules |
| Mme | DEPREZ | Rebecca | Laboratoire de Médicaments et Molécules |
| M. | DUPONT | Frédéric | Sciences végétales et fongiques |
| M. | DURIEZ | Patrick | Physiologie |
| M. | FOLIGNE | Benoît | Bactériologie |
| M. | GARÇON | Guillaume | Toxicologie |
| Mme | GAYOT | Anne | Pharmacotechnie Industrielle |
| M. | GOOSSENS | Jean François | Chimie Analytique |
| M. | HENNEBELLE | Thierry | Pharmacognosie |
| M. | LEMDANI | Mohamed | Biomathématiques |
| Mme | LESTAVEL | Sophie | Biologie Cellulaire |
| M. | LUC | Gerald | Physiologie |
| Mme | MELNYK | Patricia | Onco et Neurochimie |
| M. | MILLET | Régis | ICPAL |
| Mme | MUHR – TAILLEUX | Anne | Biochimie |
| Mme | PAUMELLE-LESTRELIN | Réjane | Biologie Cellulaire |
| Mme | PERROY | Anne Catherine | Législation |
| Mme | ROMOND | Marie Bénédicte | Bactériologie |
| Mme | SAHPAZ | Sevser | Pharmacognosie |
| M. | SERGHÉRAERT | Eric | Législation |
| Mme | SIEPMANN | Florence | Pharmacotechnie Industrielle |
| M. | SIEPMANN | Juergen | Pharmacotechnie Industrielle |
| M | TARTAR | André | Laboratoire de Médicaments et Molécules |
| M. | WILLAND | Nicolas | Laboratoire de Médicaments et Molécules |

Liste des Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

| Civ. | NOM | Prénom | Laboratoire |
|------|----------|-----------------|---------------------|
| Mme | BALDUYCK | Malika | Biochimie |
| Mme | GARAT | Anne | Toxicologie |
| Mme | GOFFARD | Anne | Bactériologie |
| M. | LANNOY | Damien | Pharmacie Galénique |
| Mme | ODOU | Marie Françoise | Bactériologie |
| M. | SIMON | Nicolas | Pharmacie Galénique |

Liste des Maîtres de Conférences

| Civ. | NOM | Prénom | Laboratoire |
|------|-----------|--------------|---------------|
| Mme | ALIOUAT | Cécile Marie | Parasitologie |
| M. | ANTHERIEU | Sébastien | Toxicologie |

| | | | |
|-----|------------------|------------------|-----------------------------------------|
| Mme | AUMERCIER | Pierrette | Biochimie |
| Mme | BANTUBUNGI | Kadiombo | Biologie cellulaire |
| Mme | BARTHELEMY | Christine | Pharmacie Galénique |
| Mme | BEHRA | Josette | Bactériologie |
| M | BELARBI | Karim | Pharmacologie |
| M. | BERTHET | Jérôme | Physique |
| M. | BERTIN | Benjamin | Immunologie |
| M. | BLANCHEMAIN | Nicolas | Pharmacotechnie industrielle |
| M. | BOCHU | Christophe | Physique |
| M. | BORDAGE | Simon | Pharmacognosie |
| M. | BOSC | Damien | Laboratoire de Médicaments et Molécules |
| M. | BRIAND | Olivier | Biochimie |
| Mme | CACHERA | Claude | Biochimie |
| M. | CARNOY | Christophe | Immunologie |
| Mme | CARON | Sandrine | Biologie cellulaire |
| Mme | CHABÉ | Magali | Parasitologie |
| Mme | CHARTON | Julie | Laboratoire de Médicaments et Molécules |
| M | CHEVALIER | Dany | Toxicologie |
| M. | COCHELARD | Dominique | Biomathématiques |
| Mme | DANEL | Cécile | Chimie Analytique |
| Mme | DEMANCHE | Christine | Parasitologie |
| Mme | DEMARQUILLY | Catherine | Biomathématiques |
| Mme | DUMONT | Julie | Biologie cellulaire |
| Mme | DUTOUT-AGOURIDAS | Laurence | Onco et Neurochimie |
| M. | EL BAKALI | Jamal | Onco et Neurochimie |
| M. | FARCE | Amaury | ICPAL |
| Mme | FLIPO | Marion | Laboratoire de Médicaments et Molécules |
| Mme | FOULON | Catherine | Chimie Analytique |
| M. | FURMAN | Christophe | ICPAL |
| M. | GELEZ | Philippe | Biomathématiques |
| Mme | GENAY | Stéphanie | Pharmacie Galénique |
| M. | GERVOIS | Philippe | Biochimie |
| Mme | GOOSSENS | Laurence | ICPAL |
| Mme | GRAVE | Béatrice | Toxicologie |
| Mme | GROSS | Barbara | Biochimie |
| M. | HAMONIER | Julien | Biomathématiques |
| Mme | HAMOUDI | Chérifa Mounira | Pharmacotechnie industrielle |
| Mme | HANNOTHIAUX | Marie-Hélène | Toxicologie |
| Mme | HELLEBOID | Audrey | Physiologie |
| M. | HERMANN | Emmanuel | Immunologie |
| M. | KAMBIA | Kpakpaga Nicolas | Pharmacologie |
| M. | KARROUT | Youness | Pharmacotechnie Industrielle |
| Mme | LALLOYER | Fanny | Biochimie |
| M. | LEBEGUE | Nicolas | Onco et Neurochimie |
| Mme | LECOEUR | Marie | Chimie Analytique |
| Mme | LEHMANN | Hélène | Législation |
| Mme | LELEU-CHAVAIN | Natascha | ICPAL |
| Mme | LIPKA | Emmanuelle | Chimie Analytique |
| Mme | MARTIN | Françoise | Physiologie |
| M. | MOREAU | Pierre Arthur | Sciences végétales et fongiques |
| Mme | MUSCHERT | Susanne | Pharmacotechnie industrielle |
| Mme | NIKASINOVIC | Lydia | Toxicologie |

| | | | |
|-----|------------|-----------|-----------------------------------------|
| Mme | PINÇON | Claire | Biomathématiques |
| M. | PIVA | Frank | Biochimie |
| Mme | PLATEL | Anne | Toxicologie |
| M. | POURCET | Benoît | Biochimie |
| M. | RAVAUX | Pierre | Biomathématiques |
| Mme | RAVEZ | Séverine | Onco et Neurochimie |
| Mme | RIVIERE | Céline | Pharmacognosie |
| Mme | ROGER | Nadine | Immunologie |
| M. | ROUMY | Vincent | Pharmacognosie |
| Mme | SEBTI | Yasmine | Biochimie |
| Mme | SINGER | Elisabeth | Bactériologie |
| Mme | STANDAERT | Annie | Parasitologie |
| M. | TAGZIRT | Madjid | Hématologie |
| M. | VILLEMAGNE | Baptiste | Laboratoire de Médicaments et Molécules |
| M. | WELTI | Stéphane | Sciences végétales et fongiques |
| M. | YOUS | Saïd | Onco et Neurochimie |
| M. | ZITOUNI | Djamel | Biomathématiques |

Professeurs Agrégés

| Civ. | NOM | Prénom | Laboratoire |
|------|------------|---------|-------------|
| Mme | MAYES | Martine | Anglais |
| M. | MORGENROTH | Thomas | Législation |

Professeurs Certifiés

| Civ. | NOM | Prénom | Laboratoire |
|------|----------|-----------|-------------|
| M. | HUGES | Dominique | Anglais |
| Mlle | FAUQUANT | Soline | Anglais |
| M. | OSTYN | Gaël | Anglais |

Professeur Associé - mi-temps

| Civ. | NOM | Prénom | Laboratoire |
|------|---------|--------|----------------------------------|
| M. | DHANANI | Alban | Droit et Economie Pharmaceutique |

Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

| Civ. | NOM | Prénom | Laboratoire |
|------|-----------|------------|----------------------------------|
| M. | BRICOTEAU | Didier | Biomathématiques |
| Mme | CUCCHI | Malgorzata | Biomathématiques |
| M. | FRIMAT | Bruno | Pharmacie Clinique |
| M. | GILLOT | François | Droit et Economie pharmaceutique |
| M. | MASCAUT | Daniel | Pharmacie Clinique |
| M. | ZANETTI | Sébastien | Biomathématiques |
| M. | BRICOTEAU | Didier | Biomathématiques |

AHU

| Civ. | NOM | Prénom | Laboratoire |
|------|---------|-----------|---------------------|
| Mme | DEKYNDT | Bérengère | Pharmacie Galénique |
| M. | PEREZ | Maxime | Pharmacie Galénique |

Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX
Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64
<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.

A ma présidente de Thèse

Madame le Docteur Anne GOFFARD

*Vous me faites l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse.
Veuillez trouver ici l'expression de mon profond respect et de ma reconnaissance.*

A mon directeur de Thèse

Monsieur le Docteur Christian CATTOEN

Pour m'avoir fait l'honneur de me confier et d'encadrer ce sujet de thèse.

Merci de m'avoir guidée et accompagnée tout au long de ce travail. Votre expérience, vos conseils et votre disponibilité ont été des atouts précieux pour l'élaboration de ce mémoire.

Je tiens également à vous témoigner ma profonde reconnaissance pour votre enseignement lors de mon stage d'interne au sein de votre laboratoire.

Aux membres du jury

Madame le Professeur Karine FAURE

*Vous me faites l'honneur de vous intéresser à ce travail et d'accepter de le juger.
Je vous exprime ma plus sincère considération et vous prie d'accepter mes sincères remerciements.*

Monsieur le Docteur Nicolas ETTAHAR

*Merci d'avoir accepté de juger ce travail et de m'avoir montré l'exemple d'un dialogue clinico-biologique efficace et agréable pendant mon stage d'interne à Valenciennes.
Acceptez ma gratitude.*

Madame le Docteur Marie-Noëlle NOULARD

*Pour avoir accepté de faire partie de ce jury. Pour votre réactivité qui a facilité le recueil des données nécessaires à la rédaction de cette thèse.
Merci de m'avoir fait partager vos connaissances pendant mon stage d'interne à Arras, j'ai été heureuse de travailler avec vous et je tenais à vous en remercier sincèrement.*

Je tiens à remercier ici toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à ce travail.

Guillaume Jager,
Pour ton aide dans la partie technique de ma thèse.

Monsieur le Professeur Gérard Forzy,
Pour votre aide dans la partie statistique.

Monsieur le Docteur Pierre Weyrich,
Pour m'avoir orientée dans l'analyse de l'antibiothérapie.

A ma famille et à mes amis, équilibre indispensable

A mes parents,
Pour n'avoir jamais cessé de m'encourager et pour avoir supporté tout ce stress pendant mes longues années d'étude. Je vous dois tant et je vous en serais à jamais reconnaissante. Votre Amour et vos conseils m'ont permis d'avancer et de franchir chaque nouvelle étape. Merci pour l'éducation et les valeurs que vous nous avez transmis à tous les trois. Vous êtes des parents en or !

A mon frère Guillaume,
Pour notre complicité, pour tous les bons moments passés ensemble et ceux à venir. Les années passent et tu ne cesses de me surprendre et de me faire rire.

A ma sœur Emilie,
Pour ce lien presque fusionnel qui nous unie... juste un regard pour se comprendre. Je t'adore. Et un grand merci pour le temps accordé à la relecture de mon travail.

A Karine,
Pour ton soutien dans mes moments de doute. A mes yeux, tu es la personne la plus combative qui soit et bien entendu la meilleure des tatas.

A mes grands parents,
Mes 4 étoiles bienveillantes, je pense à vous souvent.

A CriCri,
Parce que tu es si proche de notre famille. Pour ta gentillesse, tes conseils et ton enthousiasme.

A Christophe,
Parce que mes yeux pétillent quand tu es là.

Jessica, Coline, Claire,
Pour cette amitié qui perdure malgré la distance.

A mes co-internes,
Pour les bons moments passés en stage. Clin d'œil à Florian pour ton aide à la mise en page et à Malicka pour ta bonne humeur si communicative.

A toutes les autres belles rencontres que j'ai eu le bonheur de faire au cours de cet internat...

*« La persévérance est un talisman pour la vie. »
(Proverbe Africain)*

SOMMAIRE

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------|----|
| INTRODUCTION..... | 14 |
| CHAPITRE I : GENERALITES..... | 16 |
| II. Rappels microbiologiques..... | 16 |
| A. Etymologie – Historique..... | 16 |
| B. Classification – Taxonomie..... | 16 |
| C. Habitat - Réservoir naturel..... | 17 |
| D. Caractères bactériologiques..... | 18 |
| III. Pouvoir pathogène..... | 21 |
| A. Facteurs favorisant ou aggravant des infections à bacille pyocyanique..... | 21 |
| B. Les facteurs de virulence du bacille pyocyanique..... | 22 |
| C. Les infections à bacille pyocyanique..... | 29 |
| IV. Mécanismes de résistance aux antibiotiques..... | 32 |
| A. Résistance naturelle..... | 32 |
| B. Résistance acquise..... | 34 |
| V. Epidémiologie des infections à bacille pyocyanique..... | 42 |
| A. Place du bacille pyocyanique au sein des microorganismes isolés..... | 42 |
| B. Place du bacille pyocyanique selon le site infectieux..... | 42 |
| C. Place du bacille pyocyanique selon le type de séjour..... | 43 |
| VI. Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques..... | 44 |
| A. Données mondiales..... | 44 |
| B. Données USA..... | 46 |
| C. Données européennes..... | 48 |
| D. Données françaises issues de l'EARS-Net..... | 52 |
| E. Données régionales issues du Réseau des Microbiologistes du Nord-Pas-de-Calais..... | 55 |
| VII. Aspects thérapeutiques..... | 58 |
| A. Molécules disponibles..... | 58 |
| B. Stratégies thérapeutiques..... | 59 |
| C. Traitement des souches multirésistantes..... | 62 |
| D. Nouvelles molécules antibiotiques..... | 62 |
| CHAPITRE II : OBJECTIFS..... | 66 |
| CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODE..... | 67 |
| I. Population étudiée..... | 67 |
| A. Description des deux centres hospitaliers..... | 67 |
| B. Nombre d'épisodes..... | 67 |
| II. Matériel..... | 68 |
| A. Dossier patient..... | 68 |

| | | |
|-------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| B. | Souches bactériennes | 68 |
| III. | Méthodes | 68 |
| A. | Partie descriptive | 68 |
| B. | Partie technique | 70 |
| CHAPITRE IV : RESULTATS | | 75 |
| I. | Partie descriptive | 75 |
| A. | Analyse des épisodes de bactériémies | 75 |
| B. | Analyse statistique | 90 |
| II. | Partie technique | 93 |
| CHAPITRE V : DISCUSSION | | 97 |
| I. | Limites de l'étude | 97 |
| II. | Incidence et épidémiologie des bactériémies à <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 98 |
| III. | Caractéristiques des bactériémies à <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 99 |
| A. | Facteurs de risque de bactériémies à <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 99 |
| B. | Scores de probabilité : détermination de facteurs prédictifs d'une bactériémie à <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 100 |
| C. | Porte d'entrée des bactériémies à <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 101 |
| D. | Comparaison avec les bactériémies liées à d'autres espèces bactériennes (<i>S.aureus</i> et entérobactéries) | 103 |
| E. | « Récidives » des bactériémies | 104 |
| F. | Pronostic des bactériémies à <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 105 |
| IV. | Analyse de la résistance aux antibiotiques | 112 |
| A. | Taux de résistance | 112 |
| B. | Facteurs de risque de résistance | 113 |
| C. | Mécanismes de résistance | 113 |
| V. | Analyse du traitement : stratégie thérapeutique et bon usage des antibiotiques | 114 |
| VI. | Intérêt des nouvelles molécules | 116 |
| A. | Résultats de notre étude | 116 |
| B. | Etudes concernant ceftazidime-avibactam | 116 |
| C. | Etudes concernant ceftolozane-tazobactam | 117 |
| D. | Etude comparative avec les entérobactéries | 118 |
| E. | Positionnement des molécules en termes de coût/bénéfice | 119 |
| CONCLUSION | | 120 |
| LISTE DES ABREVIATIONS | | 122 |
| LISTE DES FIGURES | | 124 |
| LISTE DES TABLEAUX | | 125 |
| BIBLIOGRAPHIE | | 127 |

INTRODUCTION

En 1996, un Observatoire Régional de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* a été mis en place pour le Nord-Pas-de-Calais. Ce réseau de surveillance, auquel participent vingt établissements de santé, représente un intérêt dans le suivi des infections à bacille pyocyanique puisque peu de données étaient disponibles auparavant sur cette bactérie. Reconnu en 2011 par l'Observatoire National de l'Epidémiologie et de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques (ONERBA), il constitue ainsi une base de données épidémiologiques et microbiologiques, en répertoriant notamment les sites d'isolement, l'incidence d'isolement, ou encore la sensibilité aux antibiotiques.

Pseudomonas aeruginosa, pathogène opportuniste, est responsable d'un grand nombre d'infections aiguës ou chroniques, il est associé à une morbidité et une mortalité élevées, en particulier chez les patients hospitalisés les plus fragiles. Il figure parmi les principales bactéries à l'origine d'infections nosocomiales. L'enquête nationale de prévalence de 2012 le place effectivement au troisième rang des espèces incriminées (8.4% des cas d'infections nosocomiales) derrière *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* (26% et 15.9% des cas respectivement) (1). Ses mécanismes complexes de virulence, sa résistance naturelle à de nombreux antibiotiques et sa capacité à acquérir des résistances aux autres molécules disponibles en thérapeutique font de lui un germe redoutable.

La prise en charge des patients devient actuellement de plus en plus problématique avec l'incidence croissante des souches multirésistantes, voire totorésistantes. Malgré la mise en place de mesures de prévention, visant au bon usage des antibiotiques et à épargner les carbapénèmes, les traitements d'une efficacité certaine s'amenuisent au fur et à mesure de notre utilisation, et dans le même temps l'arsenal antibiotique ne se renouvelle qu'au ralenti. Ces dernières années, l'essentiel des activités de développement et de recherche de l'industrie pharmaceutique s'est concentré sur les molécules actives vis-à-vis des cocci à Gram positif. Les problèmes les plus aigus concernent pourtant les bacilles à Gram négatif, parmi lesquels *P.aeruginosa*.

Chaque année, le réseau Microbiologistes du Nord-Pas-de-Calais recense entre 200 et 250 cas de bactériémies à bacille pyocyanique parmi ses vingt établissements participants. Ces infections ne sont donc pas rares.

Cette thèse a pour objectif une étude ciblée de cas de bactériémies à *Pseudomonas aeruginosa* au sein de deux centres hospitaliers régionaux. Dans un premier temps, nous aborderons un chapitre de généralités et une analyse de la littérature concernant les infections à *P.aeruginosa*. Puis, à partir des données collectées dans les centres hospitaliers d'Arras et de Valenciennes, nous décrirons les principales caractéristiques des épisodes de bactériémies à bacille pyocyanique qui ont eu lieu dans ces deux établissements, sur une période de cinq années (entre janvier 2012 et décembre 2016). Enfin, après avoir sélectionné des souches d'intérêt parmi les dossiers précédents, nous comparerons l'activité antibactérienne in vitro de deux nouvelles associations d'antibiotiques (le ceftolozane - tazobactam et le ceftazidime - avibactam) par rapport à deux molécules plus anciennes (la ceftazidime et le cefepime).

Ces deux nouvelles thérapeutiques, réservées à l'usage hospitalier, représentent une alternative intéressante pour le traitement des infections compliquées notamment à entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (EBLSE) et possèdent une excellente activité antipyocyanique.

CHAPITRE I : GENERALITES

I. Rappels microbiologiques

A. *Etymologie – Historique*

En 1882, Carle Gessard, pharmacien des armées, réalisa les premiers isolements de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* (du latin « aeruginosus » qui signifie couvert de rouille, en relation avec la couleur métallique des colonies isolées en culture).

Il mit en évidence la production de pigments caractéristiques, qui coloraient en bleu-vert les pansements recouvrant les plaies de soldats infectés (« Sur les colorations bleue et verte des linges à pansement », Compte rendu Acad. Sci., 1882). Un de ces pigments, identifié en tant que pyocyanine, est à l'origine de la dénomination plus couramment utilisée pour désigner cette bactérie : le bacille pyocyanique (du grec « puon » pour pus et « kuanos » pour bleu foncé).

B. *Classification – Taxonomie*

Pseudomonas aeruginosa appartient à la famille des *Pseudomonadaceae* et représente l'espèce du genre *Pseudomonas* la plus rencontrée en pathologie infectieuse.

La famille des *Pseudomonadaceae* appartient au vaste groupe des bacilles à Gram négatif non fermentants. Le recours aux nouvelles techniques d'analyse génomique ces dernières années a conduit à de nombreux remaniements taxonomiques. En conséquence, a été établie une classification plus précise concernant les *Pseudomonas* et apparentés, avec la réassignation dans de nouveaux genres ou le transfert dans des genres déjà existants (2).

Les travaux de Palleroni et Doudoroff en 1972 ont révélé l'extrême hétérogénéité du genre *Pseudomonas* et ont permis de distinguer cinq groupes d'homologie d'ARN ribosomal (tableau 1). Cette restructuration a par la suite été confirmée par l'utilisation de diverses méthodes (hybridation ADN/ADN, séquençage de l'ARNr 16S).

Les *Pseudomonas* « sensu stricto » ou *Pseudomonas* « vrais » correspondent au groupe I de Palleroni. Ce groupe rassemble des espèces dites « fluorescentes » productrices de pyoverdine (ce qui est le cas de *P.aeruginosa*) et des espèces non fluorescentes. Le groupe II de Palleroni rassemble les genres *Burkholderia*, *Ralstonia* et *Pandoreae*. Le groupe III inclue la famille des *Comamonadaceae* (genre *Comamonas*, *Delftia*, *Acidovorax*). Le groupe IV correspond au genre *Brevundimonas* et le groupe V au genre *Stenotrophomonas* (3,4).

| Groupe d'homologie (ARNr) | Genres | Espèces |
|---------------------------|-----------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| I | <i>Pseudomonas</i> | <u>Espèces fluorescentes :</u> <i>P.aeruginosa, P.fluorescens, P.putida</i> <u>Espèces non fluorescentes :</u> <i>P.alcaligenes, P.stutzeri,</i> <i>P.pseudoalcaligenes</i> |
| II | <i>Burkholderia</i> <i>Ralstonia</i> | <i>B.cepacia, B.mallei, B.pseudomallei</i> <i>R.pickettii</i> |
| III | <i>Comamonas</i> | <i>C.testosteroni</i> |
| IV | <i>Brevundimonas</i> | <i>B.diminuta, B.vesicularis</i> |
| V | <i>Stenotrophomonas</i> | <i>S.maltophilia</i> |

Tableau 1: Classification actuelle simplifiée des principales espèces de *Pseudomonas* et bactéries apparentées rencontrées en pathologie humaine (2)

C. Habitat - Réservoir naturel

P.aeruginosa est une bactérie ubiquitaire, qui vit naturellement à l'état de saprophyte dans l'environnement. Son réservoir naturel et permanent est représenté par l'eau (eaux douces, usées ou marines), les sols humides et les végétaux. Elle peut aussi être présente dans les poussières en suspension dans l'air. Ses exigences nutritives modestes lui permettent de survivre et de se multiplier sur différents supports et matériels, surtout s'ils sont humides. A ce titre, l'hôpital représente un milieu particulièrement propice à son développement (humidité, chaleur, présence de débris organiques) (4–6).

Il s'agit d'un commensal peu fréquent chez l'homme sain, avec seulement 2 à 4% de porteurs. Ce taux de portage est considérablement accru en cas d'hospitalisation ou de traitement antibiotique, pouvant atteindre 50 voire 60% (6). Le tube digestif représente le principal site de colonisation, suivi des voies aériennes supérieures et des plis cutanés. En 1984, Morrison et ses coll. décrivaient des taux de colonisation par site respectif de 0 à 2% pour la peau, 0 à 3.3 % pour la muqueuse nasale, 0 à 6.6% pour la muqueuse pharyngée et 2.6 à 24% pour la flore fécale (7,8).

En milieu hospitalier, les deux réservoirs de *P.aeruginosa* sont d'une part les patients infectés ou colonisés, vecteurs de contamination par leurs exsudats (urines, crachats, selles) et d'autre part l'environnement. En raison du caractère ubiquitaire de *P.aeruginosa*, la colonisation peut être antérieure à l'hospitalisation. L'infection peut ainsi être endogène : le malade colonisé par la bactérie devient porteur chronique. Mais on observe également des cas d'infections nosocomiales acquises pendant l'hospitalisation. La transmission des souches est directe ou indirecte, manuportée par le personnel soignant ou transmise par du matériel ou des fluides contaminés. On peut retrouver le bacille pyocyanique au niveau des points d'eau (siphons des lavabos, vases, objets de toilette), dans l'eau des nébuliseurs, dans les humidificateurs des appareils de ventilation, les équipements de dialyse, ou encore dans des solutions antiseptiques conservées trop longtemps (résistance naturelle aux ammoniums quaternaires). Il peut aussi contaminer le matériel médical insuffisamment nettoyé, désinfecté ou séché (endoscopes) (6,9).

Plusieurs études ont été menées pour évaluer la part des points d'eau dans la colonisation/infection des patients en service de réanimation. Dans le tableau 2, on retrouve les résultats de ces différentes études. Certains attribuent un rôle majeur aux points d'eau sur l'incidence de la colonisation ou infection des patients. D'autres au contraire mettent en évidence un faible lien épidémiologique. Les points d'eau sont ainsi à l'origine de 7 à 50 % des colonisations en fonction des services. D'autres études ont montré que le personnel médical peut être réservoir et vecteur potentiel, avec notamment une épidémie liée à des ongles artificiels, rapportée par Moolenaar et al (10) ou encore une épidémie due à la colonisation chronique de l'ongle du pouce d'une infirmière, décrite par McNeil et al (11).

| Auteurs | Année | Pays | % de patients colonisés par une souche préalablement isolée dans l'environnement |
|------------------|-------|-----------|----------------------------------------------------------------------------------|
| Ferroni et al. | 1998 | France | 21.4 |
| Berthelot et al. | 2001 | France | 25.0 |
| Trautmann et al. | 2005 | Allemagne | 14.2 |
| Reuter et al. | 2002 | Allemagne | 29.4 |
| Vallés et al. | 2004 | Espagne | 41.0 |
| Blanc et al. | 2004 | Suisse | 27.3 |
| Trautmann et al. | 2006 | Allemagne | 50.0 |
| Rogues et al. | 2007 | France | 11.4 |
| Cholley et al. | 2008 | France | 7.1 |

Tableau 2: Place des points d'eau comme source de colonisation et d'infection par *P.aeruginosa* (6)

D. Caractères bactériologiques

1. Caractéristiques morphologiques

P.aeruginosa se présente sous la forme de bacille à Gram négatif (figure 1), parfois incurvé et d'aspect très fin (1 à 3 µm de long et 0.5 à 1 µm de large). C'est un germe non sporulé, mais il peut être entouré d'une pseudo-capsule (ou « slime ») impliquée dans sa pathogénicité.

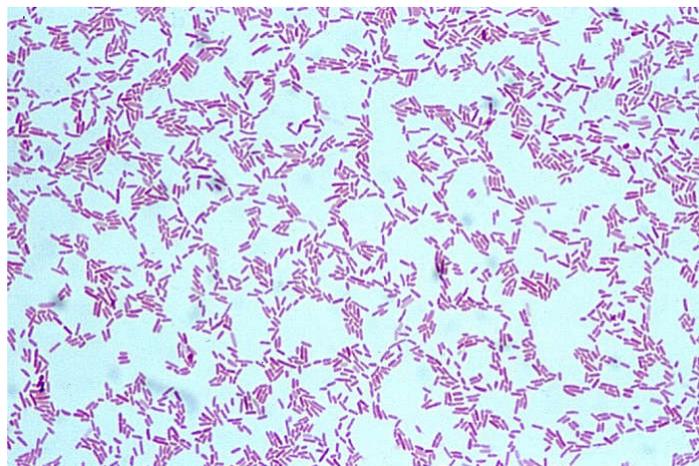


Figure 1: *Pseudomonas aeruginosa* : coloration de Gram (12)

L'observation d'une goutte d'échantillon clinique entre lame-lamelle met en évidence des bacilles très mobiles se déplaçant en ligne droite, grâce à un flagelle en position polaire (4).

2. Caractéristiques culturelles

Aérobie strict, il s'agit d'un germe non exigeant, de culture facile et rapide sur milieux usuels (gélose au sang, gélose BCP) ou sélectifs (milieu de Drigalski). Pour la recherche dans les milieux polymicrobiens ou les eaux, des milieux sélectifs à base de cétrimide (gélose contenant un dérivé d'ammonium quaternaire) additionnés ou non d'antibiotique (acide nalidixique) sont aussi disponibles.

La température optimale de croissance du bacille pyocyanique est située entre 30 et 37°C. C'est une bactérie qui est également capable de pousser jusqu'à une température de 41°C.

Les aspects des colonies sont particuliers à cette espèce. Trois types principaux peuvent être observés :

- Des colonies « la » (larges) : grandes colonies rugueuses de 2 à 3 mm de diamètre, avec une partie centrale bombée et un bord irrégulier, aussi appelées Fried Eggs (aspect en œufs sur le plat). Elles présentent des reflets métalliques, cet aspect irisé étant dû à une autolyse sous l'action d'enzymes protéolytiques bactériennes.
- Des colonies « sm » (small) : petites colonies lisses et mates, légèrement bombées, avec un contour circulaire régulier.
- Des colonies « M » (muqueuses) : colonies bombées, opaques, visqueuses voire coulantes. Ces colonies sont retrouvées dans les infections chroniques, urinaires ou pulmonaires (mucoviscidose). Cet aspect particulier est lié à la production d'un polysaccharide extracellulaire par la bactérie (polymère d'alginate).

P.aeruginosa peut produire des pigments qui diffusent dans le milieu de culture. La pyocyanine, pigment phénazinique bleu vert, soluble dans l'eau et le chloroforme, est spécifique de *P.aeruginosa*. La pyoverdine, pigment fluorescent jaune vert, soluble dans l'eau, permet de classer les espèces du genre *Pseudomonas* en deux groupes, selon qu'elles produisent ou non ce pigment : *Pseudomonas* du groupe fluorescent et *Pseudomonas* du groupe non-fluorescent. Les milieux de culture King A et King B sont utiles pour mettre en évidence la production respective de ces deux pigments.

Environ 5% des souches sont non pigmentées, le plus souvent on les retrouve chez des malades traités par antibiotiques. D'autres pigments peuvent être produits de façon transitoire : la pyorubrine ou aéruginosine A (pigment brun rouge) et la pyomélanine (pigment brun noir, isolé de lésions purulentes notamment).

Enfin, le bacille pyocyanique possède une odeur aromatique caractéristique de fleur de seringat en culture, due à la production d'ortho-amino-acéto-phénone (4).

3. Caractéristiques biochimiques et antigéniques

P.aeruginosa possède une oxydase. Il ne fermente pas les sucres, mais il peut oxyder certains avec acidification du milieu, et il est capable d'utiliser de nombreux substrats hydrocarbonés comme seule source de carbone et d'énergie. En anaérobiose, il utilise les nitrates comme accepteur final d'électron et « respire » ainsi les nitrates (nitrate réductase positive). Les autres caractères biochimiques sont les suivants : gélatinase positive, lactose négatif, arginine dihydrolase (ADH) positive, indole négatif (4).

Il est possible de sérotyper une souche de bacille pyocyanique par étude de l'antigène O lipopolysaccharidique (antigène somatique thermostable), grâce à une technique d'agglutination sur lame en présence d'antisérums. On connaît actuellement vingt variants de cet antigène O. La sérotypie présente cependant des limites. En effet, il existe des réactions croisées entre sérogroupes (souches polyagglutinables) et 10% des souches sont non agglutinables, c'est notamment le cas des souches muqueuses. D'autre part, on peut être confronté à des modifications de sérotype après traitement antibiotique (4).

Les données épidémiologiques actuelles indiquent que parmi les vingt sérotypes, les sérotypes O1, O6 et O11 sont responsables de 70% des infections du bacille pyocyanique (13). Certains sérotypes sont plus fréquemment impliqués dans des épidémies hospitalières et s'avèrent plus résistants aux antibiotiques (O11 et O12) (14).

Dans le rapport d'activité 2016 du CNR de la résistance aux antibiotiques, le sérotypage systématique des isolats de *P.aeruginosa* met en évidence une large prédominance de certains sérotypes parmi les souches résistantes : O11 (31.3%), O4 (17.7%), O6 (12.5%) et O12 (9.4%). Ces résultats sont liés à la présence en France de clones épidémiques multirésistants qui appartiennent aux génotypes ST235 (O11), ST175 (O4), ST233 (O6) et ST111 (O12). Ces clones sont aptes à collecter les gènes de résistance et s'adaptent ainsi à l'environnement hospitalier (15).

4. Caractéristiques génomiques

Le génome de la souche de référence PAO1 a été entièrement séquencé par Stover et son équipe en 2000. Il s'agit d'un génome de très grande taille, avec 6.3 millions de paires de bases, soit 5570 open reading frames (ORF ou gènes). A titre de comparaison, le génome d'*Escherichia coli* est composé de 4.6 millions de paires de bases.

L'analyse du génome fait apparaître l'importance des gènes de régulation, puisqu'ils représentent 8.4% des gènes identifiés (5.8% des gènes pour *E.coli*). De nombreux gènes interviennent dans le catabolisme, le transport et l'efflux des composants organiques. Quatre systèmes potentiels de chimotaxie sont aussi reconnus, l'un d'eux contribue à la formation de biofilms. 0.3% des gènes sont directement impliqués dans les mécanismes de résistance. De nombreux plasmides transférables entre souches par conjugaison ou par transduction ont été identifiés (3,16).

Ces nombreuses variations génétiques expliquent ainsi la fréquence des souches retrouvées multirésistantes aux antibiotiques. La grande taille et la complexité de son génome reflètent les capacités d'adaptation du bacille pyocyanique et sa survie dans divers environnements.

II. Pouvoir pathogène

A. Facteurs favorisant ou aggravant des infections à bacille pyocyanique

S'il est peu virulent chez l'individu en bonne santé, *P.aeruginosa* est particulièrement pathogène vis-à-vis des sujets aux défenses immunitaires altérées. Le bacille pyocyanique a toutes les caractéristiques d'un germe opportuniste. Parmi les facteurs favorisant ou aggravant des infections, on distingue les facteurs de risque liés au patient, ceux associés à son environnement et enfin le risque iatrogène (4,5).

1. Facteurs de risque liés au patient

P.aeruginosa s'installe de préférence chez les patients hospitalisés affaiblis ou porteurs d'une immunodéficience.

Les sujets ou situations particulièrement à risque sont les suivantes :

- les nourrissons et les personnes âgées (en raison de leur âge extrême : immaturité ou altération des mécanismes de défense face aux infections),
- les sujets porteurs d'affections graves ou chroniques (insuffisants respiratoires et mucoviscidose, insuffisants rénaux et dialysés),
- les maladies métaboliques (diabète),
- les patients transplantés, les pathologies hématologiques ou cancéreuses (traitement immunosuppresseur, corticothérapie, aplasie post-chimiothérapie),
- la présence de plaies cutanées chroniques (ulcères, brûlures, escarres),
- les malades infectés par le VIH,
- les malades de réanimation ou soins intensifs (utilisation d'antibiotiques à large spectre avec risque de sélection de bactéries multirésistantes ou BMR).

L'immunodépression est associée à un risque accru de bactériémies et de localisations viscérales multiples (pneumopathies, méningites).

2. Facteurs de risque liés à l'environnement

Ce risque est lié à la présence de la bactérie dans l'environnement hydrique proche du patient (au niveau des points d'eau, siphons des lavabos et douches) ou à la contamination du milieu extérieur (surface de travail, matériel et instruments). Cette contamination favorise les transmissions croisées et est associée le plus souvent à une défaillance dans les procédures d'hygiène.

3. Risque iatrogène

Le risque iatrogène est associé aux techniques médico-chirurgicales, avec la colonisation progressive des dispositifs médicaux utilisés lors des procédures invasives (sondage vésical, intubation trachéale, cathétérisme intravasculaire). Il peut aussi résulter de l'emploi de matériel contaminé (endoscopes, respirateurs, dialyseurs).

Enfin, comme cité dans le paragraphe précédent, le recours au traitement curatif ou préventif des patients à haut risque avec des antibiotiques à large spectre contribue à la sélection de souches de BMR, notamment le bacille pyocyanique.

B. Les facteurs de virulence du bacille pyocyanique

Le pouvoir pathogène de *P.aeruginosa* est multifactoriel et complexe (17). L'emploi de modèles expérimentaux animaux a permis un apport considérable dans la compréhension des mécanismes de la pathogénicité de cette bactérie (18).

Elle est liée à la production de divers facteurs de virulence à la fois membranaires et extracellulaires. Les facteurs membranaires ont un rôle dans la mobilité et l'adhésion aux endothéliums et épithéliums (flagelle, pili de type IV, LPS, alginate, protéine CupA). Les facteurs sécrétés interviennent dans les lésions cellulaires et tissulaires et favorisent la pénétration dans les tissus (protéase, élastase, phospholipase, exotoxine A, exotoxines du système de sécrétion de type III) (4,5).

On distingue les facteurs de virulence impliqués dans l'infection aiguë et ceux associés à l'infection chronique (19,20).

1. Infection aiguë

a) Facteurs de virulence impliqués dans l'adhérence et la motilité

▪ Le flagelle

Le flagelle, unique et polaire, permet à la fois la mobilité en milieu liquide et de façon indirecte participe à l'adhésion cellulaire, notamment au niveau des cellules épithéliales respiratoires. Pour faciliter son adhésion aux cellules, le bacille

pyocyanique peut se déplacer dans différents milieux grâce à plusieurs types de mouvements. Le flagelle est associé aux mobilités de type « swimming » (mouvement en milieu liquide) ou de type « swarming » (déplacement en milieu semi-solide, dans ce cas le bacille s'allonge par rapport à sa forme initiale et devient hyperflagellé) (9).

Il joue aussi un rôle dans la réponse inflammatoire par interaction avec les récepteurs Toll (TLR5 et TLR2), ce qui active la production d'interleukines (IL6 et IL8) et de mucines.

Enfin il participe à la phase précoce de développement du biofilm bactérien. Les flagelles sont nécessaires à la liaison des premières bactéries à la surface et ainsi à la formation de la première couche bactérienne.

Le flagelle étant un élément très immunogène, le bacille pyocyanique s'adapte en sélectionnant des mutants dépourvus de flagelles afin de contourner la réponse de l'hôte, notamment dans les infections chroniques (mucoviscidose) (21).

- **Le pilus de type IV**

Il s'agit de la principale adhésine du bacille pyocyanique, impliquée dans l'adhésion aux cellules épithéliales par interaction avec les glycolipides membranaires de surface asialoGM1. Les pili de type IV sont également associés à la mobilité de type « swarming » citée précédemment, et celle de type « twitching » (mouvement en milieu semi-solide qui résulte de l'extension et rétraction des pili permettant un mouvement latéral le long de l'épithélium). Ils sont aussi impliqués dans la constitution et le développement du biofilm puisqu'ils interviennent lors de la formation des micro-colonies.

Dans une étude réalisée in vivo chez des souris, il a été démontré que l'inoculation de souches piliées de bacille pyocyanique était associée à un nombre significativement plus élevé de cas de pneumonies et de bactériémies, ainsi qu'une mortalité supérieure par rapport à une inoculation de mutants isogéniques non piliés. Cette étude confirme le rôle prépondérant des pili dans l'adhésion aux cellules épithéliales respiratoires (22). Deux autres études menées chez l'animal ont confirmé le rôle des pili de type IV dans la pathogénicité de *P.aeruginosa*. Ainsi, les souches déficientes pour ce facteur apparaissaient moins virulentes (23,24).

- **Le facteur d'attachement de type fimbriae ou Cup**

Trois systèmes Cup (CupA, CupB et CupC) ont été identifiés chez *P.aeruginosa*. Ce sont des facteurs d'attachement essentiels dans l'adhérence aux surfaces et la formation du biofilm (25).

- **Le lipopolysaccharide (LPS)**

Le LPS est un constituant de la membrane externe des bactéries à Gram négatif. Il possède une activité endotoxique mais joue aussi un rôle protecteur vis-à-vis de la lyse provoquée par le sérum. Il participe à la réponse inflammatoire en se fixant au TLR4 cellulaire, ce qui active le NFκB et la synthèse de cytokines pro-inflammatoires.

Le LPS se compose de trois parties :

- un lipide A (endotoxine) impliqué dans les phénomènes de choc septique et pouvant conduire au décès par stimulation excessive du système immunitaire,
- un cœur oligosaccharidique,
- un antigène O (région polysaccharidique variable à la base du sérotype du bacille pyocyanique).

Selon que l'antigène O soit présent ou absent, on parle de phénotype lisse (smooth) ou rugueux (rough). Les souches rough seraient moins virulentes que les souches smooth. De plus, ces souches rugueuses sont lysées par le sérum humain, tandis que les souches avec un LPS lisse sont résistantes au sérum. Chez les patients atteints de mucoviscidose, les souches muqueuses ne produisent pas d'antigène O par détournement du GDP-mannose vers la synthèse d'alginate (4).

b) Facteurs impliqués dans la colonisation de l'hôte

- **L'exotoxine A**

Il s'agit de la protéine la plus toxique produite par la bactérie (DL50 de 0.05 à 0.20 µg chez la souris). Cette toxine létale a le même mécanisme d'action que la toxine diphtérique (activité ADP ribosylante) et induit un arrêt de la synthèse protéique, puis la mort de la cellule cible par nécrose. Elle est produite par plus de 90% des souches. Elle possède des propriétés immunosuppressives et est particulièrement toxiques pour les macrophages humains (altération des fonctions phagocytaires). Une étude chez la souris a montré qu'un mutant déficient en ExoA était vingt fois moins virulent qu'une souche sauvage (26).

- **Les protéases**

Différentes enzymes protéolytiques sont produites par *P.aeruginosa*. Elles présentent deux intérêts majeurs : la destruction des barrières à l'invasion et la mise à disposition de nutriments favorisant la croissance bactérienne.

- **L'élastase**

L'élastase LasB possède une activité protéolytique très importante puisqu'elle dégrade de nombreuses protéines : les immunoglobulines (IgA et IgG), le complément, la matrice de l'épithélium pulmonaire (élastine, collagène, fibrine) et les cytokines (INFγ et TNF). L'élastase est également pro-inflammatoire, elle augmente la sécrétion d'IL8 dans un modèle d'inflammation chez le rat (27). Enfin, Woods et al ont mis en évidence une moindre virulence des souches déficientes pour la production d'élastase dans un modèle expérimental de pneumopathie chronique chez le rat (28).

➤ La protéase alcaline

Cette protéase dégrade la fibrine, elle est associée aux infections cornéennes et aux pneumopathies aiguës (29).

➤ La protéase IV

Cette protéase a un rôle pathogène reconnu dans les kératites et les infections respiratoires, par dégradation des protéines de surfactant.

▪ Les hémolysines

Deux hémolysines sont produites par la bactérie :

- Une hémolysine thermostable ou glycolipide hémolytique (rhamnolipide) : composé cytotoxique qui possède trois mécanismes d'action (inhibition de la mobilité des cils vibratiles de la trachée, perturbation du transport ionique et augmentation de la libération de mucine) (4).
- Une phospholipase C ou hémolysine thermolabile : responsable de réaction inflammatoire localisée. Elle a pour cible le surfactant pulmonaire : l'hydrolyse des phospholipides de ce surfactant peut induire une atélectasie. Les lésions au niveau des cellules épithéliales entraînent un processus inflammatoire et stimulent la production d'IL8 avec accumulation de polynucléaires neutrophiles (PNN) (9).

▪ Les pigments

➤ Pyocyanine

La pyocyanine joue un rôle majeur dans la virulence du bacille pyocyanique. Elle possède des propriétés oxydoréductives, en effet elle oxyde le glutathion et inactive ainsi la catalase des cellules endothéliales et de l'épithélium respiratoire. Cela participe au stress oxydant et à la nécrose cellulaire. Dans la mucoviscidose, elle inactive le transport mitochondrial, ce qui détériore les canaux chlorure. Enfin, elle a des propriétés immunosuppressives, elle entraîne l'apoptose des PNN et augmente la production d'IL8 (20).

➤ Pyoverdine

La pyoverdine est un sidérophore qui joue un rôle régulateur dans la sécrétion d'autres facteurs de virulence (tels que l'exotoxine A, les protéases), ainsi que pour sa propre sécrétion.

▪ Le système de sécrétion de type III et ses toxines

Ce système de sécrétion est partagé par plusieurs espèces bactériennes (*Yersinia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Pseudomonas*). Il permet à la bactérie d'injecter directement ses toxines dans le cytoplasme des cellules cibles. Les exoenzymes S, T, U et Y sont sécrétées via ce système.

➤ L'exoenzyme S

C'est la cytotoxine la mieux décrite actuellement. Il s'agit d'une enzyme bifonctionnelle (activité GTPase et ADP ribosyltransférase). Le rôle pathogène d'ExoS est principalement lié à l'activité de l'ADP ribosyltransférase qui entraîne une perturbation de l'organisation normale du cytosquelette. Elle inhibe ainsi la phagocytose, en empêchant l'internalisation du bacille par les cellules épithéliales et les macrophages. Elle induit aussi l'apoptose de ces macrophages par interaction avec la voie des récepteurs de mort cellulaire. Enfin, elle joue un rôle dans l'inflammation pulmonaire par production de cytokines pro-inflammatoires et par prolifération des lymphocytes. ExoS et ExoU sont les plus toxiques, mais elles ont une présence mutuellement exclusive chez les différentes souches (30,31).

➤ L'exoenzyme T

L'exoenzyme T est également bifonctionnelle et partage 75% d'homologie avec l'exoenzyme S. Cependant, son activité ADP ribosyltransférase est bien moindre (0.2% par rapport à celle d'ExoS), elle est donc considérée comme une cytotoxine mineure.

➤ L'exoenzyme U

Elle est cent fois plus cytotoxique que l'exoenzyme S. Elle clive les acides gras membranaires et est associée à la destruction du tissu pulmonaire, avec pneumopathies sévères, voire sepsis. L'expression de l'ExoU accroît ainsi la virulence du bacille pyocyanique dans un modèle de pneumopathie aigüe chez la souris (32).

➤ L'exoenzyme Y

C'est une adénylate cyclase qui induit une accumulation d'AMPc au niveau intracellulaire, avec pour conséquence un changement de morphologie des cellules qui s'arrondissent. Cela entraîne la formation de trous intercellulaires et détériore l'endothélium pulmonaire.

▪ Les lectines

Parmi les facteurs de virulence sécrétés par le bacille pyocyanique, deux lectines solubles ont été découvertes récemment : PAII spécifique du galactose et PAIIL de forte affinité pour le fucose. Ces deux protéines sont présentes dans le cytoplasme de la bactérie et à la surface de la membrane externe. Ces lectines pourraient être impliquées dans la reconnaissance et l'adhésion bactérie-hôte, bactérie-bactérie et bactérie-biofilm (25). La lectine PAIIL inhibe le battement ciliaire des cellules pulmonaires in vitro (33) et Chemani a montré le rôle des deux lectines dans l'induction des lésions pulmonaires aigües dans un modèle expérimental murin in vivo (34).

Le tableau 3 récapitule les principaux facteurs de virulence du bacille pyocyanique, ainsi que leurs mécanismes d'action et l'effet pathogène qui en résulte.

| Facteurs de virulence | Mécanisme de virulence | Effet pathogène induit |
|--------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Lipopolysaccharide (LPS) | Stimulation de la production de cytokines | Choc |
| Pili | Adhésion aux cellules épithéliales respiratoires | Pathogénicité respiratoire |
| Flagelle | Adhésion aux mucines Mobilité : rôle dans l'internalisation | Diffusion bactérienne |
| Alginate | Provoque le phénotype muqueux Adhésion aux cellules trachéales Inhibition de la phagocytose, de l'action des antibiotiques et de la réponse immunitaire | Pathogénicité respiratoire Résistance aux défenses de l'hôte (phagocytose) et aux antibiotiques Responsable du caractère mucoïde des souches |
| Exotoxine A | Inhibition des synthèses protéiques des cellules cibles | Mort cellulaire : nécrose tissulaire Rôle important dans la virulence |
| Exoenzyme S | Effet cytotoxique Prolifération des LT | Nécrose tissulaire Entraîne des lésions du glycopeptide, de la vimentine et des IgG et IgA |
| Exoenzyme U | Rôle antiphagocytaire | Lésions des cellules épithéliales Responsable de bactériémie voire de choc septique |
| Rhamnolipide | Effet détergent | Hydrolyse du surfactant |
| Elastases (LasA+LasB) | Dégradation de l'élastine, de la fibrine, de l'interféron, du complément et du collagène | Destruction des tissus contenant de l'élastine Rôle important dans la virulence |
| Protéase alcaline | Protéolyse | Rôle dans les infections cornéennes |
| Pyocyanine + Pyoverdine | Action bactéricide sur les autres bactéries Augmentation de la libération d'élastase Inhibition des battements des cils Captage du fer Induisent la synthèse de radicaux libres | Favorise l'émergence du bacille pyocyanique Diminution de la clairance des bacilles Rôle dans la survenue de vascularite d'artères pulmonaires. |
| Lectines solubles | Inhibition des battements ciliaires des cellules pulmonaires | Pathogénicité respiratoire Rôle dans l'infection chronique |
| Phospholipase C | Effet cytolitique local | Lyse des cellules cibles (atélectasie pulmonaire) Rôle dans l'infection aiguë et chronique. |

Tableau 3: Les principaux facteurs de virulence de *P.aeruginosa* : mécanismes d'action et conséquences cliniques (19)

2. Infection chronique

Une fois la bactérie implantée, elle doit survivre aux agressions du système immunitaire de l'hôte ainsi qu'aux thérapeutiques antibiotiques mises en place. Pour cela, elle sécrète de nombreuses protéines extracellulaires, ce qui s'accompagne d'importants changements phénotypiques, comme la formation d'un biofilm protecteur.

a) Acquisition du fer

Le fer est un élément indispensable à la prolifération du bacille pyocyanique. Cependant la quantité de fer libre chez l'hôte est faible, la majeure partie se trouvant sous forme complexée. *P.aeruginosa* produit deux types de sidérophores : la pyochéline et la pyoverdine (de meilleure affinité).

La pyoverdine entre en compétition avec la transferrine de l'hôte, chélate le fer et le transporte à l'intérieur de la bactérie. L'action de la pyoverdine se fait conjointement à celle de l'élastase, puisque cette dernière hydrolyse la transferrine en petits peptides et le fer libéré devient alors directement assimilable par la bactérie.

Les sidérophores apparaissent essentiels pour la multiplication et la persistance de la bactérie. Une étude de Takase et al, réalisée chez la souris, a montré que les souches déficientes pour ces facteurs apparaissaient moins virulentes (35).

b) Les alginates et la formation du biofilm

▪ L'alginate

L'alginate ou exopolysaccharide est un polymère de charge négative, composé d'acide D-mannuronique et d'acide L-glucuronique. Il est produit par les souches muqueuses isolées dans les infections chroniques à bacille pyocyanique, comme dans la mucoviscidose.

Sa production est fonction des facteurs environnementaux tels que les ressources en nutriments et en oxygène, la déshydratation et l'hyperosmolarité. Cette substance participe à l'obstruction des voies aériennes, limite la pénétration des antibiotiques et protège le bacille vis-à-vis des défenses immunitaires de l'hôte.

Dans un modèle de pneumopathie de la souris nouveau-née, la létalité observée avec une souche PAO-pmm (souche mutante de PAO1 déficiente pour la synthèse d'alginate) est moindre qu'avec PAO1 (23).

▪ Le biofilm

Un biofilm correspond à un agglomérat bactérien attaché à une surface et enrobé dans une matrice d'exopolysaccharides. Il se constitue progressivement en couches bactériennes successives et constitue un facteur de résistance de la bactérie face à son environnement. Il gêne en effet la pénétration des antibiotiques et permet de résister à la phagocytose et aux anticorps.

Quatre étapes sont nécessaires à la formation de ce biofilm :

- 1/ Fixation réversible de la bactérie sur une surface
- 2/ Formation de micro-colonies, c'est-à-dire rassemblement de bactéries et fixation irréversible à la surface
- 3/ Structuration et consolidation du biofilm : formation d'une matrice d'exopolysaccharides
- 4/ Détachement de lambeaux de biofilm qui s'implantent sur des surfaces saines

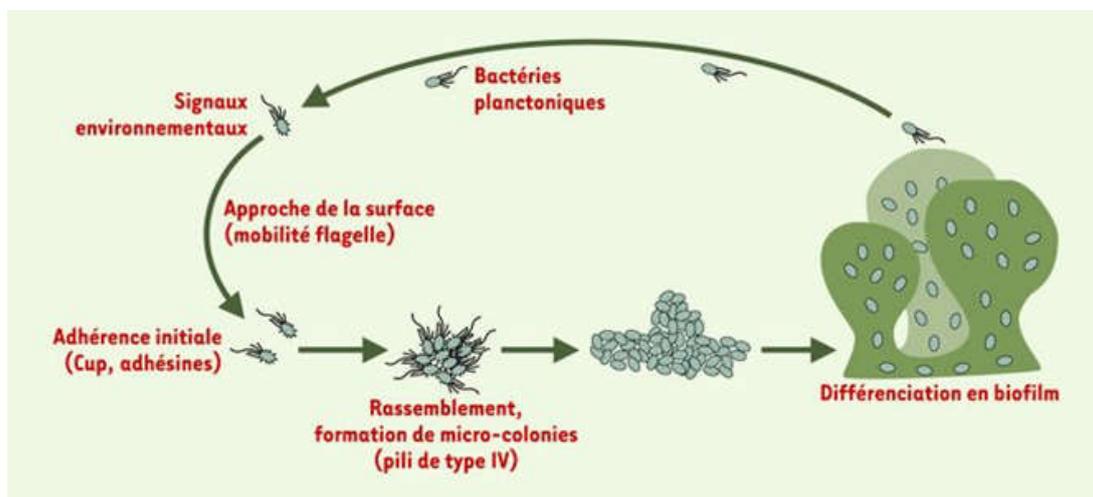


Figure 2: Les étapes menant à la formation du biofilm chez *P.aeruginosa* (36)

Au sein du biofilm, les bactéries ont une croissance ralentie qui leur permet de survivre aux environnements hostiles. Les bactéries en surface sont en aérobie, tandis que celles à la base du biofilm se développent en quasi anaérobie. Des canaux aqueux permettent d'acheminer les nutriments et l'oxygène et d'éliminer les déchets.

On retrouve souvent ce biofilm dans l'environnement (surface interne des canalisations d'eau ou d'air). Il peut aussi se développer à la surface des tubes endotrachéaux des patients ventilés et de ce fait être à l'origine de pneumopathies acquises sous ventilation. Enfin, il joue un rôle clé dans la persistance du bacille pyocyanique au niveau des voies respiratoires dans les pneumopathies chroniques, telles que la mucoviscidose (9).

3. Système de régulation

La production des facteurs de virulence est harmonisée et modulée par l'expression des gènes bactériens en adaptation aux conditions environnementales. Cette expression est contrôlée par plusieurs cascades complexes, dont un réseau de systèmes membranaires à deux composantes et le système du quorum sensing.

Le quorum sensing est un mécanisme de régulation de la pathogénicité dépendant de la densité bactérienne. Ce système de régulation repose sur la capacité des bactéries à communiquer entre elles, afin de coordonner leur comportement et fonctionner en tant qu'organisme multicellulaire.

Cette régulation fait intervenir deux éléments clés : une acylhomosérine lactone (AHL, médiateur chimique diffusible ou phéromone) et un activateur transcriptionnel. L'AHL s'accumule dans les bactéries pendant leur phase de croissance exponentielle. Au-delà d'une concentration seuil, elle se lie au régulateur transcriptionnel, ce qui active la transcription de gènes cibles, dits de virulence, et du gène *I* à l'origine de l'auto-induction du phénomène. Cette diffusion d'AHL dans le milieu extérieur assure la transmission de bactérie à bactérie et synchronise les réponses au sein de toute la population bactérienne (9).

Le rôle du quorum sensing a été clairement démontré au sein de différents modèles et en clinique humaine (37,38). L'utilisation de souches mutantes déficientes dans l'expression du quorum sensing dans plusieurs modèles animaux a mis en évidence leur moindre virulence (23,39).

C. Les infections à bacille pyocyanique

Du fait de son caractère ubiquitaire, les sites d'infections du bacille pyocyanique sont multiples (4,5). *P.aeruginosa* est impliqué dans près de 10% des infections nosocomiales en France et est également responsable d'infections communautaires.

1. Infections pulmonaires

Les pneumopathies à *P.aeruginosa* peuvent s'exprimer sous deux formes différentes : les pneumopathies aiguës typiquement retrouvées chez le patient intubé et ventilé en service de soins intensifs (pneumopathies nosocomiales) et les infections chroniques survenant chez les patients atteints de mucoviscidose ou de bronchectasie (dilatation des bronches) (9).

Les pneumopathies primitives sont ainsi exceptionnelles chez le sujet sain. L'origine hémotogène des pneumopathies est également rare, elle est principalement liée aux dispositifs intravasculaires ou aux neutropénies post chimiothérapie anticancéreuse. Dans ce cas, elles accompagnent la bactériémie et sont de mauvais pronostic (mortalité de 30 à 50%) (5).

▪ Pneumopathies nosocomiales : unités de soins intensifs/réanimation

Selon les études, le bacille pyocyanique est mis en cause dans 20 à 30% des pneumopathies acquises sous ventilation mécanique (PAVM). Il s'agit du germe le plus fréquemment isolé dans cette pathologie, devant *Staphylococcus aureus* (40). La première étape du processus infectieux dans les PAVM repose sur la colonisation de la sonde d'intubation trachéale. Cette colonisation peut rester asymptomatique ou évoluer vers une pneumonie.

Plusieurs facteurs de risque de pneumopathies à *P.aeruginosa* en réanimation ont été identifiés parmi lesquels un âge avancé, une bronchopneumopathie chronique sous-jacente, une durée de ventilation mécanique supérieure à 8 jours ou encore une antibiothérapie préalable (5,41,42).

▪ Cas particulier de la mucoviscidose

P.aeruginosa est un germe redoutable chez les patients atteints de mucoviscidose. La primo-colonisation apparaît précocement puisqu'un quart des nourrissons âgés de un an ont déjà rencontré ce germe. Un traitement énergique initial est recommandé pour retarder le portage chronique. En effet, la bactérie persiste sous forme de biofilm et synthétise de l'alginate, ce qui entrave la pénétration des antibiotiques et conduit à l'émergence de souches de plus en plus résistantes au fur et à mesure des cures itératives d'antibiothérapie (9). L'isolement de souches de morphologie différentes (apigmentées, mucoides ou naines) avec des temps de croissance différents (24 à 72h) est caractéristique de cette maladie (4).

2. Bactériémies

La plupart des infections à bacille pyocyanique peuvent se compliquer de bactériémies. Elles peuvent toucher les nouveau-nés et les adultes dans un contexte d'immunodépression (hémopathie, neutropénie, diabète, VIH, greffe, brûlure). Parmi les portes d'entrée, on retrouve les infections urinaires, les pneumonies, les complications post-chirurgicales, les surinfections cutanées et les infections de

dispositifs invasifs (cathéters, sondes) (5). Le pronostic de ces bactériémies est souvent sévère et varie selon la pathologie sous-jacente, l'âge et la rapidité de mise en place d'un traitement antibiotique adapté.

3. Infections urinaires

Ce sont en général des infections associées aux soins. Elles font suite à des procédures exploratrices ou invasives sur les voies urinaires (cystoscopie, sondage vésical, chirurgie rénale ou prostatique). Elles sont favorisées par la présence de matériel (sonde vésicale à demeure), une stase urinaire (obstacle mécanique, vessie neurologique) ou encore par une antibiothérapie préalable mal adaptée (5).

4. Infections ORL

Le bacille pyocyanique n'est pas un saprophyte courant du conduit auditif externe (seulement 1% des individus sains en est porteur), mais il colonise volontiers ce conduit en cas d'inflammation locale, d'un traumatisme ou s'il demeure humide (nageurs). C'est ainsi le premier agent pathogène responsable des otites externes (45 à 65% des cas).

Cette otite externe simple peut évoluer vers l'otite externe maligne chez le sujet diabétique âgé ou chez les sidéens. Il s'agit d'une extension aux cartilages, tissus mous et osseux de proximité (mastoiïdite, ostéomyélite temporale) (4).

5. Infections cutanées

Chez l'homme sain, *P.aeruginosa* peut être responsable d'onyxis et périonyxis (ongle vert) et surinfecter une lésion interdigitale mycosique ou un ulcère de jambe. Des cas de folliculites à pyocyanique ont aussi été observés chez les utilisateurs de spas ou bassins de balnéothérapie contaminés.

Chez les leucémiques, on peut retrouver des lésions cutanées caractéristiques (*ecthyma gangrenosum*) au décours de septicémies.

Enfin, *P.aeruginosa* est le premier responsable de bactériémies du grand brûlé. La colonisation des lésions est en effet rapide (20% des lésions à la trentième heure, 48% au deuxième jour et 60% au cinquième jour) et la mortalité associée élevée (50%) (4).

6. Infections oculaires

Le bacille pyocyanique est parfois présent à l'état de saprophyte dans les culs-de-sac conjonctivaux (0.4%), mais cette colonisation peut atteindre 10.3% chez les porteurs de lentilles de contact. L'usage de collyres souillés, de solutions de nettoyage de lentilles de contact contaminées ou de l'eau du robinet sont des vecteurs de contamination possibles du bacille pyocyanique au niveau oculaire.

P.aeruginosa peut être responsable d'infections oculaires superficielles (blépharo-conjonctivites) et il est impliqué dans près de 20% des surinfections bactériennes d'ulcérations cornéennes. Elles peuvent conduire à une panophtalmie (fonte purulente de l'œil) qui constitue une complication redoutable de la chirurgie ophtalmologique (4).

7. Infections méningées

Ce sont des infections rares (2% de l'ensemble des méningites), le plus souvent suite à une intervention neurochirurgicale ou suite à une inoculation avec un corps étranger après un traumatisme crânien. Il peut aussi s'agir d'une extension de l'otite maligne externe (4).

8. Endocardites

Les endocardites dues au bacille pyocyanique sont rares (1% des cas), excepté chez les toxicomanes (90% des endocardites tricuspidiennes). On peut également les retrouver après une chirurgie cardiovasculaire.

9. Infections ostéo-articulaires

P.aeruginosa est responsable de 10% des ostéites et 20% des arthrites septiques. Les ostéites sont le plus souvent secondaires à une fracture ouverte ou à une intervention chirurgicale (chirurgie orthopédique, ostéosynthèse). Elles peuvent aussi compliquer des surinfections d'ulcères cutanés chez le diabétique.

10. Infections digestives

Elles sont rares. Il existe des formes cliniques plus ou moins sévères. Classiquement on retrouve une entérite aigue qui fait suite à un usage prolongé d'antibiotiques à large spectre ou à l'absorption d'eaux contaminées.

III. Mécanismes de résistance aux antibiotiques

A. Résistance naturelle

A côté de son impressionnant arsenal de facteurs de virulence précédemment décrit, le bacille pyocyanique dispose de mécanismes lui permettant de résister naturellement à de nombreuses classes d'antibiotiques.

Cette résistance intrinsèque est liée à l'action combinée de divers mécanismes, potentialisés par la très faible perméabilité de sa membrane externe (dix à cent fois plus faible que chez *E.coli*). En réduisant la vitesse de pénétration intracellulaire des antibiotiques, la membrane externe favorise en effet l'action d'enzymes hydrolytiques ou modificatrices et des systèmes d'efflux (4,43).

P.aeruginosa produit naturellement une céphalosporinase chromosomique AmpC (bétalactamase à large spectre et inductible). Cette enzyme hydrolyse les aminopénicillines (amoxicilline, ampicilline), les céphalosporines de première et deuxième génération (céfalotine, céfoxitine, céfuroxime) et certaines céphalosporines de troisième génération (cefotaxime, ceftriaxone). Une autre bétalactamase naturelle OXA-50 a également été identifiée chez le bacille pyocyanique, mais du fait de sa faible activité et de son spectre restreint, son rôle dans la résistance naturelle aux bétalactamines reste marginal (44).

A la différence d'espèces proches comme *P.fluorescens* et *P.putida*, *P.aeruginosa* est naturellement résistant à la kanamycine, grâce à la production d'une phosphotransférase APH(3')-IIb. Cette caractéristique peut être utile dans l'identification des *Pseudomonas* fluorescents (43).

Enfin, le bacille pyocyanique exprime naturellement plusieurs systèmes d'efflux actifs. Les pompes MexA-MexB-OprM et MexX-MexY-OprM contribuent à la résistance naturelle à différentes classes d'antibiotiques (bétalactamines, aminosides, fluoroquinolones tétracyclines, sulfamides, macrolides, triméthoprime, chloramphénicol) (45,46).

La résistance naturelle de *P.aeruginosa* résulte ainsi de différents mécanismes, visant soit à inactiver les antibiotiques, soit à les empêcher d'atteindre leur cible intracellulaire. Dans le tableau 4, on retrouve la liste standard et complémentaire des molécules à tester par antibiogramme d'après les nouvelles recommandations du CASFM 2017 pour les *Pseudomonas sp* (47).

| Liste standard | Liste complémentaire |
|---------------------------------|----------------------|
| Ticarcilline | Nétilmicine |
| Ticarcilline-acide clavulanique | Lévofloxacine |
| Pipéracilline | Colistine |
| Pipéracilline-tazobactam | Fosfomycine |
| Ceftazidime | |
| Céfépime | |
| Ceftolozane-tazobactam | |
| Imipénème | |
| Méropénème | |
| Tobramycine | |
| Amikacine | |
| Ciprofloxacine | |
| Aztréonam | |
| Gentamicine | |

Tableau 4: Liste standard et complémentaire des molécules à tester par antibiogramme pour les *Pseudomonas sp* d'après le CASFM 2017 (47)

P.aeruginosa n'est sensible qu'à un nombre restreint de molécules antibiotiques. Ainsi les molécules habituellement actives sont représentées par certaines bêtalactamines (pipéracilline et ticarcilline, avec ou sans inhibiteur, ceftazidime, céfépime, aztréonam, imipénème, méropénème, doripénème), les fluoroquinolones (ciprofloxacine, lévofloxacine), les aminosides (à l'exception de la kanamycine), la fosfomycine et la colimycine. Ci-dessous, on retrouve l'antibiogramme de la souche sauvage de référence PAO1 (figure 3).

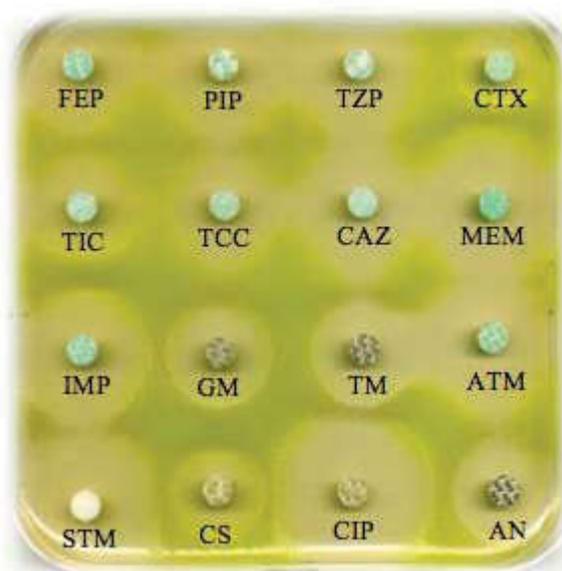


Figure 3: Antibiogramme de la souche sauvage de référence PAO1 (CNR Résistance aux antibiotiques)

B. Résistance acquise

1. Résistance aux bêtalactamines

a) Résistance enzymatique

Les premières bêtalactamases décrites chez *P.aeruginosa* avaient un spectre étroit, tandis que les plus récentes ont un spectre d'action étendu aux céphalosporines de troisième et quatrième génération, voire aux carbapénèmes.

Selon leur séquence en acides aminés, ces enzymes ont été réparties en quatre classes (A, B, C et D ou classification de Ambler). Les enzymes de classe A, C et D possèdent une sérine au niveau de leur site actif, tandis que celles de classe B nécessitent le zinc comme cofacteur, d'où leur nom de métallo-enzymes.

- **Surproduction de la céphalosporinase naturelle (AmpC)**

P.aeruginosa possède une céphalosporinase naturelle AmpC (classe C de la classification d'Amblar) qui intervient dans le phénotype de résistance naturelle, décrit dans la partie précédente. L'expression d'AmpC peut être induite par certaines bêta-lactamines, comme les carbapénèmes, la cefoxitine et par l'acide clavulanique. Cette AmpC est faiblement exprimée chez les bactéries sauvages.

La production de l'AmpC est naturellement réprimée par une protéine AmpR. Des mutations chromosomiques dans le système de régulation de la production de cette enzyme peuvent entraîner une dérégulation totale ou partielle de sa synthèse.

Selon le niveau de production de l'enzyme, il en résulte une hydrolyse plus ou moins importante de la plupart des bêta-lactamines, à l'exception des carbapénèmes. Sur un antibiogramme standard, on peut observer une différence des diamètres d'inhibition autour des disques de céfépime (S/I) et de ceftazidime (I/R) car le céfépime résiste en général mieux à l'inactivation que la ceftazidime. La céphalosporinase AmpC est inhibée par de fortes concentrations de cloxacilline. Ainsi, l'addition de cloxacilline à 1000 mg/L sur milieu gélosé de Muller Hinton permet de récupérer une certaine sensibilité aux bêta-lactamines et d'identifier ces mutants dérégulés (43,48).

Actuellement, la surproduction d'AmpC représente le mécanisme de résistance à la ceftazidime le plus fréquent chez les souches cliniques de bacille pyocyanique isolées en France et à l'étranger (49,50).

Le gène du bacille pyocyanique codant pour AmpC n'a pas encore été identifié sur des plasmides. Il n'est donc pas, à priori, transmis à d'autres espèces, comme c'est le cas d'AmpC plasmidiques d'entérobactéries (48).

Récemment, des variants ESAC (Extended Spectrum AmpC) ont été décrits. Ils se caractérisent par une résistance de haut niveau à la ceftazidime et au ceftolozane, pouvant s'étendre au céfépime et à la ticarcilline, mais qui ne touche pas ou peu la pipéracilline. L'impact sur la résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) varie selon la localisation des mutations dans la structure de la bêta-lactamase. Certaines mutations augmentent l'hydrolyse du ceftolozane même quand il est associé au tazobactam, tandis que d'autres diminuent le pouvoir inhibiteur de l'avibactam (51–54).

- **Bêta-lactamases à spectre étroit**

Le bacille pyocyanique peut acquérir différentes bêta-lactamases transférables (portées par des plasmides). Trois types d'enzymes sont impliqués : des carbénicillinases (groupe CARB ou PSE), des oxacillinases (groupe OXA) et des pénicillinases du groupe TEM. On les retrouve dans la classe A et la classe D de la classification d'Amblar. Ces pénicillinases à spectre restreint confèrent une résistance à la ticarcilline et à la pipéracilline, mais pas à la ceftazidime ni à

l'imipénème. Les inhibiteurs de bêta-lactamases ont une efficacité médiocre vis-à-vis des enzymes CARB et OXA. Seule la production de pénicillinases de type TEM1/TEM2 est bien inhibée par ces inhibiteurs (4,9,44).

- **Bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE)**

Ces bêta-lactamases appartiennent aux classes A et D de la classification d'Ambler et ont leur spectre d'action étendu aux céphalosporines de troisième et quatrième génération.

- **Bêta-lactamases de classe A**

La première BLSE identifiée chez *P.aeruginosa* a été PER-1 (*Pseudomonas* Extended Resistance), isolée en 1991 chez un patient turc hospitalisé à Paris. Cette BLSE est l'une des plus souvent retrouvée chez les bacilles pyocyaniques résistants à la ceftazidime. Elle possède une forte activité hydrolytique vis-à-vis de la ceftazidime, l'aztréonam et le céfépime, mais elle touche peu la pipéracilline. Elle est inhibée par l'acide clavulanique et le tazobactam.

Sept autres familles de BLSE de classe A ont été décrites chez *P.aeruginosa* : TEM, SHV et CTX-M (comme chez les entérobactéries), VEB (*Vietnamese Extended spectrum Betalactamase*), GES (*Guyana Extended spectrum Betalactamase*), BEL (*Belgium*) et PME (*Pseudomonas ESBL*) (48).

Actuellement les enzymes de type PER et GES sont les plus fréquentes en France, des souches productrices de ces enzymes ont été impliquées dans des épidémies hospitalières (50,55). Les enzymes de type GES hydrolysent la ceftazidime, le céfépime et la pipéracilline, mais sont peu inhibées par l'acide clavulanique et le tazobactam.

- **Bêta-lactamases de classe D**

A la différence des BLSE de classe A, les BLSE de classe D identifiées chez *P.aeruginosa* ne sont que très rarement retrouvées chez d'autres espèces bactériennes.

Ce sont des « oxacillinases à spectre étendu » (ES-OXA). Elles dérivent pour la plupart d'oxacillinases à spectre restreint par des mutations ponctuelles, ce qui les rend plus actives sur les C3G. D'une ES-OXA à une autre, l'activité est variable sur les uréidopénicillines, les carboxypénicillines, l'aztréonam et les C3G. Elles sont peu inhibées par l'acide clavulanique (excepté pour OXA 18, 45 et 28). L'OXA 19 est la plus répandue en France (48).

- **Carbapénémases**

Les carbapénémases sont des bêta-lactamases dont le spectre s'étend aux carbapénèmes. La plupart des bêta-lactamases produites par le bacille pyocyanique appartiennent aux métallobêta-lactamases (classe B de Ambler). Elles hydrolysent à divers degrés les bêta-lactamines, à l'exception du monobactam (aztréonam).

Sept types de MBL ont été décrites chez *P.aeruginosa* : IMP (*IMiPénémases*), VIM (*Verona Imipenemase*), SPM (*Sao Paolo Métalloβlactamase*), GIM (*German imipenemase*), AIM (*Australia imipenemase*) et plus récemment NDM-1 (*New Delhi Métalloβlactamase*) et FIM (*Florence imipenemase*). Les groupes VIM et IMP sont les plus fréquents en France et dans le monde.

VIM 2, la plus courante des MBL, hydrolyse fortement l'imipénème, le méropénème, la ceftazidime, le céfépime et la ticarcilline. Elle a une activité plus faible sur la pipéracilline et elle est inhibée in vitro par l'EDTA. En routine le E-test MBL, avec d'un côté un gradient d'imipénème et de l'autre côté un gradient imipénème associé à de l'EDTA, est utilisé pour détecter rapidement ces métalloenzymes.

En dehors des MBL, certains variants de BLSE de type GES possèdent une activité carbapénémase (GES 2, 5, 6, 18 et 20). Ces carbapénémases sont plus difficiles à détecter que les MBL. Les carbapénémases de classe A telles que les KPC tendent à diffuser au sein des entérobactéries, mais elles restent rares chez le bacille pyocyanique. Enfin, si elles sont très représentées chez *Acinetobacter sp.*, les carbapénémases de type OXA (classe D de Ambler) sont exceptionnelles chez *P.aeruginosa* (43,48).

| Classification de Ambler | Type d'enzyme | Variant | |
|----------------------------------------------|-------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|
| <i>β-lactamases de spectre étendu (BLSE)</i> | | | |
| A | TEM ^b | -4, -21, -24, -42 | |
| | SHV | -2a, -5, -12 | |
| | CTX-M | -1, -2, -3, -14, -15, -43 | |
| | PER | -1, -2 | |
| | GES | -1, -7, -8, -9, -11, -13, -19 | |
| | VEB | -1, -2, -3 | |
| | BEL | -1, -2, -3 | |
| | PME | -1 | |
| | D | Dérivés de OXA-1 | -31 |
| | (ES-OXA) | Dérivés de OXA-2 | -15, -18, -20, -32, -34, -36, -141, -161 |
| | Dérivés de OXA-10 | -11, -13, -14, -16, -17, -19, -28, -129, -142, -145, -147, -183 | |
| | Autres | -45, -56, -128 | |
| <i>Carbapénémases</i> | | | |
| A | GES | -2, -5, -6, -18, -20 | |
| B | IMP | -1, -2, -4, -5, -6, -7, -9, -10, -11, -13, -14, -15, -16, -18, -19, -20, -21, -22, -25, -26, -29, -30, -33, -35, -37, -40, -41, -43, -44, -45, -48 | |
| | VIM | -1, -2, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -9, -10, -11, -13, -14, -15, -16, -17, -18, -20, -28, -30, -31, -33, -35, -40, -41, -42 | |
| | NDM | -1 | |
| | SPM | -1 | |
| | AIM | -1 | |
| | GIM | -1 | |
| | FIM | -1 | |
| | D (CHDL) | OXA | -24/40, -198 |

^a Référence de la première description en France.
^b En gras figure les enzymes et les variants déjà détectés en France.

Tableau 5 : Principales BLSE et carbapénémases identifiées chez *P.aeruginosa* (48)

En 2013, le réseau REA-RAISIN a montré que près de 25% des souches de bacille pyocyaniques isolées en service de réanimation étaient résistantes à l'imipénème, principalement par perte de la porine OprD. La même année, Fournier et al ont rapporté que 6.4% des souches I ou R à l'imipénème isolées en service de réanimation produisaient une carbapénémase. Cela correspond à une prévalence

dix fois supérieure à celle des souches carbapénémases positives chez les entérobactéries (48).

b) Résistance non enzymatique

▪ **Altération de la porine OprD**

Les porines sont des canaux protéiques transmembranaires permettant aux bêtalactamines de franchir la membrane externe bactérienne. Les bêtalactamines empruntent la porine majoritaire OprF, excepté les carbapénèmes qui utilisent une porine spécifique OprD.

Les mutations avec altérations quantitatives ou qualitatives de cette porine constituent un mécanisme de résistance très fréquent aux carbapénèmes. La résistance touche alors tous les carbapénèmes, avec des CMI (concentrations minimales inhibitrices) multipliées d'un facteur 4 à 32, sans affecter la CMI des autres bêtalactamines.

A la différence de l'imipénème, le doripénème et le méropénème sont moins touchés par ce mécanisme d'imperméabilité du fait de leur meilleure activité intrinsèque sur le bacille pyocyanique. Il en résulte que des mutants catégorisés I ou R à l'imipénème peuvent rester sensibles aux deux autres molécules (43,48).

▪ **Surexpression de systèmes d'efflux**

En plus de leur rôle dans la résistance naturelle, les pompes d'efflux contribuent, quand elles sont hyperproduites, à augmenter la résistance du bacille pyocyanique aux antibiotiques. Chez *P.aeruginosa*, seul MexAB-OprM est exprimé de façon constitutive, les autres systèmes sont réprimés dans les souches sauvages.

Les systèmes d'efflux peuvent toucher des antibiotiques de différentes classes. Ils permettent de capter l'antibiotique dans l'espace périplasmique, puis de l'expulser hors de la bactérie en utilisant l'énergie du gradient électrochimique de la membrane cytoplasmique (figure 4).

Chaque système d'efflux est composé d'un ensemble de trois protéines :

- une protéine de membrane cytoplasmique de la famille RND (Resistance Nodulation Division : MexB, MexD, MexF, MexY) jouant le rôle de pompe.
- une protéine périplasmique MFP (Membrane Fusion Protein family : MexA, MexC, MexE, MexX) qui assure l'association entre les deux autres protéines.
- une protéine pore de membrane externe OMF (Outer Membrane Factor Family : OprM, OprJ, OprN, OprM) (56).

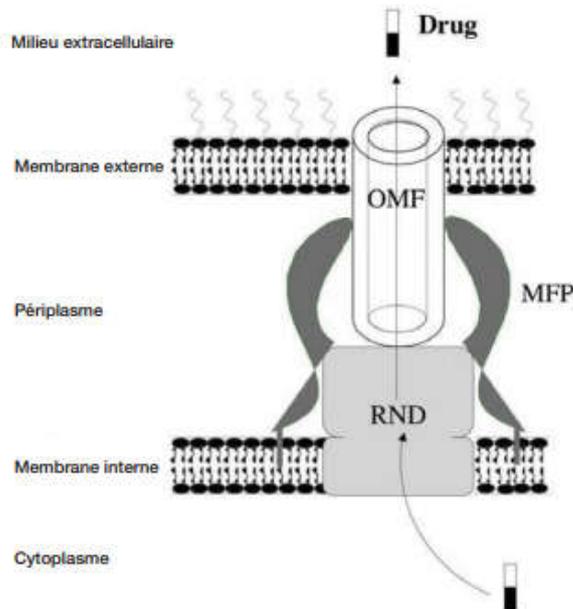


Figure 4: Représentation schématique d'une pompe d'efflux (56)

Deux systèmes majeurs (MexAB-OprM et MexXY-OprM) peuvent entraîner une résistance significative aux bêta-lactamines ainsi qu'à d'autres classes d'antibiotiques (aminosides, fluoroquinolones, tétracyclines, sulfamides, triméthoprime, chloramphénicol). Des mutations spontanées au niveau des gènes régulateurs sont à l'origine de la surexpression de l'une ou l'autre de ces pompes d'efflux.

Les mutants surproduisant MexAB-OprM sont quatre à huit fois plus résistants aux bêta-lactamines que les souches sauvages, particulièrement vis-à-vis de la ticarcilline, cefotaxime, aztréonam, méropénème et doripénème (mais pas de l'imipénème). On observe aussi une réduction des diamètres d'inhibition autour des disques de fluoroquinolones. La surexpression du système MexXY-OprM conduit de son côté à une augmentation de deux à huit fois des CMI des céphalosporines de type zwitterion (céfépime et ceftiofame), des aminosides et des fluoroquinolones.

Les mutants surproduisant les pompes MexCD-OprJ et MexEF-OprN sont plus rares et seraient moins virulents que les souches sauvages. Les mutants qui surexpriment MexCD-OprJ ont une résistance accrue aux céphalosporines de type zwitterion et aux fluoroquinolones, mais une hypersensibilité à l'aztréonam, la ticarcilline et l'imipénème. Ceux qui surproduisent MexEF-OprN ont une résistance modérée aux fluoroquinolones et à l'imipénème.

Les niveaux de résistance aux bêta-lactamines qui résultent de la surexpression de ces systèmes d'efflux sont en général modérés et bien plus faibles que ceux liés à la présence de bêta-lactamases. Cependant, la surexpression de ces systèmes d'efflux est souvent associée à d'autres mécanismes de résistance, ce qui contribue à l'émergence de souches hautement résistantes vis-à-vis de nombreux antibiotiques (43,48).

c) Acquisition d'ADN étranger

L'acquisition de matériel étranger transmis par des plasmides, des transposons et/ou des intégrons à partir d'autres bacilles à Gram négatif conduit à l'apparition de nouvelles résistances chez *P.aeruginosa*. Seul un petit nombre de plasmides de résistance portés par les entérobactéries peut se répliquer chez le bacille pyocyanique. Ces différents supports génétiques véhiculent ainsi des gènes codant pour des pénicillinases, des BLSE et/ou des carbapénémases (48).

2. Résistance aux aminosides

L'acquisition de gènes de résistance aux aminosides portés par des plasmides est observée chez de nombreuses bactéries, dont *P.aeruginosa*.

Le mécanisme de résistance le plus fréquent est lié à la production d'enzymes modifiant les fonctions –NH₂ ou –OH des aminosides, empêchant ainsi la fixation à leur cible ribosomale. Il existe trois classes d'enzymes modificatrices: les aminoside-N-aminoacétyltransferase (AAC), les aminoside-O-nucléotidyltransferase (ANT) et les aminoside-O-phosphotransferase (APH). Le support génétique de ces enzymes est souvent situé au sein d'intégrons qui peuvent comporter aussi un ou des gènes codant pour des bêtalactamases.

Parmi les isolats cliniques de *P.aeruginosa*, on retrouve le plus souvent les enzymes ANT(2'')-I, AAC(3)-I et AAC(6')-I (57). Ces enzymes confèrent une résistance élevée à la gentamicine et tobramycine pour ANT(2'')-I, à la gentamicine pour AAC(3)-I et à la tobramycine et amikacine pour AAC(6')-I. La production simultanée de AAC(6')-I et de ANT(2'')-I entraîne une résistance à tous les aminosides (gentamicine, tobramycine, nétilmicine, amikacine).

Ces dernières années, un nouveau mécanisme de résistance aux aminosides a été mis en évidence chez les bacilles à Gram négatif. Il est lié à la modification de la cible ribosomale sur laquelle se fixe l'aminoside, l'ARN 16S. Des méthylases RmtA et RmtD (Resistance methylase transferase) ont ainsi été décrites dans des isolats cliniques de bacille pyocyanique au Japon en 2003, puis au Brésil en 2007 (58,59). Cette méthylation de l'ARN 16S est associée à des résistances à la gentamicine, la tobramycine et l'amikacine. Encore peu répandues chez le bacille pyocyanique, ces enzymes sont de plus en plus décrites chez les entérobactéries (*Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii* et *Acinetobacter sp.*) dans plusieurs pays dont la France et doivent donc inciter à la vigilance.

Enfin, le mécanisme d'efflux actif MexX-MexY-OprM est la principale cause de résistance non enzymatique aux aminosides. Ce mécanisme est aussi très fréquent en France, notamment dans les isolats provenant de malades atteints de mucoviscidose (43).

3. Résistance aux fluoroquinolones

Les fluoroquinolones ont pour cible les enzymes de réplication de l'ADN bactérien (l'ADN gyrase et la topoisomérase IV). Les deux molécules qui possèdent la meilleure activité intrinsèque sur *P.aeruginosa* sont la ciprofloxacine et dans une moindre mesure la lévofloxacine. Cependant, elles ne doivent pas être utilisées en monothérapie dans les infections à bacille pyocyanique du fait de l'émergence fréquente de mutants de cibles (*gyrA* et *parC*).

Des mutations au niveau de la protéine *gyrA* (sous-unité de l'ADN gyrase) ou au niveau de la sous-unité *parC* de la topoisomérase conduisent à une baisse d'affinité pour les fluoroquinolones. En effet, ces mutations introduisent des substitutions d'acides aminés dans les régions QRDR où se fixent les antibiotiques (Quinolone Resistance Determining Regions).

Les altérations de la sous-unité *gyrA* sont fréquentes et augmentent significativement la CMI de toutes les fluoroquinolones (60,61). Les altérations de la sous-unité *parC* interviennent chez des mutants de type *gyrA* et amplifient la résistance à des niveaux très élevés (CMI ciprofloxacine ≥ 32 mg/L) (43).

La surproduction des pompes d'efflux (*MexAB-OprM*, *MexCD-OprJ* et *MexEF-OprN*) participe également à une résistance modérée aux fluoroquinolones, ainsi qu'à d'autres classes d'antibiotiques.

4. Résistance à la colistine

La colistine appartient à la famille des antibiotiques polypeptidiques, les polymyxines. Ces antibiotiques ont une activité bactéricide et leur spectre d'action comprend la plupart des bacilles à Gram négatif dont le bacille pyocyanique. Leur mécanisme d'action consiste à désorganiser la membrane externe bactérienne, puis la membrane cytoplasmique.

Le bacille pyocyanique a la capacité de devenir imperméable aux polymyxines en modifiant la composition de sa membrane externe, soit par mutations, soit par activation de systèmes membranaires complexes (systèmes de régulation à deux composants, tels que *ParR* et *ParS*). Il en résulte une résistance de bas niveau à la colistine, avec une CMI multipliée par 2 à 8. L'identification des mutants résistants nécessite la détermination de la CMI de la colistine par une méthode de dilution. En effet, la mauvaise diffusion de cet antibiotique en milieu gélosé rend les résultats obtenus par la méthode des disques ininterprétables (43).

Les mutations sur le système à deux composants n'induisent pas seulement des modifications au niveau du LPS, mais peuvent aussi interférer sur les systèmes d'efflux (*MexXYOprM*) ou sur la pompe *OprD*, et ainsi entraîner une résistance

modérée à plusieurs classes d'antibiotiques (polymyxines, aminosides, fluoroquinolones et bêtalactamines) (62).

Récemment un nouveau mécanisme de résistance à la colistine a été mis en évidence chez les entérobactéries : une résistance d'origine plasmidique associée au gène *mcr-1*. La recherche de cette résistance plasmidique est devenue une nécessité chez les souches multirésistantes de *P.aeruginosa* depuis la découverte du gène en 2015 et la démonstration possible de son transfert des entérobactéries aux bacilles à Gram négatif non fermentants (15).

Les taux de résistance à la colistine retrouvés par plusieurs études récentes restent faibles : 1.1% entre 2009-2012 aux USA, 1.06% en 2007-2008 au Canada, 1.0% entre 2009-2012 en Europe et 0.5% en 2011 en Amérique Latine (62). Cependant, une étude de 2013 en Chine a retrouvé une résistance à la polymyxine B chez 22.2% de bacilles pyocyaniques catégorisés XDR (extensively drug-resistant) et impliqués dans des bactériémies (63).

IV. Epidémiologie des infections à bacille pyocyanique

Depuis 1990, cinq enquêtes nationales de prévalence ont permis d'obtenir des estimations régulières de la fréquence des infections nosocomiales dans les établissements de santé français.

L'objectif de ces enquêtes est de mesurer la prévalence des infections nosocomiales un jour donné et de décrire les infections en fonction du type d'établissement, du service, du site infectieux et du micro-organisme impliqué. Plus de 1900 établissements de santé ont ainsi participé à l'étude en mai-juin 2012, soit une cohorte dépassant les 300 000 patients (1).

A. Place du bacille pyocyanique au sein des microorganismes isolés

Dans l'enquête nationale de prévalence de 2012, *P.aeruginosa* figurait à la 3^{ème} place des agents responsables d'infections nosocomiales (8.4% des cas) derrière *E.coli* (26%) et *S.aureus* (15.9%).

B. Place du bacille pyocyanique selon le site infectieux

Sur l'ensemble des infections documentées au plan microbiologique, *P.aeruginosa* était le 1^{er} micro-organisme isolé dans les pneumonies (18.1%, devant *S.aureus* avec 14.7%) ainsi que pour les infections de la peau et des tissus mous (44.1%, devant *S.aureus* avec 11.8%). Il était le 2^{ème} agent retrouvé dans les infections

urinaires (6.9%, derrière *E.coli* avec 49.8%) et le 4^{ème} agent des infections du site opératoire (6.9%, derrière *S.aureus* avec 29.2%, *E.coli* avec 13.5% et *S.epidermidis* avec 7.5%).

En étudiant plus précisément l'ensemble des prélèvements documentés à *P.aeruginosa*, les infections urinaires (31.1%), les pneumonies (21.7%) et les infections du site opératoire (14.2%) représentaient 67% des sites d'isolement du bacille pyocyanique.

| Site infectieux | <i>P. aeruginosa</i> | |
|------------------------------|----------------------|--------------|
| | N | % |
| Infection urinaire | 328 | 31,1 |
| Pneumonie | 229 | 21,7 |
| Infection du site opératoire | 149 | 14,2 |
| Bactériémie | 101 | 9,6 |
| Peau et tissus mous | 83 | 7,9 |
| Autre | 163 | 15,5 |
| Total | 1 053 | 100,0 |

Tableau 6: Distribution des sites infectieux pour *P.aeruginosa* (ENP juin 2012)

Concernant les bactériémies nosocomiales, *P.aeruginosa* était le 4ème agent responsable (5.8% des cas) derrière *S.aureus* (18.4%), *E.coli* (15.4%) et *S.epidermidis* (14.4%).

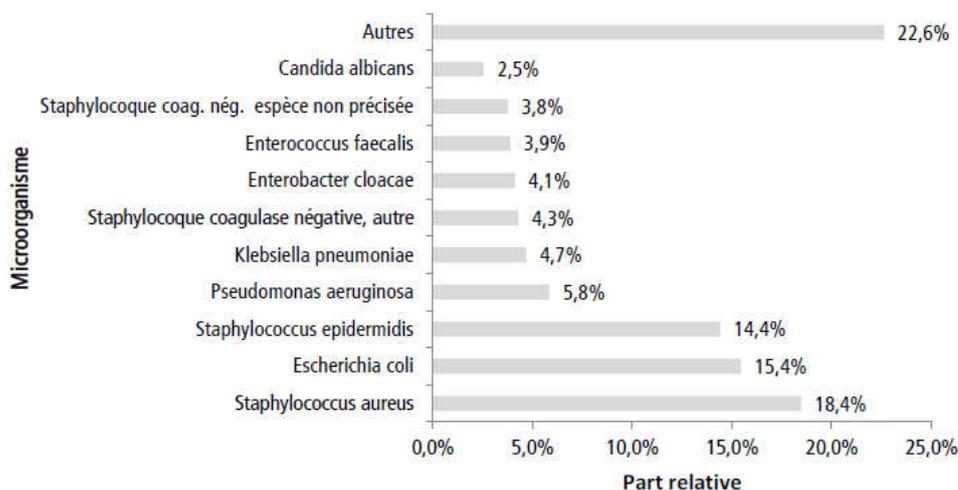


Figure 5: Distribution des microorganismes isolés des bactériémies nosocomiales (ENP juin 2012)

C. Place du bacille pyocyanique selon le type de séjour

Quelque soit le type de séjour, *E.coli*, *S.aureus* puis *P.aeruginosa* représentaient les micro-organismes les plus souvent isolés des infections nosocomiales, à l'exception de l'obstétrique où *E.faecalis* figurait au 2nd rang.

| Micro-organisme | Type séjour | | | | | | | | |
|-----------------------|-------------|--------|--------------|---------------|-----------------|-----------------|---------|---------|-----------------|
| | (N) | CS (%) | Médecine (%) | Chirurgie (%) | Obstétrique (%) | Réanimation (%) | SSR (%) | SLD (%) | Psychiatrie (%) |
| <i>E. coli</i> | 3 265 | 21,8 | 24,8 | 22,3 | 35,7 | 13,1 | 33,6 | 33,0 | 42,9 |
| <i>S. aureus</i> | 1 997 | 15,5 | 14,5 | 19,1 | 9,2 | 12,3 | 15,7 | 22,1 | 14,8 |
| <i>P. aeruginosa</i> | 1 053 | 9,0 | 8,4 | 7,1 | 1,0 | 14,0 | 7,0 | 8,8 | 3,8 |
| <i>K. pneumoniae</i> | 599 | 4,6 | 4,7 | 3,8 | 5,1 | 6,0 | 5,2 | 4,4 | 3,3 |
| <i>E. faecalis</i> | 577 | 4,9 | 4,6 | 5,8 | 11,2 | 3,9 | 4,2 | 3,0 | 2,2 |
| <i>S. epidermidis</i> | 552 | 5,6 | 6,0 | 5,7 | 0,0 | 4,8 | 2,5 | 0,4 | 1,1 |
| <i>E. cloacae</i> | 458 | 4,3 | 3,3 | 5,1 | 3,1 | 5,4 | 2,6 | 1,4 | 0,5 |
| <i>P. mirabilis</i> | 403 | 2,5 | 2,6 | 2,9 | 3,1 | 1,6 | 4,2 | 7,2 | 2,2 |
| <i>C. difficile</i> | 337 | 2,4 | 3,9 | 0,6 | 1,0 | 1,9 | 3,5 | 2,3 | 1,1 |
| <i>C. albicans</i> | 285 | 2,9 | 2,6 | 2,3 | 0,0 | 4,5 | 1,3 | 0,2 | 1,1 |
| Autres | 3 055 | 26,5 | 24,6 | 25,2 | 30,6 | 32,5 | 20,2 | 17,2 | 26,9 |
| Total | 12 581 | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 100,0 |

CS : court séjour

Tableau 7: Part relative des microorganismes les plus fréquents par type de séjour (ENP juin 2012)

Pour la réanimation, on retrouvait le bacille pyocyanique au 1^{er} rang, avec 14% des infections nosocomiales au sein de ce service. Cette valeur se rapproche de celle retrouvée dans les résultats de l'enquête de surveillance des infections nosocomiales en réanimation adulte (réseau REA-RAISIN 2015) puisque tous sites et épisodes confondus, *P.aeruginosa* était le germe le plus fréquemment rencontré parmi les micro-organismes isolés (15.1% des cas, devant *S.aureus* avec 10.6%, *S.epidermidis* avec 9.6% et *E.coli* avec 8.8% des cas) (64).

V. Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques

A. Données mondiales

L'étude SENTRY menée entre 1997 et 2007 a permis d'étudier la sensibilité de plus de 25 000 souches de *Pseudomonas aeruginosa* à travers le monde. Cette étude incluait l'Asie, l'Europe, l'Amérique Latine et l'Amérique du Nord. Les souches provenaient de prélèvements urinaires, cutanés, respiratoires et d'hémocultures.

Dans le tableau 8, on retrouve les taux moyens de sensibilité par molécule antibiotique testée et par région. Les valeurs surlignées indiquent le taux de sensibilité le plus élevé retrouvé dans chaque région étudiée (65).

| Antibiotique testé | % de souches sensibles par région (nombre de souches testées) | | | |
|------------------------------|---------------------------------------------------------------|-------------------------|------------------------|-------------|
| | Europe (7695) | Amérique du Nord (9047) | Amérique Latine (4277) | Asie (4441) |
| Piperacilline-tazobactam | 83.0 | 88.7 | 74.8 | 82.9 |
| Piperacilline | 78.4 | 86.1 | 67.7 | 79.3 |
| Ticarcilline-ac clavulanique | 71.6 | 77.2 | 56.4 | 67.6 |
| Ticarcilline | 70.0 | 78.7 | 55.4 | 73.6 |
| Cefepime | 77.1 | 84.8 | 64.6 | 77.0 |
| Ceftazidime | 75.9 | 82.4 | 62.8 | 74.7 |
| Imipénème | 78.0 | 85.9 | 68.7 | 80.4 |
| Meropénème | 81.5 | 89.4 | 71.6 | 83.5 |
| Ciprofloxacine | 70.7 | 76.1 | 58.6 | 75.8 |
| Tobramycine | 77.0 | 92.0 | 63.8 | 82.2 |

Tableau 8: Proportion des souches de *P.aeruginosa* sensibles vis-à-vis de 10 molécules antibiotiques (SENTRY programme 1997-2007) (65)

Les taux de sensibilité les plus élevés sont retrouvés en Amérique du Nord et les plus faibles en Amérique Latine. Quelle que soit la région considérée, la piperacilline-tazobactam est la pénicilline la plus active et on retrouve une meilleure activité du céfépime concernant la classe des céphalosporines. De la même façon, on note une supériorité d'action du méropénème pour la classe des carbapénèmes.

Une autre étude, The Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial menée entre 2004 et 2009, concernait uniquement des souches collectées en unités de soins intensifs dans six régions du monde (Amérique du Nord, Europe, Asie, Amérique Latine, Moyen-Orient et Afrique). Plus de 4700 souches de *P.aeruginosa* ont ainsi été collectées (tableau 9). Les sites de prélèvements étaient en majorité des prélèvements respiratoires et d'hémocultures (66).

| Antibiotique testé | % de souches sensibles par région (nombre de souches testées) | | | | | |
|--------------------------|---------------------------------------------------------------|-------------------------|-----------------------|------------|--------------------|--------------|
| | Europe (1770) | Amérique du nord (1647) | Amérique latine (856) | Asie (305) | Moyen-Orient (117) | Afrique (59) |
| Aminoside | 87.9 | 97.5 | 67.5 | 73.8 | 81.2 | 78.0 |
| Cefepime | 65.8 | 73.1 | 55.3 | 58.0 | 65.8 | 67.8 |
| Ceftazidime | 64.4 | 75.6 | 50.1 | 53.8 | 70.9 | 78.0 |
| Imipénème | 72.3 | 79.4 | 56.1 | 81.5 | | 83.3 |
| Méropénème | 67.6 | 79.1 | 59.0 | 57.6 | 58.1 | 51.4 |
| Pipéracilline-tazobactam | 76.6 | 85.0 | 74.2 | 75.7 | 67.5 | 83.1 |

Tableau 9: Proportion des souches de *P.aeruginosa* sensibles vis-à-vis de 6 molécules antibiotiques (66)

Comme pour l'étude précédente, les taux de sensibilité les plus bas sont retrouvés en Amérique Latine, ainsi qu'en Asie et en Europe. De grandes disparités sont à noter concernant la sensibilité aux aminosides (97.5% de souches sensibles en Amérique du Nord contre 67.5% seulement en Amérique Latine), ainsi que pour le

méropénème (79.1% en Amérique du Nord contre 51.4% en Afrique) et la ceftazidime (78.0% en Afrique contre 50.1% en Amérique Latine).

B. Données USA

Master et ses coll. ont publié en 2011 un article sur la résistance des souches de bacille pyocyanique entre 1997 et 2009 aux Etats-Unis (figure 6). Plus de 900 000 souches ont ainsi été incluses dans cette étude (67).

Les variations de résistance les plus importantes ont concerné la ciprofloxacine dont la résistance était estimée à 20% au début de l'étude, et qui a atteint un pic à 32 % en 2002, avant de décroître au seuil de 25 % en 2007. Cette molécule était ainsi la moins active de toutes, avec une valeur moyenne de résistance de 28.4% sur la période d'étude. Le plus bas taux de résistance a été retrouvé pour l'amikacine (7% de résistance en moyenne), suivi du céfépime (9.3%) et de l'association pipéracilline-tazobactam (10%). Le niveau de résistance était légèrement plus élevé dans les services de soins intensifs.

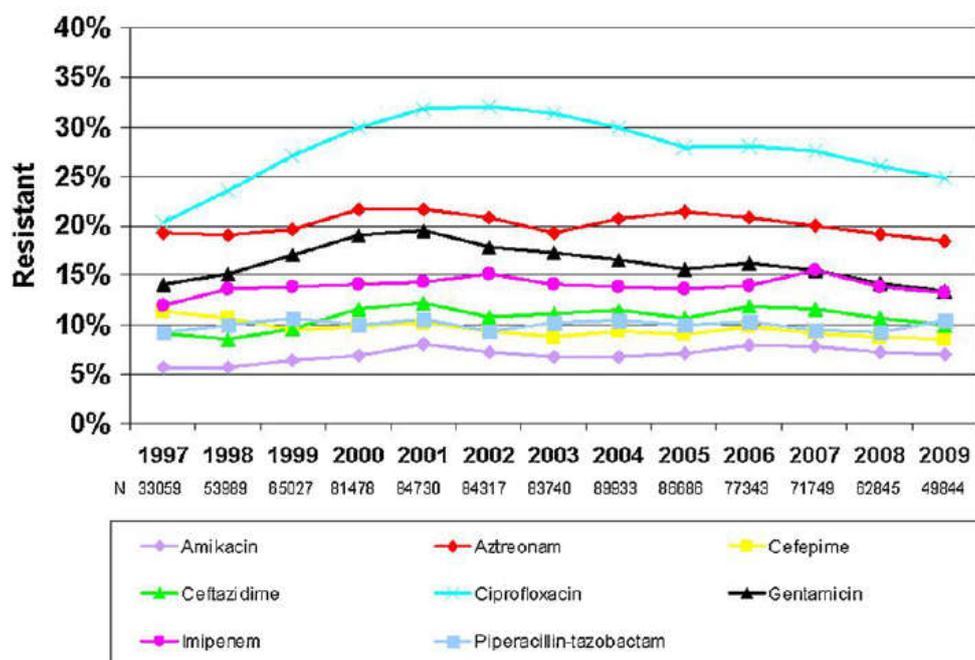


Figure 6: Résistance de *P.aeruginosa* vis-à-vis de huit molécules antibiotiques entre 1997 et 2009 (67)

Une étude récente, baptisée INFORM (International Network for Optimal Resistance Monitoring), s'est déroulée entre 2012 et 2015 et a permis de comparer l'activité de la nouvelle association d'antibiotiques ceftazidime-avibactam à celle de neuf autres antibiotiques. Elle a permis d'évaluer la sensibilité de plus de 7000 souches de bacille pyocyanique collectées dans 79 centres hospitaliers. Les souches ont été collectées chez des patients avec des pneumonies (5.5%), des infections cutanées (24%), des infections urinaires (7.8%) et des bactériémies (7.7%) (68).

| Antimicrobial agent / phenotype | % Susceptible ^a / frequency (no. of isolates) | | | |
|---------------------------------|----------------------------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | 2012 (1,966) | 2013 (1,935) | 2014 (1,742) | 2015 (1,809) |
| Ceftazidime-avibactam | 96.9 | 96.8 | 96.3 | 98.0 |
| Ceftazidime | 83.2 | 84.3 | 84.0 | 85.8 |
| Cefepime | 83.8 | 83.5 | 86.6 | 87.9 |
| Piperacillin-tazobactam | 78.3 | 78.7 | 83.0 | 82.5 |
| Meropenem | 82.0 | 81.9 | 83.1 | 80.9 |
| Ciprofloxacin | 77.5 | 76.6 | 77.8 | 78.1 |
| Levofloxacin | 75.3 | 74.5 | 75.1 | 74.7 |
| Gentamicin | 88.8 | 89.0 | 88.0 | 87.2 |
| Amikacin | 97.5 | 97.3 | 96.8 | 96.4 |
| Colistin | 98.7 | 99.9 | 99.1 | 99.9 |
| MDR phenotype | 15.7 | 16.1 | 15.9 | 14.4 |
| XDR phenotype | 10.1 | 9.1 | 9.8 | 8.4 |

Tableau 10: Pourcentage de sensibilité des souches de bacille pyocyanique (Étude INFORM)

Toutes souches confondues, les molécules les plus actives sont la colistine (99.4% de sensibilité), le ceftazidime-avibactam (97%) et l'amikacine (97%).

Cette étude a retrouvé 15.4% de souches MDR (résistantes à au moins trois groupes d'antibiotiques) et 9.4% de souches XDR (résistantes à au moins six groupes d'antibiotiques). Ces souches ont ainsi été catégorisées selon les critères de Magiorakos et ses collègues (69). Le tableau suivant montre l'activité des différentes molécules antibiotiques en fonction des phénotypes de résistance. On remarque que l'avibactam restaure en grande partie une activité vis-à-vis des souches résistantes à la ceftazidime.

| Antimicrobial Agent | MIC ₅₀ | MIC ₉₀ | CLSI ^a | | | EUCAST ^a | | |
|-----------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------|-------------------|---------------------|------|------|
| | | | %S | %I | %R | %S | %I | %R |
| All isolates (7,452) | | | | | | | | |
| Ceftazidime-avibactam | 2 | 4 | 97.0 | - | 3.0 ^b | 97.0 | - | 3.0 |
| Ceftazidime | 2 | 32 | 84.3 | 4.0 | 11.7 | 84.3 | - | 15.7 |
| Cefepime | 2 | 16 | 85.4 | 8.4 | 6.2 | 85.4 | - | 14.6 |
| Piperacillin-tazobactam | 4 | >64 | 80.5 | 9.1 | 10.3 | 80.5 | - | 19.5 |
| Meropenem | 0.5 | 8 | 82.0 | 5.9 | 12.1 | 82.0 | 11.9 | 6.2 |
| Ciprofloxacin | 0.12 | >4 | 77.5 | 5.3 | 17.2 | 71.8 | 5.7 | 22.5 |
| Levofloxacin | 0.5 | >4 | 74.9 | 6.6 | 18.5 | 66.0 | 8.9 | 25.1 |
| Gentamicin | ≤1 | 8 | 88.3 | 3.7 | 8.1 | 88.3 | - | 11.7 |
| Amikacin | 2 | 8 | 97.0 | 1.2 | 1.8 | 93.0 | 4.0 | 3.0 |
| Colistin | 1 | 2 | 99.4 | 0.6 | 0.1 | 99.9 | - | 0.1 |
| MDR isolates (1,151) | | | | | | | | |
| Ceftazidime-avibactam | 4 | 16 | 82.1 | - | 17.9 ^b | 82.1 | - | 17.9 |
| Ceftazidime | 32 | >32 | 27.6 | 16.0 | 56.4 | 27.6 | - | 72.4 |
| Cefepime | 16 | >16 | 26.5 | 39.5 | 34.0 | 26.5 | - | 73.5 |
| Piperacillin-tazobactam | >64 | >64 | 15.5 | 34.0 | 50.6 | 15.5 | - | 84.5 |
| Meropenem | 8 | >8 | 21.4 | 18.1 | 60.6 | 21.4 | 44.4 | 34.2 |
| Ciprofloxacin | >4 | >4 | 21.3 | 12.3 | 66.5 | 12.4 | 8.9 | 78.7 |
| Levofloxacin | >4 | >4 | 14.8 | 14.6 | 70.6 | 8.4 | 6.3 | 85.2 |
| Gentamicin | 4 | >8 | 51.1 | 10.3 | 38.7 | 51.1 | - | 48.9 |
| Amikacin | 8 | 32 | 87.1 | 5.0 | 8.0 | 74.5 | 12.6 | 12.9 |
| Colistin | 1 | 2 | 99.1 | 0.6 | 0.3 | 99.7 | - | 0.3 |
| XDR isolates (698) | | | | | | | | |
| Ceftazidime-avibactam | 8 | 32 | 75.8 | - | 24.2 ^c | 75.8 | - | 24.2 |
| Ceftazidime | 32 | >32 | 18.9 | 16.0 | 65.0 | 18.9 | - | 81.1 |
| Cefepime | 16 | >16 | 14.3 | 42.0 | 43.7 | 14.3 | - | 85.7 |
| Piperacillin-tazobactam | >64 | >64 | 5.7 | 34.4 | 59.9 | 5.7 | - | 94.3 |
| Meropenem | 8 | >8 | 7.6 | 17.6 | 74.8 | 7.6 | 46.3 | 46.1 |
| Ciprofloxacin | >4 | >4 | 10.2 | 12.2 | 77.7 | 3.3 | 6.9 | 89.8 |
| Levofloxacin | >4 | >4 | 4.2 | 14.2 | 81.7 | 2.1 | 2.0 | 95.8 |
| Gentamicin | >8 | >8 | 38.1 | 11.5 | 50.4 | 38.1 | - | 61.9 |
| Amikacin | 8 | >32 | 83.2 | 6.2 | 10.6 | 68.1 | 15.2 | 16.8 |
| Colistin | 1 | 2 | 99.1 | 0.6 | 0.3 | 99.7 | - | 0.3 |

Tableau 11: CMI 50, CMI 90 et pourcentage de souches sensibles, intermédiaires ou résistantes, en fonction des phénotypes (étude INFORM)

C. Données européennes

Depuis 1998, l'European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) collige des données sur la résistance bactérienne aux antibiotiques en Europe. *Pseudomonas aeruginosa* fait partie des bactéries cibles de cette surveillance depuis 2005. Chaque année, les souches invasives isolées d'hémocultures sont répertoriées. Trente pays européens ont participé à la surveillance pour l'année 2015.

Le tableau suivant présente les pourcentages moyens de résistance en Europe entre 2012 et 2015. La multirésistance était définie comme la résistance à trois groupes d'antibiotiques ou plus, parmi les classes suivantes : pipéracilline-tazobactam, ceftazidime, fluoroquinolones, aminosides et carbapénèmes (70).

| Classe d'antibiotique | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 |
|--------------------------|------|------|------|------|
| Pipéracilline-tazobactam | 16.7 | 16.4 | 17.2 | 18.1 |
| Fluoroquinolones | 20.9 | 20.2 | 19.7 | 19.3 |
| Ceftazidime | 13.5 | 12.3 | 13.2 | 13.3 |
| Aminosides | 17.1 | 14.6 | 14.2 | 13.3 |
| Carbapénèmes | 17.2 | 17.8 | 18.4 | 17.8 |
| Multirésistance | 13.6 | 13.0 | 13.3 | 12.9 |

Tableau 12: Pourcentage moyen de résistance du bacille pyocyanique en Europe entre 2012 et 2015 (70)

On observe ainsi une hausse significative de la résistance à la pipéracilline-tazobactam entre 2012 et 2015 (16.7% en 2012 contre 18.1% en 2015) et une baisse significative de cette résistance pour les aminosides et les fluoroquinolones (respectivement 17.1% et 20.9% en 2012 contre 13.3% et 19.3% en 2015). Les taux de résistance retrouvés pour la ceftazidime et les carbapénèmes restent stables, ainsi que la proportion des souches multirésistantes.

Les cartes ci-dessous (figures 7 à 12) permettent de visualiser les taux de résistance du bacille pyocyanique en Europe pour l'année 2015 selon les classes d'antibiotiques.

1. Pipéracilline-tazobactam

Figure 3.11. *Pseudomonas aeruginosa*. Percentage (%) of invasive isolates with resistance to piperacillin-tazobactam, by country, EU/EEA countries, 2015

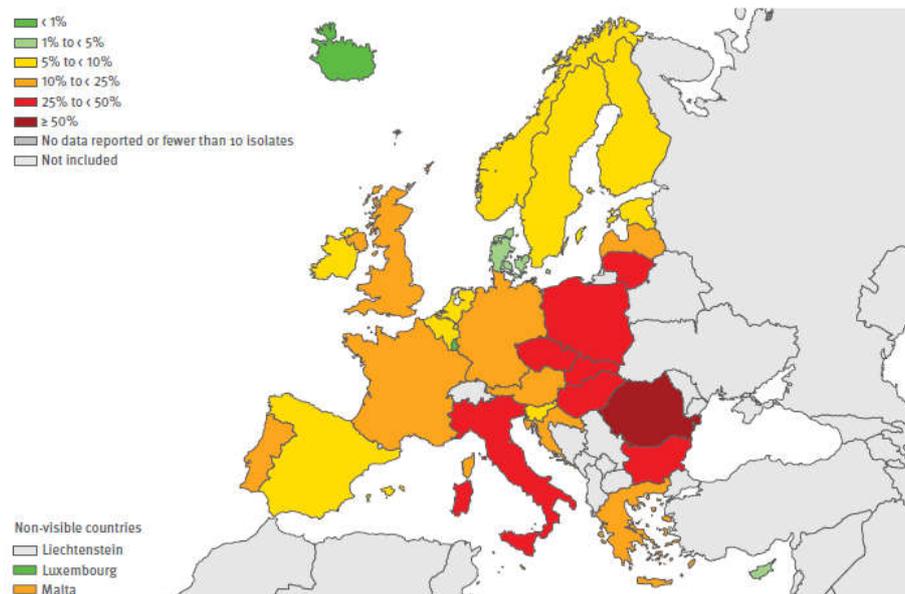


Figure 7: Pourcentage de souches invasives de *P.aeruginosa* résistantes à la pipéracilline-tazobactam, par pays, en Europe en 2015 (70)

2. Fluoroquinolones

Figure 3.12. *Pseudomonas aeruginosa*. Percentage (%) of invasive isolates with resistance to fluoroquinolones, by country, EU/EEA countries, 2015

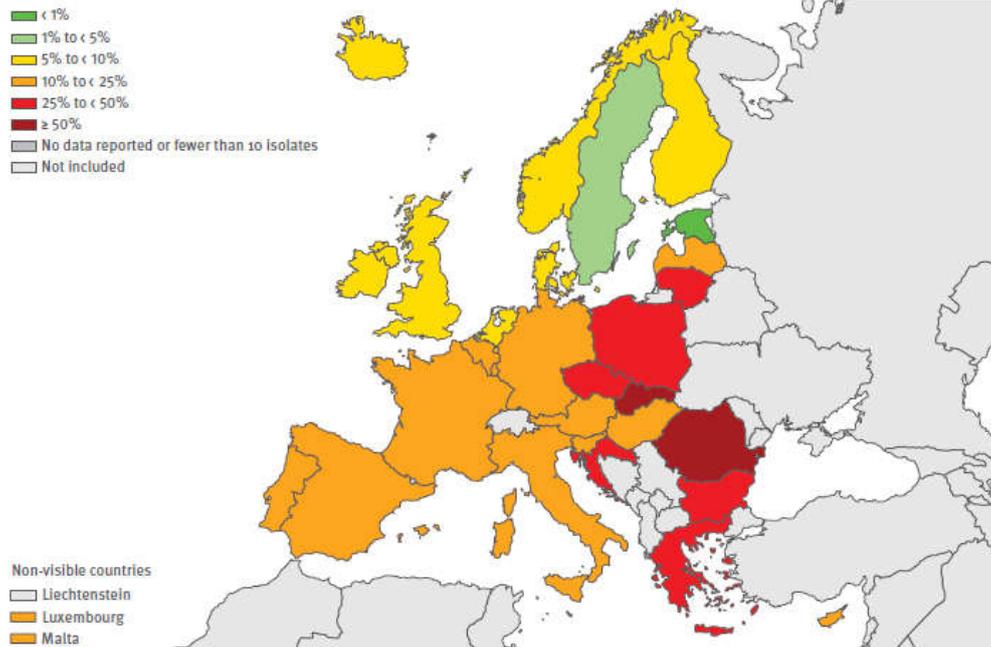


Figure 8: Pourcentage de souches invasives de *P.aeruginosa* résistantes aux fluoroquinolones, par pays, en Europe en 2015 (70)

3. Ceftazidime

Figure 3.13. *Pseudomonas aeruginosa*. Percentage (%) of invasive isolates with resistance to ceftazidime, by country, EU/EEA countries, 2015

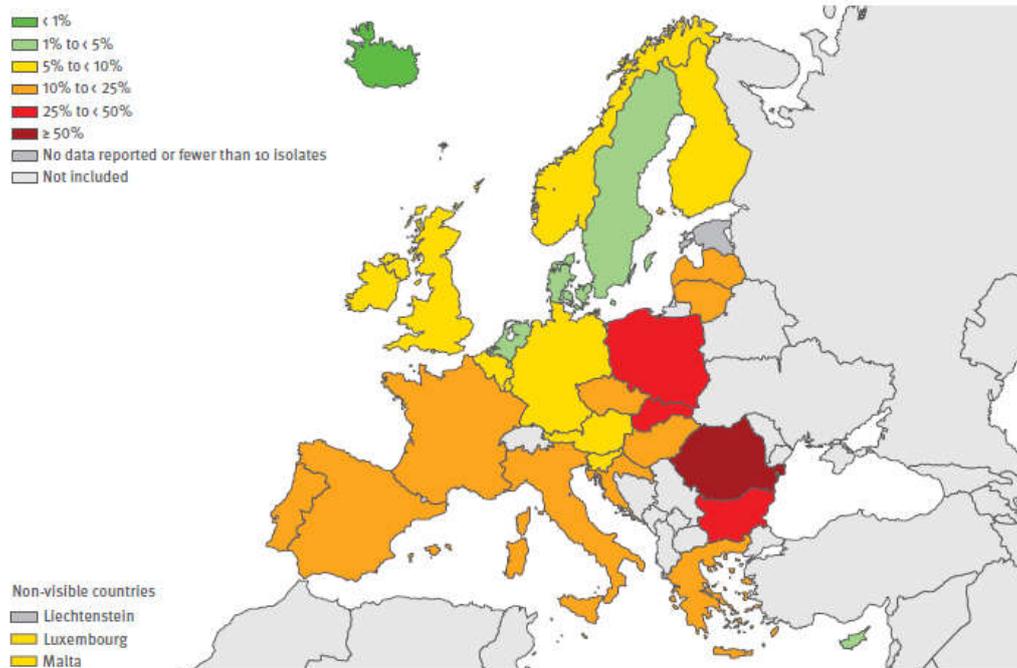


Figure 9: Pourcentage de souches invasives de *P.aeruginosa* résistantes à la ceftazidime, par pays, en Europe en 2015 (70)

4. Aminosides

Figure 3.14. *Pseudomonas aeruginosa*. Percentage (%) of invasive Isolates with resistance to aminoglycosides, by country, EU/EEA countries, 2015

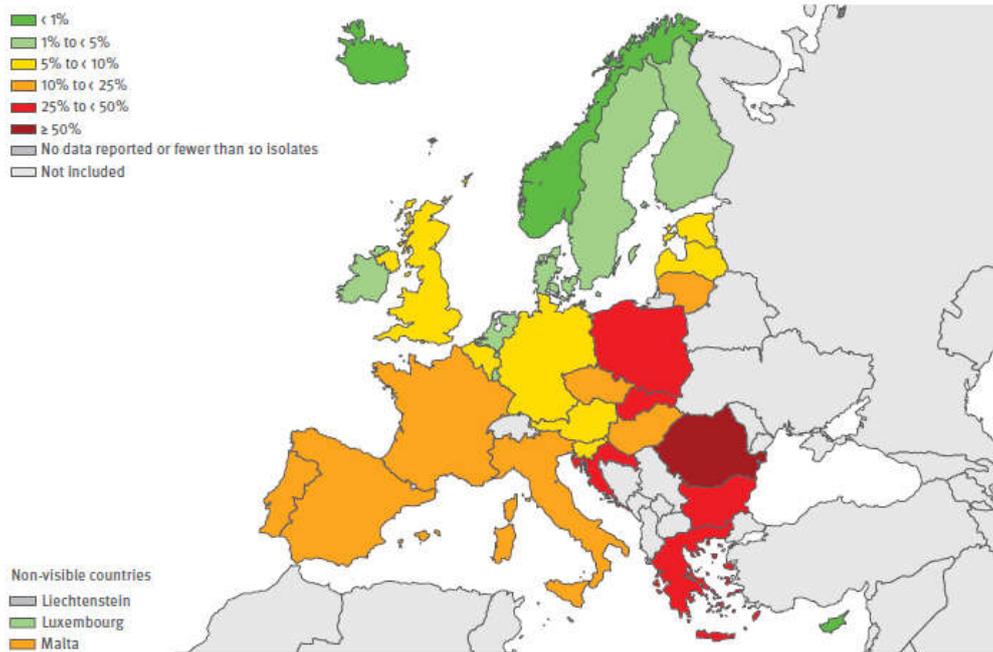


Figure 10: Pourcentage de souches invasives de *P.aeruginosa* résistantes aux aminosides, par pays, en Europe en 2015 (70)

5. Carbapénèmes

Figure 3.15. *Pseudomonas aeruginosa*. Percentage (%) of invasive Isolates with resistance to carbapenems, by country, EU/EEA countries, 2015

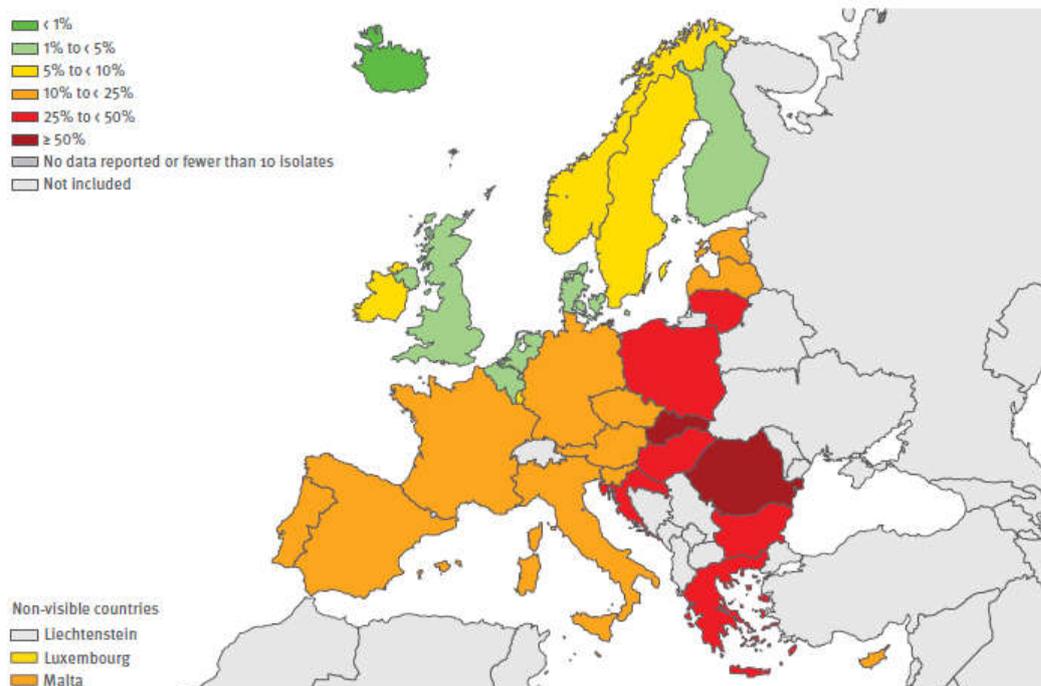


Figure 11: Pourcentage de souches invasives de *P.aeruginosa* résistantes aux carbapénèmes, par pays, en Europe en 2015 (70)

A de rares exceptions, les pays avec des taux élevés de résistance du bacille pyocyanique vis-à-vis des carbapénèmes présentent la même tendance pour les souches d'*E.coli*, de *K.pneumoniae* et d'*Acinetobacter sp.*

6. Multirésistance

Figure 3.16. *Pseudomonas aeruginosa*. Percentage (%) of invasive isolates with combined resistance (resistance to three or more antimicrobial groups among piperacillin + tazobactam, ceftazidime, fluoroquinolones, aminoglycosides and carbapenems), by country, EU/EEA countries, 2015

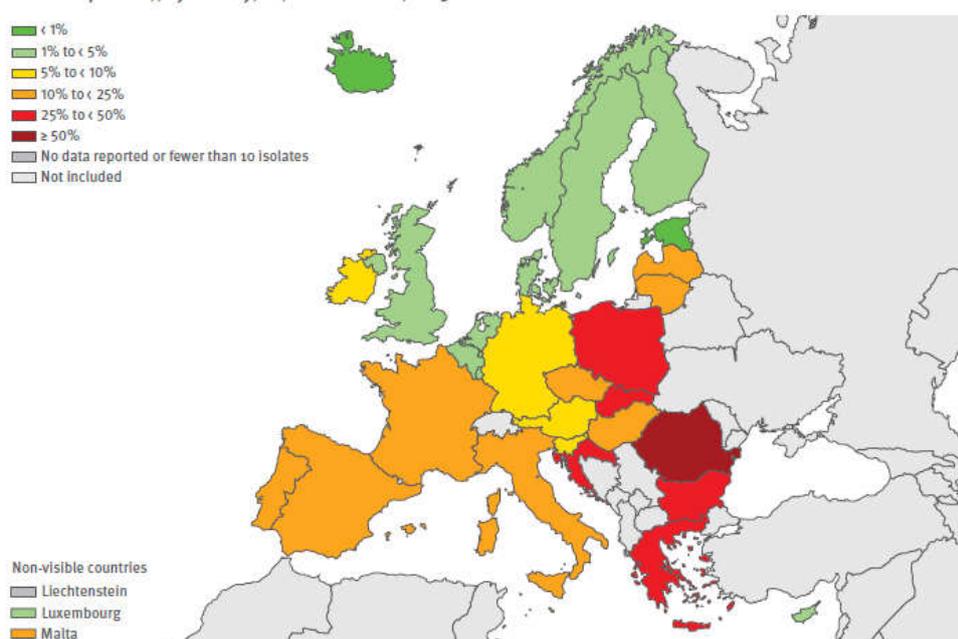


Figure 12: Pourcentage de souches invasives de *P.aeruginosa* multirésistantes, par pays, en Europe en 2015 (70)

7. Synthèse des données européennes

En 2015, les résistances les plus élevées étaient retrouvées dans les pays d'Europe de l'Est et du Sud-Est, en particulier en Slovaquie et en Roumanie. Sur l'ensemble des souches étudiées, 66.1% étaient sensibles à tous les groupes d'antibiotiques testés (pipéracilline-tazobactam, fluoroquinolones, ceftazidime, aminosides, carbapénèmes). Les phénotypes de résistance les plus fréquents étaient la résistance isolée aux carbapénèmes (5%) suivie de la résistance aux cinq groupes d'antibiotiques (4.4%).

D. Données françaises issues de l'EARS-Net

Le recueil et la transmission des données françaises à l'EARS-Net reposent sur la collaboration entre Santé Publique France (anciennement InVS) et l'ONERBA. La contribution de l'ONERBA s'effectue par le biais de trois réseaux de laboratoires fédérés au sein de cet observatoire (Azay-résistance, Ile-de-France et REUSSIR).

Le tableau 13, établi grâce au rapport de l'EARS-Net 2015, permet de suivre l'évolution de la résistance du bacille pyocyanique aux antibiotiques en France au cours des quatre années consécutives de 2012 à 2015. On note ainsi une baisse significative de la résistance pour les aminosides, moindre pour la pipéracilline-tazobactam et les fluoroquinolones.

| Classe d'antibiotique | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 |
|--------------------------|------|------|------|------|
| Pipéracilline-tazobactam | 19.9 | 15.4 | 17 | 16.1 |
| Fluoroquinolones | 22.2 | 21.2 | 20.6 | 19.1 |
| Ceftazidime | 14.1 | 11.5 | 12.0 | 11.6 |
| Aminosides | 20.0 | 16.0 | 15.7 | 12.8 |
| Carbapénèmes | 18.0 | 17.2 | 18.7 | 16.4 |
| Multirésistance | 14.7 | 12.5 | 13.2 | 12.0 |

Tableau 13: Pourcentage moyen de résistance du bacille pyocyanique en France entre 2012 et 2015(70)

En moyenne, près de 1500 souches de bacille pyocyanique sont recueillies chaque année pour la France. Pour l'année 2015, 1956 souches issues d'infections invasives ont été recueillies.

La figure 13 permet de suivre l'évolution des résistances pour chaque classe d'antibiotique depuis 2005, et la figure 14 quant à elle concerne uniquement la classe des carbapénèmes (71).

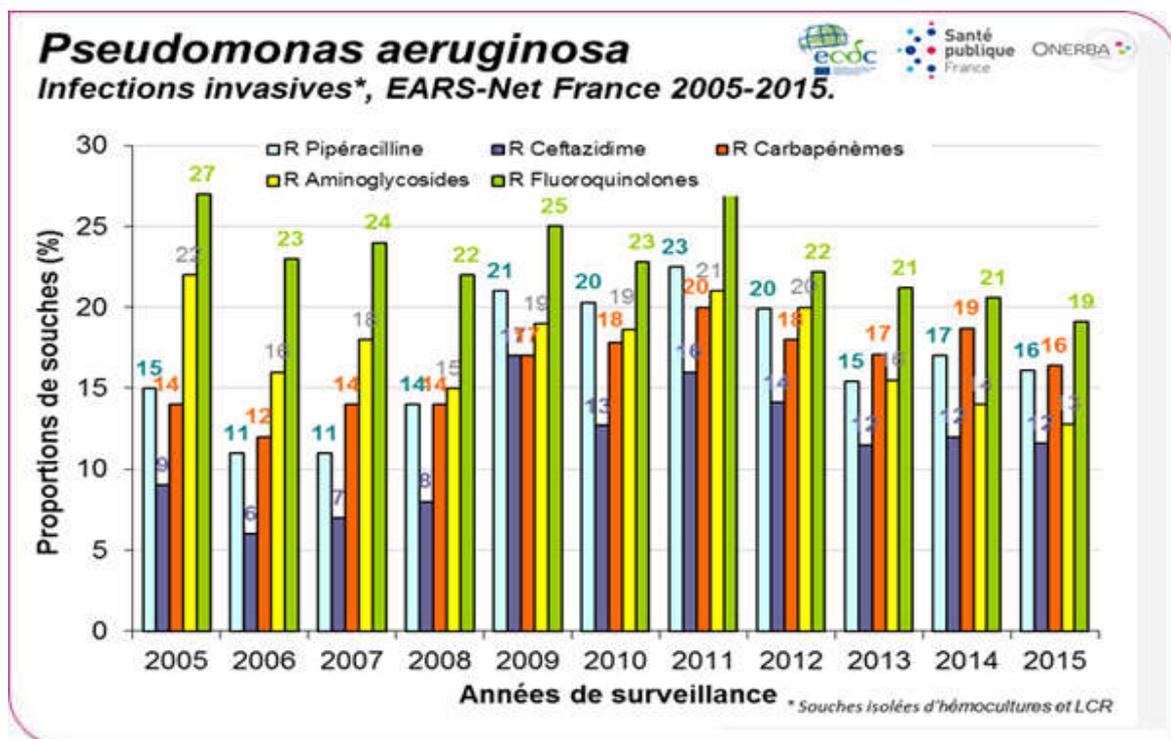


Figure 13: Proportions des souches de *P.aeruginosa* résistantes aux antibiotiques en France entre 2005 et 2015 (71)

En 2009, la France a connu une forte augmentation de la proportion de résistance à la ceftazidime chez *P.aeruginosa* (16.8% en 2009 contre seulement 8% en 2008). Elle est en diminution depuis 2012, mais la France reste parmi les treize pays d'Europe rapportant une proportion de résistance supérieure à 10%.



Figure 14: Proportions des souches de *P.aeruginosa* résistantes aux carbapénèmes en France entre 2005 et 2015 (71)

En bleu, figure le rang de la France au sein de l'ensemble des pays participants au réseau de l'EARS-Net. Plus ce rang est bas et meilleure est la place de la France en Europe. La résistance aux carbapénèmes chez *P.aeruginosa* reste à un haut niveau depuis 2009 (>15 % des souches).

Ce dernier tableau, publié dans le rapport de l'ONERBA 2015, illustre la tendance des souches françaises de bacille pyocyanique, en matière de sensibilité aux antibiotiques entre 2005 et 2014 (72).

| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 2005 | 2006 | 2007 | 2008 | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 | 2014 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Nombre de souche testées / Number of strains tested | | | | | | | | | | |
| Ticarcline | 984 | 994 | 1249 | 1174 | 1171 | 1085 | 1661 | 1209 | 1154 | 1573 |
| Ceftazidime | 932 | 941 | 1241 | 1131 | 1081 | 1005 | 1661 | 1612 | 1860 | 1778 |
| Imipénème | 979 | 993 | 1265 | 1198 | 1215 | 1182 | 1661 | 1726 | 1848 | 1780 |
| Amikacine | 965 | 997 | 1180 | 1090 | 1136 | 1125 | 1661 | 1701 | 1838 | 1587 |
| Ciprofloxacine | 981 | 987 | 1291 | 1131 | 1204 | 1177 | 1661 | 1724 | 1848 | 1778 |
| % Ticarcilline, ceftazidime, imipenem, amikacine and ciprofloxacine Sensible /Susceptible | | | | | | | | | | |
| Ticarcline | 53,9 | 58,4 | 55,6 | 56,6 | 47,6 | 51,1 | 56,3 | 58,1 | 56,9 | 61,2 |
| Ceftazidime | 81,0 | 86,1 | 81,4 | 84,9 | 81,0 | 84,7 | 82,8 | 85,2 | 88,3 | 87,5 |
| Imipénème | 79,0 | 83,9 | 81,4 | 80,5 | 75,7 | 77,4 | 74,8 | 77,7 | 78,2 | 76,9 |
| Amikacine | 87,6 | 85,5 | 85,7 | 88,9 | 82,9 | 86,3 | 87,5 | 85,6 | 89,6 | 90,7 |
| Ciprofloxacine | 71,0 | 74,8 | 73,0 | 75,0 | 72,6 | 74,9 | 70,0 | 76,2 | 77,1 | 78,0 |

Tableau 14 : *P.aeruginosa* : Sensibilité aux antibiotiques, souches isolées d'hémocultures entre 2005 et 2014, EARS-Net(3 réseaux : REUSSIR, Ile-de-France, Azay-Résistance) (72)

E. Données régionales issues du Réseau des Microbiologistes du Nord-Pas-de-Calais

Créé en 1997, l'ONERBA regroupe différents réseaux de surveillance de la résistance aux antibiotiques. On retrouve notamment des réseaux de laboratoires d'analyse médicale de ville, des réseaux de laboratoires hospitaliers (parmi lesquels figure le Réseau des microbiologistes du Nord-Pas-de-Calais) et des réseaux de laboratoires hospitaliers spécialisés dans les infections nosocomiales, rattachés au CCLIN-Est, Paris-Nord et Sud-Ouest.

Pour le réseau Microbiologistes du Nord-Pas-de-Calais, les souches étudiées proviennent de prélèvements d'hémocultures, d'urines, de prélèvements respiratoires et d'autres sites (tableau 15). Ce réseau recense ainsi chaque année entre 200 et 250 bactériémies impliquant le bacille pyocyanique.

| Année | 2008 | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 |
|------------------|-------------|-------------|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| N souches | 5605 | 5019 | 5564 | 5419 | 5747 | 5180 | 5012 | 4866 |
| Hémocultures | 229 (4%) | 263 (5%) | 239 (4%) | 197 (3,6%) | 244 (4,2%) | 238 (4,6%) | 238 (4,8%) | 243 (4,9%) |
| Urines | 1457 (26%) | 1353 (27%) | 1402 (26%) | 1573 (29,0%) | 1756 (30,6%) | 1471 (28,4%) | 1500 (30%) | 1551 (30,9%) |
| Respiratoires | 1960 (35%) | 1753 (35%) | 2131 (38%) | 2160 (40,0%) | 2311 (40,2%) | 2122 (41%) | 1959 (39,2%) | 1923 (38,4%) |
| Autres | 1959 (35%) | 1650 (33%) | 1792 (32%) | 1489 (27,4%) | 1436 (25%) | 1349 (26%) | 1305 (26%) | 1291 (25,7%) |

Tableau 15: *P.aeruginosa*: Types de prélèvements (Réseau Microbiologistes du Nord Pas-de-Calais 2008-2015)

Le tableau 16 retrace la sensibilité aux antibiotiques du bacille pyocyanique entre 2007 et 2015. En 2015, la sensibilité des souches de *P.aeruginosa* était de 84.6% à la ceftazidime, 77% à l'imipénème et 78.1% à la ciprofloxacine.

| Année | 2007 | 2008 | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 |
|-------------------|-------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Nombre de souches | 1127* | 5605 | 5019 | 5564 | 5338 | 5747 | 5167 | 5012 | 4866 |
| Ticarcilline | 37,8 | 38,0 | 40,0 | 43,5 | 46,7 | 44,4 | 41,3 | 49,3 | 41,5 |
| Ceftazidime | 76,0 | 78,0 | 77,0 | 81,7 | 84,5 | 83,5 | 83,4 | 84,8 | 84,6 |
| Imipénème | 80,3 | 79,0 | 75,0 | 78,2 | 78,3 | 78,0 | 76,5 | 78,9 | 77 |
| Amikacine | 72,5 | 77,0 | 76,0 | 80,2 | 78,6 | 82,6 | 85,7 | 88,8 | 87,1 |
| Ciprofloxacine | 68,4 | 66,0 | 64,0 | 70,6 | 70,9 | 72,3 | 74,4 | 78,1 | 78,1 |

*Durée de l'enquête : 2 mois

Tableau 16 : *P.aeruginosa*: Sensibilité aux antibiotiques (%) (Réseau Microbiologistes du Nord-Pas-de-Calais 2007-2015)

Depuis l'année 2009, on note une augmentation progressive de la sensibilité à la ciprofloxacine (64% en 2009 et 78.1% en 2015) soit un gain de sensibilité de 14% sur six années. Cette tendance concerne uniquement la famille des fluoroquinolones, les niveaux de résistances continuant à augmenter pour les bêtalactamines.

On peut évoquer un lien entre la consommation des antibiotiques et cette évolution significative pour ce qui est de la résistance. Le réseau ATB-RAISIN, chargé de la surveillance de la consommation des antibiotiques, a montré une consommation en hausse entre 2009 et 2015 des antibiotiques à l'hôpital (augmentation de 2.7% sur cette période). L'augmentation est très importante pour les céphalosporines de 3^{ème} génération (+30 à 45% selon la molécule), les carbapénèmes (+43%) et la pipéracilline-tazobactam (+107%). Il y a par contre une diminution de la consommation des fluoroquinolones (-4 à -27% selon la molécule, -17.5% pour la ciprofloxacine notamment) (figures 15 à 17) (73).

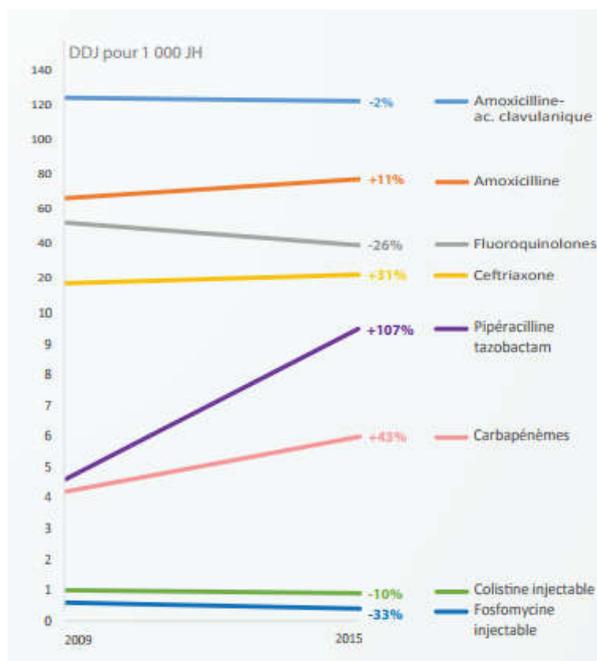


Figure 15: Evolution globale de la consommation en antibiotiques entre 2009 et 2015 (Réseau REA-RAISIN) (73)

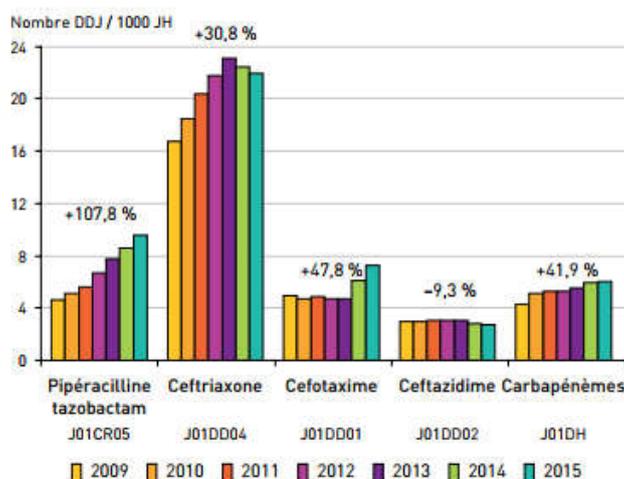


Figure 16: Evolution de la consommation de certaines bêta-lactamines dans les 542 établissements de santé ayant participé entre 2009 et 2015 (% d'évolution calculé) (73)

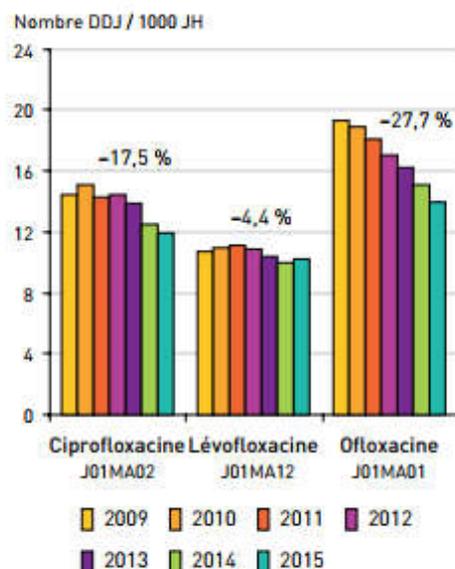


Figure 17: Evolution de la consommation en fluoroquinolones dans les 542 établissements de santé ayant participé de 2009 à 2015 (% d'évolution calculé) (73)

La proportion des souches de bacille pyocyanique multirésistantes (définies comme étant résistantes à la ticarcilline, au ceftazidime et à l'imipénème) a diminué entre 2008 et 2015 passant de 9.8% à 7.1%, soit un taux d'incidence pour 1000 jours d'hospitalisation passant de 0.15 à 0.085 (tableau 17). L'incidence des souches de bacille pyocyanique en service de réanimation reste très supérieure à l'incidence globale (incidence jusqu'à 9.6 fois plus élevée pour l'année 2013).

| | | 2008 | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 |
|-----------------------|-------------------------|------|------|------|------|------|------|------|-------|
| Toutes souches | N. centres | 17 | 17 | 20 | 20 | 20 | 19 | 19 | 19 |
| | Nombre total de souches | 5605 | 5019 | 5564 | 5338 | 5747 | 5167 | 5012 | 4866 |
| | Incidence* totale | 1,5 | 1,3 | 1,4 | 1,4 | 1,3 | 1,2 | 1,2 | 1,2 |
| | Incidence* réanimation | 9,7 | 8,5 | 8,8 | 12,0 | 11,1 | 11,6 | 7,7 | 7,5 |
| Multi-R** | n | 548 | 406 | 389 | 406 | 478 | 452 | 358 | 346 |
| | % | 9,8 | 8,1 | 7,0 | 7,6 | 8,4 | 8,0 | 7,1 | 7,1 |
| | Incidence* | 0,15 | 0,11 | 0,09 | 0,10 | 0,11 | 0,11 | 0,09 | 0,085 |

* taux d'incidence pour 1000 jours d'hospitalisation

** Nombre de souches de *P. aeruginosa* résistantes à Ticarcilline, Ceftazidime et Imipénème I ou R

Tableau 17: *P.aeruginosa*: Proportion et incidence des souches multirésistantes (Réseau Microbiologistes du Nord-Pas-de-Calais 2008-2015)

VI. Aspects thérapeutiques

La décision de traitement antibiotique repose tout d'abord sur la distinction entre colonisation et infection : seules les infections doivent être traitées par antibiothérapie systémique. Les infections à *Pseudomonas aeruginosa* sont souvent de traitement difficile en raison du terrain sur lequel elles surviennent et des résistances naturelles et acquises de ce germe. La sélection des mutants résistants est très rapide en cas d'antibiothérapie inadaptée (74).

Il est donc essentiel de suivre quelques principes généraux pour la prise en charge de ces infections :

- Le risque de résistance aux antibiotiques, à la fois naturel et acquis, est un facteur à prendre en compte quant au choix de la thérapeutique probabiliste, puis adaptée.
- Les associations sont indiquées pour les patients à haut risque et dans les infections sévères.
- L'initiation rapide d'une antibiothérapie adaptée est importante, puisqu'un traitement retardé est corrélé à une mortalité accrue.
- Le contrôle de la source infectieuse est nécessaire (retrait de cathéter infecté et de tout autre dispositif invasif, drainage des abcès... quand cela est possible).

A. Molécules disponibles

Le répertoire des molécules antipyocyanique est relativement limité et comprend les antibiotiques suivants :

- des pénicillines seules (pipéracilline, ticarcilline) ou en association avec un inhibiteur de bêta-lactamase (pipéracilline-tazobactam et ticarcilline-acide clavulanique),
- des céphalosporines (ceftazidime et céfépime),
- le monobactam (aztréonam),
- des fluoroquinolones (ciprofloxacine),
- des carbapénèmes (imipénème, méropénème),
- des aminosides (amikacine, tobramycine),
- des polypeptides (colimycine).

Concernant les associations entre une pénicilline et un inhibiteur de bêta-lactamase, l'association pipéracilline-tazobactam est préférable à celle de la ticarcilline-acide clavulanique. En effet, la pipéracilline possède une meilleure activité antipyocyanique et le tazobactam de meilleurs paramètres pharmacocinétiques. D'autre part, l'acide clavulanique peut induire la production de l'AmpC et donc antagoniser l'activité de la ticarcilline (75).

Pour les aminosides, la tobramycine est la molécule de référence vis-à-vis du bacille pyocyanique avec les CMI 50 et 90 les plus faibles de la famille. Cependant, il faut

préférer l'amikacine pour la prise en charge probabiliste car son spectre est plus large et cela diminue le risque d'antibiothérapie initiale inadaptée (76).

B. Stratégies thérapeutiques

1. Choix des molécules

Le choix de l'antibiothérapie en probabiliste est basé sur plusieurs paramètres: la présence de facteurs de risque de résistance, l'écologie du service, la présence d'une insuffisance rénale, des antécédents d'allergie aux bêtalactamines et le site infectieux.

Dans les infections sévères à bacille pyocyanique, le traitement recommandé repose sur une association de deux molécules actives sur la souche, aux posologies recommandées et initialement par voie intraveineuse. L'association idéale est celle d'une molécule concentration-dépendante, d'action rapide avec une autre molécule temps-dépendante, d'action prolongée. Le plus souvent, il est conseillé d'associer une bêtalactamine à un aminoside, la ceftazidime et l'amikacine étant les antibiotiques de référence dans chacune de ces deux classes.

En cas d'insuffisance rénale, la ciprofloxacine sera préférée à un aminoside. Cependant, l'utilisation d'une fluoroquinolone en première intention est déconseillée, étant donné la fréquence des résistances acquises et surtout des résistances croisées avec les bêtalactamines. L'aztréonam pourra être une molécule de choix en cas d'allergie aux bêtalactamines (74,76,77).

S'il n'existe pas de consensus pour la prise en charge des bactériémies à bacille pyocyanique, le traitement des infections pulmonaires est quant à lui mieux défini. En 2016, l'IDSA a publié ses recommandations pour la prise en charge des pneumopathies acquises sous ventilation mécanique (PAVM) (78).

| B. Gram-Negative Antibiotics With Antipseudomonal Activity: β -Lactam-Based Agents | C. Gram-Negative Antibiotics With Antipseudomonal Activity: Non- β -Lactam-Based Agents |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Antipseudomonal penicillins ^b Piperacillin-tazobactam 4.5 g IV q6h ^b | Fluoroquinolones Ciprofloxacin 400 mg IV q8h Levofloxacin 750 mg IV q24h |
| OR | OR |
| Cephalosporins ^b Cefepime 2 g IV q8h Ceftazidime 2 g IV q8h | Aminoglycosides ^{a,c} Amikacin 15–20 mg/kg IV q24h Gentamicin 5–7 mg/kg IV q24h Tobramycin 5–7 mg/kg IV q24h |
| OR | OR |
| Carbapenems ^b Imipenem 500 mg IV q6h ^d Meropenem 1 g IV q8h | Polymyxins ^{e,g} Colistin 5 mg/kg IV \times 1 (loading dose) followed by 2.5 mg \times (1.5 \times CrCl + 30) IV q12h (maintenance dose) Polymyxin B 2.5–3.0 mg/kg/d divided in 2 daily IV doses |
| OR | |
| Monobactams ^f Aztreonam 2 g IV q8h | |

Tableau 18: Recommandations de l'IDSA pour la prise en charge des PAVM à bacille pyocyanique

Il est ainsi recommandé d'associer une bétalactamine à activité antipyocyanique (pénicilline ou céphalosporine ou carbapénème ou monobactam) à une autre molécule active sur *P.aeruginosa* (fluoroquinolone ou aminoside ou polymixine). L'emploi des carbapénèmes devra cependant être limité et réservé aux patients présentant un risque élevé d'infection par une souche hyperproductrice de céphalosporinase, c'est-à-dire avec des antécédents récents de traitement par bétalactamine. Quant à la colistine, elle doit être réservée aux situations d'impasses thérapeutiques face à un bacille pyocyanique multirésistant, voire totorésistant.

L'antibiothérapie doit être secondairement adaptée aux résultats de l'antibiogramme, et faire si possible l'objet d'une désescalade thérapeutique en vue d'un traitement efficace le plus simple possible (76,77).

2. Durée du traitement

La durée de l'association n'est pas parfaitement codifiée, elle doit être suffisante afin de réduire l'inoculum bactérien en dessous d'un certain seuil à partir duquel le risque de sélection de mutants résistants est écarté et la bétalactamine est devenue pleinement active. Cet objectif semble pouvoir être atteint après 3 à 5 jours, mais étant donné la difficulté à mesurer l'inoculum bactérien, il n'existe pas de consensus général.

La durée totale de l'antibiothérapie n'est pas non plus formellement établie. Une durée de 14 jours est recommandée par la majorité des experts dans les infections graves car l'expérience clinique avec les traitements courts est limitée. Il apparaît nécessaire de maintenir le traitement au moins 72 heures après l'obtention d'une réponse clinique et biologique franche (5,76,79).

3. Association ou monothérapie

L'utilisation de la bithérapie pour le traitement des infections à bacille pyocyanique demeure un sujet controversé et fera l'objet d'une analyse plus détaillée dans la partie discussion de la thèse.

L'intérêt d'associer plusieurs antibiotiques est d'obtenir un effet synergique, d'augmenter la vitesse de bactéricidie ainsi que les chances d'avoir un traitement initial efficace d'emblée sur la souche. Les inconvénients potentiels sont le cumul d'effets indésirables, en particulier la néphrotoxicité et le surcoût du traitement (77).

Dans une méta-analyse de Kumar en 2010, il apparaît nécessaire de recourir à une association d'antibiotiques pour les patients les plus graves, en état de choc (80). La même année, une autre étude de cet auteur a montré qu'une combinaison d'antibiotiques était liée à une diminution significative de la mortalité à J28 par rapport à une monothérapie chez les patients en état de choc septique (81).

4. Paramètres pharmacodynamiques

Etant donné l'extrême facilité avec laquelle *P.aeruginosa* s'adapte aux traitements antibiotiques et les conséquences thérapeutiques en résultant, il apparaît nécessaire d'optimiser l'utilisation des anti-infectieux dès que l'origine de l'infection est probable ou certaine. De nombreuses données soulignent l'importance des paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques dans l'efficacité de l'antibiothérapie et dans l'émergence de mutants résistants in vivo.

Pour les antibiotiques temps dépendants, comme les bêtalactamines, le facteur pharmacodynamique majeur de succès est une concentration in vivo supérieure à la CMI de la souche responsable pendant au moins 50% du temps entre deux injections. Concernant les infections sévères, cette concentration doit être constamment au-dessus de huit fois la CMI. Pour atteindre cet objectif, il convient d'utiliser une dose de charge, suivie d'une perfusion continue de bêtalactamine antipyocyanique à forte dose (82).

Pour les aminosides, l'objectif est d'atteindre très vite des taux sériques élevés en une administration unique quotidienne par perfusion courte (30 min) pour obtenir une bactéricidie concentration dépendante et limiter la résistance adaptative de *P.aeruginosa*. Il est nécessaire de viser des taux au pic (Cmax) qui soient au moins huit à dix fois au-dessus des CMI ($C_{max}/CMI \geq 8-10$). Toute réinjection doit se faire après dosage du taux résiduel pour éviter la néphrotoxicité. L'effet post antibiotique des aminosides permet d'inhiber la croissance bactérienne, même si les taux sériques sont inférieurs aux CMI (83).

Pour les fluoroquinolones, le critère d'efficacité clinique et microbiologique est l'atteinte d'un ratio aire sous la courbe / CMI au moins supérieur à 125 et si possible supérieur à 250, ainsi qu'un rapport $C_{max}/CMI \geq 10$. Il faut éviter leur administration isolée qui expose à un risque élevé d'acquisition de résistance (74,76,82).

Dans le tableau ci-dessous, on retrouve le mode d'administration et la posologie usuelle des principaux antibiotiques antipyocyaniques dans les infections sévères à *P.aeruginosa*.

| Molécules | Schéma d'administration IV |
|---------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Ceftazidime | 2 grammes en 1 heure puis 6 grammes par jour en continu (enfant, nourrisson: 50 mg/kg/j) |
| Pipéracilline ou pipéracilline + tazobactam | 4 grammes (adulte et enfant > 12 ans) toutes les 6 à 8 heures |
| Impipénème-cilastatine | 1 gramme (enfant, nourrisson: 20 mg/kg) toutes les 8 heures |
| Méropénème | 1 gramme (enfant, nourrisson: 20 mg/kg) toutes les 8 heures |
| Amikacine | 20 à 25 mg/kg en perfusion d'une heure |
| Tobramycine | 6 à 8 mg/kg en perfusion d'une heure |
| Ciprofloxacine ^a | 400 mg toutes les 8 heures |
| Colistine ^b | Adulte de 70 kg avec fonction rénale normale 1 à 2 mUI, 3 fois par jour en perfusion IV (soit 240 à 480 mg de colistine-méthate par jour) |

^a Utilisation chez l'adulte. Peut être utilisée après avis spécialisé chez l'enfant, notamment dans le cadre des infections sur mucoviscidoses. Relais par voie orale dès que possible (1 à 1,5 g par jour en deux prises).

^b Pour le traitement de *P. aeruginosa* résistant aux autres antibiotiques anti-*Pseudomonas* ⁽⁷⁴⁾.

Tableau 19 : Posologie usuelle des principaux antibiotiques antipyocyaniques dans les infections sévères à *P.aeruginosa* (83)

C. Traitement des souches multirésistantes

Les infections causées par des souches multirésistantes rendent la thérapeutique nettement plus complexe car le nombre d'options est limité. Le traitement doit être adapté aux résultats de l'antibiogramme en associant des antibiotiques parmi les plus actifs. On peut selon les cas proposer le méropénème, la ceftazidime ou le céfépime, associés avec l'amikacine, la fosfomycine ou la rifampicine (83).

Plusieurs études rapportent des succès thérapeutiques avec l'utilisation de la colistine intraveineuse. Mais ce vieil antibiotique n'est pas facile à manier du fait de sa toxicité rénale et neurologique. Son utilisation est parfois la seule alternative thérapeutique sur les souches multirésistantes. Il est recommandé d'utiliser cette molécule en association afin d'éviter l'émergence de résistance.

D'autres études ont montré une activité renforcée in vitro de différentes associations de molécules contre le bacille pyocyanique multirésistant, néanmoins il existe peu de données quant à leur utilisation in vivo (84) :

- Ticarcilline + tobramycine + rifampicine
- Polymixine B + rifampicine
- Ceftazidime + colistine
- Macrolide + tobramycine ou triméthoprime ou rifampicine
- Colistine + méropénème

D. Nouvelles molécules antibiotiques

Récemment deux nouvelles molécules antibiotiques ont intégré l'arsenal thérapeutique, il s'agit de molécules réservées à l'usage hospitalier. Ces antibiotiques sont des associations d'une céphalosporine à large spectre avec un inhibiteur de bêtalactamase. L'intérêt de ces deux associations réside dans leur activité sur certaines bactéries à Gram négatif résistantes, permettant de traiter des patients atteints d'infections suspectées ou documentées à bacille pyocyanique ou à entérobactéries productrices de BLSE (EBLSE), en vue d'une stratégie d'épargne des carbapénèmes (85,86)

1. Ceftolozane-tazobactam (Zerbaxa®)

▪ Structure chimique (87)

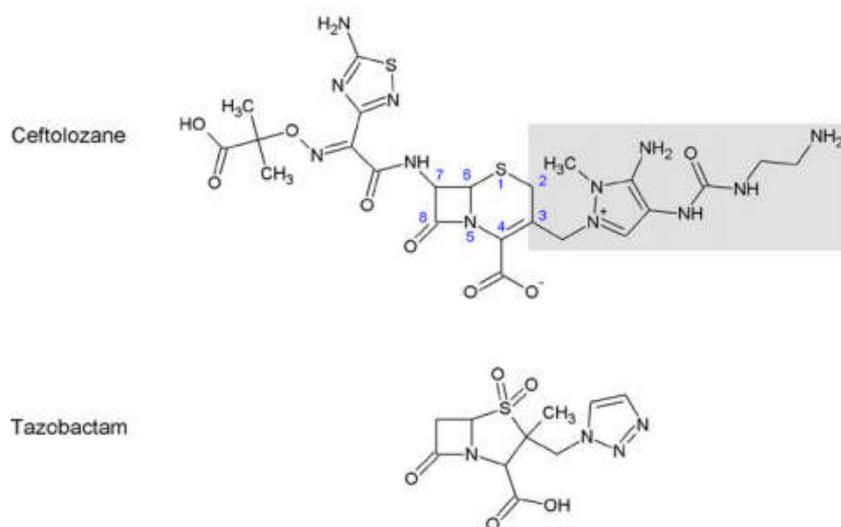


Figure 18: Structure chimique du ceftolozane et du tazobactam

▪ Spectre d'activité

Zerbaxa® est l'association d'une nouvelle céphalosporine de 3^{ème} génération, le ceftolozane et d'un inhibiteur de bêta-lactamase (IBL), le tazobactam. Il possède ainsi une activité bactéricide élargie à certaines EBLSE et une excellente activité antipyocyanique (85).

L'avantage du ceftolozane est d'être actif in vitro contre les bêta-lactamases de classe A (TEM, SHV, CTX-M) et certaines bêta-lactamases de classe C (AmpC) et D (OXA). Il est cependant inactif contre les MBL (NDM1, VIM, IMP) et contre les carbapénémases de type KPC.

Le ceftolozane-tazobactam est également actif sur certains cocci à Gram positif, en particulier certains streptocoques (*S.anginosus*, *S.constellatus*, *S.salivarius*) mais son activité est limitée sur les anaérobies (*B.fragilis*) (88).

▪ Indications

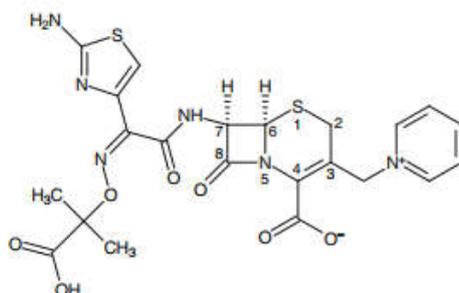
Zerbaxa® est indiqué dans le traitement des infections suivantes, chez des patients adultes :

- Infections intra-abdominales compliquées
- Pyélonéphrites aiguës
- Infections urinaires compliquées

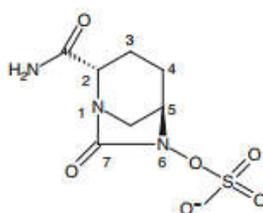
Il peut être proposé sur documentation bactériologique dans les infections à EBLSE ou à *P.aeruginosa* sensibles (85).

2. Ceftazidime-avibactam (Zavicefta®)

- **Structure chimique** (89)



1 Chemical structure of ceftazidime



2 Chemical structure of avibactam

Figure 19: Structure chimique de la ceftazidime et de l'avibactam

- **Spectre d'activité**

Zavicefta® est l'association d'une céphalosporine de 3^{ème} génération, la ceftazidime et d'un nouvel inhibiteur de bêta-lactamase, l'avibactam.

L'avibactam possède une activité inhibitrice plus large que les autres inhibiteurs de bêta-lactamases actuellement disponibles. Il inhibe les bêta-lactamases des classes A et C de Ambler (TEM, SHV, CTX-M, AmpC) et certaines bêta-lactamases de classe D (OXA). Il est inactif contre les MBL, mais c'est la première association bêta-lactamine/IBL à avoir une activité contre les carbapénémases de type KPC.

La ceftazidime est une céphalosporine de 3^{ème} génération largement utilisée dans le traitement d'infections souvent sévères à bacille à Gram négatif et son activité antipycyanique est particulièrement retenue. L'association de l'avibactam vise à rétablir l'activité de la C3G sur les BGN en neutralisant de nombreuses bêta-lactamases (86).

Le ceftazidime-avibactam a donc un spectre d'activité large incluant les EBLSE et le bacille pyocyanique. A l'inverse, il est très peu actif vis-à-vis de l'*Acinetobacter*, des cocci à Gram positif et des anaérobies (88).

▪ **Indications**

Zavicefta® est indiqué dans le traitement des infections suivantes, chez des patients adultes :

- Infections intra-abdominales compliquées
- Infections des voies urinaires compliquées, dont les pyélonéphrites
- Pneumonies nosocomiales, dont les PAVM
- Infections dues à des bactéries aérobies à Gram négatif chez les patients adultes pour qui les options thérapeutiques sont limitées

Il peut ainsi être proposé dans les infections dues à des BGN, en alternative à l'usage des carbapénèmes, en cas de résistance documentée ou fortement suspectée aux C3G (86).

Des programmes d'étude sont en cours pour ces deux nouvelles molécules afin de trouver de nouvelles indications (85,86).

CHAPITRE II : OBJECTIFS

Pseudomonas aeruginosa est l'exemple type de la bactérie environnementale devenue pathogène opportuniste et représente un véritable problème de santé publique dans les établissements de soins. A des résistances naturelles et des facteurs de virulence (signes d'adaptation à l'environnement), s'ajoutent des résistances acquises sous la pression de sélection des antibiotiques. Cela conduit à l'apparition de souches multirésistantes qu'il faut savoir identifier et suivre sur le plan épidémiologique.

Les bactériémies à *Pseudomonas aeruginosa* ne sont pas rares. Ainsi, le réseau Microbiologistes du Nord-Pas-de-Calais recense chaque année près de 250 bactériémies liées à cette espèce au sein des vingt centres qui constituent son réseau.

L'objectif principal de ce travail est de fournir une analyse descriptive des épisodes bactériémiques liés au bacille pyocyanique sur une période de cinq années consécutives (entre 2012 et 2016) au sein de deux centres hospitaliers régionaux, Arras et Valenciennes.

Grâce à l'exploitation de données cliniques et microbiologiques, il s'agit notamment de :

- Décrire la population concernée (moyenne d'âge, ratio homme/femme)
- Préciser l'origine communautaire ou nosocomiale des épisodes, ainsi que le point de départ de l'infection
- Identifier les facteurs de risque associés (comorbidités, présence de dispositifs invasifs)
- Mettre en évidence la gravité des épisodes (notion de sepsis sévère, mortalité à J10)
- Evaluer les taux de sensibilité aux antibiotiques et la proportion des souches multirésistantes.

L'objectif secondaire de cette étude est de comparer l'activité antibactérienne in vitro de deux nouvelles associations d'antibiotiques sur des souches cliniques sélectionnées au sein de la cohorte et présentant différents phénotypes de résistance. Pour cela, les CMI du ceftolozane-tazobactam et du ceftazidime-avibactam sont déterminées en parallèle de celles de deux molécules plus anciennes (le ceftazidime et le céfépime). Enfin, sur les souches catégorisées les plus résistantes, il s'agit de décrire plus précisément le mécanisme de résistance impliqué : présence de bêtalactamase à spectre élargi (BLSE), céphalosporinase hyperproduite, carbapénémase. Cette dernière étape nécessite le suivi des protocoles de détection établis par le CNR de la résistance aux antibiotiques.

CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODE

I. Population étudiée

Il s'agit d'une étude rétrospective des épisodes de bactériémies à *Pseudomonas aeruginosa*, entre janvier 2012 et décembre 2016 au sein de deux centres hospitaliers régionaux, Arras et Valenciennes.

A. Description des deux centres hospitaliers

Avec une capacité de 1913 lits, dont la moitié en court séjour, le Centre Hospitalier de Valenciennes représente l'offre de soins la plus significative au sud du département du Nord. Il a ainsi été choisi pour être l'hôpital de référence du bassin de vie en amont du CHRU de Lille et pour les autres hôpitaux du territoire de santé du Hainaut. Il s'agit du troisième établissement en importance de la région Hauts-de-France et l'un des trente plus importants hôpitaux de France.

Le Centre Hospitalier d'Arras, d'une capacité de 369 lits en Médecine – Chirurgie – Obstétrique, est un établissement public offrant une réponse aux besoins de santé d'un territoire de plus de 300 000 personnes, en plein cœur de l'Artois. L'établissement dispose d'un partenariat étroit avec le CHRU de Lille, ainsi qu'avec les structures médico-sociales du territoire.

B. Nombre d'épisodes

Ont été inclus dans l'étude tous les patients diagnostiqués avec une bactériémie à bacille pyocyanique et hospitalisés durant cette période, quels que soient l'âge, le mode d'entrée du patient et le service d'hospitalisation (y compris les patients en hémodialyse et en hôpital de jour d'hématologie). Les « récidives » ont été prises en compte, nous avons ainsi individualisé les épisodes lorsqu'il y avait plus de sept jours entre deux épisodes documentés.

Ainsi au cours de ces cinq années, 47 épisodes de bactériémies à *P.aeruginosa* ont été recensées pour le CH d'Arras (avec 45 patients) et 134 épisodes pour le CH de Valenciennes (avec 130 patients), soit un total de 181 épisodes pour 175 patients.

Ci-dessous est représenté le tableau de répartition des épisodes pour chaque année étudiée et selon l'établissement.

| Année étudiée | Nombre épisodes (nombre de patients) | |
|---------------|--------------------------------------|--------------|
| | Arras | Valenciennes |
| 2012 | 7 (7) | 22 (22) |
| 2013 | 4 (4) | 31 (31) |
| 2014 | 6 (6) | 26 (26) |
| 2015 | 9 (9) | 20 (19) |
| 2016 | 21 (19) | 35 (33) |

Tableau 20: Répartition des épisodes de l'étude

II. Matériel

A. Dossier patient

L'étude a nécessité un accès au dossier médical pour chaque patient, soit en version informatisée (logiciels Clinicom à Arras et Cerner Millenium à Valenciennes), soit en version papier pour certains dossiers archivés. Près de 80% des dossiers étaient informatisés, le recours aux archives a été nécessaire pour une trentaine d'épisodes. L'objectif était de retrouver des informations relatives aux séjours hospitaliers des patients, notamment le motif d'hospitalisation, l'historique médical ou encore la thérapeutique mise en place.

Pour les données biologiques, une consultation des logiciels de validation biologique (logiciel TD Synergy pour Arras et DxLab pour Valenciennes) a permis un recueil des données d'intérêt. Il s'agissait de documenter l'épisode de bactériémie avec l'antibiogramme de la souche isolée et de rechercher la présence éventuelle de la bactérie dans un autre prélèvement.

B. Souches bactériennes

Les souches de *P.aeruginosa* responsables des épisodes de bactériémie et conservées en tube leminor ont été récupérées pour les années 2015 et 2016 à Valenciennes, et pour l'année 2016 à Arras, soit un total de 66 souches.

III. Méthodes

A. Partie descriptive

1. Description des épisodes de bactériémies

Un tableau Excel a été réalisé pour répertorier les différents paramètres caractérisant chaque épisode de bactériémie inclus dans notre étude.

Pour chaque épisode, les données suivantes ont ainsi été recueillies :

Données relatives au patient :

- Nom et prénom
- Sexe
- Date de naissance
- Origine du patient (domicile, EHPAD ou hôpital)
- Motif d'hospitalisation
- Présence de comorbidités
- Service prescripteur de l'hémoculture
- Service d'hospitalisation (si différent du service prescripteur initial)
- Date d'entrée et de sortie
- Hospitalisation dans les 3 mois précédents (service et durée d'hospitalisation si possible)
- Prise d'antibiotiques dans les 3 mois précédents (molécule et durée du traitement si possible)
- Présence de dispositif invasif (sonde urinaire, cathéter...)
- Notion de leucopénie/neutropénie à l'entrée

Parmi les comorbidités, a été relevée la présence de pathologies sous-jacentes pertinentes dans un contexte de bactériémie (geste chirurgical récent, hémopathie, tumeur solide, pathologie respiratoire chronique, insuffisance rénale chronique, diabète, ulcères veineux chroniques...).

La neutropénie a été prise en compte quand le chiffre de polynucléaires neutrophiles était inférieur à 1.5 G/L ou lorsqu'il y avait une leucopénie avec un chiffre de globules blancs inférieur à 0.5 G/L, rendant la formule leucocytaire irréalizable.

Données relatives à l'épisode bactériémique :

- Date du prélèvement
- Porte d'entrée infectieuse
- Sévérité du sepsis
- Traitement antibiotique probabiliste
- Traitement antibiotique après documentation microbiologique
- Devenir du patient

Les points de départ des bactériémies ont été divisés en différentes catégories : urinaire, digestif, pulmonaire, cutané, cathéter, chambre implantable, autre matériel, infection de site opératoire et point de départ inconnu.

Le paramètre de sévérité a été relevé grâce au compte-rendu médical lorsque celui-ci indiquait des notions de choc septique, sepsis sévère, état de choc ou défaillance multi-viscérale.

Le devenir du patient a été évalué à J10 et J30 et catégorisé de quatre façons : patient décédé, patient sorti, patient transféré dans un autre établissement, patient toujours hospitalisé.

Données microbiologiques :

- Notion d'hémoculture monomicrobienne ou polymicrobienne (avec le ou les germe(s) associé(s))
- Présence d'un autre site documenté à bacille pyocyanique
- Antibiogramme

La sensibilité vis-à-vis des huit molécules antibiotiques suivantes a été renseignée : ticarcilline, pipéracilline, pipéracilline+tazobactam, ceftazidime, céfépime, imipénème, amikacine et ciprofloxacine. Chaque molécule a été signalée : S pour sensible, I pour intermédiaire, R pour résistante, et NT pour non testée.

2. Analyse statistique

L'exploitation statistique des données recueillies dans le tableur Excel a été réalisée grâce aux logiciels STATISTICA 10.0 et SPSS 18.0. Dans un premier temps, nous avons réalisé une analyse univariée de l'association entre différents facteurs de risque et la survenue d'un décès à J10 au moyen du test du Khi-deux. Le seuil de significativité retenu était celui de 5% ($p < 0.05$). Puis, nous avons effectué une analyse multivariée en intégrant l'ensemble des facteurs de risque retenus dans un modèle de régression logistique.

B. Partie technique

1. Détermination des CMI

Parmi les souches de collection, nous avons sélectionné des souches de différents phénotypes présentant une résistance à une ou plusieurs bêta-lactamines :

- 9 souches avec la ceftazidime touchée, associée ou non au céfépime et à l'imipénème résistants (CAZ R, FEP R/S, IMP R/S),
- 9 souches avec une pénicilline touchée (TIC R et/ou PIP R),
- 3 souches avec une résistance isolée à l'imipénème (impermeabilité),
- 6 souches multisensibles.

L'intérêt de cette sélection était d'étudier l'activité des deux nouvelles molécules (ceftazidime-avibactam et ceftolozane-tazobactam) vis-à-vis des souches résistantes aux céphalosporines classiquement utilisées pour la prise en charge du bacille pyocyanique (ceftazidime et céfépime) et de la comparer aux autres phénotypes servant de témoins négatifs.

Dans un premier temps, ces 18 souches ont été repiquées et incubées 18-24 h à $35 \pm 2^\circ\text{C}$ en aérobiose. Puis nous avons suivi les recommandations de l'EUCAST 2017 pour déterminer les CMI des quatre antibiotiques à tester : celles des deux nouvelles molécules (ceftazidime-avibactam et ceftolozane-tazobactam) en comparaison avec celles de deux anciennes molécules (ceftazidime et céfépime).

La CMI est la plus petite concentration en antibiotique capable in vitro d'empêcher la croissance d'un germe dans des conditions expérimentales définies. Pour la détermination des CMI, nous avons utilisé les bandelettes E-test suivantes :

- Ceftazidime TZ (0.016-256) Biomérieux®
- Cefepime PM (0.016-256) Biomérieux®
- Ceftolozane/tazobactam C/T (0.016-256) Liofilchem®
- Ceftazidime/avibactam CZA (0.016-256) Liofilchem®

Une bandelette E-test (ou Epsilon-test) se présente sous la forme d'une bande de cellulose imprégnée d'antibiotique, à appliquer sur la surface d'un milieu gélosé préalablement ensemencé. L'une des faces de la bandelette représente une échelle de lecture des CMI en $\mu\text{g/ml}$, l'autre face est imprégnée avec un gradient exponentiel d'antibiotique séché et stabilisé. Une fois la bandelette déposée sur la gélose ensemencée, l'antibiotique diffuse instantanément sur la surface de cette gélose. Après incubation, on observe une ellipse d'inhibition qui permet une lecture directe de la CMI. La valeur de la CMI correspond à la graduation à la limite de la zone d'inhibition de croissance de la bactérie étudiée.

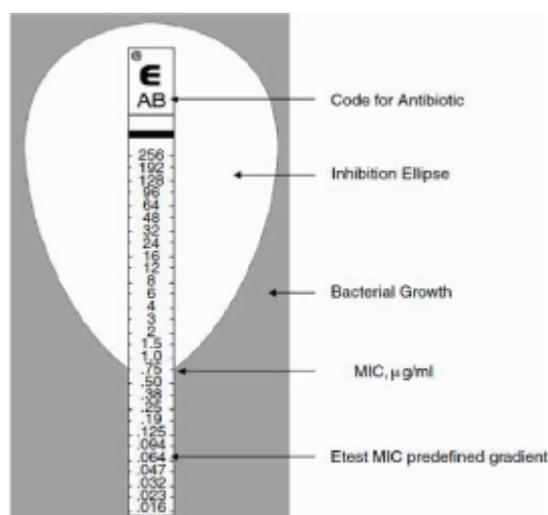


Figure 20: Principe du E-test

A partir d'une culture fraîche de bacille pyocyanique, nous avons donc réalisé une suspension bactérienne en solution saline équivalente au standard Mc Farland 0,5. Nous avons ensemencé une gélose Muller Hinton à l'aide de cette suspension et une fois la gélose sèche, nous y avons déposé les quatre bandelettes E-test. Puis nous avons effectué les lectures de CMI après incubation de ces milieux 18-24 h à 35 \pm 2°C en aérobiose.

La souche *P.aeruginosa* ATCC 27853 a été utilisée comme contrôle de qualité pour valider nos manipulations, l'analyse de détermination des CMI étant sous accréditation.

2. Etude des mécanismes de résistance pour les souches les plus résistantes

a) Tests de synergie

Pour les 9 souches catégorisées CAZ R et FEP R/S, nous avons voulu déterminer plus précisément le mécanisme de résistance impliqué. Nous avons donc suivi le protocole du CNR de la résistance aux antibiotiques concernant la détection de BLSE grâce à des tests de synergie.

En effet, les tests de synergie représentent un bon moyen pour distinguer les souches résistantes à la ceftazidime (CMI > 8 µg/mL) qui surproduisent la céphalosporinase naturelle AmpC (> 90%) de celles qui produisent une BLSE (< 10%).

Le principe des tests de synergie est le suivant : la majorité des BLSE de classe A sont inhibées par l'acide clavulanique, tandis que la plupart des BLSE de classe D (ou ES-OXA) sont inhibées par l'imipénème et plus rarement par l'acide clavulanique. Il s'agit toutefois d'une méthode de criblage, pouvant être mise en défaut en cas de production simultanée de plusieurs bêtalactamases par une même souche.

Des paires constituées de disques « antibiotique test/inhibiteur de bêtalactamase » sont donc déposées sur gélose MH préalablement ensemencée avec la souche à tester, afin que les zones d'inhibition autour des disques de chaque paire soient distantes d'environ 5 mm l'une de l'autre. La disposition des disques doit donc être calculée en fonction des résultats de l'antibiogramme initial, dans le but d'optimiser la lecture des synergies. Au-delà d'une certaine distance, les synergies ne peuvent plus apparaître.

L'utilisation d'une gélose MH additionnée de 1000 mg/L, voire 2000 mg/L de cloxacilline facilite la détection des BLSE en cas d'hyperproduction de céphalosporinase. En effet, la cloxacilline va agir en inhibant l'AmpC et pouvoir ainsi dévoiler une BLSE masquée.

Deux étapes préalables à la réalisation des tests de synergie ont donc été nécessaires. Nous avons réalisé un antibiogramme sur milieu MH classique afin de recalculer les diamètres d'inhibition autour des disques de ceftazidime, céfépime et imipénème. Nous avons également préparé des géloses MH additionnées de cloxacilline à forte concentration (1000 mg/L).

Puis, à partir des cultures fraîches, un inoculum à 0.5 McF a été préparé et utilisé pour ensemencer la gélose MH contenant la cloxacilline à 1000 mg/L. Les disques d'antibiotiques ont ensuite été disposés par paire, comme indiqué sur le schéma suivant du CNR, afin de mettre en évidence des synergies révélatrices de la

présence de BLSE. La lecture et l'interprétation des résultats ont été possibles après incubation des milieux 18-24 h à 35+/-2°C en aérobiose.

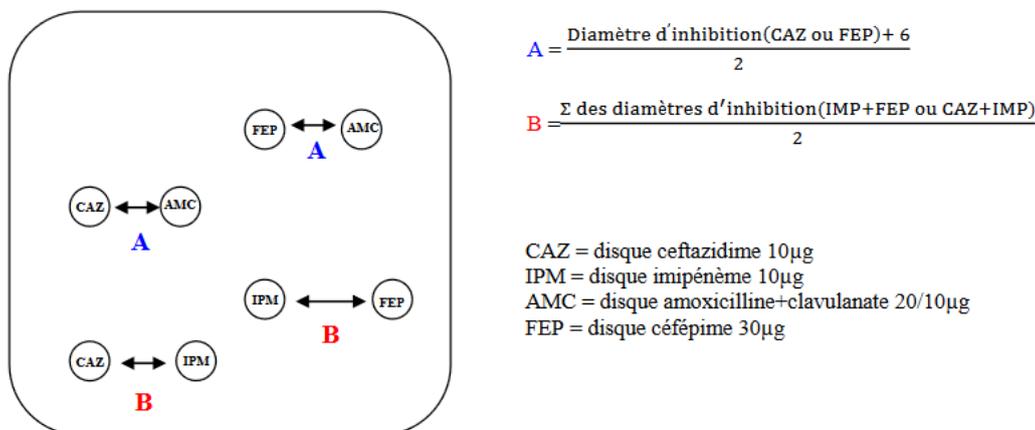


Figure 21: Principe des tests de synergie d'après le CNR de la résistance aux antibiotiques

Les synergies apparaissent sous la forme d'un élargissement de la zone d'inhibition de l'antibiotique test, en direction du disque de l'inhibiteur.

Ainsi, la présence d'une synergie entre les molécules AMC/CAZ, AMC/FEP, CAZ/IPM et/ou FEP/IPM est en faveur d'une BLSE. L'absence de synergie est évocatrice d'une céphalosporinase hyperproduite (si la souche est par ailleurs bien sensible à l'imipénème).

b) Recherche de carbapénémase

Une des 9 souches précédentes avait pour phénotype de résistance : CAZ R/FEP R/IPM R, nous avons donc complété les explorations à la recherche d'une carbapénémase. Pour cela, nous avons réalisé un E-test® MBL IP/IPI.

Ce E-test correspond à une bandelette avec d'un côté un gradient d'imipénème seul (IP) et de l'autre un gradient imipénème associé avec de l'EDTA (IPI). Le rôle de l'EDTA est d'inhiber les métallobétalactamases, ce test permet donc la détection des souches productrices de carbapénémases de classe B uniquement.

Un ratio supérieur ou égal à 8 entre la valeur de la CMI lue du côté IP et la valeur de la CMI lue du côté IPI permet de conclure à la présence d'une carbapénémase de classe B ou MBL.



Figure 22: Principe du E-test® MBL IP/IPI

Afin de compléter ce résultat, nous avons ensuite effectué une PCR GenCarba sur cette souche, ce qui nous a permis de mettre en évidence une carbapénémase de type VIM.

CHAPITRE IV : RESULTATS

I. Partie descriptive

A. Analyse des épisodes de bactériémies

1. Données d'incidence

- Nombre d'épisodes de bactériémies à *Pseudomonas aeruginosa* pour la période d'étude (2012-2016) : n = 181
- Nombre de journées d'hospitalisation pour la même période : N = 2 613 584 JH
- Soit une incidence pour 1000 JH = 0.07

L'incidence des bactériémies à bacille pyocyanique pour notre période d'étude était de 0.07/1000 JH.

2. Données relatives au patient et à l'épisode bactériémique

▪ Moyenne d'âge et ratio homme-femme

Les 181 bactériémies concernaient 175 patients, on retrouvait 103 hommes (59%) et 72 femmes (41%), soit un sex-ratio H/F égal à 1,43. La moyenne d'âge était de 69 ans, avec des patients âgés de 5 jours à 101 ans. L'histogramme ci-dessous montre que l'incidence des bactériémies augmente de façon exponentielle avec l'âge de nos patients.

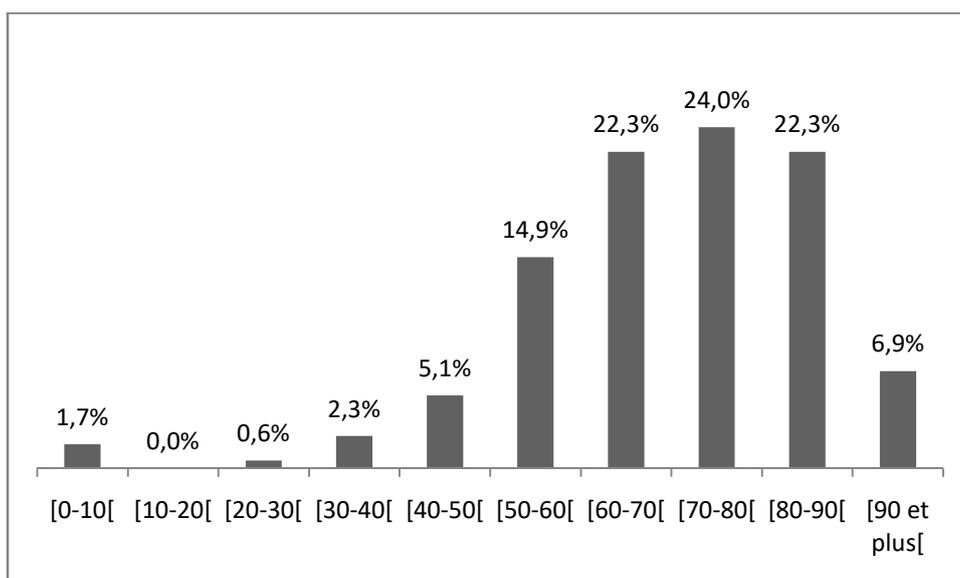


Figure 23: Répartition des âges des patients par tranche de 10 ans (%)

▪ Provenance du patient

A l'entrée, les patients venaient en majorité de leur domicile (n=145 ; 80%), suivi par une structure hospitalière (n=23 ; 13%) ou par un EHPAD (n=13 ; 7%).

Les structures hospitalières correspondaient aux centres hospitaliers d'Arras et de Valenciennes, à d'autres centres hospitaliers publics ou à des cliniques privées.

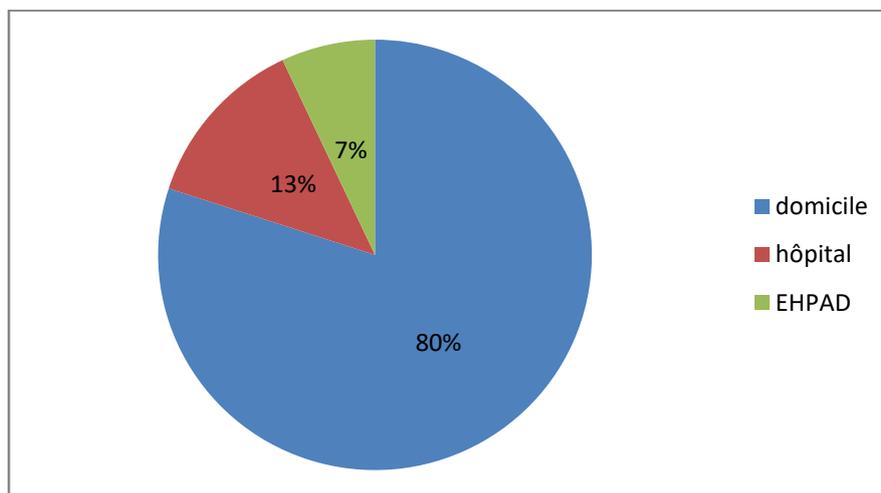


Figure 24: Provenance des patients pour chaque épisode

▪ Origine de l'infection

Les bactériémies acquises plus de 48 heures après l'admission représentaient 49% des épisodes (88 infections « nosocomiales ») et celles acquises dans les 48 premières heures concernaient 51% des épisodes (n=93).

Parmi ces 93 épisodes acquis dans les deux premiers jours d'hospitalisation, 31 seraient en réalité des « infections associées aux soins » (patients dialysés, séance de chimiothérapie, actes invasifs...) et les 62 épisodes restant rentreraient donc dans la catégorie des « infections communautaires ». Ce nombre d'épisodes de bactériémies associées aux soins est probablement sous-estimé du fait du manque d'informations disponibles dans certains dossiers cliniques.

▪ **Service prescripteur de l'hémoculture**

Les principaux services prescripteurs étaient les services de médecine (n=54 ; 30%), les urgences (n=44 ; 24%), l'oncologie et l'hématologie (n=35 ; 19%) ainsi que les services de soins intensifs (n=27 ; 15%).

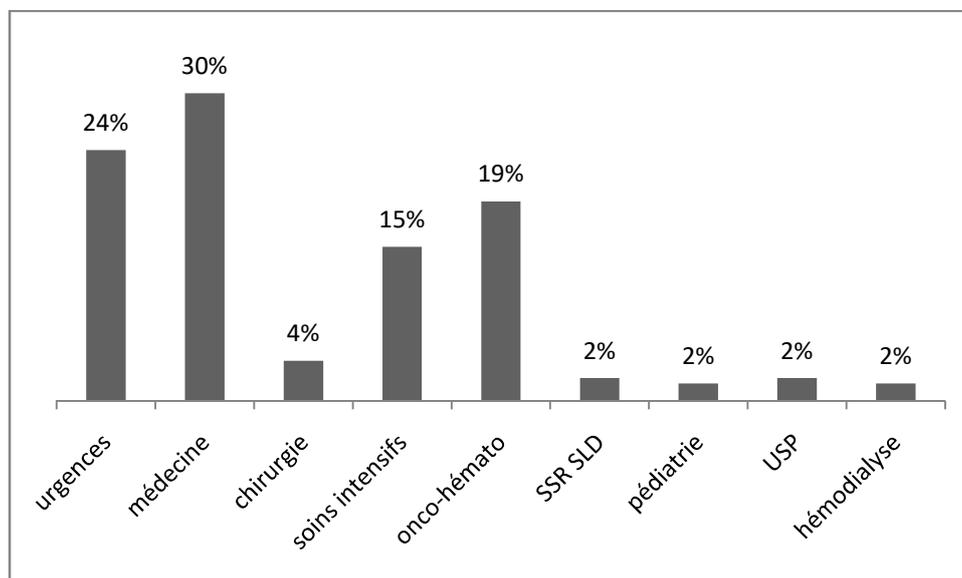


Figure 25: Répartition des services prescripteurs (en %)

▪ **Service d'hospitalisation**

Les patients étaient majoritairement hospitalisés en médecine (n=76 ; 42%), en soins intensifs (n=34 ; 19%) et en oncologie ou en hématologie (n= 33 ; 18%).

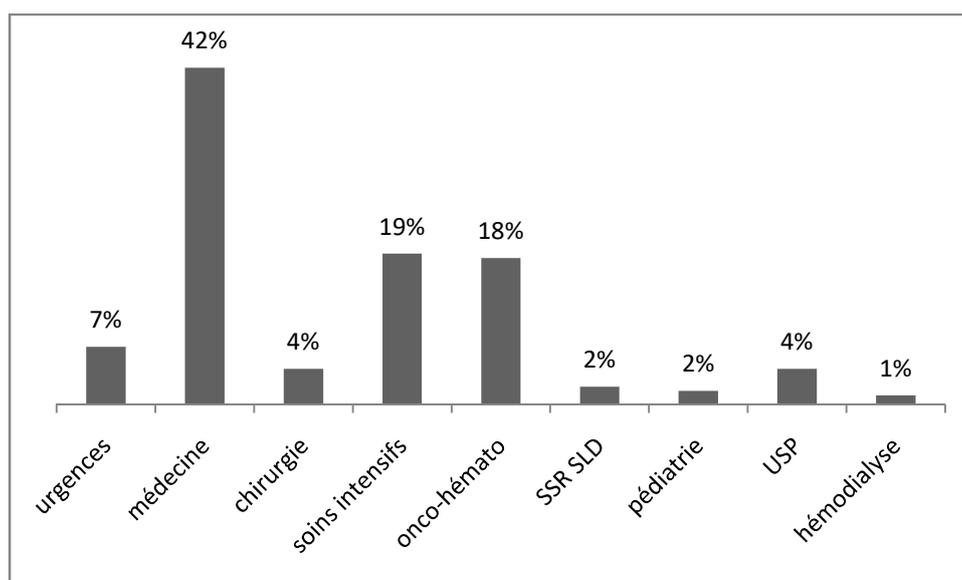


Figure 26: Service d'hospitalisation (en %)

- **Motif d'hospitalisation**

Le motif d'hospitalisation était le plus souvent infectieux (n= 79 ; 44%).

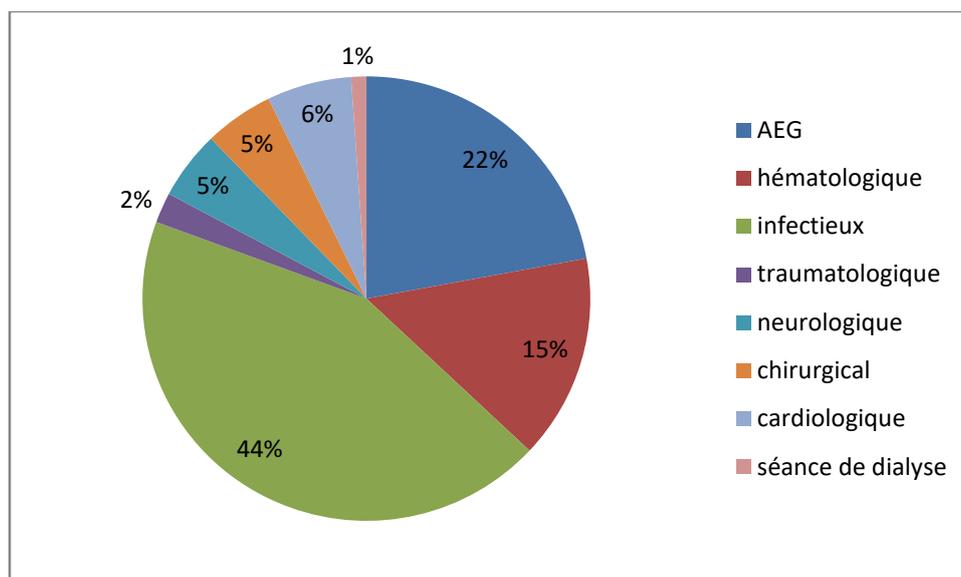


Figure 27: Motif d'hospitalisation

- **Sévérité et neutropénie**

L'infection était considérée comme sévère dans 28.7% des cas (n=52) et associée à une neutropénie dans 24.3% des épisodes (n=44).

- **Hospitalisation dans les 3 mois précédents l'épisode de bactériémie**

Une hospitalisation d'une durée supérieure à deux jours, dans les 3 mois précédents l'épisode de bactériémie, était mise en évidence dans 44% des cas (n=80).

- **Antibiothérapie dans les 3 mois précédents l'épisode de bactériémie**

Une antibiothérapie reçue dans les 3 mois précédent l'épisode de bactériémie a été retrouvée pour 34% des épisodes (n=62). Les principales classes d'antibiotiques prescrites étaient les suivantes : bêtalactamines, macrolides, aminosides et fluoroquinolones.

Sur les 17 épisodes recensés avec un phénotype « BMR » (c'est-à-dire avec la ceftazidime résistante), 11 patients avaient reçu soit une céphalosporine de 3^{ème} génération, soit une fluoroquinolone dans les 90 jours au préalable, autrement dit dans 65% des cas.

▪ **Comorbidités**

93% des patients de notre étude présentaient au moins une comorbidité (n=163). Dans notre cohorte, on observait ainsi :

- 82 patients avec une seule comorbidité (47%),
- 81 patients avec plusieurs comorbidités (46%),
- 11 patients sans pathologies sous-jacentes (6%),
- et 1 dernier patient non suivi sur le plan médical (aucun antécédent connu).

La pathologie sous-jacente la plus fréquente était une pathologie maligne (tumeur solide ou hémopathie) pour 87 patients. Ci-dessous on retrouve un tableau qui détaille l'ensemble des comorbidités observées dans notre étude.

| Type de comorbidité | Nombre (%) |
|---------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Pathologie cancéreuse | 87 (49.7%) (dont 36 hémopathies et 51 cancers solides) |
| Diabète | 43 (24.6%) |
| Pathologie cardiovasculaire | 35 (20%) |
| Pathologie pulmonaire chronique | 24 (13.7%) (dont 14 BPCO, 4 asthme et 6 autres pathologies de type insuffisance respiratoire chronique, bronchite chronique...) |
| Insuffisance rénale chronique | 24 (13.7%) |
| Pathologies neurologiques ou neurodégénératives | 23 (13.1%) |
| Pathologies cutanées (escarres, ulcères veineux chroniques) | 16 (9.1%) |
| Cirrhose | 11 (6.3%) |
| <u>Autres :</u> | |
| Obésité | 7 (4%) |
| Antécédent chirurgical récent | 6 (3.4%) |
| Prématurité | 1 (0.6%) |
| Pathologie dysimmunitaire (psoriasis et pemphigoïde bulleuse) | 2 (1.1%) |

Tableau 21: Comorbidités observées chez nos 175 patients

▪ **Porte d'entrée infectieuse**

Les portes d'entrée les plus fréquentes étaient pulmonaires (n=32 ; 18%), urinaires (n=25 ; 14%), digestives (n=24 ; 13%), mais non clairement identifiées dans 41% des cas (n=75). Ces épisodes aux portes d'entrées non renseignées impliquaient des patients avec une pathologie maligne dans 64% des cas (n=48) et une neutropénie était associée dans 37% des cas (n=28).

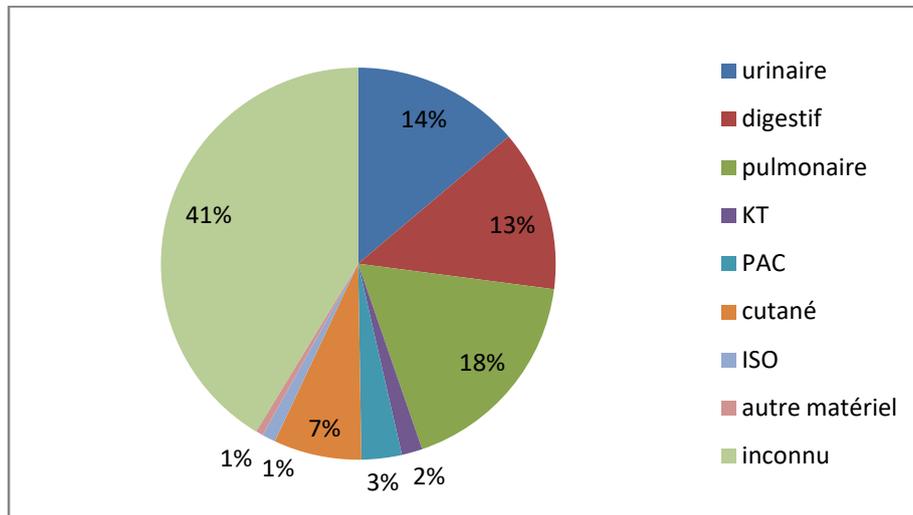


Figure 28: Détail de la répartition des portes d'entrée infectieuses

Concernant les infections du site opératoire (ISO), il s'agissait de complications post-opératoires dans un contexte de spondylodiscite. Pour l'autre matériel, on retrouvait une infection en lien avec la pose d'un défibrillateur.

▪ **Autre site documenté**

La documentation d'au moins un autre site que l'hémoculture avec le bacille pyocyanique était observée dans seulement 35% des cas (n=64). Parmi ces 64 épisodes de bactériémies documentées avec un autre site ou plus, on retrouvait toutefois le lien avec la porte d'entrée infectieuse suspectée dans 75% des cas (n=48).

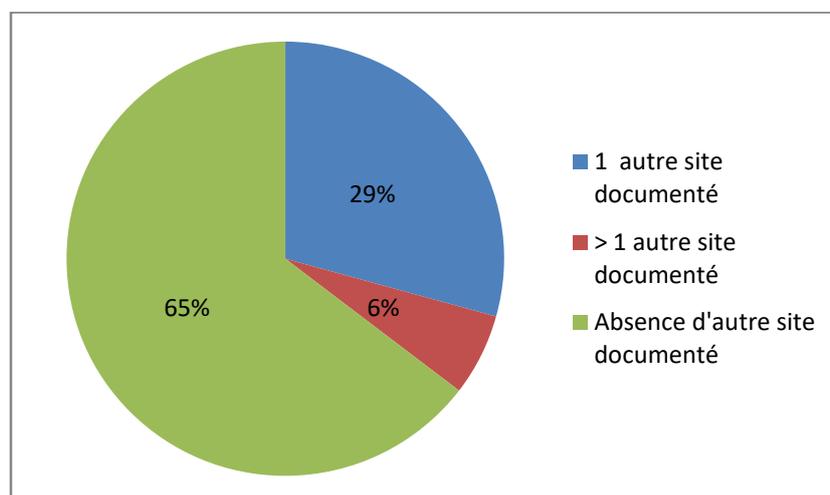


Figure 29: Détail de la documentation d'un autre site avec la même souche

Ci-dessous, on retrouve le détail de la répartition des autres sites documentés. Les sites urinaires (32 ECBU), pulmonaires (17 prélèvements de type liquide broncho-alvéolaire, aspiration endo-trachéale ou aspiration bronchique), les cathéters (10 KT) et les sites digestifs (9 prélèvements de type bile, liquide d'ascite ou liquide péritonéal) étaient les principaux représentés.

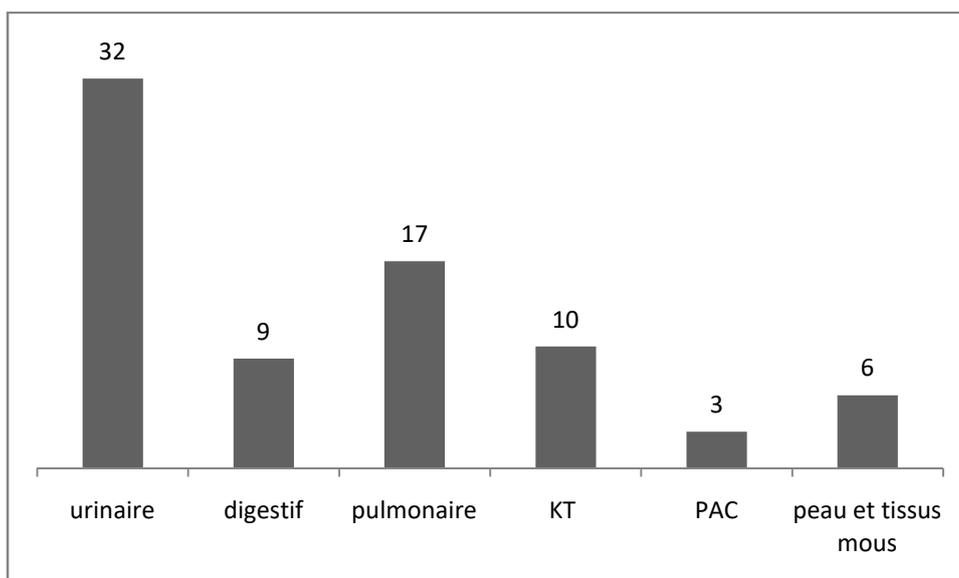


Figure 30: Détail de la répartition des autres sites documentés avec la même souche (n=77)

▪ **Dispositif invasif**

On retrouvait un ou plusieurs dispositifs invasifs pour 91 des épisodes (soit 50% des cas). Le tableau suivant indique le détail de ces dispositifs invasifs.

| Type de dispositif invasif | Nombre de dispositifs |
|------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Intubation/ventilation ou trachéotomie ou endoprothèse trachéale | 24 |
| Sonde urinaire ou pyélostomie | 27 |
| KT | 23 |
| PAC | 19 |
| Stomie digestive ou endoprothèse biliaire | 19 |
| Pacemaker ou défibrillateur | 5 |
| Dérivation ventriculo-péritonéale | 1 |

Tableau 22: Types de dispositifs invasifs

Parmi les 25 bactériémies à porte d'entrée urinaire, on retrouvait la présence d'une sonde dans 15 des cas (soit 60%). Concernant les 32 épisodes avec une porte d'entrée pulmonaire, dans 9 cas il y avait intubation-ventilation des patients (soit 28% des cas). Enfin, sur les 24 bactériémies à porte d'entrée digestive, on retrouvait un dispositif invasif de type digestif pour 6 cas (soit 25%).

▪ **Devenir à J10 et à J30**

A J10, 45% des patients étaient toujours hospitalisés (n=82) et 22 % décédés (n=39). 46 patients sortaient d'hospitalisation (25%) et 14 étaient transférés vers un autre établissement (8%). Puis, sur les 82 patients restant hospitalisés au dixième jour, 20% décédaient entre J10 et J30 (n=16), 22% restaient toujours hospitalisés à J30 (n=18), les autres étant sortis (n=43 ; 52%) ou transférés vers un autre

établissement de soins (n=5 ; 6%). Au total, la part des décès à J30 était donc de 30% (n=55).

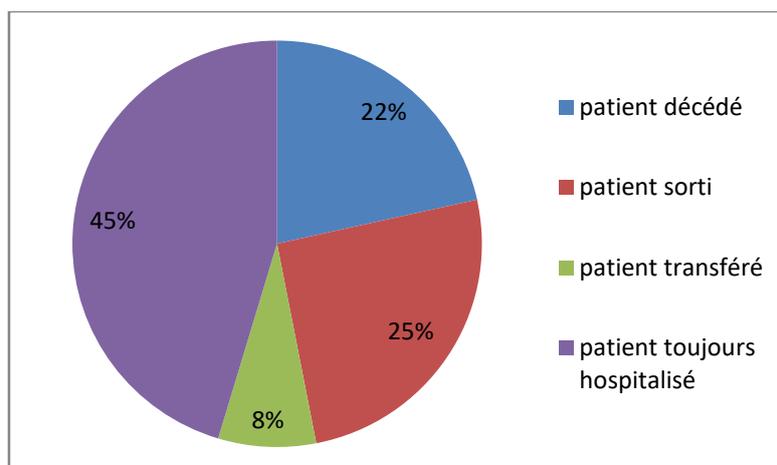


Figure 31: Devenir des patients à J10

▪ **Les « récidives » ou persistance de la bactériémie**

Nous avons choisi d'individualiser les épisodes lorsqu'il y avait plus de sept jours entre deux épisodes documentés. Six patients ont présenté deux épisodes de bactériémies au cours de la période d'étude. Un dispositif invasif (sonde JJ) était impliqué dans une de ces récidives. On observait une neutropénie dans quatre cas et deux patients décédaient à J10 du second épisode.

| Patient | Séjour (motif d'hospitalisation) | Date 1 ^{ère} hémoculture | Date 2 ^{nde} hémoculture | Délai entre les 2 épisodes | Contexte particulier | Phénotype | Décès à J10 après le 2 nd épisode |
|-------------|------------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------|----------------------|----------------------------|----------------------------------------------|
| 1 (Mme DE) | Même séjour (motif infectieux) | 12/12/2014 | 22/01/2015 | 41 jours | sonde JJ | BMR dans les 2 cas | non |
| 2 (Mr OG) | Même séjour (motif infectieux) | 13/05/2014 | 28/05/2014 | 15 jours | non | Sauvage puis PIP R + IMP R | oui |
| 3 (Mr BO) | 2 séjours différents (motifs infectieux) | 20/06/2016 | 18/07/2016 | 28 jours | neutropénie | PIP I puis BMR | oui |
| 4 (Mr LAM) | 2 séjours différents (motifs hémato) | 08/09/2016 | 28/09/2016 | 20 jours | neutropénie | Sauvage puis IMP I | non |
| 5 (Mme MA) | Même séjour (motif infectieux) | 18/04/2016 | 27/04/2016 | 9 jours | neutropénie | Sauvage puis TIC R | non |
| 6 (Mme LAR) | 2 séjours différents (motifs hémato) | 21/09/2016 | 09/10/2016 | 18 jours | neutropénie | Sauvage dans les 2 cas | non |

Tableau 23: Descriptif des bactériémies récurrentes chez 6 patients de l'étude

3. Données microbiologiques

▪ Hémoculture polymicrobienne ou monomicrobienne

Les hémocultures étaient majoritairement monomicrobiennes (n=136 ; trois quart des cas) et polymicrobiennes pour 45 épisodes (un quart des cas). Pour ces hémocultures polymicrobiennes, *Pseudomonas aeruginosa* (PA) était le plus souvent associé à une entérobactérie et on retrouvait une notion de sepsis sévère associée dans 40% des cas (n=18). Ci-dessous, l'histogramme montre le détail des germes associés dans les hémocultures polymicrobiennes.

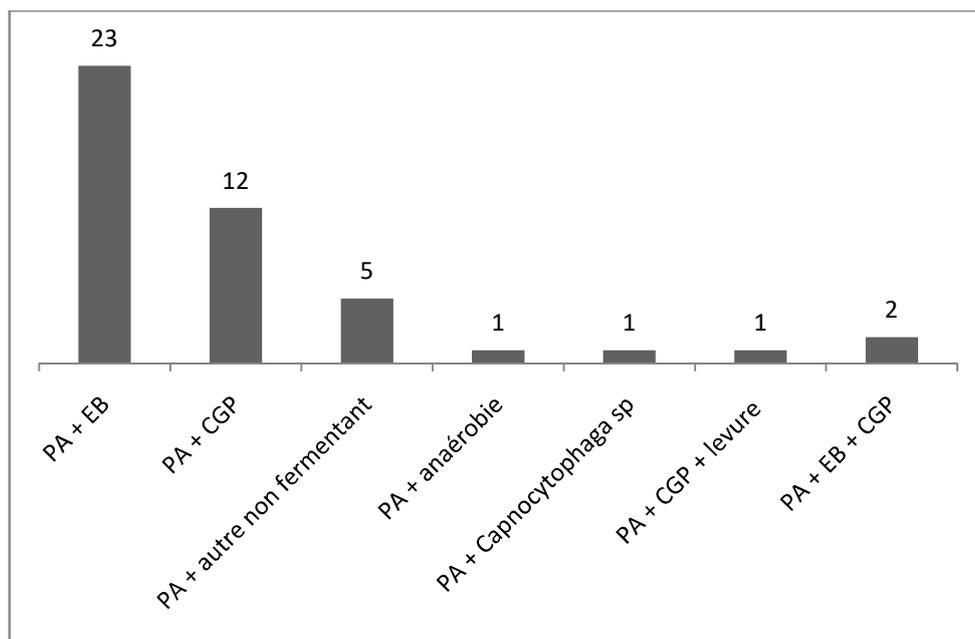


Figure 32 : Détail des germes retrouvés dans les hémocultures polymicrobiennes (n=45)

On trouvait ainsi :

- Parmi les entérobactéries (EB): *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii*, *Enterobacter cloacae*, *E.aerogenes*, *Raoultella planticola*, *Serratia marcescens*
- Parmi les germes non fermentants : *Sphingomonas paucimobilis*, *Acinetobacter pittii*, *A.baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*
- Parmi les cocci à Gram positif (CGP) : *Staphylococcus aureus*, *S.haemolyticus*, *S.epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *S.oralis*, *S.constellatus*, *Enterococcus faecalis*, *E.casseliflavus*
- Parmi les anaérobies : *Peptostreptococcus micros*
- Parmi les levures : *Candida sp*

▪ Interprétation des antibiogrammes par molécule et par année

La sensibilité des souches de *P.aeruginosa* pour l'ensemble de l'étude était la suivante : ticarcilline (65.6%), pipéracilline (84.5%), tazocilline (88.1%), ceftazidime (90.6%), céfépime (92.8%), imipénème (83.4%), amikacine (91.7%) et ciprofloxacine (85.1%).

Ci-dessous, sont représentés en détail les taux de sensibilité et résistance pour chaque molécule antibiotique testée et par année d'étude.

| Ticarcilline | S | R |
|--------------------------|--------------------|-------------------|
| 2012 (n=29) | 19 (65.5%) | 10 (34.5%) |
| 2013 (n=35) | 25 (71.4%) | 10 (28.6%) |
| 2014 (n=32) | 18 (56.25%) | 14 (43.75%) |
| 2015 (n=26) | 14 (53.8%) | 12 (46.2%) |
| 2016 (n=35) | 27 (77.1%) | 8 (22.9%) |
| 2012-2016 (n=157) | 103 (65.6%) | 54 (34.4%) |

Tableau 24: Taux de sensibilité et résistance de la ticarcilline

| Pipéracilline | S | R |
|--------------------------|--------------------|-------------------|
| 2012 (n=29) | 26 (89.7%) | 3 (10.3%) |
| 2013 (n=35) | 30 (85.7%) | 5 (14.3%) |
| 2014 (n=32) | 28 (87.5%) | 4 (12.5%) |
| 2015 (n=29) | 22 (75.9%) | 7 (24.1%) |
| 2016 (n=56) | 47 (83.9%) | 9 (16.1%) |
| 2012-2016 (n=181) | 153 (84.5%) | 28 (15.5%) |

Tableau 25: Taux de sensibilité et résistance de la pipéracilline

| Tazocilline | S | R |
|--------------------------|--------------------|-------------------|
| 2012 (n=29) | 26 (89.7%) | 3 (10.3%) |
| 2013 (n=35) | 31 (88.6%) | 4 (11.4%) |
| 2014 (n=32) | 28 (87.5%) | 4 (12.5%) |
| 2015 (n=29) | 24 (82.8%) | 5 (17.2%) |
| 2016 (n=52) | 47 (90.4%) | 5 (9.6%) |
| 2012-2016 (n=177) | 156 (88.1%) | 21 (11.9%) |

Tableau 26: Taux de sensibilité et résistance de la tazocilline

| Ceftazidime | S | R |
|--------------------------|--------------------|------------------|
| 2012 (n=29) | 27 (93.1%) | 2 (6.9%) |
| 2013 (n=35) | 33 (94.3%) | 2 (5.7%) |
| 2014 (n=32) | 30 (93.75%) | 2 (6.25%) |
| 2015 (n=29) | 24 (82.8%) | 5 (17.2%) |
| 2016 (n=56) | 50 (89.3%) | 6 (10.7%) |
| 2012-2016 (n=181) | 164 (90.6%) | 17 (9.4%) |

Tableau 27: Taux de sensibilité et résistance de la ceftazidime

| Céfépime | S | R |
|--------------------------|--------------------|------------------|
| 2012 (n=29) | 28 (96.5%) | 1 (3.5%) |
| 2013 (n=35) | 34 (97.1%) | 1 (2.9%) |
| 2014 (n=32) | 30 (93.75%) | 2 (6.25%) |
| 2015 (n=29) | 25 (86.2%) | 4 (13.8%) |
| 2016 (n=56) | 51 (91.1%) | 5 (8.9%) |
| 2012-2016 (n=181) | 168 (92.8%) | 13 (7.2%) |

Tableau 28: Taux de sensibilité et résistance du céfépime

| Imipénème | S | I | R |
|--------------------------|--------------------|-----------------|-------------------|
| 2012 (n=29) | 25 (86.2%) | 1 (3.5%) | 3 (10.3%) |
| 2013 (n=35) | 28 (80%) | 3 (8.6%) | 4 (11.4%) |
| 2014 (n=32) | 25 (78.1%) | 1 (3.1%) | 6 (18.8%) |
| 2015 (n=29) | 25 (86.2%) | 2 (6.9%) | 2 (6.9%) |
| 2016 (n=56) | 48 (85.7%) | 0 (0%) | 8 (14.3%) |
| 2012-2016 (n=181) | 151 (83.4%) | 7 (3.9%) | 23 (12.7%) |

Tableau 29: Taux de sensibilité et résistance de l'imipénème

| Amikacine | S | I | R |
|--------------------------|--------------------|-----------------|------------------|
| 2012 (n=29) | 27 (93.1%) | 0 (0%) | 2 (6.9%) |
| 2013 (n=35) | 32 (91.4%) | 1 (2.9%) | 2 (5.7%) |
| 2014 (n=32) | 28 (87.5%) | 2 (6.25%) | 2 (6.25%) |
| 2015 (n=29) | 27 (93.1%) | 1 (3.45%) | 1 (3.45%) |
| 2016 (n=56) | 52 (92.9%) | 0 (0%) | 4 (7.1%) |
| 2012-2016 (n=181) | 166 (91.7%) | 4 (2.2%) | 11 (6.1%) |

Tableau 30: Taux de sensibilité et résistance de l'amikacine

| Ciprofloxacine | S | R |
|--------------------------|--------------------|-------------------|
| 2012 (n=29) | 25 (86.2%) | 4 (13.8%) |
| 2013 (n=35) | 30 (85.7%) | 5 (14.3%) |
| 2014 (n=32) | 26 (81.25%) | 6 (18.75%) |
| 2015 (n=29) | 25 (86.2%) | 4 (13.8%) |
| 2016 (n=56) | 48 (85.7%) | 8 (14.3%) |
| 2012-2016 (n=181) | 154 (85.1%) | 27 (14.9%) |

Tableau 31: Taux de sensibilité et résistance de la ciprofloxacine

Nous avons voulu comparer les taux de résistance de notre effectif dans la période d'étude à ceux globalisés tous sites confondus pour les deux établissements. Les souches isolées des hémocultures apparaissent plus sensibles pour la ticarcilline, la ceftazidime et la ciprofloxacine.

| Comparaison des taux de résistance (I+R) pour les deux CH – Période 2012-2016 | | |
|--------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|-----------------------------------|
| Molécule | Toutes souches (3031) | Souches hémocultures (181) |
| Ticarcline | 45.8% | 34.4% |
| Ceftazidime | 14.1% | 9.4% |
| Imipénème | 18.2% | 16.6% |
| Amikacine | 8.4% | 8.3% |
| Ciprofloxacine | 18.7% | 14.9% |

Tableau 32: Comparaison des taux de résistance des souches d'hémocultures aux souches tous sites confondus

▪ **Interprétation des antibiogrammes par phénotype de résistance**

De manière consensuelle, le Centre de Coordination de la Lutte contre les Infections Nosocomiales (CCLIN Paris Nord) a établi que l'identification d'une souche de bacille pyocyanique présentant une résistance à la ceftazidime, que ce soit en situation d'infection ou de portage, devait conduire à la mise en place de précautions complémentaires contacts (renforcement de l'hygiène des mains, isolement en chambre seule, matériel dédié). Dans les hôpitaux d'Arras et de Valenciennes, ces souches sont ainsi catégorisées « BMR » (pour bactéries multirésistantes) et leur détection fait l'objet d'un déclenchement de mesures d'hygiène complémentaires dans le service d'hospitalisation.

Parmi nos 181 épisodes, on retrouvait 17 souches considérées « BMR », c'est-à-dire présentant une ceftazidime résistante (9.4% des cas). Parmi ces 17 souches, 2 souches étaient totorésistantes vis-à-vis des 8 molécules antibiotiques (ticarcilline, pipéracilline, tazocilline, ceftazidime, céfépime, imipénème, amikacine et ciprofloxacine).

4. Traitement

▪ **Description globale du traitement administré**

En traitement probabiliste, une association d'antibiotiques était choisie pour 53.6% des épisodes et une monothérapie dans 35.9% des cas. Après documentation, il y avait 44.8% d'associations et 21.5% de monothérapies, mais le traitement était inconnu dans un quart des épisodes.

| | Traitement initial (n=181) | Traitement après documentation (n=181) |
|-----------------------|-------------------------------|-------------------------------------------|
| Caractéristiques | n (%) | n (%) |
| Association | 97 (53.6%) | 81 (44.8%) |
| Monothérapie | 65 (35.9%) | 39 (21.5%) |
| Absence de traitement | 11 (6.1%) | 16 (8.8%) |
| Traitement inconnu | 8 (4.4%) | 45 (24.9%) |

Tableau 33: Choix du traitement en probabiliste et après documentation

Dans le tableau suivant, nous retrouvons le détail des molécules prescrites en stratégie probabiliste et après documentation microbiologique.

| Molécules prescrites | Traitement renseigné en probabiliste (n=160) | Traitement renseigné après documentation (n=120) |
|--------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| Total bêta-lactamines dont : | 147 (92%) | 113 (94%) |
| Pénicilline sans activité antipityocyanique (amoxicilline, cloxacilline, oracilline) | 3 | 1 |
| Pénicilline à activité antipityocyanique (piperacilline, ticarcilline, aztréonam) | 3 | 1 |
| Pénicilline + IBL non antipityocyanique (augmentin) | 20 | 3 |
| Pénicilline + IBL à activité antipityocyanique (tazocilline) | 39 | 41 |
| C3G non antipityocyanique (cefotaxime, ceftriaxone) | 55 | 11 |
| C3G antipityocyanique (ceftazidime) | 8 | 17 |
| C4G (céfépime) | 4 | 21 |
| Carbapénème (imipénème, méropénème) | 15 | 18 |
| Total fluoroquinolones dont : | 38 (24%) | 36 (30%) |
| Fluoroquinolone non antipityocyanique (ofloxacine) | 5 | 3 |
| Fluoroquinolone à activité antipityocyanique (ciprofloxacine, lévofloxacine) | 33 | 33 |
| Aminosides | 43 (27%) | 45 (38%) |
| Colimycine | 5 (3%) | 5 (4%) |
| Total autres molécules dont : | 33 (21%) | 10 (8%) |
| Macrolides | 3 | 0 |
| Antianaérobie ou antifongique | 17 | 5 |
| Anti cocci à Gram positif | 12 | 5 |
| Bactrim | 1 | 0 |

Tableau 34: Détail des molécules reçues en probabiliste et après documentation

▪ **Notion de traitement actif ou inactif sur le bacille pyocyanique**

Pour l'analyse du traitement antibiotique prescrit, nous avons cherché les cas où il y avait au moins une molécule active sur le bacille pyocyanique en nous appuyant sur les résultats de l'antibiogramme de chaque souche.

Quand nous nous retrouvons face à une monothérapie par aminoside, le traitement était considéré comme inadapté. Bien qu'une monothérapie par ciprofloxacine soit contestable du fait du risque accru d'émergence de résistance, nous avons choisi de positionner ce traitement comme étant actif contre *P.aeruginosa*. Ce n'était pas le cas des monothérapies par lévofloxacine. Effectivement, aucune recommandation dans la littérature ou dans les consensus de thérapeutiques n'évoque les

monothérapies avec cette molécule, aussi nous avons préféré catégoriser ce traitement en inactif.

| | Traitement probabiliste renseigné (n = 160) | Traitement renseigné après documentation (n = 120) |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| Traitement actif sur le bacille pyocyanique (au moins une molécule à activité antipyocyanique) | 66 (41.3%) Dont : -50 associations -16 monothérapies | 101 (84.2%) Dont : -74 associations -27 monothérapies |
| Traitement inactif sur le bacille pyocyanique (absence de molécule à activité antipyocyanique) | 94 (58.7%) Dont : -45 associations -49 monothérapies | 19 (15.8%) Dont : -7 associations -12 monothérapies |

Tableau 35: Proportions de traitements actifs et inactifs sur le bacille pyocyanique

Sur les 160 épisodes avec une antibiothérapie renseignée en probabiliste, le traitement choisi était actif sur *P.aeruginosa* dans seulement 41.3% des cas (n=66). En traitement documenté, l'antibiothérapie était active pour 84.2% des épisodes renseignés (n=120).

▪ **Modification du traitement effectuée après documentation**

Sur les 120 épisodes où nous avons un traitement renseigné à la fois en probabiliste et après documentation microbiologique, le traitement était conservé pour 31 épisodes (25.8%) et modifié dans 74.2% des cas (n=89). Ci-dessous, on retrouve le détail des principales modifications de traitement effectuées après documentation.

Détail des 89 modifications (modification majeure expliquée) :

Pour 8 épisodes, la principale modification était le passage en monothérapie. A l'inverse, pour un des patients, la modification consistait à passer vers une association d'antibiotiques. Les autres modifications étaient les suivantes :

- Modification vers tazocilline = 19
- Modification vers une C3G ou modification de C3G = 18
- Modification vers une C4G = 19
- Modification vers un carbapénème = 10
- Modification vers une association carbapénème + colimycine = 2
- Modification vers colimycine = 1
- Décrémentation de la colimycine = 1
- Couverture anti cocci à Gram positif = 3
- Modification vers une fluoroquinolone = 5
- Modification dans l'association (passage fluoroquinolone vers aminoside) = 1
- Décrémentation vers pipéracilline = 1

Au total, les modifications effectuées allaient dans le sens d'une incrémentation ou d'un élargissement de spectre pour 69 patients (77.5%) et dans le sens d'une décrémentation thérapeutique ou réduction de spectre pour 18 épisodes (20.2%).

Pour 2 dossiers, on ne notait pas de modification notable pour ce qui est du spectre d'activité (2.2%).

▪ **Focus sur l'utilisation des carbapénèmes**

Un carbapénème était initié en probabiliste dans 15 épisodes. Après documentation, il était poursuivi pour 7 patients et débuté pour 11 patients. Ci-dessous est expliquée la stratégie thérapeutique employée en ce qui concerne la mise en place ou la désescalade thérapeutique avec les carbapénèmes.

Evolution du traitement probabiliste une fois la documentation disponible (n=15) :

- Décrémentation du carbapénème dans 5 cas
- Traitement non renseigné dans 2 cas
- Abstention thérapeutique pour 1 patient
- Maintien du carbapénème devant la résistance du bacille pyocyanique aux autres molécules pour 3 patients
- Maintien du carbapénème malgré une alternative thérapeutique disponible dans 4 cas

Mise en place d'un carbapénème après documentation (n=11) :

- Molécule mise en place devant la résistance du bacille pyocyanique aux autres molécules pour 5 patients
- Molécule mise en place malgré une alternative thérapeutique disponible dans 6 cas

Au total, une alternative thérapeutique aux carbapénèmes existait dans 10 cas sur les 18 où ils étaient utilisés après documentation microbiologique.

▪ **Analyse du traitement reçu par les 39 patients décédés à J10**

| | Traitement probabiliste | Traitement documenté |
|------------------------------------------------------|-------------------------|----------------------|
| Association d'antibiotiques | 21 | 9 |
| Monothérapie | 7 | 1 |
| Traitement non renseigné ou abstention thérapeutique | 11 | 29 |

Tableau 36: analyse du traitement reçu par les patients décédés à J10

Concernant le traitement probabiliste de ces patients décédés à J10, l'association était inadaptée dans 10 cas sur les 21 (47.6%) et pour 6 monothérapies parmi les 7 (85.7%). En documenté, le traitement reçu en association ou en monothérapie était actif sur le bacille pyocyanique dans les 10 cas renseignés.

B. Analyse statistique

Pour l'exploitation statistique de nos données, nous avons réalisé une analyse univariée de l'association entre différents facteurs de risque et la survenue d'un décès à J10 au moyen du test du Khi-deux. L'association était significative pour une valeur p inférieure à 0,05. Puis, nous avons effectué une analyse multivariée en intégrant plusieurs facteurs de risque retenus dans un modèle de régression logistique.

▪ Relation origine de l'infection et décès à J10

Il n'y a pas de différence significative du nombre de décès en fonction du délai d'acquisition de la bactériémie : infections nosocomiales (acquises > 48 heures après l'admission) et infections acquises dans les 48 premières heures (catégorie regroupant les infections communautaires et associées aux soins).

| | | Nombre de bactériémies | Nombre de décès à J10 | % de décès par catégorie | Test du Khi2 |
|----------------------------|-------------------------|------------------------|-----------------------|--------------------------|---------------------------|
| Acquisition de l'infection | ≤48 h après l'admission | 93 | 18 | 19.4% | Khi2= 0.54 (p = 0.460) |
| | >48h après l'admission | 88 | 21 | 23.9% | |

Tableau 37: Nombre de bactériémies et de décès en fonction du délai d'acquisition de l'infection, associé au résultat du test statistique du Khi2

▪ Relation porte d'entrée infectieuse et décès à J10

Il n'a pas été possible de réaliser une analyse statistique du nombre de décès en fonction de la porte d'entrée infectieuse, car la taille de nos effectifs ne permettait pas de remplir les conditions de validité à la réalisation du test du Khi-deux. Le tableau ci-dessous montre cependant une tendance à la mortalité plus élevée en cas de site primitif pulmonaire (28%) qui contraste avec l'absence de décès en cas de porte d'entrée urinaire.

| | | Nombre de bactériémies | Nombre de décès à J10 | % de décès par catégorie |
|----------------------------|----------------------|------------------------|-----------------------|--------------------------|
| Porte d'entrée infectieuse | Urinaire | 25 | 0 | 0% |
| | Pulmonaire | 32 | 9 | 28% |
| | Digestive | 24 | 4 | 16.7% |
| | Autre porte d'entrée | 25 | 7 | 28% |

Tableau 38: Nombre de bactériémies et de décès en fonction de la porte d'entrée infectieuse

▪ **Relation sévérité et décès à J10**

La proportion de décès est significativement plus élevée dans les formes sévères de bactériémies avec une valeur p inférieure à 0.05.

| | | Nombre de bactériémies | Nombre de décès à J10 | % de décès par catégorie | Test du Khi2 |
|-------------------------|--------------------|------------------------|-----------------------|--------------------------|--------------------------|
| Sévérité de l'infection | Formes sévères | 52 | 18 | 34.6% | Khi2= 7.37 (p= 0.007) |
| | Formes non sévères | 129 | 21 | 16.3% | |

Tableau 39: Nombre de bactériémies et de décès en fonction de la sévérité de l'infection, associé au résultat du test statistique du Khi2

▪ **Relation neutropénie et décès à J10**

Bien que la part des décès semble plus importante dans le groupe des patients neutropéniques (29%), le test du Khi2 n'a pas retrouvé de lien significatif entre neutropénie et décès à J10 ($p > 0.05$).

| | | Nombre de bactériémies | Nombre de décès à J10 | % de décès par catégorie | Test du Khi2 |
|-------------|---------------------------|------------------------|-----------------------|--------------------------|---------------------------|
| Neutropénie | Patients avec neutropénie | 44 | 13 | 29% | Khi2= 2.20 (p = 0.138) |
| | Patients sans neutropénie | 137 | 26 | 19% | |

Tableau 40: Nombre de bactériémies et de décès en fonction de la neutropénie, associé au résultat du test statistique du Khi2

▪ **Relation phénotype BMR et décès à J10**

Nous avons retrouvé qu'il y avait plus de décès à J10 en présence d'un phénotype BMR ($p = 0.007$).

| | | Nombre de bactériémies | Nombre de décès à J10 | % de décès par catégorie | Test du Khi2 |
|-----------|-------------------|------------------------|-----------------------|--------------------------|----------------------------|
| Phénotype | Phénotype BMR | 17 | 8 | 47% | Khi2 = 7.22 (p = 0.007) |
| | Phénotype non BMR | 164 | 31 | 19% | |

Tableau 41: Nombre de bactériémies et de décès en fonction du phénotype BMR, associé au résultat du test statistique du Khi2

▪ **Relation hémoculture polymicrobienne et décès à J10**

Nous n'avons pas mis en évidence de différence significative de mortalité entre les hémocultures polymicrobiennes et monomicrobiennes ($p > 0.05$).

| | | Nombre de bactériémies | Nombre de décès à J10 | % de décès par catégorie | Test du Khi2 |
|-------------------------------------|-----------------------------|------------------------|-----------------------|--------------------------|------------------------|
| Nombre de germes dans l'hémoculture | Hémoculture polymicrobienne | 45 | 10 | 22.2% | Khi2= 0.016 (p= 0.899) |
| | Hémoculture monomicrobienne | 136 | 29 | 21.3% | |

Tableau 42: Nombre de bactériémies et de décès en fonction du type d'hémoculture, associé au résultat du test statistique du Khi2

▪ **Relation hémoculture polymicrobienne et sévérité**

Nous avons ensuite cherché à comparer la sévérité de l'infection en cas d'hémoculture polymicrobienne et monomicrobienne. Là encore nous n'avons pas retrouvé d'association significative entre ces deux paramètres, bien que la valeur du p fût tout juste en limite de significativité ($p = 0.054$).

| | | Nombre de bactériémies | Nombre de formes sévères | % de formes sévères par catégorie | Test du Khi2 |
|-------------------------------------|-----------------------------|------------------------|--------------------------|-----------------------------------|-------------------------|
| Nombre de germes dans l'hémoculture | Hémoculture polymicrobienne | 45 | 18 | 40% | Khi2 = 3.72 (p = 0.054) |
| | Hémoculture monomicrobienne | 136 | 34 | 25% | |

Tableau 43: Nombre de bactériémies et de formes sévères en fonction du type d'hémoculture, associé au résultat du test statistique du Khi2

▪ **Test de régression logistique**

Dans notre étude, la présence d'un cancer ou d'une hémopathie sous-jacente représente un facteur aggravant de décès à J10 avec un odd-ratio à 2.7, tout comme la sévérité du sepsis (OR = 2.6) et la présence d'un phénotype BMR (OR = 2.9).

| Paramètre étudié | Odd ratio | Intervalle de confiance 95% de l'odd ratio |
|----------------------|-----------|--------------------------------------------|
| Age | 1.016 | 0.992-1.040 |
| Sexe | 1.037 | 0.478-2.249 |
| Diabète | 1.242 | 0.489-3.157 |
| Cancer ou hémopathie | 2.692 | 1.205-6.015 |
| Sévérité du sepsis | 2.625 | 1.197-5.757 |
| Phénotype BMR | 2.943 | 0.972-8.910 |

Tableau 44: Test de régression logistique

II. Partie technique

▪ Détermination des CMI

CMI des souches les plus résistantes :

Après lecture des CMI, nous avons catégorisé les souches en phénotype sensible (S) ou résistant (R) grâce aux concentrations critiques définies par le CASFM :

- Ceftazidime (CAZ) : sensible si CMI ≤ 8 $\mu\text{g/ml}$ et résistant si CMI > 8 $\mu\text{g/ml}$
- Céfépime (FEP) : sensible si CMI ≤ 8 $\mu\text{g/ml}$ et résistant si CMI > 8 $\mu\text{g/ml}$
- Ceftolozane/tazobactam (C/T) : sensible si CMI ≤ 4 $\mu\text{g/ml}$ et résistant si CMI > 4 $\mu\text{g/ml}$
- Ceftazidime/avibactam (CZA) : sensible si CMI ≤ 8 $\mu\text{g/ml}$ et résistant si CMI > 8 $\mu\text{g/ml}$

| Phénotype initial | n° dossier | CMI CAZ | S ≤ 8 – R > 8 | CMI FEP | S ≤ 8 – R > 8 | CMI C/T | S ≤ 4 – R > 4 | CMI CZA | S ≤ 8 – R > 8 |
|---------------------|------------|---------------|----------------------|------------------|----------------------|-----------|----------------------|-----------|----------------------|
| CAZ R/ FEP R/ IMP R | 663 585 | 12 | R | 16 | R | > 256 | R | 24 | R |
| CAZ R/ FEP R | 626 617 | 24 | R | > 256 | R | 3 | S | 4 | S |
| | 670 464 | 96 | R | 128 | R | 24 | R | 48 | R |
| | 678 304 | > 256 | R | 64 | R | 12 | R | 24 | R |
| | 677 487 | 48 | R | 12 | R | 2 | S | 3 | S |
| | 656 844** | 24 (> 256) | R | > 256 (> 256) | R | 6 (16) | R | 2 (24) | R |
| | 693 820 | 96 | R | 64 | R | 8 | R | 6 | S |
| | 54 672 | 32 | R | 24 | R | 3 | S | 12 | R |
| CAZ R/ FEP S | 662 436* | 24 | R | 12 | R | 3 | S | 2 | S |

Tableau 45: CMI des souches les plus résistantes ($\mu\text{g/ml}$) et interprétation SIR en fonction des valeurs critiques du CASFM

Pour les souches n° 626 617, 677 487, 693 820 et 662 436 résistantes à la ceftazidime, on observe une récupération d'activité avec le ceftazidime-avibactam, avec une CMI initiale divisée d'un facteur 6 à 16.

Les souches n° 626 617, 677 487, 54 672 et 662 436 initialement résistantes à la ceftazidime et au céfépime apparaissent également sensibles au ceftolozane-tazobactam avec une CMI nettement abaissée par rapport à ces deux molécules de référence.

Au total, trois souches initialement résistantes sont passées sensibles aux deux nouvelles associations d'antibiotiques (n° 626 617, 677 487 et 662 436). Excepté pour la première souche productrice de carbapénémase (n° 663 585), les huit autres souches résistantes ont des CMI C/T et CMI CZA inférieures par rapport aux molécules de référence (CAZ et FEP). Même si l'activité n'est pas récupérée dans chaque cas, C/T et CZA semblent ainsi plus puissantes que la ceftazidime et le céfépime. Les deux molécules montrent une faiblesse pour ce qui est de la souche

n°663 585, en effet ni C/T, ni CZA ne sont efficaces vis-à-vis des carbapénémases de type MBL, d'où la non restauration d'activité sur cette souche.

(*) On remarque aussi que la souche n° 662 436 initialement catégorisée en phénotype « CAZ R/FEP S » apparaît finalement « FEP R » après lecture de la CMI. Cela traduit bien les limites de l'antibiogramme pour les valeurs proches des diamètres critiques et l'intérêt de réaliser des CMI.

(**) Concernant la souche n° 656 844, la première valeur de CMI correspondait à celle lue en tenant compte de la présence de colonies mutantes plus résistantes. La seconde valeur entre parenthèses était celle lue après avoir effectué un repiquage de ces colonies mutantes. Sur la photo suivante, la lecture des CMI doit se faire en tenant compte de la présence des colonies mutantes à proximité de la bandelette. Ainsi, la valeur de CMI de la ceftazidime (bandelette TZ) se fait à 24 µg/ml (et non pas à 8 µg/ml), celle du ceftolozane/tazobactam (C/T) se fait à 6 µg/ml (et non à 3 µg/ml) et celle de la ceftazidime/avibactam (CZA) se lit à 2 µg/ml.



Figure 33: Photos des bandelettes E-test de la souche n° 656 844 pour lecture des CMI

La détection de ces colonies mutantes est essentielle, car elle est souvent reliée à un risque d'échec thérapeutique secondaire.

CMI des autres souches servant de témoins :

| Phénotype initial | n° dossier | CMI CAZ | S ≤ 8 – R > 8 | CMI FEP | S ≤ 8 – R > 8 | CMI C/T | S ≤ 4 – R > 4 | CMI CZA | S ≤ 8 – R > 8 |
|-------------------|------------|---------|---------------|---------|---------------|---------|---------------|---------|---------------|
| TIC R ou PIP R | 691 045 | 2 | S | 8 | S | 3 | S | 4 | S |
| | 608 833 | 1,5 | S | 4 | S | 3 | S | 2 | S |
| | 661 888 | 3 | S | 6 | S | 2 | S | 6 | S |
| | 692 096 | 6 | S | 6 | S | 3 | S | 3 | S |
| | 52 080 | 2 | S | 4 | S | 1,5 | S | 3 | S |
| | 55 731 | 1 | S | 6 | S | 1,5 | S | 3 | S |
| | 53 218 | 1 | S | 4 | S | 1 | S | 1 | S |
| | 57 707 | 1 | S | 0,38 | S | 0,38 | S | 0,5 | S |
| | 60 215 | 2 | S | 3 | S | 3 | S | 2 | S |
| IMP R isolément | 679 353 | 1,5 | S | 2 | S | 1,5 | S | 1,5 | S |
| | 679 719 | 1,5 | S | 2 | S | 3 | S | 4 | S |
| | 614 401 | 1 | S | 2 | S | 1 | S | 2 | S |
| Multisensible | 649 400 | 1 | S | 1,5 | S | 0,75 | S | 1,5 | S |
| | 659 170 | 1 | S | 1,5 | S | 1 | S | 1,5 | S |
| | 662 389 | 0,75 | S | 2 | S | 1 | S | 1 | S |
| | 673 123 | 0,75 | S | 1,5 | S | 1 | S | 1,5 | S |
| | 675 416 | 1 | S | 1,5 | S | 0,75 | S | 1,5 | S |
| | 676 153 | 1 | S | 1,5 | S | 1 | S | 1 | S |

Tableau 46: CMI des souches servant de témoins (µg/ml) et interprétation SIR en fonction des valeurs critiques du CASFM

▪ **Détermination des phénotypes de résistance grâce aux tests de synergie**

Les tests de synergie ont permis de mettre en évidence la présence de 2 BLSE parmi les 9 souches BMR testées.

| Phénotype initial | n° dossier | Interprétation du test de synergie |
|---------------------|------------|----------------------------------------------------------|
| CAZ R/ FEP R/ IMP R | 663 585 | Absence de synergie/ rechercher une carbapénémase |
| CAZ R/ FEP R | 626 617 | Synergie AMC/FEP = BLSE |
| | 670 464 | Pas de synergie/ probable céphalosporinase hyperproduite |
| | 678 304 | Pas de synergie/ probable céphalosporinase hyperproduite |
| | 677 487 | Pas de synergie/ probable céphalosporinase hyperproduite |
| | 656 844 | Synergie AMC/FEP et CAZ/AMC = BLSE |
| | 693 820 | Pas de synergie/ probable céphalosporinase hyperproduite |
| | 54 672 | Pas de synergie/ probable céphalosporinase hyperproduite |
| CAZ R/ FEP S | 662 436 | Pas de synergie/ probable céphalosporinase hyperproduite |

Tableau 47: Résultats des tests de synergie

Une synergie apparaît comme un élargissement de la zone d'inhibition de l'antibiotique testé en direction du disque de l'inhibiteur. Sur la photo suivante qui correspond aux tests de synergie réalisée pour la souche n°656 844, on observe bien un élargissement de la zone d'inhibition du céfépime (FEP) en direction de l'augmentin (AMC). La même image apparaît entre les disques de ceftazidime (CAZ) et d'augmentin.



Figure 34: Photo des synergies entre les disques FEP/AMC et CAZ/AMC pour la souche n° 656 844

- **Recherche de carbapénémase (dossier n°663 585)**

Avec le E-test MBL IP/IPI, on retrouvait CMI IP > 256 µg/ml et CMI IPI = 8 µg/ml, soit un ratio supérieur à 8 entre la valeur de la CMI lue du côté IP et la valeur de la CMI lue du côté IPI, permettant de conclure à la présence d'une carbapénémase de classe B ou MBL. Après avoir effectué une PCR GenCarba sur cette souche, on confirmait ce résultat avec détection d'une carbapénémase de type VIM.

CHAPITRE V : DISCUSSION

I. Limites de l'étude

Une première limite de cette thèse est le nombre de centres hospitaliers inclus dans l'étude. A l'origine, nous avons fait le constat du nombre élevé de bactériémies à *Pseudomonas aeruginosa* (PA) répertoriées chaque année par le Réseau Microbiologistes du NPDC : 200 à 250 cas/an pour vingt centres participants. Il aurait été intéressant d'élargir le travail d'investigation à d'autres sites mais cela semblait difficile d'un point de vue pratique (déplacements et temps nécessaire au recueil des informations dans chaque hôpital). Nous avons donc limité cette étude à deux centres hospitaliers, cela évite toutefois de tomber dans le piège d'une étude monocentrique.

Une autre limite est le caractère rétrospectif de notre travail et par conséquent les difficultés liées au recueil des données dans les dossiers patients. La version informatisée n'était pas étendue à tous les services et pour les dossiers les plus anciens, nous avons dû demander un accès aux archives. D'autre part, certaines informations relatives au parcours de santé en dehors de l'établissement n'étaient pas toujours retranscrites dans les dossiers (soins et traitements reçus ou prescrits en ville, résultats d'analyse de laboratoires ou d'établissements extérieurs). Enfin, les renseignements fournis dans les comptes rendus variaient en fonction des services (certains dossiers bien détaillés, d'autres moins) et selon le médecin en charge de rédiger les résumés d'examens (présence de dispositifs invasifs pas toujours notifiée, antibiothérapie reçue au préalable non retranscrite, peu de précision sur les critères de sévérité de l'épisode...).

La taille des échantillons observés pour certains paramètres ne permettait pas toujours d'inclure ces variables dans une analyse statistique. Certaines données étaient manquantes ou non renseignées. A titre d'exemple, nous n'avons pas pu faire l'analyse statistique de la mortalité en fonction de la porte d'entrée infectieuse car 41% de nos portes d'entrée étaient non identifiées. Cela s'est avéré particulièrement décevant, mais d'autres études avaient déjà mis en évidence un fort taux de non renseigné pour ce paramètre. Dans une étude brésilienne de Dantas et al, on relevait même une proportion nettement plus importante puisque la porte d'entrée était inconnue dans 60.8% des cas pour 120 épisodes analysés (90).

Le recueil des critères n'étant pas exhaustif, nous aurions pu étudier d'autres paramètres (notamment la durée et posologie du traitement antibiotique administré), tenter d'autres analyses statistiques et également estimer le coût attribuable à chaque épisode, en matière de consommation d'antibiotiques ou de durée d'hospitalisation par exemple.

Une dernière limite de notre étude concernait la difficulté à répartir les patients de notre cohorte selon les définitions de sévérité du sepsis, de traitement antibiotique

adéquat et selon l'origine de l'infection (nosocomiale, communautaire ou associée aux soins). D'une part, ces définitions peuvent varier selon les études (notion de traitement approprié) et d'autre part, elles sont parfois laissées à l'appréciation du clinicien en charge du patient (estimation de la sévérité de l'infection). Enfin, nous manquions parfois d'éléments concernant une hospitalisation préalable ou un soin effectué afin de trancher sur l'origine exacte de chaque épisode (infection réellement communautaire ou associée aux soins). Nous avons ainsi choisi de séparer les infections acquises plus de 48h après l'admission (infections nosocomiales) et celles acquises dans les 48 premières heures après admission. Cette seconde catégorie regroupe à la fois de véritables infections communautaires et celles associées aux soins.

II. Incidence et épidémiologie des bactériémies à *Pseudomonas aeruginosa*

Dans la littérature, il existe peu de données sur l'incidence relative aux bactériémies à *Pseudomonas aeruginosa*. Pour Al Hasan, l'incidence était de 6.4 pour 100 000 personnes/an après ajustement au sexe et à l'âge, sur une période d'étude de 1997 à 2006 (91). Une étude précédente menée entre 2003 et 2005 faisait état d'une incidence de 188.9 toutes bactériémies confondues, 93.2 pour les bactériémies à Gram positif, 80.9 pour les bactériémies à Gram négatif, 47.7 pour celles à *E.coli* et 32 pour 100 000 personnes/an pour celles à *S.aureus* (92).

Nous avons retrouvé une incidence des bactériémies à PA de 0.07 pour 1000 jours d'hospitalisation sur la période d'étude. A titre de comparaison, les taux d'incidence des bactériémies à SARM et EBLSE étaient de 0.06 et 0.08 pour 1000 jours d'hospitalisation sur la même période pour le CH de Valenciennes. En 2015, d'après le réseau BMR-Raisin il y avait une densité d'incidence des bactériémies à SARM de 0.032/1000 JH et celle des bactériémies à EBLSE était de 0.055/1000 JH (93).

P.aeruginosa ne figure pas parmi les bactéries qui font l'objet d'une surveillance dans le programme national Raisin. Ce programme cible les BMR telles que le SARM et les EBLSE en raison de leur fréquence élevée et de leur potentiel pathogène se traduisant par une morbidité, une mortalité et des coûts accrus. Il peut sembler étonnant de vouloir comparer des bactériémies à bacille pyocyanique avec des bactériémies à SARM ou EBLSE, mais notre démarche peut être justifiée par le fait que les bactériémies à PA sont difficiles à traiter au même titre que ces autres bactériémies.

Un autre constat intéressant après analyse de nos résultats a été la mise en évidence d'une documentation importante des bactériémies par les urgences (24%). Nous nous attendions en effet à retrouver majoritairement les services d'oncologie-hématologie (19%) et de réanimation (15%). En réalité, de nombreux patients dans notre cohorte étaient porteurs d'hémopathies ou de tumeurs solides et ils étaient

souvent admis aux urgences avant d'être réhospitalisés en service d'oncologie ou d'hématologie.

III. Caractéristiques des bactériémies à *Pseudomonas aeruginosa*

A. Facteurs de risque de bactériémies à *Pseudomonas aeruginosa*

Comme nous l'avons détaillé dans la partie des généralités, de nombreux facteurs sont connus pour favoriser les infections à bacille pyocyanique (longue durée d'hospitalisation, hospitalisation en service de réanimation, dispositif invasif, âge avancé, diabète, tumeur solide ou hémopathie, neutropénie, insuffisance rénale chronique, insuffisance respiratoire chronique...).

Chez nos 175 patients, les comorbidités retrouvées le plus souvent étaient : une néoplasie (n=87, 49.7%), un diabète (n=43, 24.6%), une pathologie cardio-vasculaire (n=35, 20%), une pathologie pulmonaire chronique (n=24, 13.7%), une insuffisance rénale chronique (n=24, 13.7%), des pathologies cutanées (n=16, 9.1%) et une cirrhose (n=11, 6.3%).

L'analyse de la littérature permet d'évaluer la prévalence de certains de ces facteurs chez les patients atteints de bactériémie à bacille pyocyanique (94).

1. L'âge

Pour certains auteurs, l'âge favoriserait la survenue de bactériémies à *Pseudomonas aeruginosa*, étant donné les nombreuses comorbidités sous-jacentes, la présence de dispositifs invasifs et les antécédents fréquents d'antibiothérapie associés(95). L'âge ne serait donc pas un facteur de risque indépendant de bactériémie à bacille pyocyanique.

Dans la plupart des études, l'âge médian des patients est inférieur à 60 ans. Dans notre cohorte, l'âge moyen est de 69 ans et la majorité de nos patients présente effectivement des comorbidités sous-jacentes (93.2%). Plusieurs études, dont celle de Al-Hasan, ont montré que l'incidence des bactériémies à *P.aeruginosa* augmentait de façon exponentielle avec l'âge (91,96–98). Cette tendance ressort aussi de l'analyse de nos données : 5.1% de nos patients ont entre 40 et 50 ans, 14.9% ont entre 50 et 60 ans, la part des 60-70 ans s'élève à 22.3%, celle des 70-80 ans représente 24% et enfin la part des > 80 ans est la plus élevée avec 29.2%. Al-Hasan démontrait également que la hausse d'incidence en fonction de l'âge était plus nette chez les patients de sexe masculin par rapport à la population féminine (91).

2. Les néoplasies

La proportion de patients atteints de pathologies malignes varie selon les séries (entre 15 et 70%) (94). Dans notre étude, cette proportion est élevée : 49.7% des patients de notre cohorte présentent soit une hémopathie (20.6%), soit un cancer solide (29.1%). Dans une étude prospective française d'Escande et al, le bacille pyocyanique était responsable de 5% des bactériémies chez les patients porteurs d'hémopathie maligne ou de cancer solide (99). Dans une revue de Maschmeyer, l'incidence retrouvée des infections à *Pseudomonas aeruginosa* chez les patients cancéreux était de 1 à 2.5% des patients cancéreux fébriles et de 5 à 12% des patients cancéreux ayant une infection microbiologiquement documentée (100).

Les facteurs de risque de bactériémie à bacille pyocyanique chez les patients cancéreux seraient : une antibiothérapie à large spectre préalable et la présence d'une ventilation mécanique ou d'un cathéter central (101). Pour certains auteurs, la neutropénie ne représenterait pas un facteur de risque indépendant de bactériémie, mais serait plutôt un facteur de mauvais pronostic (100,102,103).

Dans une étude de Tofas et al, chez des patients atteints d'hémopathies, les facteurs de risque de bactériémies à PA étaient une chirurgie préalable dans les trois mois, une neutropénie profonde, une corticothérapie et la sévérité de la pathologie sous-jacente (basée sur le score Mc Cabe) (104).

Joo et al ont recherché les facteurs de risque de bactériémies à PA chez des patients non neutropéniques avec une tumeur solide. En analyse multivariée, ils ont retrouvé des associations significatives de ces bactériémies avec la présence d'un cancer pulmonaire, une acquisition nosocomiale, des procédures invasives et une antibiothérapie préalable dans les 90 jours (94,105).

B. Scores de probabilité : détermination de facteurs prédictifs d'une bactériémie à *Pseudomonas aeruginosa*

Plusieurs auteurs ont tenté d'établir des scores de probabilité de bactériémies à bacille pyocyanique devant un patient suspect de bactériémie (94,105). Nous exposerons ici quatre études.

Schechner et al ont recherché les facteurs de risque de PA devant une bactériémie survenant dans les 48 heures suivant l'admission à l'hôpital. Ils ont ainsi comparé deux populations de patients : 151 patients avec une bactériémie à *P.aeruginosa* et 152 patients avec une bactériémie causée par des entérobactéries (servant de cas « contrôles »). Ils ont retrouvé cinq variables en faveur des bactériémies à pyocyanique : un âge supérieur à 90 ans, un traitement antibiotique dans les 30 jours précédents, une immunodépression sévère et un cathéter veineux central ou une sonde urinaire. Leur étude a montré que le risque augmentait avec le nombre de

facteurs présents. N'avoir aucun de ces facteurs prédictifs était associé à une probabilité de bactériémie à *P.aeruginosa* de 1/42, avoir au moins deux facteurs prédictifs augmentait le ratio à près d'une chance sur trois. Enfin, la présence d'au moins trois de ces facteurs était corrélé à 100% de risque de bactériémie à PA (105).

Une étude plus ancienne de Gransden et al avait quant à elle tenté d'établir un modèle prédictif de bactériémie à bacille pyocyanique incluant majoritairement des cas d'infections nosocomiales (91%). Parmi les facteurs prédictifs, on retrouvait : une infection nosocomiale, le sexe masculin, une hospitalisation en service de réanimation, une neutropénie, une corticothérapie ou chimiothérapie, une antibiothérapie préalable, une porte d'entrée urinaire ou inconnue. Leur étude montrait que les patients ayant au moins trois de ces facteurs avaient 20% de risque d'être infectés par *P.aeruginosa* (106).

Cheong et al ont recherché les facteurs de risque de bactériémie communautaire à bacille pyocyanique. Ils ont retrouvé : une neutropénie, un cathéter veineux central, une infection liée aux soins et un choc septique initial (107).

Dans une cohorte de 70 bactériémies à PA (dont 39% d'origine nosocomiale, 23% d'origine communautaire et 39% d'infections associées aux soins), Hammer et al ont aussi défini quatre facteurs de risque de bactériémies à *Pseudomonas aeruginosa* : une immunodépression, une porte d'entrée infectieuse respiratoire, une hospitalisation prolongée de plus de cinq jours et un traitement par bêtalactamines dans les 90 jours précédents. Les patients ne présentant aucun de ces facteurs avaient une probabilité de bactériémie à PA proche de 1%. Cette probabilité augmentait à 8%, 21% et 45% selon que les patients avaient un, deux ou trois de ces facteurs de risque (108).

S'ils permettent d'orienter les cliniciens vers des catégories de patients à risque, la validation de ces scores de probabilité de bactériémies à bacille pyocyanique nécessiterait cependant d'autres études de plus grande ampleur.

C. Porte d'entrée des bactériémies à *Pseudomonas aeruginosa*

Pour les bactériémies communautaires, les principales portes d'entrée retrouvées dans la littérature sont les bronchopneumopathies, les infections cutanées et de cathéters centraux, ainsi que les infections urinaires hautes et abdominales. Pour les bactériémies nosocomiales, on retrouve principalement les portes d'entrée urinaires, pulmonaires et digestivobiliaires. Plus rarement sont impliquées des portes d'entrées cutanées (en particulier chez les grands brûlés) et les infections post-opératoires (méningites, endocardites) (109–114).

Dans notre étude, nous n'avons pas séparé les portes d'entrée en fonction de l'origine des bactériémies, étant donné la difficulté à établir avec certitude cette

origine pour chacun des épisodes et la grande proportion des portes d'entrée non renseignées. Cependant, on constate également une prédominance des portes d'entrée pulmonaires (18%), urinaires (14%) et digestives (13%) parmi nos épisodes.

A noter que des dispositifs invasifs étaient souvent associés à ces portes d'entrée : une intubation-ventilation était retrouvée dans 28% des cas où la porte d'entrée était pulmonaire, une sonde vésicale était présente dans 60% des cas où la porte d'entrée était urinaire et un dispositif digestif était décrit dans 25% des cas où la porte d'entrée était digestive.

Les infections cutanées arrivaient quant à elles au 4^{ème} rang de nos portes d'entrée (7% des épisodes) et les infections de site opératoire étaient plutôt reliées à des chirurgies du rachis (contexte de spondilodiscite pour deux épisodes).

Pour 75 épisodes (41.4% des cas), la porte d'entrée était inconnue ou non renseignée. Ces épisodes impliquaient des patients avec une pathologie maligne dans 64% des cas (n=48) et une neutropénie était associée dans 37% des cas (n=28). En l'absence d'implication d'un dispositif invasif (cathéter central, sonde vésicale) ou d'un foyer pulmonaire comme potentielle source infectieuse, l'hypothèse d'une translocation bactérienne d'origine digestive pourrait être évoquée chez certains de ces patients.

Bien que les cathéters et chambres implantées étaient souvent présents dans notre cohorte, nous les avons retrouvé impliqués dans seulement 2% et 3% des épisodes de bactériémies. En 2015, le réseau REA-RAISIN retrouvait une implication du bacille pyocyanique dans 10% des cas de bactériémies liées à un cathéter veineux central (64).

Dans le rapport de surveillance des bactériémies nosocomiales du réseau BN-RAISIN de 2004, on retrouve le détail des portes d'entrée des bactériémies à *P.aeruginosa* pour les séjours en hospitalisation complète (n=297), en hospitalisation incomplètes (n=33) et pour les bactériémies d'origine iatrogène ambulatoire (n=19). En hospitalisation complète, on retrouvait le plus souvent une porte d'entrée pulmonaire (22.9%), urinaire (19.9%) ou un cathéter central (10.1%). Dans 15.2% des cas, l'origine était inconnue chez des patients non neutropéniques. La répartition des portes d'entrée des bactériémies acquises en hospitalisation incomplète différait un peu. On retrouvait le plus fréquemment un foyer infectieux digestif (21.2%), un point de départ urinaire (18.2%) ou une infection sur chambre implantée (18.2%). L'absence de porte d'entrée chez des patients neutropéniques représentait 15.2% des cas (translocation digestive probable). Concernant les bactériémies d'origine iatrogène ambulatoire, l'infection de PAC (31.6%) était majoritaire (115).

La surveillance des bactériémies nosocomiales du réseau CCLIN Est de 2009 retrouvait de son côté les portes d'entrée urinaires (18.8%), puis pulmonaires (15.6%) et l'infection sur PAC (10.9%) pour les patients en hospitalisation complète (n=64). La porte d'entrée restait inconnue pour 17.2% des patients, en absence de

neutropénie associée. En hospitalisation incomplète, seul un cas de bactériémie à *P.aeruginosa* était retrouvé et il s'agissait d'une infection sur chambre implantée. Parmi les quatre cas d'infections iatrogènes ambulatoires, on retrouvait également un cas d'infection sur PAC et l'origine restait inconnue pour les trois autres cas. Enfin, parmi les 18 cas de bactériémies communautaires répertoriées cette année-là, la porte d'entrée était le plus souvent non retrouvée (n=5) et les autres origines des bactériémies étaient pulmonaires (n=3), urinaires (n=3) ou digestives (n=3) (116).

D. Comparaison avec les bactériémies liées à d'autres espèces bactériennes (S.aureus et entérobactéries)

Dans une étude prospective de Thaden et al, des bactériémies dues à des bacilles à Gram négatif (62% des épisodes) avec une majorité d'entérobactéries (81%) et des bacilles non fermentants (16%) ont été comparées à des bactériémies impliquant *S.aureus* (38%). Parmi les staphylocoques, 51% étaient résistants à la méthicilline et au sein des BGN, on retrouvait 30% de germes multirésistants. Aucun patient n'était neutropénique puisqu'il s'agissait d'un critère d'exclusion de l'étude.

Les bactériémies à *S.aureus* touchaient une population plus jeune, il y avait plus de cas de diabète, ainsi que d'hémodialyse et les infections étaient majoritairement communautaires. Les bactériémies impliquant des BGN étaient plus souvent reliées à des patients atteints d'hémopathies ou de tumeurs solides. Concernant les portes d'entrée impliquées, les bactériémies à *S.aureus* (SA) étaient plus souvent liées à des infections de la peau et des tissus mous, tandis que les bactériémies à BGN impliquaient plutôt une origine urinaire ou digestive.

D'autre part, des différences significatives étaient observées entre les bactériémies à PA et les bactériémies des autres germes étudiés (*S.aureus* et entérobactéries). Les patients avec une bactériémie à bacille pyocyanique avaient plus souvent des antécédents de corticothérapie dans les 30 jours précédents, une histoire de néoplasie, une infection d'origine nosocomiale et un score APACHE II plus élevé. La principale porte d'entrée retrouvée était la pneumonie, alors que les infections sur cathéter ou les infections de la peau et des tissus mous étaient bien moins représentées par rapport aux autres germes de cette étude (117).

Schechner et al ont comparé deux populations de patients avec une bactériémie acquise dans les 48 heures après leur admission, causée soit par le bacille pyocyanique, soit par différentes entérobactéries (EB).

Dans le groupe des bactériémies à PA, un âge supérieur à 90 ans, le sexe masculin, et un statut fonctionnel altéré avec plus de comorbidités étaient retrouvés par rapport au groupe des bactériémies à EB. Le cancer était la pathologie sous-jacente majoritairement présente (47% contre 24% dans le groupe EB). Le groupe PA avait plus souvent un statut d'immunodépression sévère (chimiothérapie récente, neutropénie). En effet, une neutropénie fébrile était retrouvée chez 18.6% des

patients PA contre 2.6% des patients EB. Une hospitalisation récente (44% dans les 30 jours, 65% dans les 90 jours) et une antibiothérapie préalable dans le mois précédent l'admission étaient aussi des caractéristiques plus fréquentes chez le groupe PA. Les principales portes d'entrée retrouvées étaient les infections respiratoires basses et les infections liées au cathéter dans ce groupe, avec une source de bactériémie non identifiée dans 22% des cas. Pour le groupe EB, l'absence de porte d'entrée identifiée représentait seulement 10.5% des cas et les deux portes d'entrée majoritaires de bactériémie étaient le tractus urinaire (65% des patients) puis les infections intra-abdominales (14%).

Cette étude, comme la précédente, souligne une nouvelle fois que les populations cibles de bactériémies à PA ne sont pas les mêmes que celles des bactériémies à EB ou SA. Les portes d'entrée infectieuses et les comorbidités sous-jacentes varient avec souvent une population bien plus fragile dans le groupe PA (105).

E. « Récidives » des bactériémies

Pour notre étude, nous avons choisi d'individualiser les épisodes lorsqu'il y avait plus de sept jours entre deux épisodes documentés et nous avons retrouvé une bactériémie récurrente chez six patients.

Ces « récidives » regroupent en réalité différentes situations possibles. Il peut s'agir d'une persistance de la souche initiale qui n'aurait pas été éliminée d'emblée (suite à un traitement mal conduit, un abcès mal drainé, un dispositif invasif laissé en place). Le réveil du site primitif serait alors à l'origine d'une nouvelle décharge bactériémique. Un autre cas de figure peut être la réinfection du patient avec une souche différente ou à distance du premier épisode en relation avec un profil d'immunodépression sous-jacente. Dans ce cas, ce serait plutôt le profil du patient fragile qui favoriserait une nouvelle bactériémie.

Dans notre cohorte, le délai entre deux épisodes varie de 9 jours à 41 jours. Il est difficile de trancher entre les deux hypothèses précédentes. Nous avons remarqué la présence d'un dispositif invasif (sonde JJ) dans un des cas et une neutropénie pour quatre patients. Les phénotypes de résistance variaient peu entre les deux épisodes.

Dans une étude menée entre 2008 et 2010, McCarthy et al ont choisi un délai de 14 jours pour parler d'une bactériémie récurrente à *P.aeruginosa*. Sur 441 patients, 41 (9%) ont fait une première rechute avec un délai médian de 53 jours entre les deux épisodes (15 à 489 jours). Dans une analyse multivariée, les patients avec une bactériémie récurrente avaient plus souvent une hémopathie ou avaient reçu une corticothérapie dans les 30 jours précédents. Leur enquête n'a pas retrouvé des taux de résistance significativement différents entre l'épisode primaire de bactériémie et la première récurrence. Cependant, les patients avec une première récurrence de bactériémie avaient plus souvent été exposés à un traitement par une bétalactamine à activité antipyocyanique dans les 30 jours auparavant. Avoir connaissance d'un

traitement antibiotique récemment reçu par le patient semble donc essentiel pour le choix d'une antibiothérapie probabiliste en cas de récurrence de la bactériémie.

Dans cette étude, McCarthy a aussi mis en évidence que la part de décès à J28 augmentait avec le nombre de récurrences. Ainsi après une première récurrence le taux de décès était de 18% et après une seconde récurrence il était de 40% (118). Dans notre étude, nous n'avons pas retrouvé de récurrences multiples pour un même patient. Un décès à J10 après le deuxième épisode était observé pour deux patients.

F. Pronostic des bactériémies à *Pseudomonas aeruginosa*

1. Mortalité et morbidité

Les bactériémies liées au bacille pyocyanique sont des pathologies sévères associées à un taux de mortalité élevé (plus de 30% en moyenne). D'importantes variations au niveau de ces taux de mortalité sont retrouvées selon les études (18 à 48%) et s'expliquent par la grande hétérogénéité des populations étudiées (94).

Une étude américaine, rassemblant plus de 24 000 cas de bactériémies nosocomiales dont 1040 cas de bactériémies à bacille pyocyanique, a retrouvé un taux de mortalité de 38% pour cette espèce, plaçant ainsi *P.aeruginosa* à la seconde place en matière de gravité derrière *Candida spp* (119).

Des études ont révélé que la gravité de l'infection était maximale dans les premiers jours de la bactériémie, en particulier dans les 48 premières heures (120,121).

Scheetz et al ont cherché à évaluer la morbidité liée aux bactériémies à bacille pyocyanique. Dans leur étude, cette morbidité était quantifiée à l'aide du score SOFA qui mesure la défaillance de six grandes fonctions vitales (fonction respiratoire, coagulation, fonction hépatique, fonction cardio-vasculaire, fonction neurologique et fonction rénale). La morbidité de base était définie par la mesure de ce score deux jours avant le diagnostic de bactériémie. Elle était ensuite quantifiée le jour du diagnostic (J0), deux jours après (J2), puis sept jours après (J7). Leurs résultats ont montré que le score SOFA augmentait de 37% à J0. A J2 il restait élevé (hausse de 22% par rapport au taux de base) et à J7 il retombait presque au niveau initial (2% de hausse comparé au SOFA basal). L'augmentation du score SOFA à J0 et J2 était largement liée aux composantes respiratoires et cardio-vasculaires, ce qui indique que ces deux systèmes sont les plus impactés lors des bactériémies à PA. Ces résultats prouvent que chez les patients traités, la morbidité des bactériémies à bacille pyocyanique est maximale dans les premiers jours suivant l'infection (121).

Dans notre étude, la mortalité à J10 est de 22%. Nous n'avons pas pu estimer avec précision la mortalité attribuable à la bactériémie, indépendamment des comorbidités sous-jacentes de nos patients.

2. Facteurs pronostiques

Les facteurs pronostiques des bactériémies peuvent être liés au germe, à l'hôte, mais aussi au traitement antibiotique.

a) Facteurs liés au germe

Les facteurs bactériens sont en rapport avec la virulence intrinsèque du bacille pyocyanique et ses multiples mécanismes de résistance aux antibiotiques.

▪ Impact de l'espèce bactérienne

Plusieurs études ont montré que l'isolement de *P.aeruginosa* plutôt qu'un autre germe était un facteur indépendant de mortalité(122). Hernandez et al ont mis en évidence des taux de mortalité plus élevés à J7 (18.2%) et à J30 (25%) pour les patients avec une bactériémie à *P.aeruginosa* en comparaison des bactériémies causées par d'autres bactéries (123). Parmi l'ensemble des microorganismes impliqués dans les bactériémies nosocomiales en 2004, le réseau BN-RAISIN retrouvait lui aussi la plus grande fréquence de décès à 7 jours lorsque *P.aeruginosa* était en cause (21.5%) (115).

Le Canada propose une surveillance des bactériémies nosocomiales panhospitalières. Les résultats de leur surveillance 2016-2017 indiquent quant à eux que *Pseudomonas sp* est au 3^{ème} rang des germes responsables de décès à J30 avec 25.8% de mortalité, derrière *Candida sp* (35.3%) et *Klebsiella sp* (27.1%) (124).

De leur côté, Thaden et al ont montré que la mortalité associée à PA était plus rapide par rapport aux autres groupes bactériens (autres germes non fermentants, entérobactéries, *S.aureus*) (117).

▪ Impact de la résistance

L'influence de la résistance sur la mortalité n'est pas univoque. Pour notre étude, nous avons retrouvé que les souches résistantes à la ceftazidime, dites BMR, étaient associées à une mortalité supérieure à J10, que ce soit en analyse univariée ou multivariée.

Certains auteurs ont retrouvé une surmortalité chez les patients porteurs de souches résistantes par rapport à ceux porteurs de souches sensibles, en particulier pour des souches résistantes à l'imipénème et des souches multirésistantes (MDR) (125,126).

Un taux de mortalité à 30 jours plus élevé en cas de bactériémie à *P.aeruginosa* MDR a été mis en évidence dans les études de Morata et al (32.3%), Lautenbach et al (17.4%) et Tam et al (40%) (127–129). Quatre autres études n'ont pas retrouvé de différences significatives de mortalité pour des bactériémies à bacille pyocyanique causées soit par des souches résistantes aux carbapénèmes, soit MDR (130–133).

Dans une méta-analyse de Nathwani et al, les patients avec des infections à PA résistants avaient une mortalité toutes causes confondues augmentée (34%) par rapport aux patients avec une souche sensible (22%). Le risque de décès était multiplié par 2.34 avec un bacille pyocyanique MDR par rapport aux souches sensibles. Une limite importante dans toutes les études de cette méta-analyse était l'hétérogénéité dans la définition du bacille pyocyanique MDR, rendant difficile la comparaison de leurs résultats (134).

▪ **Impact des hémocultures polymicrobiennes**

Plusieurs études ont trouvé que la mortalité des bactériémies polymicrobiennes était significativement supérieure à celles des bactériémies monomicrobiennes (91,98,122,135).

Dans notre étude, nous retrouvions 25% de bactériémies polymicrobiennes et 25.6% de décès à J10 avec ces épisodes polymicrobiens. Les germes les plus souvent associés étaient des entérobactéries (51%) puis des cocci à Gram positif (26.7%). L'analyse statistique de nos données n'a pas mis en évidence de surmortalité significative pour le groupe des bactériémies polymicrobiennes. D'autre part, nos bactériémies polymicrobiennes n'ont pas pu être reliées à une plus grande sévérité des épisodes, bien que l'analyse statistique montrait un résultat à la limite de la significativité ($p = 0.054$).

Dans l'étude rétrospective de 134 bactériémies à PA de Horino, 19.4% des patients avaient une bactériémie polymicrobienne. Les germes le plus souvent associés étaient *Enterococcus faecalis* (23.1%) puis *Klebsiella pneumoniae* (19.2%). La mortalité à J30 dans le groupe des bactériémies polymicrobiennes (42.3%) était significativement supérieure à celle des patients avec un épisode monomicrobien (15.7%) (135).

Al-Hasan a mis en évidence que les bactériémies polymicrobiennes dans son étude étaient plus souvent d'origine communautaire et en lien avec une source digestive (abdominale ou biliaire). Les bactériémies monomicrobiennes étaient majoritairement nosocomiales ou associées aux soins. Pour 30% de ces bactériémies monomicrobiennes, la source infectieuse restait inconnue. Par ailleurs, les patients avec une bactériémie monomicrobienne à PA de source indéterminée étaient plus souvent neutropéniques (33.3%) par rapport aux patients avec une porte d'entrée infectieuse identifiée (8.3%) (91).

b) Facteurs liés à l'hôte

Différents facteurs de mauvais pronostic ont été décrits : l'âge avancé, une hospitalisation en service de réanimation, une insuffisance rénale, des localisations septiques secondaires, un statut fonctionnel altéré... (94,111,121).

▪ **Origine de l'infection**

Des études ont montré que les bactériémies nosocomiales n'étaient pas associées à une gravité plus élevée par rapport aux bactériémies communautaires.

Kang et al n'ont par exemple pas observé de différence significative concernant la mortalité à 30 jours en comparant les infections communautaires (37.9% de décès) et les infections nosocomiales (39.3% de décès) (97). De leur côté, Joo et al ont trouvé qu'une acquisition nosocomiale de l'infection était reliée à une surmortalité à J30, à la fois en analyse univariée et multivariée (98).

Dans notre étude, nous n'avons pas retrouvé de lien significatif entre le décès à J10 et l'origine de l'infection (infections acquises > 48h après admission versus ≤ 48h après admission). Toutefois, notre analyse statistique présentait sûrement un biais du fait de la part d'infections associées aux soins parmi les infections acquises dans les 48 premières heures après l'admission.

▪ **Sévérité du sepsis et neutropénie**

Dans une analyse rétrospective de 234 bactériémies à PA, Kim et al ont mis en évidence un taux de choc septique (53.8% contre 18.7%) et un score APACHE II significativement plus élevés entre les patients décédés et ceux qui avaient survécu après la bactériémie. La neutropénie (34.6% contre 19.8%) était aussi significativement plus fréquente dans la population des décédés (136). Yoon et al arrivaient aux mêmes conclusions dans une étude tricentrique (137).

Dans notre étude, la sévérité du sepsis est reliée à une mortalité à J10 plus fréquente en analyse univariée et multivariée. D'autres auteurs ont montré que l'existence d'un choc septique était un facteur de risque de mortalité (97,102,111).

La neutropénie, fréquente dans notre cohorte (24%), n'a pas été associée à une surmortalité. Dans l'étude de Hilf, elle était retrouvée comme facteur de mauvais pronostic (109). Certains auteurs ont révélé que ce serait plutôt l'absence de remontée des neutrophiles au cours du traitement qui constituerait un facteur de mauvais pronostic (103,138). Leurs résultats sont cohérents avec les études menées chez l'animal qui démontrent le rôle majeur des neutrophiles dans la protection de l'hôte vis-à-vis des infections du bacille pyocyanique (121,139,140).

▪ **Impact de la porte d'entrée**

Le pronostic diffère aussi selon la porte d'entrée impliquée dans les bactériémies. Ainsi un point de départ pulmonaire est associé à un pronostic péjoratif, tandis qu'une porte d'entrée urinaire ou endovasculaire serait de meilleur pronostic (97,103,109,111). La taille trop faible de nos effectifs ne permettait pas de valider les conditions nécessaires à une analyse statistique et nous n'avons pas pu établir de lien statistique entre la porte d'entrée infectieuse et la surmortalité pour notre étude. Nous avons tout de même constaté l'absence de décès en relation avec une porte d'entrée urinaire et il y avait 28% de décès en lien avec une porte d'entrée pulmonaire.

Dans l'étude de Chamot et al, incluant 115 épisodes de bactériémies à PA, aucun des 22 épisodes secondaires à une infection urinaire et aucun des 5 épisodes liés à une infection de cathéter n'ont entraîné de décès. Cela contrastait significativement avec les 8 décès parmi les 24 épisodes faisant suite à une pneumonie (n=8, 55%, p=0.03) (141).

c) Facteurs liés au traitement antibiotique

Concernant le traitement antibiotique choisi, différents paramètres influencent le pronostic des bactériémies à PA : le délai de mise en place, le caractère approprié de l'antibiothérapie empirique et définitive, la bonne adéquation des paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques, ainsi que l'utilisation ou non d'une bithérapie.

▪ Délai de mise en place du traitement

Comme nous l'avons expliqué précédemment, la mortalité et la morbidité sont particulièrement élevées dans les premiers jours suivant une bactériémie à PA. Il semble essentiel de débiter un traitement antibiotique approprié aussi vite que possible.

Un délai trop important avant la mise en place d'un traitement antibiotique approprié est en effet associé à une surmortalité. Lodise et ses collègues ont mis en évidence qu'un délai supérieur à 52h pour la mise en place d'un traitement adéquat doublait la mortalité à J30 par rapport à un groupe recevant le traitement approprié dans les 52h (142). Une étude précédente de Kang et al avait déjà montré cette tendance à la surmortalité en fonction du délai d'administration d'une antibiothérapie adéquate (97).

▪ Caractère approprié de l'antibiothérapie

Plusieurs études ont montré l'existence d'un lien significatif entre une antibiothérapie empirique adaptée et la mortalité, de même qu'entre l'antibiothérapie définitive et la mortalité (97,110,111,113).

Ce lien retrouvé entre antibiothérapie empirique et mortalité soulève la nécessité d'identifier les patients devant être considérés particulièrement à risque d'infections à bacille pyocyanique (voire de PA résistants) et qui doivent recevoir un traitement antibiotique empirique actif sur ce germe.

En l'absence de diagnostic microbiologique disponible, la couverture du bacille pyocyanique est réservée aux situations particulières (comme le choc septique ou le sepsis sévère présumé à BGN) ou pour des populations spécifiques (tels que les patients d'onco-hématologie ou de soins intensifs).

Pour les populations plus polyvalentes de patients consultant aux urgences ou hospitalisés dans divers services médicaux, la question de couvrir ou non PA par

une antibiothérapie initiale est tout autant essentielle. D'une part, les raisons sont individuelles avec le risque de méconnaître une infection à bacille pyocyanique chez le patient. D'autre part, elles sont collectives puisque l'usage abusif de molécules antipyocyaniques peut avoir un impact écologique défavorable avec la hausse des taux de résistance, mais aussi un impact nocif pour ce qui est de la majoration des effets indésirables et du coût (105,107).

Cela explique la recherche de facteurs prédictifs de bactériémies à *P.aeruginosa* que nous avons préalablement exposé dans une partie de cette discussion.

- **Adéquation des paramètres pharmacocinétiques-pharmacodynamiques**

L'antibiothérapie, même si elle utilise des molécules habituellement actives sur des souches sensibles de bacille pyocyanique est susceptible d'induire des résistances acquises fréquentes dans cette espèce, particulièrement si elle est administrée de façon inappropriée (posologie, durée, diffusion) (83). Nous n'avons malheureusement pas recueilli ces données pour notre étude (posologie du traitement et durée d'administration).

La posologie et le mode d'administration des antibiotiques sont des éléments clés pour leur efficacité. Les caractéristiques pharmacocinétiques des médicaments sont profondément modifiées chez les patients en service de réanimation. Les infections graves s'accompagnent de manifestations systémiques et les dysfonctions viscérales sont multiples (respiratoires, rénales, hépatiques, digestives). Il en résulte des risques d'interactions médicamenteuses, de modification de la fraction liée aux protéines et d'induction enzymatique. Le volume de distribution est parfois augmenté dans des proportions considérables, ce qui tend à diminuer la concentration maximale (76). Le principal piège induit par cette variabilité est celui du sous-dosage, pouvant favoriser l'émergence de germes résistants au traitement (106).

Le mode d'administration peut aussi influencer le succès thérapeutique. L'administration des bêta-lactamines en perfusion continue et de façon prolongée a été associée à un meilleur pronostic dans l'étude de Lodise et al et celle de Yang et al (143,144). Pour les aminosides, l'objectif principal est d'obtenir un premier pic élevé, afin d'atteindre le ratio C_{max}/CMI optimal pour une réponse clinique et biologique efficace.

- **Controverse bithérapie versus monothérapie**

L'utilisation d'une bithérapie versus une monothérapie antibiotique reste un facteur pronostique controversé. Plusieurs études ne retrouvent aucun bénéfice d'une association (97,103,110).

Les avantages théoriques de la combinaison d'antibiotiques sont d'élargir le spectre de l'antibiothérapie probabiliste et d'avoir une bactéricidie plus rapide afin de diminuer l'inoculum. Cela permet aussi d'obtenir une synergie d'action, de prévenir les résistances et de diminuer les rechutes.

Dans le Surviving Septis Campaign, Rhodes et al recommandaient ainsi en 2016 d'utiliser une bithérapie pour des patients neutropéniques en cas de sepsis sévère et pour des patients difficiles à traiter ou avec une souche multirésistante de bacille pyocyanique (145). En 2007, Garnacho avait montré que la probabilité que l'antibiothérapie probabiliste soit active était de 90.5% avec une bithérapie contre 56.7% pour une monothérapie (146). Chang et al trouvaient ensuite qu'une antibiothérapie probabiliste inadéquate était associée à une mortalité supérieure (38%) par rapport à une antibiothérapie adéquate (9.1%).

La synergie d'action des combinaisons d'antibiotiques a été mise en évidence chez plusieurs modèles animaux, puis chez l'homme. Hilf et al ont suggéré qu'une combinaison d'antibiotique était supérieure à une monothérapie chez les patients avec une bactériémie à PA (27% de décès dans le groupe bithérapie contre 47% dans le groupe monothérapie). Pour autant, 86% de leurs patients recevaient en fait un aminoside en monothérapie, ce qui ne constitue pas un traitement adéquat, d'où cette surmortalité retrouvée (147).

La méta-analyse de Safdar révélait une tendance à la réduction de la mortalité avec une bithérapie (148). Toutefois, les études reprises dans cette méta-analyse concernaient rarement *P.aeruginosa*. Dans une autre méta-analyse en 2014, Paul et al ont comparé une monothérapie par bétalactamine avec une association bétalactamine et aminoside, leurs résultats n'ont pas montré de différence de mortalité entre les deux groupes. Ils retrouvaient néanmoins une néphrotoxicité accrue dans le groupe bithérapie (149).

L'étude de Chamot et al retrouvait pour sa part une supériorité de la bithérapie uniquement dans les 48 premières heures de traitement. Cela suggère que l'association peut être justifiée en début de traitement jusqu'à réception des résultats de l'antibiogramme (111).

En conclusion, il n'existe pas de consensus concernant la nécessité d'une combinaison d'antibiotiques plutôt qu'une monothérapie et inversement. Il semble que l'adéquation du traitement soit une clé essentielle dans le pronostic des bactériémies à PA. Cependant, toute pathologie sévère sous-jacente au moment de la bactériémie peut conduire à une mortalité précoce, qu'il y ait présence ou non d'une antibiothérapie adéquate. Cela représente d'ailleurs une limite dans de nombreuses études, y compris la nôtre. En effet, au sein de notre cohorte figurent de nombreux patients avec des comorbidités sévères constituant elles-mêmes des facteurs de risque indépendants de mortalité. Les études montrent malgré tout un avantage à la bithérapie en cas de sepsis sévère ou quand l'un des partenaires est moins efficace. Cette bithérapie peut être mise en place au moins les premiers jours de traitement, lorsque l'inoculum est le plus élevé. Les éléments en défaveur d'une association d'antibiotiques sont la néphrotoxicité liée aux aminosides et le coût supérieur à une monothérapie.

Dans notre cohorte, le décès à J10 intervenait dans 21.6% des cas (n=21) où une association était choisie en traitement probabiliste (n=97) et pour 10.8% des cas (n=7) où une monothérapie était mise en place (n=65). En traitement documenté, un décès à J10 était observé dans 9 cas (11.1%) sur les 81 associations d'antibiotiques prescrites et dans 1 cas (2.7%) parmi les 39 monothérapies. Dans notre étude, il semble que la part des décès soit plus élevée dans le groupe des associations d'antibiotiques à la fois en traitement probabiliste et documenté, mais peut-être s'agissait-il de profils de patients différents de celui du groupe monothérapie (davantage d'associations car patients sévères). Ainsi, le clinicien aurait choisi d'emblée une association pour des patients plus fragiles.

IV. Analyse de la résistance aux antibiotiques

A. Taux de résistance

La plupart des réseaux de surveillance se base sur la sensibilité du bacille pyocyanique à la ceftazidime pour juger de l'évolution de la sensibilité des souches. Une autre classe particulièrement surveillée est celle des carbapénèmes. Nous avons retrouvé des taux de résistance moyens à la ceftazidime de 9.4% et de 16.6% à l'imipénème sur notre période d'étude. Nos taux de résistances à la ceftazidime apparaissent plus faibles en comparaison des données du réseau EARS-Net et de celles du Réseau Microbiologistes du NPDC. Nos valeurs se rapprochent de celles de ces deux réseaux pour la résistance à l'imipénème.

En comparant la résistance de nos souches d'hémocultures à celles tous sites confondus pour les deux établissements, nous avons déjà remarqué que les souches isolées d'hémocultures apparaissaient plus sensibles pour la ticarcilline, la ceftazidime et la ciprofloxacine. On aurait pu penser que les souches issues des hémocultures soient plus résistantes par rapport aux autres, mais ce n'est pas le cas. D'une manière générale, concernant le type de prélèvement, les taux de résistance les plus élevés sont retrouvés dans les prélèvements d'origine respiratoire pour la classe des bêtalactamines et dans les prélèvements urinaires pour la ciprofloxacine. Ceci s'explique par la fréquence et l'importance des colonisations à *P.aeruginosa* sur sonde urinaire ou dans le tractus respiratoire, et par la pression antibiotique exercée chez ces patients avec les classes d'antibiotiques les plus utilisées pour ces localisations spécifiques (43). Un autre constat est que les souches de bacille pyocyanique issues des hémocultures sont plus résistantes en service de réanimation par rapport aux autres services (150). Là encore, on peut penser que l'utilisation d'antibiotiques à large spectre exerce une pression de sélection et tend à favoriser l'émergence de souches plus résistantes par rapport à d'autres services de soins.

B. Facteurs de risque de résistance

Plusieurs facteurs de risque de sélection de souches résistantes aux antibiotiques ont été relevés, parmi lesquels le principal est la prise antérieure d'antibiotique. Le risque apparaît plus important pour une antibiothérapie de longue durée ou des molécules reçues en monothérapie. Globalement, l'exposition à tout antibiotique antipycyanique favorise l'émergence de résistance pour ce même antibiotique, avec un risque élevé pour la ticarcilline, la pipéracilline, l'imipénème et la ciprofloxacine. L'exposition à une classe d'antibiotique peut également conduire à la résistance vis-à-vis d'une autre classe, du fait des phénomènes de résistance croisée (mécanisme d'efflux par exemple) (94,151,152).

Dans notre cohorte, une antibiothérapie reçue dans les trois mois précédents l'épisode de bactériémie a été retrouvée dans 34% des cas. Parmi nos 17 épisodes présentant un phénotype BMR, c'est-à-dire avec une ceftazidime résistante, 11 patients (65% des cas) avaient reçu soit une céphalosporine de 3^{ème} génération ou une fluoroquinolone dans les 90 jours précédents.

C. Mécanismes de résistance

Nous n'avons pas séparé nos phénotypes de résistance en fonction des nouvelles définitions de Magiorakos et al : bactéries MDR (multidrug-resistant) , XDR (extensively drug-resistant) ou PDR (pandrug-resistant) (69). Pour notre cohorte, nous avons choisi de mettre en évidence le nombre de souches BMR ou résistantes à la ceftazidime. Les souches BMR représentent 9.4% de l'ensemble de nos épisodes (n=17). Et nous avons retrouvé une résistance à l'ensemble des huit molécules antibiotiques testés pour deux épisodes.

Dans la partie technique de notre étude qui consistait à explorer le mécanisme de résistance impliqué pour 9 souches, nos résultats indiquent que le mécanisme le plus souvent impliqué était la présence d'une céphalosporinase hyperproduite (n=6). Nous avons détecté 2 bêta-lactamases à spectre étendu, ainsi qu'une carbapénémase de type VIM.

L'analyse des mécanismes de résistance aux bêta-lactamines est le principal motif d'envoi des souches de *P.aeruginosa* au CNR. Sur le plan épidémiologique, il apparaît important de différencier les souches produisant des carbapénémases et BLSE, de celles exprimant des mécanismes de résistance intrinsèque (surproduction de la céphalosporinase naturelle AmpC ou de systèmes d'efflux actifs, altération de la porine spécifique OprD). L'accumulation fréquente de mécanismes chez les souches multirésistantes rend souvent l'interprétation phénotypique de l'antibiogramme difficile, d'où le recours à des techniques complémentaires (tests de synergie, PCR et séquençage).

Le bilan 2016 du CNR faisait apparaître un pourcentage modeste de carbapénémases (13.3%), de BLSE (11%) ou des deux types d'enzymes (1.9%) parmi l'ensemble des souches de bacille pyocyanique expertisées. Dans la très grande majorité des cas (> 90%) la résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération et/ou aux carbapénèmes était due à des mécanismes intrinsèques. Devant ce constat, il est possible que l'intérêt de réaliser des tests complémentaires ne soit pas perçu par les laboratoires, d'autant plus que *P.aeruginosa* ne figure pas parmi les BHRé (Bactéries Hautement Résistantes émergentes) et ne fait donc pas l'objet de recommandations particulières de dépistage et de prise en charge (15).

La nature des résistances devient pourtant inquiétante avec l'émergence à bas bruit de ces souches productrices de BLSE ou de carbapénémases. Si les souches multirésistantes demeurent confinées sous forme de petits foyers en France, le risque d'extension est bien présent. Le risque d'importation à partir de pays où ces souches sont plus répandues devrait aussi être pris en compte (83). Le CNR préconise ainsi l'intégration du disque de ceftolozane/tazobactam (C/T 40µg) dans l'antibiogramme en milieu gélosé du bacille pyocyanique. Ce disque, inclus dans deux nouveaux algorithmes, facilite le criblage en routine des BLSE et carbapénémases les plus fréquentes en France chez *P.aeruginosa*, tout en limitant le recours aux tests de confirmation.

V. Analyse du traitement : stratégie thérapeutique et bon usage des antibiotiques

Pour l'analyse du traitement, nous avons choisi de prendre en compte uniquement la bactériémie à bacille pyocyanique et pas les autres bactéries associées en cas d'hémocultures polymicrobiennes.

Sur l'ensemble des épisodes de notre étude, une association d'antibiotiques était plus souvent choisie à la fois en traitement probabiliste (53.6%) et après documentation (44.8%). Un carbapénème était administré dans 15 épisodes en traitement probabiliste (8.3%) et dans 18 épisodes après documentation (9.9%). Le recours à la colimycine intervenait pour 5 épisodes (2.8%).

Le traitement probabiliste choisi était actif sur le bacille pyocyanique dans seulement 41.3% des cas, soit pour 66 épisodes parmi les 160 antibiothérapies probabilistes renseignées. En traitement documenté, l'antibiothérapie était active sur *P.aeruginosa* pour 101 épisodes parmi les 120 renseignés, soit dans 84.2% de ces épisodes.

Un carbapénème était initié en traitement probabiliste dans 15 épisodes, parmi lesquels 8 étaient sévères. Une fois les résultats de l'antibiogramme disponibles, une désescalade était réalisée dans 5 cas, l'abstention thérapeutique était choisie pour 1 patient et dans 2 cas le traitement après documentation était non renseigné. Le carbapénème était maintenu chez 3 patients en l'absence d'autres alternatives possibles (phénotype multirésistant). La molécule était conservée malgré une

sensibilité pour d'autres antibiotiques (tazocilline, ceftazidime ou céfépime) chez 4 patients. Concernant le traitement après documentation microbiologique, un carbapénème était débuté dans 11 cas. Dans 5 épisodes, le choix était en lien avec une résistance vis-à-vis des autres molécules. Pour les 6 autres patients, il existait toutefois une alternative thérapeutique aux carbapénèmes (pénicillines ou céphalosporines antipyocyaniques sensibles).

L'emploi des carbapénèmes est fréquemment associé à l'émergence de bacilles à Gram négatif résistants à l'imipénème dans la flore commensale des patients, même après un traitement de courte durée. D'autre part, de nouveaux mécanismes de résistance aux carbapénèmes sont apparus ces dernières années. Il est donc devenu essentiel de limiter l'emploi de ces molécules et de mieux définir leurs indications.

Une étude française menée en 2011 a suivi l'utilisation des carbapénèmes dans 251 établissements de santé (153). Un carbapénème était prescrit en traitement empirique dans 52.6% des cas, principalement pour cause de sepsis sévère (48.6%) ou en lien avec un risque de résistance (33.7%). Dans 47.4% des cas, le choix se basait sur les résultats bactériologiques. La durée moyenne de traitement était de 8 jours. La consultation d'un référent antibiotique était plus fréquente pour le recours aux carbapénèmes en traitement documenté (41.5%) par rapport aux cas où la molécule était initiée en traitement probabiliste (32.6%).

Dans le groupe de traitement empirique, seuls 51.7% des patients avaient une infection documentée. Parmi ces patients avec un germe identifié, on retrouvait des souches sensibles à au moins une molécule parmi les céphalosporines à large spectre, la tazocilline et les fluoroquinolones dans 72.4% des cas. Une désescalade était réalisée dans seulement 48.5% des cas. Parmi les patients ayant reçu un carbapénème en traitement documenté, 42.6% présentaient des souches sensibles à au moins une des molécules précédemment citées. La désescalade était réalisée dans 14.9% des cas.

Cette étude souligne la tendance aux longues durées de traitement dans notre pays. Elle montre également que la désescalade n'est pas systématique, malgré la présence d'alternatives thérapeutiques disponibles. Les carbapénèmes restent ainsi le traitement empirique de première ligne pour des infections sévères avec suspicion de bactéries multirésistantes.

Parmi les mesures participant au bon usage des antibiotiques, l'intervention d'un référent au lit du patient semble l'une des plus efficaces. Ces interventions permettent d'améliorer la qualité et la précocité d'une antibiothérapie adaptée, et d'envisager une désescalade si nécessaire (154).

Le bon usage des antibiotiques apparaît essentiel dans la prise en charge des bactériémies. Une autre étude a évalué cette prise en charge en 2011 dans 23 hôpitaux du Nord de la France, mais *P.aeruginosa* était peu représenté dans la

cohorte (1.8% des épisodes). Cette étude retrouvait une faible utilisation des carbapénèmes en traitement empirique (2.5%) et documenté (4.7%). Une association d'antibiotique était utilisée en traitement initial pour 49.7% des patients, le plus souvent en cas de sepsis sévère ou de choc septique. Ce traitement empirique était adéquat dans 75% des cas et 96% des patients recevaient au moins une molécule active en traitement documenté (155).

VI. Intérêt des nouvelles molécules

Les infections à *P.aeruginosa* représentent un challenge du point de vue thérapeutique, du fait d'une morbidité et mortalité élevées et des résistances fréquentes vis-à-vis de plusieurs classes d'antibiotiques. Si les carbapénèmes sont considérés comme le traitement de choix des infections sévères, il est nécessaire d'épargner ces molécules au maximum devant le risque de voir émerger des mutants résistants. La colistine est souvent utilisée contre les souches multirésistantes, mais c'est une molécule difficilement maniable avec de nombreux effets indésirables. L'intérêt s'est donc naturellement porté vers le développement et l'emploi de nouvelles molécules, parmi lesquelles le ceftazidime-avibactam et le ceftolozane-tazobactam.

A. Résultats de notre étude

Dans notre étude, sur les neuf souches initialement résistantes à la ceftazidime, quatre souches sont redevenues sensibles après ajout de l'avibactam, avec une CMI initiale divisée par 6 à 16 dans l'association ceftazidime-avibactam. Le ceftolozane-tazobactam était également actif sur quatre souches parmi les neuf de départ qui étaient résistantes au céfépime et à la ceftazidime, et les CMI de l'association étaient là aussi nettement abaissées par rapport à ces deux molécules. Malgré le nombre restreint de souches résistantes testées ici, ces molécules apparaissent prometteuses pour la prise en charge de souches qui auraient perdu toute sensibilité vis-à-vis des bêtalactamines classiquement prescrites (céfépime, ceftazidime).

B. Etudes concernant ceftazidime-avibactam

L'avibactam est un nouvel inhibiteur de bêtalactamases, il ne possède pas d'activité intrinsèque antibactérienne, mais il protège les bêtalactamines contre l'hydrolyse des enzymes de classe A et C. Il est actif aussi bien contre les souches productrices de BLSE et KPC que contre celles surexprimant l'AmpC.

Levasseur et al ont montré le potentiel de l'avibactam à abaisser les CMI de toutes les bêtalactamines testées sur un panel de souches de bacille pyocyanique, mais la molécule offrait différents niveaux de protection contre l'hydrolyse. Dans leur étude, 65% des souches étaient sensibles à la ceftazidime seule, l'imipénème était active dans 85.7% des cas et pour l'association ceftazidime-avibactam 93.7% des souches

apparaissaient sensibles. Cette association possède ainsi une meilleure activité antipycyanique que l'imipénème, molécule de référence dans le traitement des infections à souches résistantes. Les CMI 50 et 90 étaient abaissées en comparant l'association ceftazidime-avibactam (4 et 8 µg/ml) par rapport à la ceftazidime seule (8 et 64 µg/ml). A l'inverse, les autres inhibiteurs de bêta-lactamases étaient peu actifs en association à la ceftazidime, avec des CMI 50 et 90 similaires à celles de la ceftazidime seule (8 et 64 µg/ml pour ceftazidime-acide clavulanique, 4 et 32 µg/ml pour ceftazidime-tazobactam).

Les auteurs ont aussi étudié plus en détail huit souches avec un phénotype intermédiaire ou résistant à cette nouvelle association. Pour cinq souches, l'ajout de l'avibactam restaurait partiellement l'activité de la ceftazidime, avec des valeurs de CMI divisées par quatre à plus de huit fois (c'est-à-dire comprises entre 16 et 32 µg/ml) en comparaison de la ceftazidime seule (CMI entre 64 et > 128 µg/ml) (156).

Une étude similaire de Sharma et al retrouvait une bonne activité de la ceftazidime-avibactam sur le bacille pyocyanique (96.9% de souches sensibles et une CMI 50/90 de 2/4 µg/ml). En comparaison, la CMI 90 de la ceftazidime seule était de 32 µg/ml. Le sous-groupe de bactéries résistantes de cette étude a été divisé en deux catégories : MDR et XDR. Parmi les souches MDR, 81% étaient sensibles à l'association et 73.7% parmi les XDR (157).

Dans l'étude de Walkty et al en 2011, concernant 470 souches de *P.aeruginosa*, il était mis en évidence une réduction de la CMI 90 de la ceftazidime d'un facteur quatre une fois associée à l'avibactam (158). Zhanel et al arrivaient au même constat en 2013 (159).

L'avibactam potentialise à la fois l'activité in vitro et in vivo de la ceftazidime contre les souches de *P.aeruginosa* hautement résistantes à la ceftazidime. Cette molécule présente l'avantage de combattre ces bactéries sans avoir eu besoin d'identifier une nouvelle cible thérapeutique (160).

C. Etudes concernant ceftolozane-tazobactam

Le ceftolozane-tazobactam est l'association d'une nouvelle céphalosporine de 3^{ème} génération avec un inhibiteur de bêta-lactamase déjà connu. Le spectre du ceftolozane-tazobactam est proche de celui de la ceftazidime, mais il possède une meilleure vitesse de bactéricidie et une meilleure activité sur le bacille pyocyanique. Les CMI du ceftolozane seul sont similaires à celles du ceftolozane-tazobactam, mais l'ajout de tazobactam permet d'avoir une activité sur les BLSE supérieure en comparaison de l'association pipéracilline-tazobactam déjà existante. Le ceftolozane possède une bonne activité contre les souches de *P.aeruginosa* surproduisant AmpC du fait d'une faible affinité pour cette enzyme. Il est aussi peu affecté par d'autres mécanismes de résistance chez les bactéries à Gram négatif, tels que la mutation des porines et les systèmes d'efflux actifs.

Dans l'étude de Livermore et al, le ceftolozane présentait une bonne activité contre le bacille pyocyanique avec une CMI plus basse que celle de la ceftazidime, principale bétalactamine antipyocyanique. Cette activité était conservée pour la plupart des souches surexprimant l'AmpC ou un système d'efflux. Ainsi, dans le groupe surexprimant l'efflux à un très haut niveau, 94.7% des souches restaient sensibles au ceftolozane-tazobactam contre 27.6% pour la ceftazidime et 5.9% pour la pipéracilline-tazobactam. Dans le groupe surexprimant l'AmpC, le ceftolozane-tazobactam était actif contre 96.6% des souches, tandis que la ceftazidime agissait dans seulement 20.8% des cas. L'association ceftazidime-avibactam permettait quant à elle de retrouver une activité sur 94.5% des souches. Si le ceftolozane-tazobactam n'échappe pas totalement aux systèmes d'efflux et à l'AmpC, il apparaît moins touché que les autres céphalosporines et pénicillines antipyocyaniques (161).

Dans l'étude de Sader et al, le ceftolozane-tazobactam était quatre fois plus performant que la ceftazidime et le céfépime (CMI 50 de 1 µg/ml contre 4 µg/ml pour les deux autres molécules). Pour les souches de bacille pyocyanique MDR, la CMI 50 du ceftolozane-tazobactam (4 µg/ml) était quatre fois plus faible que celle du céfépime (16 µg/ml) et huit fois plus faible par rapport à la ceftazidime (32 µg/ml) (162). Zhanel et al retrouvaient des résultats similaires avec une CMI 90 du ceftolozane-tazobactam 16 fois plus basse que celle de la ceftazidime et du céfépime (2 µg/ml contre 32 µg/ml pour les deux autres molécules) (163).

D. Etude comparative avec les entérobactéries

Gonzalez et al ont comparé l'activité des deux nouvelles associations contre des souches de bacilles à Gram négatif résistants aux bétalactamines(164). 45 souches de *P.aeruginosa*, dont 10 souches multirésistantes (résistance à la pipéracilline-tazobactam, céfépime, méropénème et imipénème) et 75 souches d'entérobactéries ont été testées.

Les CMI 50 (1 µg/ml) et les CMI 90 (8 µg/ml) étaient plus basses pour le ceftolozane-tazobactam chez le bacille pyocyanique par rapport aux entérobactéries (CMI 50/90 de 2/32 µg/ml). 87% des souches totales de *P.aeruginosa* et 60% de celles multirésistantes étaient sensibles au ceftolozane-tazobactam.

De façon contrastante avec les résultats du ceftolozane-tazobactam, les entérobactéries présentaient pour la ceftazidime-avibactam des valeurs de CMI 50 (0.5 µg/ml) et de CMI 90 (2 µg/ml) inférieures à celles du bacille pyocyanique (CMI 50/90 de 2/16 µg/ml). Seules 82% des souches de *P.aeruginosa* étaient sensibles à cette association contre 99% chez les entérobactéries.

Au final, cette étude montre que la ceftazidime-avibactam est une bonne alternative pour le traitement des souches productrices de KPC. Le ceftolozane est une nouvelle céphalosporine avec une excellente activité antipyocyanique et combinée au

tazobactam, elle révèle une bonne performance sur les souches d'entérobactéries productrices de BLSE.

E. Positionnement des molécules en termes de coût/bénéfice

Ces deux nouvelles associations d'antibiotiques représentent une alternative intéressante pour la prise en charge des infections à bacilles à Gram négatif multirésistants.

Le ceftolozane-tazobactam apparaît le plus actif sur le bacille pyocyanique. En probabiliste, il peut permettre une stratégie d'épargne des carbapénèmes. En documenté, l'intérêt de cette molécule se porte vers la désescalade et l'épargne là aussi des carbapénèmes. Un frein à son utilisation peut résider dans le coût élevé journalier de cette molécule (3g/jour = 546 euros).

Devant une souche de phénotype CAZ R, FEP R, IMP S et C/T S ne permettant pas l'utilisation des molécules classiques (ceftazidime et céfépime) les cliniciens sont donc confrontés à deux options thérapeutiques possibles. Certes, le choix du carbapénème permet une économie budgétaire, mais le risque de sélection de mutants résistants est élevé avec cette molécule et il s'agit donc d'une option critiquable d'un point de vue écologique. De l'autre côté, le ceftolozane-tazobactam est bien entendu une molécule onéreuse, mais elle possède à priori l'avantage d'exercer une moindre pression de sélection antibiotique. Il en découle une diminution du risque d'émergence de souches de *P.aeruginosa* résistantes sous ce traitement. C'est ce qu'ont montré Cabot et al en 2014 (165). Dans leur étude, ils ont comparé l'acquisition de résistance vis-à-vis de différents antibiotiques (ceftazidime, méropénème, ciprofloxacine, ceftolozane/tazobactam) de la part de souches sauvages (PAO1) et mutées (PAOMS, $\Delta mutS$) de bacille pyocyanique. Après sept jours d'exposition des souches sauvages à chaque molécule antibiotique, le développement de résistance était nettement plus rapide pour la ceftazidime, le méropénème et la ciprofloxacine que pour le ceftolozane/tazobactam. D'autre part, de hauts niveaux de résistance (CMI jusqu'à 64 $\mu\text{g/ml}$) étaient observées avec les trois premières molécules, tandis que les CMI ne dépassaient pas 8 $\mu\text{g/ml}$ au 7^{ème} jour pour le ceftolozane/tazobactam. L'acquisition d'un haut niveau de résistance à cette nouvelle association d'antibiotique (CMI à 64 $\mu\text{g/ml}$) n'était en réalité observée que chez les souches mutées (PAOMS).

A ce jour, il existe peu de données sur l'impact écologique des nouvelles molécules (ceftolozane/tazobactam et ceftazidime/avibactam) sur le microbiote. L'emploi de ces alternatives aux carbapénèmes ne doit donc s'envisager que sur documentation précise et avec précautions. D'autres études médico-économiques seraient nécessaires pour déterminer le rapport bénéfice/coût de ces deux nouvelles associations d'antibiotiques et mieux définir leur positionnement dans la stratégie thérapeutique des infections à *P.aeruginosa* et des autres bacilles à Gram négatif.

CONCLUSION

Les données de la littérature concernant les bactériémies à *Pseudomonas aeruginosa* sont pauvres. Cette étude contribue à préciser le profil particulier des patients, leur prise en charge et les caractéristiques des souches responsables. Elle confirme la sévérité de cette pathologie.

Si certaines infections à bacille pyocyanique sont authentiquement communautaires, notre étude montre que les bactériémies à *P.aeruginosa* sont des maladies essentiellement acquises dans les structures de soins (infections nosocomiales ou liées aux soins). Elles surviennent de préférence sur des terrains avec comorbidités ou facteurs prédisposants : sujets âgés, patients souffrant de maladies hématologiques ou cancéreuses (neutropénie, chimiothérapie), patients diabétiques, porteurs de pathologies chroniques (respiratoires, cardiaques, rénales), sujets hospitalisés en soins intensifs ou ayant subi des manœuvres invasives (cathétérisme, sondage vésical, intubation-ventilation). Une porte d'entrée pulmonaire, une neutropénie, un sepsis sévère et une antibiothérapie inappropriée sont des facteurs qui aggravent le pronostic. La mortalité globale associée à ces bactériémies est élevée (30% de décès à J30 d'après nos données). Devant tout tableau de bactériémie, il est donc nécessaire d'évaluer le risque de responsabilité du bacille pyocyanique ainsi que le risque de résistance aux antibiotiques afin de prescrire rapidement un traitement approprié.

De façon inquiétante, l'administration répétée d'antibiotiques chez ces patients fragilisés ou souffrant de pathologies chroniques tend à faciliter l'émergence de souches de bacilles pyocyaniques résistantes à tous les antibiotiques utilisés en première ligne. Cette évolution s'inscrit dans un contexte pharmaceutique peu favorable où les innovations en matière d'antibiotiques se font rares. Ces souches multirésistantes, voire totorésistantes posent un réel problème de Santé publique car les cliniciens sont de plus en plus confrontés à des infections pour lesquelles les options thérapeutiques sont réduites, hasardeuses (association colistine avec rifampicine) ou inexistantes. Comme nous l'avons évoqué dans la discussion de cette thèse, d'autres études sont nécessaires pour établir le positionnement exact dans les stratégies thérapeutiques des deux nouvelles associations d'antibiotiques récemment mises sur le marché (C/T et CZA), en particulier en termes de coût/bénéfice.

La mise au point de nouveaux agents antibactériens doit désormais s'appuyer sur une meilleure connaissance de la physiologie et de la génétique bactérienne, afin d'identifier des cibles cellulaires à inactiver pour baisser la pathogénicité, sans pour autant imposer une pression de sélection. Le défi est de développer des stratégies anti-virulence visant non pas à détruire, mais à neutraliser la bactérie pour l'empêcher de nuire.

Plusieurs axes de recherche sont actuellement explorés. Il est par exemple possible de prévenir l'adhésion du bacille pyocyanique aux cellules épithéliales grâce à des agents glycomimétiques qui peuvent bloquer les récepteurs sur lesquels viennent se fixer les lectines bactériennes. Plusieurs équipes ont cherché à développer des anticorps monoclonaux dirigés contre l'aiguille du système SST3, dont le rôle est reconnu dans les pneumopathies. Le but étant d'inhiber la translocation des effecteurs cytotoxiques dans les cellules épithéliales respiratoires, les polynucléaires et les macrophages. Les anticorps anti LPS sont aussi prometteurs, comme le Panobacumab, anticorps spécifique du LPS de sérotype O11 qui a donné des résultats intéressants pour le traitement des pneumopathies nosocomiales à *P.aeruginosa* O11. Autre élément clé dans la production de nombreux facteurs de virulence, le quorum sensing est une cible intéressante dans la stratégie anti-virulence. L'azithromycine a montré une capacité à inhiber ce système de régulation et à retarder la formation du biofilm, ce qui est mis à profit dans le traitement de fond de l'infection respiratoire chronique chez les patients souffrant de mucoviscidose. L'utilisation de bactériophages anti *Pseudomonas* fait partie des autres pistes étudiées actuellement par les laboratoires de Recherche. Il est toutefois important de souligner que ces nouvelles approches anti-virulence restent complémentaires d'une antibiothérapie classique.

LISTE DES ABREVIATIONS

AHL : acylhomosérine lactone
AMC : augmentin
APACHE : Acute Physiologic and Chronic Health Care Evaluation
BCP : Bromocrésol Pourpre
BGN : bacille à Gram négatif
BHRe : Bactéries Hautement Résistantes émergentes
BLSE : bêtalactamases à spectre élargi
BMR : bactéries multirésistantes
BPCO : broncho-pneumopathie chronique obstructive
CASFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
CAZ : ceftazidime
CCLIN : Centre de Coordination de la Lutte contre les Infections Nosocomiales
CGP : cocci à Gram positif
CMI : concentration minimale inhibitrice
CNR : Centre National de Référence
C/T : ceftolozane/tazobactam
C3G : céphalosporine de troisième génération
C4G : céphalosporine de quatrième génération
CZA : ceftazidime/avibactam
DL50 : dose létale 50
EARS-Net : European Antimicrobial Resistance Surveillance Network
EB : entérobactérie
EBLSE : entérobactérie productrice de BLSE
ECBU : examen cytbactériologique des urines
EDTA : acide éthylène-diamine-tétraacétique
EHPAD : établissement d'hébergement pour personnes âgées dépendantes
EUCAST : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FEP : céfépime
KT : cathéter
I : intermédiaire
IBL : inhibiteur de bêtalactamase
IMP : imipénème
ISO : infection de site opératoire
LPS : lipopolysaccharide
MBL : métallo bêtalactamase
McF : Mc Farland
MDR : multidrug resistant
MH : Muller Hinton
NPDC : Nord-Pas-de-Calais
ONERBA : Observatoire National de l'Epidémiologie et de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques
OR : odd-ratio
PA : *Pseudomonas aeruginosa*
PAC : chambre implantable
PAVM : pneumopathie acquise sous ventilation mécanique
PDR : pandrug resistant
PIP : pipéracilline

R : résistant

RAISIN : Réseau d'alerte, d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales

S : sensible

SA : *Staphylococcus aureus*

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline

SOFA : Sequential Organ Failure Assessment

SST3 : système de sécrétion de type 3

TIC : ticarcilline

XDR : extensively drug-resistant

LISTE DES FIGURES

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| FIGURE 1: <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> : COLORATION DE GRAM | 18 |
| FIGURE 2: LES ETAPES MENANT A LA FORMATION DU BIOFILM CHEZ <i>P.AERUGINOSA</i> | 28 |
| FIGURE 3: ANTIBIOGRAMME DE LA SOUCHE SAUVAGE DE REFERENCE PAO1 (CNR RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES) | 34 |
| FIGURE 4: REPRESENTATION SCHEMATIQUE D'UNE POMPE D'EFFLUX | 39 |
| FIGURE 5: DISTRIBUTION DES MICROORGANISMES ISOLES DES BACTERIEMIES NOSOCOMIALES (ENP JUIN 2012) | 43 |
| FIGURE 6: RESISTANCE DE <i>P.AERUGINOSA</i> VIS-A-VIS DE HUIT MOLECULES ANTIBIOTIQUES ENTRE 1997 ET 2009 | 46 |
| FIGURE 7: POURCENTAGE DE SOUCHES INVASIVES DE <i>P.AERUGINOSA</i> RESISTANTES A LA PIPERACILLINE-TAZOBACTAM, PAR PAYS, EN EUROPE EN 2015 | 49 |
| FIGURE 8: POURCENTAGE DE SOUCHES INVASIVES DE <i>P.AERUGINOSA</i> RESISTANTES AUX FLUOROQUINOLONES, PAR PAYS, EN EUROPE EN 2015 | 50 |
| FIGURE 9: POURCENTAGE DE SOUCHES INVASIVES DE <i>P.AERUGINOSA</i> RESISTANTES A LA CEFTAZIDIME, PAR PAYS, EN EUROPE EN 2015 | 50 |
| FIGURE 10: POURCENTAGE DE SOUCHES INVASIVES DE <i>P.AERUGINOSA</i> RESISTANTES AUX AMINOSIDES, PAR PAYS, EN EUROPE EN 2015 | 51 |
| FIGURE 11: POURCENTAGE DE SOUCHES INVASIVES DE <i>P.AERUGINOSA</i> RESISTANTES AUX CARBAPENEMES, PAR PAYS, EN EUROPE EN 2015 | 51 |
| FIGURE 12: POURCENTAGE DE SOUCHES INVASIVES DE <i>P.AERUGINOSA</i> MULTIRESISTANTES, PAR PAYS, EN EUROPE EN 2015 | 52 |
| FIGURE 13: PROPORTIONS DES SOUCHES DE <i>P.AERUGINOSA</i> RESISTANTES AUX ANTIBIOTIQUES EN FRANCE ENTRE 2005 ET 2015 | 53 |
| FIGURE 14: PROPORTIONS DES SOUCHES DE <i>P.AERUGINOSA</i> RESISTANTES AUX CARBAPENEMES EN FRANCE ENTRE 2005 ET 2015 | 54 |
| FIGURE 15: EVOLUTION GLOBALE DE LA CONSOMMATION EN ANTIBIOTIQUES ENTRE 2009 ET 2015 | 56 |
| FIGURE 16: EVOLUTION DE LA CONSOMMATION DE CERTAINES BETALACTAMINES DANS LES 542 ETABLISSEMENTS DE SANTE AYANT PARTICIPE ENTRE 2009 ET 2015 (% D'EVOLUTION CALCULE) | 56 |
| FIGURE 17: EVOLUTION DE LA CONSOMMATION EN FLUOROQUINOLONES DANS LES 542 ETABLISSEMENTS DE SANTE AYANT PARTICIPE DE 2009 A 2015 (% D'EVOLUTION CALCULE) | 57 |
| FIGURE 18: STRUCTURE CHIMIQUE DU CEFTOLOZANE ET DU TAZOBACTAM | 63 |
| FIGURE 19: STRUCTURE CHIMIQUE DE LA CEFTAZIDIME ET DE L'AVIBACTAM | 64 |
| FIGURE 20: PRINCIPE DU E-TEST | 71 |
| FIGURE 21: PRINCIPE DES TESTS DE SYNERGIE D'APRES LE CNR DE LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES | 73 |
| FIGURE 22: PRINCIPE DU E-TEST® MBL IP/IPI | 74 |
| FIGURE 23: REPARTITION DES AGES DES PATIENTS PAR TRANCHE DE 10 ANS (%) | 75 |
| FIGURE 24: PROVENANCE DES PATIENTS POUR CHAQUE EPISODE | 76 |
| FIGURE 25: REPARTITION DES SERVICES PRESCRIPTEURS (EN %) | 77 |
| FIGURE 26: SERVICE D'HOSPITALISATION (EN %) | 77 |
| FIGURE 27: MOTIF D'HOSPITALISATION | 78 |
| FIGURE 28: DETAIL DE LA REPARTITION DES PORTES D'ENTREE INFECTIEUSES | 80 |
| FIGURE 29: DETAIL DE LA DOCUMENTATION D'UN AUTRE SITE AVEC LA MEME SOUCHE | 80 |
| FIGURE 30: DETAIL DE LA REPARTITION DES AUTRES SITES DOCUMENTES AVEC LA MEME SOUCHE (N=77) | 81 |
| FIGURE 31: DEVENIR DES PATIENTS A J10 | 82 |
| FIGURE 32 : DETAIL DES GERMES RETROUVES DANS LES HEMOCULTURES POLYMICROBIENNES (N=45) | 83 |
| FIGURE 33: PHOTOS DES BANDETTES E-TEST DE LA SOUCHE N° 656 844 POUR LECTURE DES CMI | 94 |
| FIGURE 34: PHOTO DES SYNERGIES ENTRE LES DISQUES FEP/AMC ET CAZ/AMC POUR LA SOUCHE N° 656 844 | 96 |

LISTE DES TABLEAUX

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| TABLEAU 1: CLASSIFICATION ACTUELLE SIMPLIFIEE DES PRINCIPALES ESPECES DE <i>PSEUDOMONAS</i> ET BACTERIES APPARENTEES RENCONTREES EN PATHOLOGIE HUMAINE | 17 |
| TABLEAU 2: PLACE DES POINTS D'EAU COMME SOURCE DE COLONISATION ET D'INFECTION PAR <i>P.AERUGINOSA</i> | 18 |
| TABLEAU 3: LES PRINCIPAUX FACTEURS DE VIRULENCE DE <i>P.AERUGINOSA</i> : MECANISMES D'ACTION ET CONSEQUENCES CLINIQUES..... | 27 |
| TABLEAU 4: LISTE STANDARD ET COMPLEMENTAIRE DES MOLECULES A TESTER PAR ANTILOGRAMME POUR LES <i>PSEUDOMONAS SP</i> D'APRES LE CASFM 2017..... | 33 |
| TABLEAU 5 : PRINCIPALES BLSE ET CARBAPENEMASES IDENTIFIEES CHEZ <i>P.AERUGINOSA</i> | 37 |
| TABLEAU 6: DISTRIBUTION DES SITES INFECTIEUX POUR <i>P.AERUGINOSA</i> (ENP JUIN 2012)..... | 43 |
| TABLEAU 7: PART RELATIVE DES MICROORGANISMES LES PLUS FREQUENTS PAR TYPE DE SEJOUR (ENP JUIN 2012) | 44 |
| TABLEAU 8: PROPORTION DES SOUCHES DE <i>P.AERUGINOSA</i> SENSIBLES VIS-A-VIS DE 10 MOLECULES ANTIBIOTIQUES (SENTRY PROGRAMME 1997-2007) | 45 |
| TABLEAU 9: PROPORTION DES SOUCHES DE <i>P.AERUGINOSA</i> SENSIBLES VIS-A-VIS DE 6 MOLECULES ANTIBIOTIQUES..... | 45 |
| TABLEAU 10: POURCENTAGE DE SENSIBILITE DES SOUCHES DE BACILLE PYOCYANIQUE..... | 47 |
| TABLEAU 11: CMI 50, CMI 90 ET POURCENTAGE DE SOUCHES SENSIBLES, INTERMEDIAIRES OU RESISTANTES, EN FONCTION DES PHENOTYPES (ETUDE INFORM) | 48 |
| TABLEAU 12: POURCENTAGE MOYEN DE RESISTANCE DU BACILLE PYOCYANIQUE EN EUROPE ENTRE 2012 ET 2015 ... | 49 |
| TABLEAU 13: POURCENTAGE MOYEN DE RESISTANCE DU BACILLE PYOCYANIQUE EN FRANCE ENTRE 2012 ET 2015.... | 53 |
| TABLEAU 14 : <i>P.AERUGINOSA</i> : SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES, SOUCHES ISOLEES D'HEMOCULTURES ENTRE 2005 ET 2014, EARS-NET(3 RESEAUX : REUSSIR, ILE-DE-FRANCE, AZAY-RESISTANCE) | 54 |
| TABLEAU 15: <i>P.AERUGINOSA</i> : TYPES DE PRELEVEMENTS (RESEAU MICROBIOLOGISTES DU NORD PAS-DE-CALAIS 2008-2015)..... | 55 |
| TABLEAU 16 : <i>P.AERUGINOSA</i> : SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES (%) (RESEAU MICROBIOLOGISTES DU NORD-PAS-DE-CALAIS 2007-2015) | 55 |
| TABLEAU 17: <i>P.AERUGINOSA</i> : PROPORTION ET INCIDENCE DES SOUCHES MULTIRESISTANTES (RESEAU MICROBIOLOGISTES DU NORD-PAS-DE-CALAIS 2008-2015) | 57 |
| TABLEAU 18: RECOMMANDATIONS DE L'IDSA POUR LA PRISE EN CHARGE DES PAVM A BACILLE PYOCYANIQUE | 59 |
| TABLEAU 19 : POSOLOGIE USUELLE DES PRINCIPAUX ANTIBIOTIQUES ANTI-PYOCYANIQUES DANS LES INFECTIONS SEVERES A <i>P.AERUGINOSA</i> | 61 |
| TABLEAU 20: REPARTITION DES EPISODES DE L'ETUDE | 68 |
| TABLEAU 21: COMORBIDITES OBSERVEES CHEZ NOS 175 PATIENTS | 79 |
| TABLEAU 22: TYPES DE DISPOSITIFS INVASIFS..... | 81 |
| TABLEAU 23: DESCRIPTIF DES BACTERIEMIES RECURRENTES CHEZ 6 PATIENTS DE L'ETUDE | 82 |
| TABLEAU 24: TAUX DE SENSIBILITE ET RESISTANCE DE LA TICARCILLINE | 84 |
| TABLEAU 25: TAUX DE SENSIBILITE ET RESISTANCE DE LA PIPERACILLINE | 84 |
| TABLEAU 26: TAUX DE SENSIBILITE ET RESISTANCE DE LA TAZOCILLINE..... | 84 |
| TABLEAU 27: TAUX DE SENSIBILITE ET RESISTANCE DE LA CEFTAZIDIME..... | 84 |
| TABLEAU 28: TAUX DE SENSIBILITE ET RESISTANCE DU CEFEPIME | 85 |
| TABLEAU 29: TAUX DE SENSIBILITE ET RESISTANCE DE L'IMIPENEME..... | 85 |
| TABLEAU 30: TAUX DE SENSIBILITE ET RESISTANCE DE L'AMIKACINE | 85 |
| TABLEAU 31: TAUX DE SENSIBILITE ET RESISTANCE DE LA CIPROFLOXACINE..... | 85 |
| TABLEAU 32: COMPARAISON DES TAUX DE RESISTANCE DES SOUCHES D'HEMOCULTURES AUX SOUCHES TOUS SITES CONFONDUES | 86 |
| TABLEAU 33: CHOIX DU TRAITEMENT EN PROBABILISTE ET APRES DOCUMENTATION..... | 86 |
| TABLEAU 34: DETAIL DES MOLECULES REÇUES EN PROBABILISTE ET APRES DOCUMENTATION..... | 87 |
| TABLEAU 35: PROPORTIONS DE TRAITEMENTS ACTIFS ET INACTIFS SUR LE BACILLE PYOCYANIQUE | 88 |
| TABLEAU 36: ANALYSE DU TRAITEMENT REÇU PAR LES PATIENTS DECEDES A J10..... | 89 |
| TABLEAU 37: NOMBRE DE BACTERIEMIES ET DE DECES EN FONCTION DU DELAI D'ACQUISITION DE L'INFECTION, ASSOCIE AU RESULTAT DU TEST STATISTIQUE DU KHI2..... | 90 |
| TABLEAU 38: NOMBRE DE BACTERIEMIES ET DE DECES EN FONCTION DE LA PORTE D'ENTREE INFECTIEUSE | 90 |
| TABLEAU 39: NOMBRE DE BACTERIEMIES ET DE DECES EN FONCTION DE LA SEVERITE DE L'INFECTION, ASSOCIE AU RESULTAT DU TEST STATISTIQUE DU KHI2 | 91 |

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| TABLEAU 40: NOMBRE DE BACTERIEMIES ET DE DECES EN FONCTION DE LA NEUTROPENIE, ASSOCIE AU RESULTAT DU TEST STATISTIQUE DU KHI2 | 91 |
| TABLEAU 41: NOMBRE DE BACTERIEMIES ET DE DECES EN FONCTION DU PHENOTYPE BMR, ASSOCIE AU RESULTAT DU TEST STATISTIQUE DU KHI2 | 91 |
| TABLEAU 42: NOMBRE DE BACTERIEMIES ET DE DECES EN FONCTION DU TYPE D'HEMOCULTURE, ASSOCIE AU RESULTAT DU TEST STATISTIQUE DU KHI2..... | 92 |
| TABLEAU 43: NOMBRE DE BACTERIEMIES ET DE FORMES SEVERES EN FONCTION DU TYPE D'HEMOCULTURE, ASSOCIE AU RESULTAT DU TEST STATISTIQUE DU KHI2 | 92 |
| TABLEAU 44: TEST DE REGRESSION LOGISTIQUE | 92 |
| TABLEAU 45: CMI DES SOUCHES LES PLUS RESISTANTES ($\mu\text{G}/\text{ML}$) ET INTERPRETATION SIR EN FONCTION DES VALEURS CRITIQUES DU CASFM | 93 |
| TABLEAU 46: CMI DES SOUCHES SERVANT DE TEMOINS ($\mu\text{G}/\text{ML}$) ET INTERPRETATION SIR EN FONCTION DES VALEURS CRITIQUES DU CASFM | 95 |
| TABLEAU 47: RESULTATS DES TESTS DE SYNERGIE | 95 |

BIBLIOGRAPHIE

1. Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, France, mai-juin 2012 / 2013 [Internet]. <http://invs.santepubliquefrance.fr>
2. Denis F. Bactériologie médicale: Techniques usuelles. Elsevier Masson; 2007.
3. Meghdas I, Hamze M, Dabboussi F, Baida N, Izard D. TAXONOMIE DU GENRE PSEUDOMONAS: RÉTROSPECTIVE ET ACTUALITÉ. *Leban Sci J.* 2004;5(1):115.
4. Freney J, Renaud F, Leclercq R, Riegel P, Collectif. Précis de bactériologie clinique. 2e édition. Paris: Editions Eska; 2007.
5. CMIT, Rapp C, Pulcini C, Tattevin P. E. Pilly 2016 : Maladies infectieuses et tropicales. 25e édition. Paris: Alinéa Plus; 2015.
6. Bertrand X, Slekovec C, Cholley P, Talon D. Épidémiologie des infections à *Pseudomonas aeruginosa*. *Rev Francoph Lab.* sept 2011;2011(435):35-40.
7. Morrison AJ, Wenzel RP. Epidemiology of infections due to *Pseudomonas aeruginosa*. *Rev Infect Dis.* oct 1984;6 Suppl 3:S627-642.
8. Lister PD, Wolter DJ, Hanson ND. Antibacterial-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*: Clinical Impact and Complex Regulation of Chromosomally Encoded Resistance Mechanisms. *Clin Microbiol Rev.* oct 2009;22(4):582-610.
9. Collectif, Bergogne-Bérézin E. *Pseudomonas aeruginosa*. : Son rôle dans les infections respiratoires. Paris: Phase 5; 2002.
10. Moolenaar RL, Crutcher JM, San Joaquin VH, Sewell LV, Hutwagner LC, Carson LA, et al. A prolonged outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* in a neonatal intensive care unit: did staff fingernails play a role in disease transmission? *Infect Control Hosp Epidemiol.* févr 2000;21(2):80-5.
11. McNeil SA, Nordstrom-Lerner L, Malani PN, Zervos M, Kauffman CA. Outbreak of Sternal Surgical Site Infections Due to *Pseudomonas aeruginosa* Traced to a Scrub Nurse with Onychomycosis. *Clin Infect Dis.* 1 août 2001;33(3):317-23.
12. BACTERIOWEB - Cours [Internet]. <http://bacterioweb.univ-fcomte.fr/fcours.html>
13. Lu Q, Eggimann P, Luyt C-E, Wolff M, Tamm M, François B, et al. *Pseudomonas aeruginosa* serotypes in nosocomial pneumonia: prevalence and clinical outcomes. *Crit Care.* 2014;18(1).
14. Faure K, Shimabukuro D, Ajayi T, Allmond LR, Sawa T, Wiener-Kronish JP. O-antigen serotypes and type III secretory toxins in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Clin Microbiol.* mai 2003;41(5):2158-60.
15. Rapport_CNR_2016.pdf [Internet]. <http://www.cnr-resistance-antibiotiques.fr>

16. Stover CK, Pham XQ, Erwin AL, Mizoguchi SD, Warrenner P, Hickey MJ, et al. Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen. *Nature*. 2000;406(6799):959–964.
17. Bentzmann S de, Plésiat P. *Pseudomonas aeruginosa* : une virulence complexe. 10 mars 2011
18. Meybeck A, Fantin B. De la colonie microbienne à l'infection chez l'homme : le cas de *Pseudomonas aeruginosa*, importance thérapeutique. 16 févr 2008
19. Khalifa ABH, Moissenet D, Thien HV, Khedher M. Les facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa* : mécanismes et modes de régulations. *Ann Biol Clin (Paris)*. 1 août 2011;69(4):393-403.
20. Kipnis E, Sawa T, Wiener-Kronish J. Targeting mechanisms of *Pseudomonas aeruginosa* pathogenesis. *Médecine Mal Infect*. févr 2006;36(2):78-91.
21. Mahenthiralingam E, Campbell ME, Speert DP. Nonmotility and phagocytic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from chronically colonized patients with cystic fibrosis. *Infect Immun*. févr 1994;62(2):596-605.
22. Tang H, Kays M, Prince A. Role of *Pseudomonas aeruginosa* pili in acute pulmonary infection. *Infect Immun*. avr 1995;63(4):1278-85.
23. Tang HB, DiMango E, Bryan R, Gambello M, Iglewski BH, Goldberg JB, et al. Contribution of specific *Pseudomonas aeruginosa* virulence factors to pathogenesis of pneumonia in a neonatal mouse model of infection. *Infect Immun*. janv 1996;64(1):37-43.
24. Comolli JC, Hauser AR, Waite L, Whitchurch CB, Mattick JS, Engel JN. *Pseudomonas aeruginosa* gene products PilT and PilU are required for cytotoxicity in vitro and virulence in a mouse model of acute pneumonia. *Infect Immun*. juill 1999;67(7):3625-30.
25. GDR *Pseudomonas* [Internet].
26. Miyazaki S, Matsumoto T, Tateda K, Ohno A, Yamaguchi K. Role of exotoxin A in inducing severe *Pseudomonas aeruginosa* infections in mice. *J Med Microbiol*. sept 1995;43(3):169-75.
27. Kon Y, Tsukada H, Hasegawa T, Igarashi K, Wada K, Suzuki E, et al. The role of *Pseudomonas aeruginosa* elastase as a potent inflammatory factor in a rat air pouch inflammation model. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 15 août 1999;25(3):313-21.
28. Woods DE, Cryz SJ, Friedman RL, Iglewski BH. Contribution of toxin A and elastase to virulence of *Pseudomonas aeruginosa* in chronic lung infections of rats. *Infect Immun*. juin 1982;36(3):1223-8.
29. Kipnis E, Guery BP, Tournoy A, Leroy X, Robriquet L, Fialdes P, et al. Massive alveolar thrombin activation in *Pseudomonas aeruginosa*-induced acute lung injury. *Shock Augusta Ga*. mai 2004;21(5):444-51.
30. Feltman H, Schulert G, Khan S, Jain M, Peterson L, Hauser AR. Prevalence of type III secretion genes in clinical and environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiol Read Engl*. oct 2001;147(Pt 10):2659-69.

31. Le Berre R, Nguyen S, Nowak E, Kipnis E, Pierre M, Quenee L, et al. Relative contribution of three main virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. *Crit Care Med.* sept 2011;39(9):2113-20.
32. Allewelt M, Coleman FT, Grout M, Priebe GP, Pier GB. Acquisition of expression of the *Pseudomonas aeruginosa* ExoU cytotoxin leads to increased bacterial virulence in a murine model of acute pneumonia and systemic spread. *Infect Immun.* juill 2000;68(7):3998-4004.
33. Adam EC, Mitchell BS, Schumacher DU, Grant G, Schumacher U. *Pseudomonas aeruginosa* II lectin stops human ciliary beating: therapeutic implications of fucose. *Am J Respir Crit Care Med.* juin 1997;155(6):2102-4.
34. Chemani C, Imberty A, de Bentzmann S, Pierre M, Wimmerová M, Guery BP, et al. Role of LecA and LecB lectins in *Pseudomonas aeruginosa*-induced lung injury and effect of carbohydrate ligands. *Infect Immun.* mai 2009;77(5):2065-75.
35. Takase H, Nitani H, Hoshino K, Otani T. Impact of siderophore production on *Pseudomonas aeruginosa* infections in immunosuppressed mice. *Infect Immun.* avr 2000;68(4):1834-9.
36. Génomique fonctionnelle de *Pseudomonas aeruginosa* et analyse moléculaire fine d'un facteur sigma-anti-sigma [Internet].
37. Le Berre R, Nguyen S, Nowak E, Kipnis E, Pierre M, Ader F, et al. Quorum-sensing activity and related virulence factor expression in clinically pathogenic isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis.* avr 2008;14(4):337-43.
38. Lesprit P, Faurisson F, Join-Lambert O, Roudot-Thoraval F, Foglino M, Vissuzaine C, et al. Role of the quorum-sensing system in experimental pneumonia due to *Pseudomonas aeruginosa* in rats. *Am J Respir Crit Care Med.* 1 juin 2003;167(11):1478-82.
39. Pearson JP, Feldman M, Iglewski BH, Prince A. *Pseudomonas aeruginosa* cell-to-cell signaling is required for virulence in a model of acute pulmonary infection. *Infect Immun.* juill 2000;68(7):4331-4.
40. Barbier F, Wolff M. Multirésistance chez *Pseudomonas aeruginosa* - Vers l'impasse thérapeutique ? *médecine/sciences.* 1 nov 2010;26(11):960-8.
41. Kollef MH, Chastre J, Fagon J-Y, François B, Niederman MS, Rello J, et al. Global prospective epidemiologic and surveillance study of ventilator-associated pneumonia due to *Pseudomonas aeruginosa*. *Crit Care Med.* oct 2014;42(10):2178-87.
42. Venier AG, Gruson D, Lavigne T, Jarno P, L'héritau F, Coignard B, et al. Identifying new risk factors for *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia in intensive care units: experience of the French national surveillance, REA-RAISIN. *J Hosp Infect.* sept 2011;79(1):44-8.
43. Mérens A, Delacour H, Plésiat P, Cavallo J-D, Jeannot K. *Pseudomonas aeruginosa* et résistance aux antibiotiques. *Rev Francoph Lab.* sept 2011;2011(435):49-62.
44. Patrice C, Roland L. *Antibiogramme 3e édition.* 3e édition. Paris: Editions Eska; 2011.

45. Li XZ, Nikaido H, Poole K. Role of mexA-mexB-oprM in antibiotic efflux in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* sept 1995;39(9):1948-53.
46. Jeannot K, Sobel ML, El Garch F, Poole K, Plésiat P. Induction of the MexXY efflux pump in *Pseudomonas aeruginosa* is dependent on drug-ribosome interaction. *J Bacteriol.* août 2005;187(15):5341-6.
47. CASFMV1_0_MARS_2017.pdf [Internet]. <http://www.sfm-microbiologie.org>
48. Masson E. Épidémiologie de la résistance aux Béta-lactamines chez *Pseudomonas aeruginosa*. EM-Consulte.
49. Cavallo JD, Leblanc F, Fabre R. [Surveillance of *Pseudomonas aeruginosa* sensitivity to antibiotics in France and distribution of beta-lactam resistance mechanisms: 1998 GERPB study]. *Pathol Biol (Paris)*. juin 2000;48(5):472-7.
50. Hocquet D, Plésiat P, Dehecq B, Mariotte P, Talon D, Bertrand X. Nationwide Investigation of Extended-Spectrum β -Lactamases, Metallo- β -Lactamases, and Extended-Spectrum Oxacillinases Produced by Ceftazidime-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Strains in France. *Antimicrob Agents Chemother.* août 2010;54(8):3512-5.
51. Rodríguez-Martínez J-M, Poirel L, Nordmann P. Extended-spectrum cephalosporinases in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* mai 2009;53(5):1766-71.
52. Lahiri SD, Johnstone MR, Ross PL, McLaughlin RE, Olivier NB, Alm RA. Avibactam and Class C β -Lactamases: Mechanism of Inhibition, Conservation of the Binding Pocket, and Implications for Resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 1 oct 2014;58(10):5704-13.
53. Berrazeg M, Jeannot K, Ntsogo Enguéné VY, Broutin I, Loeffert S, Fournier D, et al. Mutations in β -Lactamase AmpC Increase Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* Isolates to Antipseudomonal Cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother.* oct 2015;59(10):6248-55.
54. Moya B, Zamorano L, Juan C, Pérez JL, Ge Y, Oliver A. Activity of a new cephalosporin, CXA-101 (FR264205), against beta-lactam-resistant *Pseudomonas aeruginosa* mutants selected in vitro and after antipseudomonal treatment of intensive care unit patients. *Antimicrob Agents Chemother.* mars 2010;54(3):1213-7.
55. De Champs C, Chanal C, Sirot D, Baraduc R, Romaszko JP, Bonnet R, et al. Frequency and diversity of Class A extended-spectrum beta-lactamases in hospitals of the Auvergne, France: a 2 year prospective study. *J Antimicrob Chemother.* sept 2004;54(3):634-9.
56. Pagès J-M, Monlezun L, Broutin I, Davin-Regli A. Les mécanismes d'efflux et la résistance chez *Pseudomonas aeruginosa*. *Rev Francoph Lab.* 1 sept 2011;2011(435):63-72.
57. Poole K. Aminoglycoside Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1 févr 2005;49(2):479-87.
58. Doi Y, Arakawa Y. 16S ribosomal RNA methylation: emerging resistance mechanism against aminoglycosides. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 1 juill 2007;45(1):88-94.

59. Yokoyama K, Doi Y, Yamane K, Kurokawa H, Shibata N, Shibayama K, et al. Acquisition of 16S rRNA methylase gene in *Pseudomonas aeruginosa*. *Lancet Lond Engl*. 6 déc 2003;362(9399):1888-93.
60. Lee JK, Lee YS, Park YK, Kim BS. Alterations in the GyrA and GyrB subunits of topoisomerase II and the ParC and ParE subunits of topoisomerase IV in ciprofloxacin-resistant clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Antimicrob Agents*. avr 2005;25(4):290-5.
61. Akasaka T, Tanaka M, Yamaguchi A, Sato K. Type II topoisomerase mutations in fluoroquinolone-resistant clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated in 1998 and 1999: role of target enzyme in mechanism of fluoroquinolone resistance. *Antimicrob Agents Chemother*. août 2001;45(8):2263-8.
62. Jeannot K, Bolard A, Plésiat P. Resistance to polymyxins in Gram-negative organisms. *Int J Antimicrob Agents*. mai 2017;49(5):526-35.
63. Xu A, Zheng B, Xu Y-C, Huang Z-G, Zhong N-S, Zhuo C. National epidemiology of carbapenem-resistant and extensively drug-resistant Gram-negative bacteria isolated from blood samples in China in 2013. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. mars 2016;22 Suppl 1:S1-8.
64. Surveillance des infections nosocomiales en réanimation adulte / 2017 [Internet]. <http://invs.santepubliquefrance.fr>
65. Jones RN, Stilwell MG, Rhomberg PR, Sader HS. Antipseudomonal activity of piperacillin/tazobactam: more than a decade of experience from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2007). *Diagn Microbiol Infect Dis*. nov 2009;65(3):331-4.
66. Bertrand X, Dowzicky MJ. Antimicrobial Susceptibility Among Gram-Negative Isolates Collected From Intensive Care Units in North America, Europe, the Asia-Pacific Rim, Latin America, the Middle East, and Africa Between 2004 and 2009 as Part of the Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial. *Clin Ther*. 1 janv 2012;34(1):124-37.
67. Master RN, Clark RB, Karlowsky JA, Ramirez J, Bordon JM. Analysis of resistance, cross-resistance and antimicrobial combinations for *Pseudomonas aeruginosa* isolates from 1997 to 2009. *Int J Antimicrob Agents*. oct 2011;38(4):291-5.
68. Sader HS, Huband MD, Castanheira M, Flamm RK. Antimicrobial Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa*: Results from Four years (2012-2015) of the International Network for Optimal Resistance Monitoring (INFORM) Program in the United States. *Antimicrob Agents Chemother*. 9 janv 2017;AAC.02252-16.
69. Magiorakos A-P, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. mars 2012;18(3):268-81.
70. antimicrobial-resistance-europe-2015.pdf [Internet]. <http://ecdc.europa.eu>
71. European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) [Internet]. <http://ecdc.europa.eu>

72. rapport_onerba_2015.pdf [Internet]. <http://www.onerba.org>
73. Surveillance de la consommation des antibiotiques / 2017 [Internet]. <http://invs.santepubliquefrance.fr>
74. atb-mini-tourcoing.pdf [Internet]. <http://www.infectio-lille.com>
75. Rossolini GM, Mantengoli E. Treatment and control of severe infections caused by multiresistant *Pseudomonas aeruginosa*. Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis. juill 2005;11 Suppl 4:17-32.
76. Bedos JP. Stratégies thérapeutiques dans les infections à *Pseudomonas aeruginosa*. 30 juill 2010
77. Gellen-Dautremer J. Bactériémies à *Pseudomonas aeruginosa*. Mise au point. Antibiotiques. 1 juin 2010;12(2):75-81.
78. hap-vap-guidelines-2016.pdf [Internet].
79. Mesaros N, Nordmann P, Plésiat P, Roussel-Delvallez M, Van Eldere J, Glupczynski Y, et al. *Pseudomonas aeruginosa*: resistance and therapeutic options at the turn of the new millennium. Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis. juin 2007;13(6):560-78.
80. Kumar A, Safdar N, Kethireddy S, Chateau D. A survival benefit of combination antibiotic therapy for serious infections associated with sepsis and septic shock is contingent only on the risk of death: a meta-analytic/meta-regression study. Crit Care Med. août 2010;38(8):1651-64.
81. Kumar A, Zarychanski R, Light B, Parrillo J, Maki D, Simon D, et al. Early combination antibiotic therapy yields improved survival compared with monotherapy in septic shock: a propensity-matched analysis. Crit Care Med. sept 2010;38(9):1773-85.
82. Jeannot K, Plésiat P. Implications thérapeutiques de la résistance aux antibiotiques chez *Pseudomonas aeruginosa*. Lett Infect. 2005;20(6):227-237.
83. Mérens A, Jault P, Bargues L, Cavallo J-D. Infections à *Pseudomonas aeruginosa*. Datatraitescmc08-56974 [Internet]. 29 janv 2013
84. Meletis G, Bagkeri M. *Pseudomonas aeruginosa*: Multi-Drug-Resistance Development and Treatment Options. 2013
85. CT-14850_ZERBAXA_PIC_INS_Avis3_CT14850.pdf [Internet]. <https://www.has-sante.fr>
86. CT-15531_ZAVICETFA_PIC_INS_Avis2_CT15531.pdf [Internet]. <https://www.has-sante.fr>
87. Zhanel GG, Chung P, Adam H, Zelenitsky S, Denisuik A, Schweizer F, et al. Ceftolozane/tazobactam: a novel cephalosporin/ β -lactamase inhibitor combination with activity against multidrug-resistant gram-negative bacilli. Drugs. janv 2014;74(1):31-51.
88. Liscio JL, Mahoney MV, Hirsch EB. Ceftolozane/tazobactam and ceftazidime/avibactam: two novel β -lactam/ β -lactamase inhibitor combination agents for

- the treatment of resistant Gram-negative bacterial infections. *Int J Antimicrob Agents*. sept 2015;46(3):266-71.
89. Zhanel GG, Lawson CD, Adam H, Schweizer F, Zelenitsky S, Lagacé-Wiens PRS, et al. Ceftazidime-avibactam: a novel cephalosporin/ β -lactamase inhibitor combination. *Drugs*. févr 2013;73(2):159-77.
 90. Dantas RC, Ferreira ML, Gontijo-Filho PP, Ribas RM. *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia: independent risk factors for mortality and impact of resistance on outcome. *J Med Microbiol*. déc 2014;63(Pt 12):1679-87.
 91. Al-Hasan MN, Wilson JW, Lahr BD, Eckel-Passow JE, Baddour LM. Incidence of *Pseudomonas aeruginosa* Bacteremia: A Population-Based Study. *Am J Med*. août 2008;121(8):702-8.
 92. Uslan DZ, Crane SJ, Steckelberg JM, Cockerill FR, St Sauver JL, Wilson WR, et al. Age- and sex-associated trends in bloodstream infection: a population-based study in Olmsted County, Minnesota. *Arch Intern Med*. 23 avr 2007;167(8):834-9.
 93. Surveillance des bactéries multiresistantes dans les établissements de santé en France / 2017 [Internet]. <http://invs.santepubliquefrance.fr>
 94. Gellen-Dautremer J. Bactériémies à *Pseudomonas aeruginosa*. Mise au point. *Antibiotiques*. 1 juin 2010;12(2):75-81.
 95. Pappas G, Saplaoura K, Falagas ME. Current treatment of pseudomonal infections in the elderly. *Drugs Aging*. 2009;26(5):363-79.
 96. Scheetz MH, Hoffman M, Bolon MK, Schulert G, Estrellado W, Baraboutis IG, et al. Morbidity associated with *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infections. *Diagn Microbiol Infect Dis*. juill 2009;64(3):311-9.
 97. Kang C-I, Kim S-H, Kim H-B, Park S-W, Choe Y-J, Oh M-D, et al. *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: risk factors for mortality and influence of delayed receipt of effective antimicrobial therapy on clinical outcome. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 15 sept 2003;37(6):745-51.
 98. Joo E-J, Kang C-I, Ha YE, Kang S-J, Park SY, Chung DR, et al. Risk factors for mortality in patients with *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: clinical impact of antimicrobial resistance on outcome. *Microb Drug Resist Larchmt N*. juin 2011;17(2):305-12.
 99. Escande MC, Herbrecht R. Prospective study of bacteraemia in cancer patients. Results of a French multicentre study. *Support Care Cancer Off J Multinatl Assoc Support Care Cancer*. mai 1998;6(3):273-80.
 100. Maschmeyer G, Braveny I. Review of the incidence and prognosis of *Pseudomonas aeruginosa* infections in cancer patients in the 1990s. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol*. déc 2000;19(12):915-25.
 101. Kremery V, Koprnova J, Gogova M, Grey E, Korcova J. *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia in cancer patients. *J Infect*. juin 2006;52(6):461-3.
 102. Vidal F, Mensa J, Almela M, Martínez JA, Marco F, Casals C, et al. Epidemiology and outcome of *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia, with special emphasis on the influence

- of antibiotic treatment. Analysis of 189 episodes. Arch Intern Med. 14 oct 1996;156(18):2121-6.
103. Chatzinikolaou I, Abi-Said D, Bodey GP, Rolston KV, Tarrand JJ, Samonis G. Recent experience with *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia in patients with cancer: Retrospective analysis of 245 episodes. Arch Intern Med. 28 févr 2000;160(4):501-9.
 104. Tofas P, Samarkos M, Piperaki E-T, Kosmidis C, Triantafyllopoulou I-D, Kotsopoulou M, et al. *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia in patients with hematologic malignancies: risk factors, treatment and outcome. Diagn Microbiol Infect Dis. août 2017;88(4):335-41.
 105. Schechner V, Nobre V, Kaye KS, Leshno M, Giladi M, Rohner P, et al. Gram-negative bacteremia upon hospital admission: when should *Pseudomonas aeruginosa* be suspected? Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 1 mars 2009;48(5):580-6.
 106. Gransden WR, Leibovici L, Eykyn SJ, Pitlik SD, Samra Z, Konisberger H, et al. Risk factors and a clinical index for diagnosis of *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia. Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis. févr 1995;1(2):119-23.
 107. Cheong HS, Kang C-I, Wi YM, Ko KS, Chung DR, Lee NY, et al. Inappropriate initial antimicrobial therapy as a risk factor for mortality in patients with community-onset *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia. Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol. déc 2008;27(12):1219-25.
 108. Hammer KL, Justo JA, Bookstaver PB, Kohn J, Albrecht H, Al-Hasan MN. Differential effect of prior β -lactams and fluoroquinolones on risk of bloodstream infections secondary to *Pseudomonas aeruginosa*. Diagn Microbiol Infect Dis. janv 2017;87(1):87-91.
 109. Hilf M, Yu VL, Sharp J, Zuravleff JJ, Korvick JA, Muder RR. Antibiotic therapy for *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: outcome correlations in a prospective study of 200 patients. Am J Med. nov 1989;87(5):540-6.
 110. Siegman-Igra Y, Ravona R, Primerman H, Giladi M. *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: An analysis of 123 episodes, with particular emphasis on the effect of antibiotic therapy. Int J Infect Dis. 1 avr 1998;2(4):211-5.
 111. Chamot E, Boffi El Amari E, Rohner P, Van Delden C. Effectiveness of combination antimicrobial therapy for *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia. Antimicrob Agents Chemother. sept 2003;47(9):2756-64.
 112. Kang C-I, Kim S-H, Park WB, Lee K-D, Kim H-B, Kim E-C, et al. Clinical features and outcome of patients with community-acquired *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia. Clin Microbiol Infect. 1 mai 2005;11(5):415-8.
 113. Micek ST, Lloyd AE, Ritchie DJ, Reichley RM, Fraser VJ, Kollef MH. *Pseudomonas aeruginosa* Bloodstream Infection: Importance of Appropriate Initial Antimicrobial Treatment. Antimicrob Agents Chemother. avr 2005;49(4):1306-11.
 114. Aliaga L, Mediavilla JD, Cobo F. A clinical index predicting mortality with *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia. J Med Microbiol. juill 2002;51(7):615-9.
 115. INVS | Surveillance des bactériémies nosocomiales en France. Réseau BN-Raisin, Résultats 2004. [Internet]. <http://invs.santepubliquefrance.fr>

116. Rapport BN 2009 CCLINEST.pdf [Internet]. <http://www.cpias-grand-est.fr>
117. Thaden JT, Park LP, Maskarinec SA, Ruffin F, Fowler VG, Duin D van. Increased mortality associated with bloodstream infections caused by *Pseudomonas aeruginosa* as compared to other bacteria: Results of a 13-year prospective cohort study. *Antimicrob Agents Chemother.* 3 avr 2017;AAC.02671-16.
118. McCarthy KL, Paterson DL. Increased risk of death with recurrent *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia. *Diagn Microbiol Infect Dis.* juin 2017;88(2):152-7.
119. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 1 août 2004;39(3):309-17.
120. van Delden C. *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infections: how should we treat them? *Int J Antimicrob Agents.* nov 2007;30 Suppl 1:S71-75.
121. Scheetz MH, Hoffman M, Bolon MK, Schulert G, Estrellado W, Baraboutis IG, et al. Morbidity associated with *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infections. *Diagn Microbiol Infect Dis.* juill 2009;64(3):311-9.
122. Weinstein MP, Towns ML, Quartey SM, Mirrett S, Reimer LG, Parmigiani G, et al. The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s: a prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology, and outcome of bacteremia and fungemia in adults. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* avr 1997;24(4):584-602.
123. Hernandez C, Cobos-Trigueros N, Feher C, Morata L, De La Calle C, Marco F, et al. Community-onset bacteraemia of unknown origin: clinical characteristics, epidemiology and outcome. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol.* nov 2014;33(11):1973-80.
124. Bactériémies nosocomiales panhospitalières: résultats de surveillance 2016-2017 [Internet]. INSPQ. <https://www.inspq.qc.ca>
125. Kang C-I, Kim S-H, Park WB, Lee K-D, Kim H-B, Kim E-C, et al. Risk factors for antimicrobial resistance and influence of resistance on mortality in patients with bloodstream infection caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Microb Drug Resist Larchmt N.* 2005;11(1):68-74.
126. Aloush V, Navon-Venezia S, Seigman-Igra Y, Cabili S, Carmeli Y. Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*: Risk Factors and Clinical Impact. *Antimicrob Agents Chemother.* janv 2006;50(1):43-8.
127. Morata L, Cobos-Trigueros N, Martínez JA, Soriano Á, Almela M, Marco F, et al. Influence of Multidrug Resistance and Appropriate Empirical Therapy on the 30-Day Mortality Rate of *Pseudomonas aeruginosa* Bacteremia. *Antimicrob Agents Chemother.* sept 2012;56(9):4833-7.
128. Lautenbach E, Synnestvedt M, Weiner MG, Bilker WB, Vo L, Schein J, et al. Imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: emergence, epidemiology, and impact on clinical and economic outcomes. *Infect Control Hosp Epidemiol.* janv 2010;31(1):47-53.

129. Tam VH, Rogers CA, Chang K-T, Weston JS, Caeiro J-P, Garey KW. Impact of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia on patient outcomes. *Antimicrob Agents Chemother.* sept 2010;54(9):3717-22.
130. Johnson LE, D'Agata EMC, Paterson DL, Clarke L, Qureshi ZA, Potoski BA, et al. *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia over a 10-year period: multidrug resistance and outcomes in transplant recipients. *Transpl Infect Dis Off J Transplant Soc.* juin 2009;11(3):227-34.
131. Tuon FF, Gortz LW, Rocha JL. Risk factors for pan-resistant *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia and the adequacy of antibiotic therapy. *Braz J Infect Dis Off Publ Braz Soc Infect Dis.* août 2012;16(4):351-6.
132. Willmann M, Kuebart I, Marschal M, Schröppel K, Vogel W, Flesch I, et al. Effect of metallo- β -lactamase production and multidrug resistance on clinical outcomes in patients with *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infection: a retrospective cohort study. *BMC Infect Dis.* 1 nov 2013;13:515.
133. Suárez C, Peña C, Tubau F, Gavaldà L, Manzur A, Dominguez MA, et al. Clinical impact of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infections. *J Infect.* avr 2009;58(4):285-90.
134. Nathwani D, Raman G, Sulham K, Gavaghan M, Menon V. Clinical and economic consequences of hospital-acquired resistant and multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections: a systematic review and meta-analysis. *Antimicrob Resist Infect Control [Internet].* 20 oct 2014;3.
135. Horino T, Chiba A, Kawano S, Kato T, Sato F, Maruyama Y, et al. Clinical characteristics and risk factors for mortality in patients with bacteremia caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Intern Med Tokyo Jpn.* 2012;51(1):59-64.
136. Kim YJ, Jun YH, Kim YR, Park KG, Park YJ, Kang JY, et al. Risk factors for mortality in patients with *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia; retrospective study of impact of combination antimicrobial therapy. *BMC Infect Dis.* 24 mars 2014;14:161.
137. Yoon YK, Kim HA, Ryu SY, Lee EJ, Lee MS, Kim J, et al. Tree-structured survival analysis of patients with *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: A multicenter observational cohort study. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1 févr 2017;87(2):180-7.
138. Bodey GP, Jadeja L, Elting L. *Pseudomonas* bacteremia. Retrospective analysis of 410 episodes. *Arch Intern Med.* sept 1985;145(9):1621-9.
139. Rehm SR, Gross GN, Pierce AK. Early bacterial clearance from murine lungs. Species-dependent phagocyte response. *J Clin Invest.* août 1980;66(2):194-9.
140. Terashima T, Kanazawa M, Sayama K, Urano T, Sakamaki F, Nakamura H, et al. Neutrophil-induced lung protection and injury are dependent on the amount of *Pseudomonas aeruginosa* administered via airways in guinea pigs. *Am J Respir Crit Care Med.* déc 1995;152(6 Pt 1):2150-6.
141. Chamot E, Boffi El Amari E, Rohner P, Van Delden C. Effectiveness of combination antimicrobial therapy for *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia. *Antimicrob Agents Chemother.* sept 2003;47(9):2756-64.

142. Lodise TP, Patel N, Kwa A, Graves J, Furuno JP, Graffunder E, et al. Predictors of 30-day mortality among patients with *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infections: impact of delayed appropriate antibiotic selection. *Antimicrob Agents Chemother.* oct 2007;51(10):3510-5.
143. Lodise TP, Lomaestro B, Drusano GL. Piperacillin-tazobactam for *Pseudomonas aeruginosa* infection: clinical implications of an extended-infusion dosing strategy. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 1 févr 2007;44(3):357-63.
144. Yang H, Zhang C, Zhou Q, Wang Y, Chen L. Clinical outcomes with alternative dosing strategies for piperacillin/tazobactam: a systematic review and meta-analysis. *PloS One.* 2015;10(1):e0116769.
145. Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Intensive Care Med.* mars 2017;43(3):304-77.
146. Garnacho-Montero J, Sa-Borges M, Sole-Violan J, Barcenilla F, Escosca-Ortega A, Ochoa M, et al. Optimal management therapy for *Pseudomonas aeruginosa* ventilator-associated pneumonia: an observational, multicenter study comparing monotherapy with combination antibiotic therapy. *Crit Care Med.* août 2007;35(8):1888-95.
147. Hilf M, Yu VL, Sharp J, Zuravleff JJ, Korvick JA, Muder RR. Antibiotic therapy for *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: outcome correlations in a prospective study of 200 patients. *Am J Med.* nov 1989;87(5):540-6.
148. Safdar N, Handelsman J, Maki DG. Does combination antimicrobial therapy reduce mortality in Gram-negative bacteraemia? A meta-analysis. *Lancet Infect Dis.* août 2004;4(8):519-27.
149. Paul M, Lador A, Grozinsky-Glasberg S, Leibovici L. Beta lactam antibiotic monotherapy versus beta lactam-aminoglycoside antibiotic combination therapy for sepsis. *Cochrane Database Syst Rev.* 7 janv 2014;(1):CD003344.
150. Zilberberg MD, Shorr AF. Prevalence of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and carbapenem-resistant Enterobacteriaceae among specimens from hospitalized patients with pneumonia and bloodstream infections in the United States from 2000 to 2009. *J Hosp Med.* oct 2013;8(10):559-63.
151. McCarthy K. *Pseudomonas aeruginosa*: evolution of antimicrobial resistance and implications for therapy. *Semin Respir Crit Care Med.* févr 2015;36(1):44-55.
152. Lynch JP, Zhanel GG, Clark NM. Emergence of Antimicrobial Resistance among *Pseudomonas aeruginosa*: Implications for Therapy. *Semin Respir Crit Care Med.* juin 2017;38(3):326-45.
153. Gauzit R, Pean Y, Alfandari S, Bru J-P, Bedos J-P, Rabaud C, et al. Carbapenem use in French hospitals: A nationwide survey at the patient level. *Int J Antimicrob Agents.* déc 2015;46(6):707-12.
154. Diamantis S, Rioux C, Bonnal C, Papy E, Farfour É, Andremont A, et al. Évaluation de l'antibiothérapie des bactériémies et place d'une équipe mobile pour l'amélioration de la prescription antibiotique. 19 nov 2010

155. Alfandari S, Cabaret P, Nguyen S, Descamps D, Vachée A, Cattoen C, et al. Evaluating the management of 493 patients presenting with bacteremia in 23 northern French hospitals. *Med Mal Infect.* juin 2016;46(4):194-9.
156. Levasseur P, Girard A-M, Claudon M, Goossens H, Black MT, Coleman K, et al. In Vitro Antibacterial Activity of the Ceftazidime-Avibactam (NXL104) Combination against *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* mars 2012;56(3):1606-8.
157. Sharma R, Park TE, Moy S. Ceftazidime-Avibactam: A Novel Cephalosporin/ β -Lactamase Inhibitor Combination for the Treatment of Resistant Gram-negative Organisms. *Clin Ther.* 2016;38(3):431-44.
158. Walkty A, DeCorby M, Lagacé-Wiens PRS, Karlowsky JA, Hoban DJ, Zhanel GG. In Vitro Activity of Ceftazidime Combined with NXL104 versus *Pseudomonas aeruginosa* Isolates Obtained from Patients in Canadian Hospitals (CANWARD 2009 Study)[∇]. *Antimicrob Agents Chemother.* juin 2011;55(6):2992-4.
159. Zhanel GG, Lawson CD, Adam H, Schweizer F, Zelenitsky S, Lagacé-Wiens PRS, et al. Ceftazidime-avibactam: a novel cephalosporin/ β -lactamase inhibitor combination. *Drugs.* févr 2013;73(2):159-77.
160. Crandon JL, Schuck VJ, Banevicius MA, Beaudoin M-E, Nichols WW, Tanudra MA, et al. Comparative in vitro and in vivo efficacies of human simulated doses of ceftazidime and ceftazidime-avibactam against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* déc 2012;56(12):6137-46.
161. Livermore DM, Mushtaq S, Meunier D, Hopkins KL, Hill R, Adkin R, et al. Activity of ceftolozane/tazobactam against surveillance and « problem » Enterobacteriaceae, *Pseudomonas aeruginosa* and non-fermenters from the British Isles. *J Antimicrob Chemother.* 16 mai 2017;
162. Sader HS, Farrell DJ, Castanheira M, Flamm RK, Jones RN. Antimicrobial activity of ceftolozane/tazobactam tested against *Pseudomonas aeruginosa* and Enterobacteriaceae with various resistance patterns isolated in European hospitals (2011-12). *J Antimicrob Chemother.* oct 2014;69(10):2713-22.
163. Zhanel GG, Chung P, Adam H, Zelenitsky S, Denisuik A, Schweizer F, et al. Ceftolozane/tazobactam: a novel cephalosporin/ β -lactamase inhibitor combination with activity against multidrug-resistant gram-negative bacilli. *Drugs.* janv 2014;74(1):31-51.
164. Gonzalez MD, McMullen AR, Wallace MA, Crotty MP, Ritchie DJ, Burnham C-AD. Susceptibility of Ceftolozane-Tazobactam and Ceftazidime-Avibactam Against a Collection of β -Lactam-Resistant Gram-Negative Bacteria. *Ann Lab Med.* mars 2017;37(2):174-6.
165. Cabot G, Bruchmann S, Mulet X, Zamorano L, Moyà B, Juan C, et al. *Pseudomonas aeruginosa* Ceftolozane-Tazobactam Resistance Development Requires Multiple Mutations Leading to Overexpression and Structural Modification of AmpC. *Antimicrob Agents Chemother.* juin 2014;58(6):3091-9.



Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX
☎ 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64
<http://pharmacie.univ-lille2.fr/>



DEMANDE D'AUTORISATION DE SOUTENANCE

Nom et Prénom de l'étudiant : Gougeon Angélique

Date, heure et lieu de soutenance :

Le

| | | |
|------|------|-------|
| 17 | 10 | 2017 |
| jour | mois | année |

 à 18 h 15 Amphithéâtre ou salle : Curie

Avis du conseiller (directeur) de thèse

Nom : CATTIGNON

Prénom : Christiane

Favorable

Défavorable

Motif de l'avis défavorable :

Date : 12 Juin 2017
Signature:

Avis du Président de Jury

Nom : GOFFARD

Prénom : Anne

Favorable

Défavorable

Motif de l'avis défavorable :

Date : 05/09 17
Signature:

Décision de Monsieur le Doyen

Favorable

Défavorable



NB : La faculté n'entend donner aucune approbation ou improbation aux opinions émises dans les thèses, qui doivent être regardées comme propres à leurs auteurs.

Université de Lille 2
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES DE LILLE
MEMOIRE de DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
(tenant lieu de Thèse en vue du Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie)
Année Universitaire 2016/2017

Nom : GOUGEON
Prénom : Angélique

Titre du mémoire / thèse : Bactériémies à *Pseudomonas aeruginosa* : analyse de 181 épisodes documentés dans deux établissements hospitaliers du Nord de la France

Mots-clés : Bactériémies, *Pseudomonas aeruginosa*, épidémiologie, facteurs de risque, résistance aux antibiotiques, ceftolozane-tazobactam (C/T), ceftazidime-avibactam (CZA)

Résumé :

Contexte : Depuis 1996, un observatoire régional recense chaque année plus de 200 bactériémies à *P.aeruginosa* (PA) dans les hôpitaux du Nord-Pas-de-Calais. Cette étude a été menée dans deux établissements participant à ce réseau afin de préciser les caractéristiques des patients et des souches isolées pour tous les épisodes documentés avec cette bactérie durant cinq ans.

Méthode : Inclusion de toutes les bactériémies documentées de 2012 à 2016 dans les CH d'Arras et de Valenciennes. Données relatives aux patients recueillies en consultant les dossiers cliniques. Données microbiologiques étudiées à partir des logiciels de laboratoire. Détermination des CMI de deux nouvelles associations d'antibiotiques (C/T, CZA) et étude des mécanismes de résistance réalisées sur des souches bactériennes conservées en collection dans ces deux établissements.

Résultats : La moyenne d'âge des 175 patients était de 69 ans. On notait au moins une comorbidité chez 93% des patients (cancer ou hémopathie pour 87 patients). L'infection était sévère dans 28.7% des cas et associée à une neutropénie chez 24% des patients. 22% des patients décédaient à J10. La sensibilité des souches était la suivante: tazocilline (88.1%), ceftazidime (90.6%), imipénème (83.4%). 17 souches ont été catégorisées BMR et 2 totorésistantes. Les CMI de C/T et de CZA apparaissaient inférieures à celles des molécules de référence (ceftazidime et céfépime). Le traitement probabiliste était adapté au bacille pyocyanique dans seulement 41% des cas. Après documentation, le traitement a été modifié chez 74% des patients (élargissement du spectre dans 77.5% des cas).

Conclusion et perspectives : Les données de la littérature sur les bactériémies à PA sont pauvres. Cette étude contribue à préciser le profil particulier des patients, leur prise en charge et les caractéristiques des souches responsables. Elle confirme la sévérité de cette pathologie. Une fine connaissance des mécanismes physiopathologiques et des facteurs de virulence bactériens sont devenus essentiels pour la prise en charge des infections à PA. Plusieurs pistes sont à l'étude pour le développement de stratégies thérapeutiques anti-virulence en complément de l'antibiothérapie classique.

Membres du jury:

| | |
|-----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Présidente : | Madame le Docteur Anne GOFFARD |
| Assesseurs : | Madame le Professeur Karine FAURE Monsieur le Docteur Nicolas ETTAHAR Madame le Docteur Marie-Noëlle NOULARD |
| Directeur de thèse : | Monsieur le Docteur Christian CATTOEN |

