

THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Soutenue publiquement le 15 Septembre 2023

Par Mme Sarah Wices

DETERMINATION DE L'ACTIVITE IN VITRO DE 15
ANTIBIOTIQUES DE DERNIER RECOURS SUR DES SOUCHES
DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* ISOLEES D'INFECTIONS
RESPIRATOIRES

Membres du jury :

Président : Pr Goffard Anne, PU-PH en microbiologie à la faculté de Pharmacie de Lille

Directeur, conseiller de thèse : Dr Le Guern Rémi, MCU-PH en bactériologie au CHU de Lille

Assesseur(s) : Dr Loridant Séverine, PH en parasitologie-mycologie au CHU de Lille

Dr Duployez Claire, AHU en bactériologie au CHU de Lille

Faculté de Pharmacie de Lille
3 Rue du Professeur Laguesse – 59000 Lille
03 20 96 40 40
<https://pharmacie.univ-lille.fr>

Université de Lille

Président
Premier Vice-président
Vice-présidente Formation
Vice-président Recherche
Vice-présidente Réseaux internationaux et européens
Vice-président Ressources humaines
Directrice Générale des Services

Régis BORDET
Etienne PEYRAT
Christel BEAUCOURT
Olivier COLOT
Kathleen O'CONNOR
Jérôme FONCEL
Marie-Dominique SAVINA

UFR3S

Doyen
Premier Vice-Doyen
Vice-Doyen Recherche
Vice-Doyen Finances et Patrimoine
Vice-Doyen Coordination pluriprofessionnelle et
Formations sanitaires
Vice-Doyen RH, SI et Qualité
Vice-Doyenne Formation tout au long de la vie
Vice-Doyen Territoires-Partenariats
Vice-Doyenne Vie de Campus
Vice-Doyen International et Communication
Vice-Doyen étudiant

Dominique LACROIX
Guillaume PENEL
Éric BOULANGER
Damien CUNY

Sébastien D'HARANCY
Hervé HUBERT
Caroline LANIER
Thomas MORGENROTH
Claire PINÇON
Vincent SOBANSKI
Dorian QUINZAIN

Faculté de Pharmacie

Doyen
Premier Assesseur et Assesseur en charge des études
Assesseur aux Ressources et Personnels
Assesseur à la Santé et à l'Accompagnement
Assesseur à la Vie de la Faculté
Responsable des Services
Représentant étudiant

Delphine ALLORGE
Benjamin BERTIN
Stéphanie DELBAERE
Anne GARAT
Emmanuelle LIPKA
Cyrille PORTA
Honoré GUISE

Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers (PU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique	81
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie	82
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie	82
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie – Virologie	82
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie	82
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire	82

Professeurs des Universités (PU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique – RMN	85
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie	87
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	CHAVATTE	Philippe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences végétales et fongiques	87
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques	87
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique – RMN	85
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie thérapeutique	86
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie bio-inorganique	85

M.	DUPONT	Frédéric	Sciences végétales et fongiques	87
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie	86
M.	ELATI	Mohamed	Biomathématiques	27
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie – Virologie	87
Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique	85
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique	86
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique	85
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie	86
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique	86
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques	26
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire	87
Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire	87
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie physique	85
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie	87
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie – Virologie	87
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie	86
M.	SERGHERAERT	Éric	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique	86

Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers (MCU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	BLONDIAUX	Nicolas	Bactériologie – Virologie	82
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie	82
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique	81

Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie – Virologie	82

Maîtres de Conférences des Universités (MCU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	AGOURIDAS	Laurence	Chimie thérapeutique	85
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie	87
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire	87
Mme	BARTHELEMY	Christine	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	85
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie – Virologie	87
M.	BELARBI	Karim-Ali	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique – RMN	85
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie	87
M.	BOCHU	Christophe	Biophysique – RMN	85
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie	86
M.	BOSC	Damien	Chimie thérapeutique	86
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie	87
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire	87
Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	CHARTON	Julie	Chimie organique	86
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique	85
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques	85
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques	27

Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire	87
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique	86
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	FLIPO	Marion	Chimie organique	86
M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie	87
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie	87
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques	26
Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa-Mounira	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie	86
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie	87
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	KARROUT	Younes	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie	87
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique	85
Mme	LEHMANN	Hélène	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique	85
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques	26
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie	86
M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences végétales et fongiques	87
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques	85

M.	PIVA	Frank	Biochimie	85
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique	86
M.	POURCET	Benoît	Biochimie	87
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / Innovations pédagogiques	85
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique	86
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie	86
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie	86
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie	87
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie – Virologie	87
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie	87
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Chimie organique	86
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques	87
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique	86
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques	85

Professeurs certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeurs Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	DAO PHAN	Haï Pascal	Chimie thérapeutique	86
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie pharmaceutique	86

Maîtres de Conférences Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques	85
M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques	85
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	85
M.	GILLOT	François	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	MITOUMBA	Fabrice	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	86
M.	PELLETIER	Franck	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques	85

Assistants Hospitalo-Universitaire (AHU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie	82
Mme	LENSKI	Marie	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81

Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	GEORGE	Fanny	Bactériologie - Virologie / Immunologie	87
Mme	N'GUESSAN	Cécilia	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	RUEZ	Richard	Hématologie	87
M.	SAIED	Tarak	Biophysique – RMN	85
M.	SIEROCKI	Pierre	Chimie bioinorganique	85

Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière

Faculté de Pharmacie de Lille

3 Rue du Professeur Laguesse – 59000 Lille

03 20 96 40 40

<https://pharmacie.univ-lille.fr>

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

Remerciements

Madame le Professeur Anne GOFFARD,

Je vous remercie de me faire l'honneur de présider le jury de cette thèse et d'évaluer mon travail. Soyez assurée de mon profond respect et de toute ma reconnaissance.

A mon directeur de thèse, Monsieur le Docteur Rémi LE GUERN,

Je te remercie d'avoir accepté d'encadrer ma thèse, et d'avoir toujours su m'accorder le temps et l'aide nécessaire à son élaboration. Ta disponibilité constante, tes conseils de qualité et ta confiance m'ont permis de réaliser ce travail dans des conditions optimales. Je t'en suis sincèrement reconnaissante.

A Madame le Docteur Claire DUPLOYEZ,

Je vous remercie d'avoir accepté de juger ce travail en faisant partie des membres de ce jury. Soyez assurée de ma reconnaissance et de mon plus profond respect.

A Madame le Docteur Séverine LORIDANT,

Je vous remercie d'avoir accepté avec enthousiasme de faire partie de ce jury et d'évaluer ce travail avec votre point de vue mycologique. Soyez assurée de ma reconnaissance et de mon plus profond respect.

Je remercie l'équipe de bactériologie du CHU de Lille pour m'avoir permis de réaliser cette étude au sein de leur laboratoire.

Un grand merci à tous les techniciens, les biologistes, les cliniciens et tous les autres professionnels que j'ai pu rencontrer au cours de mon internat. Merci d'avoir donné de votre temps pour me former et me transmettre votre savoir. Je voulais également vous témoigner, tout le plaisir que j'ai eu à apprendre et travailler avec vous.

Un immense merci à l'équipe de microbiologie du laboratoire d'Arras où j'y ai tant appris. Merci pour votre accueil chaleureux à mon arrivée dans les Hauts-de-France et dans l'univers de la biologie médicale et de la bactériologie, mais aussi pour votre sens de l'humour que je n'oublierai pas !

Je remercie l'équipe de biochimie et du métabolisme du CHU de Lille ; merci Jaime et Lucie pour la petite touche musicale pendant ce semestre ! Et merci à Anaïs et Joëlle, c'était très plaisant de travailler avec vous.

Merci à l'équipe du laboratoire d'hématologie du CHU de Lille. Merci à l'agréable équipe d'hémostase pour ces 3 mois.

Merci à toute l'équipe du laboratoire du CH de Tourcoing de m'avoir accueillie en stage.

Je remercie les biologistes, les techniciens et tous les autres membres du laboratoire de virologie du CHU de Lille.

Je souhaite également remercier chaleureusement toute l'équipe du laboratoire de Parasitologie-Mycologie de l'hôpital Saint-Louis de Paris, pour la richesse de la formation et la convivialité pendant ce semestre parisien ! Merci à mes co-internes Eva et Jessy pour tous les Jeudis midi à découvrir les bonnes adresses autour du canal Saint-Martin. Merci Samia pour ta passion communicative en parasitologie-mycologie. Et merci Théo pour ton aide précieuse sur Excel.

Merci à toute l'équipe de recherche en immunologie de l'institut Pasteur de Lille pour ce stage de recherche de master 1 au sein de votre équipe. Merci particulièrement à Christophe Carnoy pour votre disponibilité, vos conseils et votre confiance.

A mes co-internes lillois :

A ma promotion d'internes ; Leila, Dimitri, Joan, Fanny, Madhi, Mariam, Manon D., Ludo, Ilyes, Guillaume, Cheyma, Manon F., Thomas, Manon P.

A Joan, merci pour tes petites attentions.

A Dimitri, mon premier co-interne à Arras. Merci pour ton amitié et pour les bons moments passés dans les bars lillois.

A mon amie Leila, merci pour ta relecture. Merci pour ton écoute, ta bienveillance, mais surtout pour ton grand cœur. A cette amitié qui a embelli mon internat !

A tous les autres co-internes lillois que j'ai rencontré et avec qui j'ai passé de bons moments ;

A Wissal pour ta bonne humeur et ta gentillesse pendant notre semestre à Tourcoing.

A mes co-internes Thomas, Marc et David, et au nouveau grand chef Alexandre, merci pour cette bonne ambiance et ces rires pendant le semestre de virologie, mais surtout pour m'avoir fait progresser en baby-foot !

Merci à Khalil, Jérémy, Amélie, Charles, Yasmine, Emma, de m'avoir entourée pendant cette aventure lilloise et de l'avoir rendue heureuse et festive.

A mes camarades de faculté de Pharmacie de Marseille ; particulièrement à mon binôme de TP Ema, Valou, Enzo, Elora, Lucille, Alexis, Nans, Nas, Méline, merci d'avoir rendu ces premières années étudiantes marseillaises incroyables dans cette ville incroyable ! Et merci à ceux avec qui j'ai préparé le concours de l'internat en 2019 dans la bonne humeur, l'entraide et la solidarité.

Merci aux pharmaciennes et aux préparatrices de la Pharmacie de la Croix d'Or pour ces étés à la pharmacie. C'était une agréable découverte de la vie professionnelle.

Merci à tous les enseignants pour m'avoir transmis, intéressée et encouragée dans le milieu scolaire et étudiant.

A ma plus vieille amie, Coline, merci d'être toujours là depuis toutes ces années. Je suis si heureuse d'avoir une amie comme toi, jamais très loin.

A Marion, merci pour ta positivité, pour nos discussions et pour tous ces rires.

A Erwan, merci pour ta fidélité depuis la terminale. Ta sensibilité et ta bienveillance font de toi un ami formidable.

A mes amis de longue date ; Paul, Louise, Lucas, Mél, Gab, Robin, Christo, Fred, Kyle, Leila, Julie. A toutes ces vacances, ces festivals, ces soirées et ces heureux moments que nous

partageons. Merci pour votre fidélité et pour l'équilibre que vous m'apportez. C'est un bonheur de vous avoir dans ma vie.

Je remercie de tout mon cœur mes parents. Je ne vous remercierai jamais assez pour votre amour et votre générosité. Vous m'avez offert la chance d'apprendre et d'étudier toutes ces années dans les meilleures conditions. Merci de m'avoir guidée et encouragée. Je vous dois ce parcours. Et merci Papa pour ta minutieuse relecture.

A ma petite sœur Emma, merci de toujours croire en moi à chaque étape, et pour être venue si souvent me rendre visite à l'autre bout de la France pendant mon internat. Je suis très fière de toi, et de qui tu es devenue. Tu es un modèle.

A ma famille ; ma marraine, mon parrain, mes oncles, mes tantes, mes cousines et cousins, mon filleul, pour tout l'amour, et les encouragements que vous me donnez, qui me permettent d'avancer plus sereinement et avec confiance dans ce parcours. Merci pour tous les moments en famille que nous passons qui réchauffent le cœur.

A mes grands-parents, merci de toujours penser à moi dans les moments importants. Merci d'avoir chéri notre enfance et de nous offrir de merveilleuses vacances à Carboneras. Vous êtes admirables et vos parcours m'inspirent.

A la famille Rabaud ; Didier, Carine, Romane, Antoine et Solène. Merci pour votre accueil, votre gentillesse et votre confiance. A tous nos bons moments, aux débats du samedi soir et aux étés à Oletta ! Merci pour votre soutien pendant cet été 2023 en Corse pendant l'écriture de ma thèse.

A toi, Baptiste, merci pour ton soutien sans faille et de toujours croire en moi depuis toutes ces années. Merci d'avoir parcouru la France en train tous les week-ends pour pouvoir se retrouver. Merci pour ton amour, ton optimisme et ton énergie positive chaque jour. Tu es cette personne qui rend la vie plus belle et plus joyeuse. Merci de m'avoir fait cette place dans ta vie depuis 6 ans.

Enfin, merci aux patients de nous faire confiance, en espérant être à la hauteur de ce que vous méritez.

Liste des abréviations

AC : Accord de catégorie

AE : Accord essentiel

ARN : Acide ribonucléique

BLSE : β -lactamase à large spectre

CASFM : Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

CHU : Centre Hospitalo-Universitaire

CLSI : Clinical and Laboratory Standards Institute

CMI : Concentration minimale inhibitrice

EM : Ecart majeur

ETM : Ecart très majeur

EUCAST : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

ISO : Organisme international de normalisation

OMS : Organisation mondiale de la santé

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

Table des matières

INTRODUCTION	16
CHAPITRE 1 : GENERALITES	18
I. La bactérie <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18
A. Taxonomie et mise en évidence.....	18
B. Description de la bactérie et caractères cultureux	19
C. Facteurs favorisants	20
D. Pouvoir pathogène complexe	23
E. Résistances aux antibiotiques	24
II. Infections pulmonaires à <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	30
A. Généralités sur la pneumonie infectieuse.....	30
B. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> chez les patients atteints de mucoviscidose.....	32
III. Méthode de test de sensibilité in vitro de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux antibiotiques.....	38
A. Sensititre ®	39
B. VITEK 2 ®	40
C. Diffusion (méthode de Kirby-Bauer)	42
D. E-test ®	43
CHAPITRE 2 : MATERIELS ET METHODES.....	45
CHAPITRE 3 : RESULTATS.....	50
I. Description des patients inclus	50
II. Comparaison au Sensititre.....	51
A. Définitions	51
B. Comparaison des méthodes au Sensititre.....	51
III. Sensibilités aux antibiotiques obtenues avec la méthode Sensititre.....	58
CHAPITRE 4 : DISCUSSION	60
CHAPITRE 5 : CONCLUSION	64
CHAPITRE 6 : BIBLIOGRAPHIE	65

Introduction

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie opportuniste, impliquée dans environ 7% des infections associées aux soins de santé (1). Ce pathogène peut être observé dans plusieurs types d'infections comme les infections des voies urinaires, les bactériémies, mais surtout des pneumonies chez les patients sous ventilation mécanique, atteints de cancer, neutropéniques, chez les brûlés ou les personnes infectées par le VIH. Il est en cause de 20 % des pneumopathies de réanimation (2) et colonise environ 30% des patients atteints de mucoviscidose (3). De plus, *P. aeruginosa* provoque des maladies chez les plantes (4), les animaux d'élevage et les animaux de compagnie (5,6). Le génome hautement flexible et polyvalent de *P. aeruginosa* lui permet d'avoir une pathogénicité élevée. Les nombreux facteurs de virulence sécrétés et exprimés, la multirésistance à différentes classes d'antibiotiques et la capacité de former des biofilms sont des facteurs de pathogénicité qui exposent à de nombreuses difficultés dans la lutte contre les infections à *P. aeruginosa* et qui doivent être mieux compris pour un traitement efficace.

La résistance aux antimicrobiens est devenue une crise majeure de santé publique. Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), environ 700 000 personnes meurent chaque année dans le monde d'infections bactériennes dues à la résistance aux antibiotiques. Le sujet est considéré comme l'une des menaces les plus importantes pour l'espèce humaine au 21^{ème} siècle (7). Les infections nosocomiales par *P. aeruginosa* sont causées par des souches souvent résistantes aux antibiotiques, posant ainsi des problèmes majeurs à l'hôpital (8). De plus, les gènes de résistance peuvent être disséminés entre les microbiotes associés aux humains, aux animaux et à l'environnement.

Afin de traiter les patients infectés avec une antibiothérapie adaptée le plus rapidement possible, les laboratoires de biologie médicale disposent de différentes méthodes pour tester la sensibilité des bactéries pathogènes capables d'exprimer des mécanismes de résistance aux antibiotiques les plus courants. A l'aide de méthode par dilutions successives d'antibiotiques ou par bandelette avec un gradient de concentration d'antibiotique, l'antibiogramme permet d'obtenir la concentration minimale inhibitrice (CMI) qui guide le clinicien sur la concentration d'agent antimicrobien nécessaire au niveau du foyer infectieux pour traiter le patient avec une bonne probabilité de succès thérapeutique. La CMI est définie comme la plus faible concentration d'antibiotique empêchant la croissance visible d'une bactérie donnée. Un critère d'interprétation (« sensible à posologie standard », « sensible à forte posologie » ou

« résistant ») peut ensuite être affecté au résultat de CMI pour guider le choix d'une antibiothérapie (9). Les procédures standard et de référence sont basées sur des méthodes d'antibiogramme pour lesquelles une période d'incubation minimale de 16 à 24 heures doit être observée pour les bactéries. Pour *P. aeruginosa*, la micro-dilution en bouillon reste la méthode de référence selon la norme ISO 20776-1 de 2006. Elle consiste à incuber 24 heures un inoculum bactérien dans des puits contenant de dilutions successives de deux en deux d'antibiotiques. Bien que cette méthode permette de déterminer les CMI, elle est difficilement applicable en routine en raison de sa lourdeur et de la nécessité d'avoir de nombreux puits sur la plaque. Différents fabricants ont mis au point des variantes de la procédure de référence avec des durées d'incubation plus courtes permettant d'obtenir des résultats plus rapidement et pour certaines de déterminer les CMI. Ainsi, beaucoup de laboratoires dont celui du CHU de Lille utilisent des méthodes automatisées comme le système VITEK® 2 (BioMérieux, Marcy-l'Étoile, France). Ce type de système est capable de donner une valeur de CMI approchée en 8 à 12h mais ne permet pas de mesurer de « vraies » CMI (9). Une autre méthode se rapprochant plus de la méthode de référence, permet de déterminer un statut de sensibilité en fonction de la CMI : la micro-dilution dans des microplaques Sensititre® (Thermo Fisher Scientific, Cleveland, OH, USA).

L'objectif de ce travail est de comparer une méthode d'antibiogramme par micro-dilution en microplaques Sensititre avec d'autres techniques actuellement utilisées en routine comme le VITEK 2®, la diffusion en milieu gélosé ou E-test® (BioMérieux, Marcy-l'Étoile, France) pour des souches de *P. aeruginosa* isolées de prélèvements respiratoires. Nous en profiterons également pour évaluer les problèmes que l'on peut rencontrer en routine avec cette technique sur les souches de croissance difficile comme les souches de *P. aeruginosa* mucoïdes chez les patients atteints de mucoviscidose.

Pour cela, nous avons inclus des souches de prélèvements respiratoires des patients suivis pour mucoviscidose, ainsi que des souches de *P. aeruginosa* isolées de prélèvements respiratoires de patients hospitalisés en réanimation de décembre 2022 à avril 2023 au CHU de Lille.

Chapitre 1 : Généralités

I. La bactérie *Pseudomonas aeruginosa*

A. Taxonomie et mise en évidence

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie appartenant à l'ordre des *Pseudomonales* et à la famille des *Pseudomonadaceae* (10). Le genre *Pseudomonas* présente une grande diversité. En 1972, les travaux de Palleroni et Doudoroff ont permis de distinguer cinq groupes d'homologie d'ARN ribosomal (Tableau 1) pour classer les différentes espèces. Le groupe I de Palleroni rassemble les "vrais" *Pseudomonas*, qui comprennent à la fois des espèces "fluorescentes", produisant de la pyoverdine et des espèces non fluorescentes. Le groupe II englobe les genres *Burkholderia*, et *Ralstonia*. Le groupe III inclut la famille des *Comamonadaceae*, qui comprend les genres *Comamonas*, *Delftia* et *Acidovorax*. Le groupe IV correspond au genre *Brevundimonas*, puis le groupe V correspond au genre *Stenotrophomonas*.

Tableau 1: Classification actuelle des principales espèces de *Pseudomonas* et bactéries apparentées rencontrées en pathologie humaine (11)

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

Depuis leurs travaux, la classification des groupes d'homologie a connu des avancées grâce à l'utilisation de nouvelles méthodes de caractérisation moléculaire, permettant le séquençage complet des génomes bactériens. Malgré ces évolutions, le groupe I demeure un groupe d'homologie significatif, incluant l'espèce *P. aeruginosa* qui est la plus répandue au sein du genre dans les pathologies infectieuses. *P. aeruginosa* a été découvert pour la première fois en 1872 par Schroeter (12),(13). À l'origine nommée *Bacterium aeruginosum*, cette bactérie possède la capacité de produire un pigment bleu hydrosoluble que l'on retrouve dans le pus de certaines plaies. Elle a été isolée ultérieurement à partir d'une plaie surinfectée chez un

soldat dont les pansements avaient une coloration bleu/vert. Le mérite de l'isolement de cette bactérie est attribué à Carle Gessard, pharmacien militaire et bactériologiste français, qui la désigna sous le nom de *Bacillus pyocyaneus* (14). En 1894, Walter Migula lui donna le nom de *Pseudomonas aeruginosa* encore utilisé aujourd'hui. Le nom de la bactérie provient du grec "pseudo" signifiant "imitation" et de "monas" signifiant "unité", se référant ici aux "germes". Le terme "aeruginosa" en latin signifie "vert-de-gris" et fait référence à la teinte du cuivre oxydé qui rappelle l'aspect de ses colonies.

B. Description de la bactérie et caractères cultureux

P. aeruginosa se présente sous forme de bacilles à Gram-négatif, parfois incurvés et d'aspect très fin (1 à 3 μm de long et 0.5 à 1 μm de large). C'est une bactérie non capsulée et non sporulée, très mobile grâce à un flagelle en position polaire et de type respiratoire aérobie strict, oxydatif et non fermentant. Elle peut toutefois également se répliquer en condition anaérobie en utilisant le nitrate comme accepteur terminal d'électron (15). Cette bactérie non exigeante, pousse en culture en moins de 18 heures sur des milieux gélosés usuels comme BCP, GS, PVX/CHOC. Les colonies sont plates aux bords irréguliers à reflets métalliques et ont une odeur caractéristique de « fleur de seringat » due à la production d'ortho-amino-acétophénone (16). Elles produisent deux pigments, la pyocyanine, et la pyoverdine qui peuvent leur donner un aspect de couleur bleu/verte/noir. La pyocyanine, spécifique de l'espèce *aeruginosa*, provoque l'inhibition de la respiration cellulaire, altère la fonction ciliaire et facilite les dommages oxydatifs à l'épithélium pulmonaire (17).

Le génome de *P. aeruginosa* est structuré en un réplicon unique, une molécule d'ADN circulaire, relativement grande, estimée à environ 6,3 millions de paires de bases. Il se compose de 5697 gènes codant pour des protéines impliquées dans divers processus biologiques tels que le métabolisme, la mobilité, la virulence et la régulation génétique (10) (18).

De nombreux gènes peuvent de plus être acquis par transfert horizontal, par l'intermédiaire d'intégrons ou d'éléments génétiques mobiles, tels que des transposons, des séquences d'insertion, des îlots génomiques, des phages, des plasmides et des éléments intégratifs et conjugatifs. Les îlots génomiques sont des segments d'ADN horizontalement transférés qui renferment des gènes liés à des adaptations environnementales spécifiques. L'acquisition des éléments génétiques mobiles entraîne un coût d'adaptation pour l'hôte, qui peut être atténué

au fil du temps par des mutations compensatoires au cours de la coévolution (19). En plus des gènes, le génome comprend des régions non codantes et des séquences régulatrices. Cette structure complexe et flexible confère à *P. aeruginosa* la capacité de s'adapter à différents environnements et de développer des caractéristiques spécifiques en réponse aux pressions évolutives. Cette diversité génomique se traduit par une structure de population non clonale, ponctuée de clones spécifiques associés à une morbidité et une mortalité importante dans le monde entier, les clones dits à « haut risque » (19).

P. aeruginosa est une bactérie ubiquitaire de l'environnement dont le réservoir naturel est l'eau. Elle est fréquemment retrouvée dans les mers, les rivières et les réseaux d'eau domestiques (20). C'est un saprophyte de l'environnement capable de se développer dans le sol et les habitats humides et de coloniser les végétaux et les animaux (21). Elle peut également se développer sur les matériaux de surface humides comme le matériel hospitalier. Chez l'Homme sain, il s'agit d'un commensal rare ne se retrouvant que chez seulement 2 à 4 % des individus. Cependant, ce taux de portage augmente considérablement en cas d'hospitalisation ou de traitement antibiotique, pouvant atteindre jusqu'à 50 voire 60 % (22). Le tube digestif est le principal site de colonisation, suivi des voies aériennes supérieures et des plis cutanés. De ce fait, la porte d'entrée d'une infection peut être endogène (par la colonisation des voies respiratoires ou gastro-intestinales) ou exogène (eau du robinet) dans le cas de la pneumonie acquise à l'hôpital (23).

C. Facteurs favorisants

A) Facteurs de virulence de la bactérie

P. aeruginosa doit son haut pouvoir pathogène à la grande taille et la polyvalence de son génome, ce qui lui confère de multiples facteurs de virulence cités ci-dessous dans le Tableau 2. Les facteurs de virulence jouent un rôle essentiel pour la survie de la bactérie, la colonisation et l'invasion des tissus au cours de l'infection. De plus, certains de ces facteurs de virulence sont capables d'activer ou de déjouer le système immunitaire de l'hôte.

Ils peuvent être classés en deux groupes ; d'une part les facteurs membranaires qui jouent un rôle dans la mobilité et l'adhésion aux endothéliums et épithéliums (flagelle, pili de type IV, LPS, alginate, protéine CupA), et d'autre part, les facteurs sécrétés qui provoquent des lésions cellulaires ou tissulaires (exotoxine A, élastase, pyocyanine, rhamnolipide...).

Tableau 2: Les principaux facteurs de virulence de *P. aeruginosa*: mécanismes de virulence et effets pathogènes induits (24)

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 cytolytique local	Lyse des cellules cibles (atélectasie pulmonaire) Rôle dans l'infection aiguë et chronique.

Les facteurs de virulence impliqués dans le développement d'une pneumonie sont principalement les exotoxines et le système de sécrétion de type 3 (25). Les exotoxines sont des toxines produites par la bactérie qui peuvent endommager le tissu pulmonaire et affaiblir la défense immunitaire de l'hôte (26). Quant au système de sécrétion de type 3, c'est un ensemble complexe de protéines fonctionnant comme une sorte de "seringue moléculaire", permettant à la bactérie d'injecter directement des protéines effectrices, qui peuvent modifier les fonctions cellulaires, dans les cellules de l'hôte. La structure du système peut être divisée en cinq parties : les protéines qui composent le complexe de l'aiguille qui transporte les substrats du cytosol bactérien vers l'environnement extracellulaire ; les protéines qui transloquent les protéines sécrétées dans les cellules hôtes ; les protéines qui régulent le processus de sécrétion ; les protéines chaperonnes qui facilitent la sécrétion de leurs partenaires spécifiques, et les protéines qui sont injectées dans les cellules hôtes, appelées protéines effectrices ou exotoxines. Quatre toxines ont été identifiées : ExoS, ExoT, ExoU et ExoY. Les quatre toxines sont exprimées de façon variable selon les souches. ExoS et ExoT

collaborent pour perturber le cytosquelette de la cellule hôte, bloquer la phagocytose et provoquer la mort cellulaire. Une forte expression de *exoU* chez une souche est associée à un mauvais pronostic clinique (27).

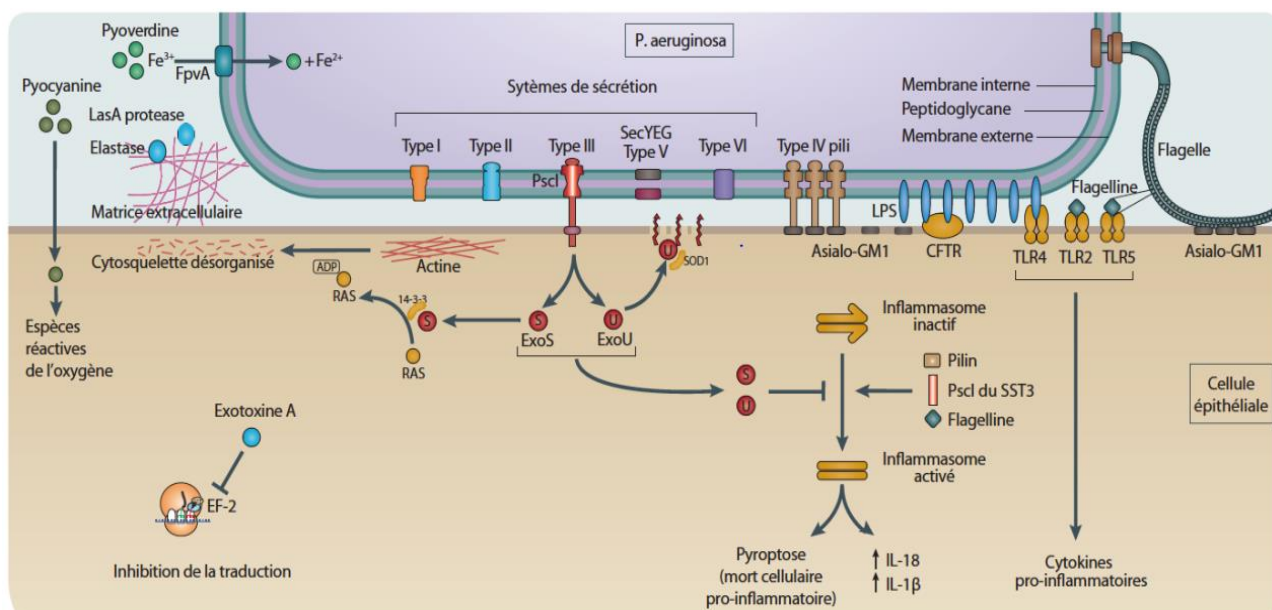


Figure 1 : Mécanismes d'action des différents facteurs de virulence de *P. aeruginosa* sur une cellule épithéliale (27)

Concernant ce système de sécrétion de type III, une matrice très complexe de signaux environnementaux est intégrée pour le réguler étroitement. Trente-six gènes encodés dans cinq opérons regroupés sur le chromosome de *P. aeruginosa* sont impliqués dans la biogenèse et la régulation de la machinerie de ce système. Au moins six autres gènes dispersés dans le chromosome codent pour des protéines effectrices et leurs chaperons.

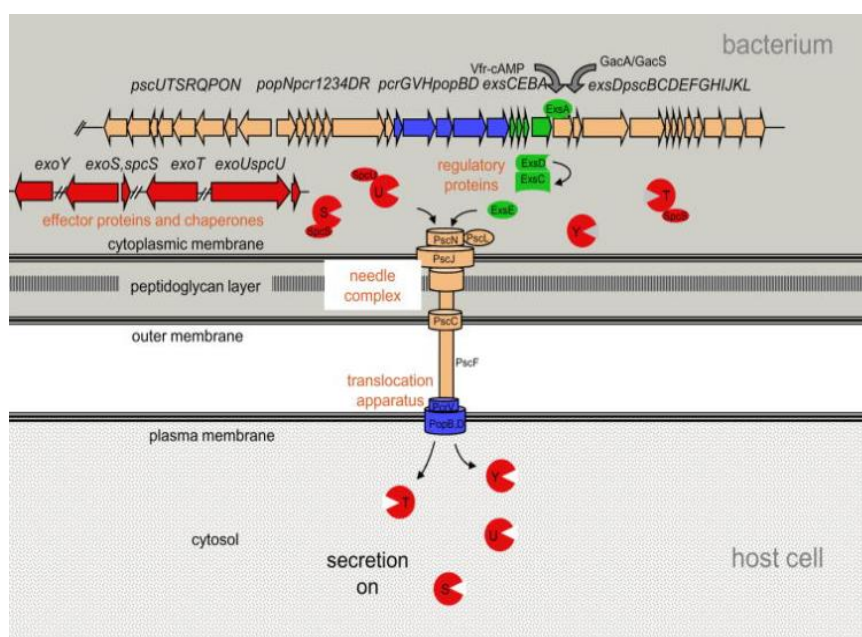


Figure 2 : Régulation du système de sécrétion de type III (28)

B) Facteurs liés à l'hôte

Malgré sa grande capacité d'adaptation et la présence de nombreux facteurs de virulence, *P. aeruginosa* reste une bactérie opportuniste et a rarement la possibilité de provoquer une infection sans qu'il y ait une défaillance sous-jacente de la barrière mécanique ou de l'immunité de l'hôte. Ainsi, elle entraîne essentiellement des infections nosocomiales chez les patients sous ventilation mécanique, immunodéprimés, dans des contextes d'hémopathie, de neutropénie, de diabète, de greffe, chez les patients sous chimiothérapie (29), infectés par le VIH (30) ou encore les grands brûlés. Les patients atteints de graves brûlures subissent une perte significative de l'intégrité de leur barrière épithéliale et les infections restent la principale cause de mortalité chez ces patients. Dans un environnement hospitalier, on trouve des souches de *P. aeruginosa* multi-résistantes qui peuvent être une source d'infection et d'épidémies entraînant une morbi-mortalité élevée dans les unités de soins intensifs des patients brûlés (31,32).

D. Pouvoir pathogène complexe

A) Infections aiguës

P. aeruginosa est capable de causer des infections aiguës dans divers tissus. Elle peut entraîner des infections pulmonaires, notamment des pneumonies acquises sous ventilation mécanique (PAVM) (33), des infections du tractus urinaire (34), des otites (35), des infections oculaires (16), des infections cutanées (surinfections de plaies ou brûlures) (36), des infections ostéoarticulaires (37) et des infections de matériels invasifs (cathéters, sondes urinaires, chambre implantable, picc-line). Plus rarement, elle peut être responsable de méningites ou d'endocardites (16).

La plupart des infections à *P. aeruginosa* peuvent se compliquer de bactériémies. Le pronostic de ces bactériémies est souvent grave et varie selon la pathologie sous-jacente, l'âge, la rapidité de mise en place d'un traitement antibiotique adapté. Outre ces paramètres, des facteurs relatifs aux bactéries, tels que le phénotype de résistance ultrarésistant, affectent négativement le pronostic des patients ayant une bactériémie à *P. aeruginosa* (38).

B) Infections chroniques

Les infections chroniques peuvent être définies comme des infections persistantes où la bactérie est fréquemment non invasive et non cytotoxique puisque *P. aeruginosa* perd ses facteurs les plus immunogènes tels que les pilis et le flagelle et synthétise du biofilm afin d'échapper au système immunitaire de l'hôte (39). L'élimination du pathogène devient alors difficile. Ainsi elle est capable de coloniser certains tissus mais aussi d'exacerber les difficultés respiratoires chez les patients atteints de pathologie pulmonaires comme la bronchectasie, la broncho-pneumopathie obstructive ou la mucoviscidose (40) (41).

E. Résistances aux antibiotiques

A) Résistances naturelles

La résistance naturelle des bactéries, également appelée résistance intrinsèque, fait référence à la capacité inhérente de toutes les souches d'une même espèce bactérienne à résister aux antibiotiques. Elles sont associées à ce qu'on appelle « phénotype sauvage ». Les multiples résistances naturelles de *P. aeruginosa* sont dues à plusieurs mécanismes (19).

Premièrement, la bactérie possède une faible perméabilité de la membrane externe, ce qui limite l'entrée des antibiotiques dans la cellule. La perméabilité est due à la présence de porines, des canaux protéiques qui permettent le passage des molécules à travers la membrane externe. Cette membrane est composée de lipo-polysaccharides (LPS) et joue un rôle de barrière contre les antibiotiques, qui doivent pénétrer dans la bactérie par des porines. Chez *P. aeruginosa*, les porines sont peu nombreuses et peu perméables, les antibiotiques hydrophobes ont du mal à traverser cette membrane, ce qui réduit leur efficacité (42).

En outre, *P. aeruginosa* produit naturellement une céphalosporinase chromosomique AmpC qui est une β -lactamase inductible à large spectre. Cette enzyme hydrolyse les amino-pénicillines (amoxicilline, ampicilline), les céphalosporines de première et deuxième générations (céfalotine, céfoxitine, céfuroxime) et certaines céphalosporines de troisième générations (cefotaxime, ceftriaxone). La production d'AmpC est régulée par un système de complexe qui permet à la bactérie de surproduire cette β -lactamase en réponse à la présence d'antibiotiques de la famille des β -lactamines. La surexpression d'AmpC confère une résistance aux céphalosporines habituellement actives sur *P. aeruginosa*, notamment à la ceftazidime.

Enfin, la bactérie possède également des systèmes de pompes à efflux actif qui éliminent les antibiotiques de la cellule avant qu'ils ne puissent agir. Les pompes à efflux actif les plus importantes sont MexA-MexB-OprM et MexX-MexY-OprM (43,44). Ces pompes sont capables de transporter une grande variété d'antibiotiques. La surproduction de ces pompes à efflux actif est souvent associée à une résistance accrue aux β -lactamines, aminosides, fluoroquinolones tétracyclines, sulfamides, macrolides, triméthoprine, chloramphénicol (45–47).

L'ensemble de ces propriétés implique la résistance naturelle aux pénicillines A, aux céphalosporines de 1^{ère} génération, de 2^{ème} génération et de 3^{ème} génération à l'exception de la ceftazidime, ainsi qu'à l'ertapénème. *P. aeruginosa* est également naturellement résistant aux phénicolés, aux tétracyclines, au cotrimoxazole, aux macrolides, aux glycopeptides, aux imidazolés, aux lincosamides et à la kanamycine (48).

La résistance intrinsèque de *P. aeruginosa* découle ainsi de divers mécanismes, ayant pour objectif soit de désactiver les antibiotiques, soit de les empêcher d'atteindre leur cible à l'intérieur de la cellule. Le Tableau 3 présente la liste principale et complémentaire des molécules à tester lors d'un antibiogramme selon les recommandations du CASFM 2022 pour les *Pseudomonas* sp..

Tableau 3: Liste standard et complémentaire des molécules à tester par antibiogramme pour les molécules à tester par antibiogramme pour les *Pseudomonas* sp. d'après le CASFM 2022

Liste standard	Liste complémentaire
Amikacine	Céfiderocol
Aztréonam	Ceftazidime-avibactam
Céfépime	Colistine
Ceftazidime	Fosfomycine
Ceftolozane-tazobactam	Imipénème-relebactam
Ciprofloxacine	Lévofloxacine
Gentamicine	Méropénème-vaborbactam
Imipénème	
Méropénème	
Pipéracilline	
Pipéracilline-tazobactam	
Ticarcliline	
Ticarcliline-acide clavulanique	
Tobramycine	

Les β -lactamines qui peuvent rester actives sur les souches de *P. aeruginosa* sont la pipéracilline (peu utilisée), pipéracilline associée au tazobactam (inhibiteur de β -lactamase), la ceftazidime, le céfépime, l'imipénème et le méropénème. S'y ajoutent les aminosides (amikacine, tobramycine), la colistine et la fosfomycine.

B) Principales résistances acquises aux β -lactamines

Par opposition aux résistances naturelles, les résistances acquises ne sont présentes que chez certaines souches de l'espèce bactérienne. Elles peuvent être chromosomiques ou plasmidiques, par sélection de mutations ou bien par acquisition de nouveaux gènes (par transfert de matériel génétique) (49). Les résistances acquises sont souvent favorisées en milieu hospitalier par une forte concentration bactérienne et une pression de sélection par les antibiotiques, en particulier les antibiotiques à large spectre (50).

Les infections causées par *P. aeruginosa* sont associées à une résistance acquise à de nombreux antibiotiques (Figure 3 à 6 et Tableau 4). Chez *P. aeruginosa*, la résistance combinée (définie comme une résistance à au moins trois antibiotiques parmi pipéracilline-tazobactam, carbapénèmes, ceftazidime, aminosides, fluoroquinolones) était de 8,2 % en France en 2021 sur tous prélèvements confondus (8) (Figure 6 et Tableau 4).

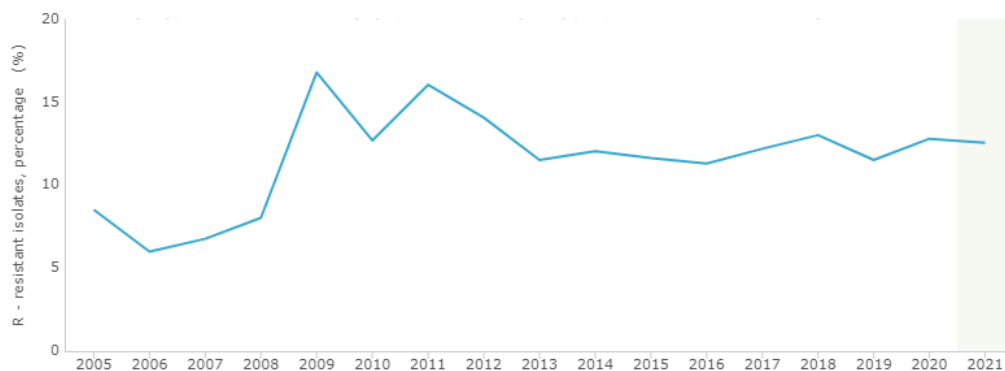


Figure 3 : Evolution du taux de résistance à la ceftazidime chez *P. aeruginosa* de 2005 à 2021 en France (51)

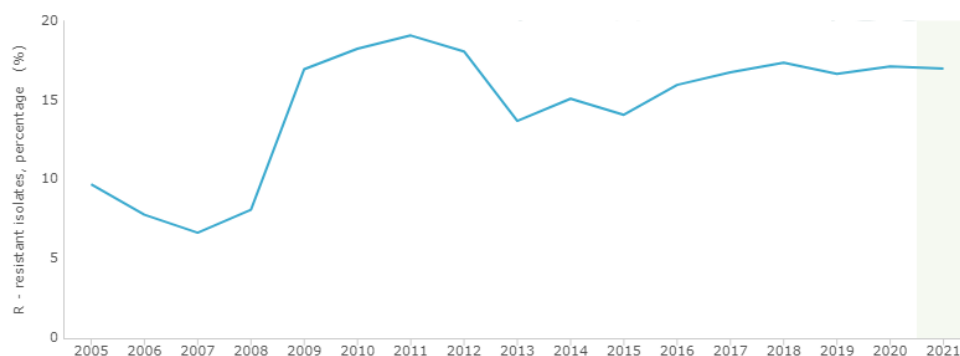


Figure 4 : Evolution du taux de résistance à la pipéracilline-tazobactam chez *P. aeruginosa* de 2005 à 2021 en France (51)

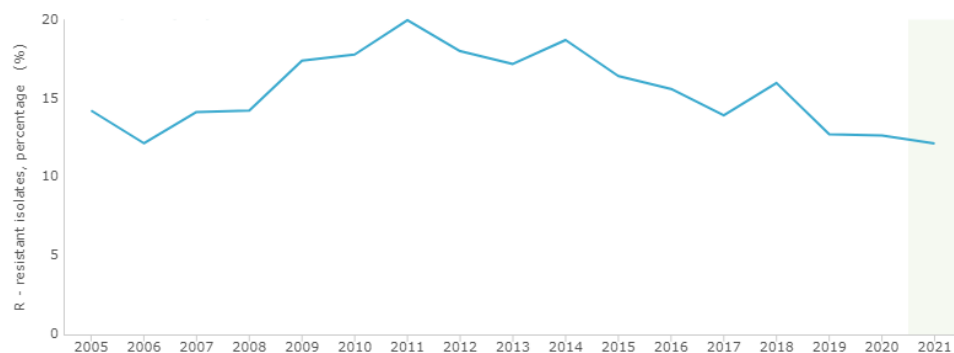


Figure 5 : Evolution du taux de résistance aux carbapénèmes chez *P. aeruginosa* de 2005 à 2021 en France (51)

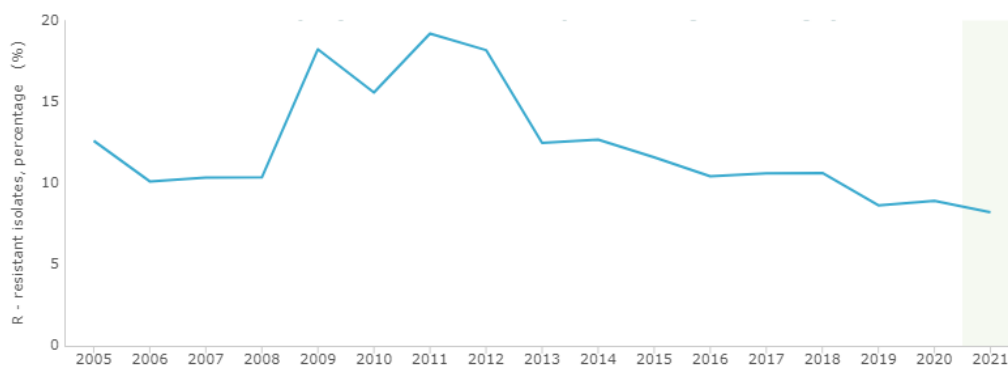


Figure 6 : Evolution du taux de résistance combinée chez *P. aeruginosa* de 2005 à 2021 en France (51)

Tableau 4: Evolution des taux de résistances par antibiotiques chez *P. aeruginosa* de 2005 à 2021 (51)

	Aminosides	Carbapénèmes	Ceftazidime	Fluoroquino- lones	Pipéracilline- Tazobactam	Résistance combinée
2005	21,7	14,2	8,5	26,6	9,7	12,6
2006	16,4	12,2	6,0	22,9	7,8	10,1
2007	18,5	14,1	6,8	23,7	6,6	10,3
2008	15,2	14,2	8,0	22,1	8,1	10,4
2009	19,0	17,4	16,8	24,8	17,0	18,2
2010	18,6	17,8	12,7	22,8	18,2	15,6
2011	21,0	20,0	16,0	27,0	19,1	19,2
2012	20,0	18,0	14,1	22,2	18,1	18,2
2013	16,0	17,2	11,5	21,2	13,7	12,5
2014	15,7	18,7	12,0	20,6	15,1	12,7
2015	14,1	16,4	11,6	19,1	14,1	11,6
2016	10,7	15,6	11,3	13,6	16,0	10,4
2017	10,9	13,9	12,2	15,1	16,7	10,6
2018	9,3	16,0	13,0	15,1	17,4	10,6
2019	7,8	12,7	11,5	13,7	16,7	8,6
2020	5,6	12,6	12,8	14,8	17,1	8,9
2021	4,9	12,1	12,5	14,1	17,0	8,2

Les mécanismes de résistance peuvent être enzymatiques, c'est-à-dire que les bactéries produisent des enzymes spécifiques capables de modifier chimiquement ou de dégrader les

structures des agents antibiotiques, rendant ainsi les bactéries résistantes à leur action. Les bactéries peuvent produire différentes classes d'enzymes de résistance telles que les β -lactamases, qui inactivent certains antibiotiques de la famille des β -lactamines comme les pénicillines ou les céphalosporines (52).

Les premières β -lactamases découvertes chez *P. aeruginosa* avaient un spectre limité, tandis que les plus récentes ont un champ d'action plus élargi englobant les céphalosporines de troisième et quatrième générations, voire les carbapénèmes. Ces enzymes ont été classées en quatre catégories (A, B, C et D) en fonction de leur séquence en acides aminés, conformément à la classification d'Ambler. Les enzymes de classe A, C et D comportent une sérine dans leur site actif tandis que celles de classe B nécessitent le zinc comme cofacteur, d'où leur appellation de métallo-enzymes.

L'hyperproduction d'une céphalosporinase chromosomique naturelle est le mécanisme de résistance acquise le plus fréquent. *P. aeruginosa* produit naturellement deux β -lactamases : une oxacillinase de type OXA-50 et une céphalosporinase AmpC. La surexpression de la céphalosporinase AmpC confère une résistance aux céphalosporines habituellement actives sur *P. aeruginosa*, notamment à la ceftazidime. De plus, l'hyperproduction de cette enzyme n'est pas associée à un coût en terme de fitness important pour *P. aeruginosa* (53), favorisant la diffusion de souches multi-résistantes. En revanche elle n'affecte pas les carbapénèmes qui restent habituellement actifs. L'hyperproduction de la céphalosporinase est liée à des mutations du gène *ampD* impliqué dans la régulation négative de *ampC*. Des mutations du gène *ampD* peuvent ainsi entraîner une dérégulation totale ou partielle de la synthèse de la céphalosporinase AmpC.

P. aeruginosa peut également produire des β -lactamases à spectre restreint transportées par des plasmides. Trois catégories d'enzymes sont impliquées : les carbénicillinases (groupe CARB ou PSE), les oxacillinases (groupe OXA) et les pénicillinases de type TEM. Ces enzymes sont classées dans les classes A et D selon la classification d'Ambler. Ces pénicillinases à spectre limité confèrent une résistance à la ticarcilline et à la pipéracilline, mais n'affectent ni la ceftazidime ni l'imipénème. Les inhibiteurs de β -lactamases montrent une efficacité limitée contre les enzymes CARB et OXA. Seule les pénicillinases de type TEM1/TEM2 sont sensibles aux inhibiteurs (acide clavulanique ou tazobactam) (19,54).

P. aeruginosa produit également des β -lactamases à large spectre (BLSE). Ces β -lactamases appartiennent aux classes A et D de la classification d'Ambler et leur action s'étend aux

céphalosporines de troisième et quatrième génération. La première BLSE identifiée chez *P. aeruginosa* fut l'enzyme PER-1 (Pseudomonas Extended Resistance) en 1991, isolée chez un patient turc hospitalisé à Paris. Cette BLSE est fréquemment retrouvée chez les souches résistantes à la ceftazidime. Elle possède une forte activité hydrolytique vis-à-vis de la ceftazidime, de l'aztréonam et du céfépime mais a une faible action sur la pipéracilline. Elle est inhibée par l'acide clavulanique et le tazobactam (55). Sept autres familles de BLSE de classe A ont été identifiées chez *P. aeruginosa* : TEM, SHV et CTX-M (comme chez les entérobactéries), VEB (Vietnamese Extended spectrum β -lactamase), GES (Guyana Extended spectrum β -lactamase), BEL (Belgium) et PME (Pseudomonas ESBL). Actuellement, les enzymes de type PER et GES sont les plus courantes en France et des souches produisant ces enzymes ont été impliquées dans des épidémies hospitalières. Les enzymes de type GES hydrolysent la ceftazidime, le céfépime et la pipéracilline mais sont peu inhibées par l'acide clavulanique et le tazobactam (56).

Contrairement aux BLSE de classe A, les BLSE de classe D identifiées chez *P. aeruginosa* sont très rarement retrouvées chez d'autres espèces bactériennes. Ce sont des "oxacillinasés à large spectre" (ES-OXA). Elles dérivent principalement d'oxacillinasés à spectre restreint par des mutations ponctuelles, ce qui les rend plus actives sur les céphalosporines de 3^{ème} génération. L'activité varie d'une ES-OXA à l'autre vis-à-vis des uréido-pénicillines, des carboxypénicillines, de l'aztréonam et des céphalosporines de 3^{ème} génération. Elles sont peu inhibées par l'acide clavulanique, à l'exception des OXA 18, 45 et 28. En France, l'OXA-19 est la plus répandue (56).

En France, 12,1% des souches de *P. aeruginosa* étaient résistants aux carbapénèmes en 2021 d'après le rapport de l'ECDC (Figure 6). Cette résistance aux carbapénèmes est la plupart du temps due à un mécanisme non-enzymatique mais elle peut aussi parfois être liée à la production de carbapénémase. Chez *P. aeruginosa*, les principales carbapénémases retrouvées sont des métallo- β -lactamases (classe B d'Ambler) (57). Elles hydrolysent toutes les β -lactamines sauf l'aztréonam. Elles hydrolysent même les nouvelles molécules, comme le ceftazidime-avibactam ou le ceftolozane-tazobactam (58).

Les mécanismes de résistance non-enzymatiques sont plus souvent impliqués dans la résistance aux carbapénèmes. Des mutations au niveau de la porine D2 (OprD) sont associées à la résistance à l'imipénème. En effet, OprD est la porine par laquelle les carbapénèmes pénètrent dans la bactérie. Cette mutation est fréquemment observée dans les souches

cliniques, avec un risque de 20 à 30 % de sélection d'un mutant résistant par perte d'OprD lors d'une infection traitée par l'imipénème (59,60). Le méropénème est habituellement moins touché que l'imipénème en cas de mutation de la porine OprD.

Un autre mécanisme est la surproduction du système d'efflux actif où les pompes d'efflux jouent un rôle dans la résistance naturelle des bactéries aux antibiotiques. Lorsque ces pompes d'efflux sont hyper-produites, elles contribuent à augmenter la résistance à des antibiotiques auxquels la bactérie est normalement sensible. Cette hyperproduction est due à des mutations spontanées dans les gènes régulateurs des pompes d'efflux MexAB-OprM et MexXY/OprM. Le système MexAB-OprM associe une pompe (MexB/Y), une lipoprotéine de liaison à la membrane (MexA/X) et une porine (OprM), permettant l'expulsion de l'antibiotique hors de la cellule. Les souches surproduisant le système MexAB-OprM induisent des CMI 4 à 8 fois plus élevées pour certaines β -lactamines. L'hyperproduction du système MexXY/OprM est associée à des CMI 2 à 8 fois plus élevées pour les céphalosporines, les aminosides et les fluoroquinolones (47,61,62).

II. Infections pulmonaires à *Pseudomonas aeruginosa*

A. Généralités sur la pneumonie infectieuse

A) Définition et diagnostic

La pneumonie est une infection des poumons généralement causée par des bactéries, des virus, des champignons ou d'autres agents infectieux. Elle se caractérise par l'infiltration des tissus pulmonaires par des micro-organismes provoquant des symptômes tels que fièvre, toux, essoufflement et douleurs thoraciques. La pneumonie peut varier en gravité, allant de formes légères traitées en ambulatoire à des cas plus sévères nécessitant une hospitalisation et des soins intensifs. Elle peut entraîner des complications potentiellement graves, en particulier chez les personnes âgées, les nourrissons et les individus immunodéprimés. Le diagnostic et le traitement précoces sont essentiels pour réduire les risques de complications et favoriser une récupération rapide. Pour les pneumonies infectieuses, le diagnostic microbiologique a pour but d'identifier l'agent infectieux responsable de l'infection pulmonaire. Premièrement, il faut réaliser un prélèvement respiratoire tels que des crachats, des sécrétions trachéales, des aspirations bronchiques ou des lavages broncho-alvéolaires. Les

échantillons peuvent être soumis à une coloration de Gram pour identifier la présence de bactéries et pour obtenir des informations préliminaires sur leur morphologie. Puis, les échantillons sont mis en culture sur des milieux de culture spécifiques. Les colonies bactériennes résultantes sont ensuite identifiées à l'aide de techniques de microbiologie comme la spectrométrie de masse de type MALDI-TOF. Enfin, un antibiogramme est réalisé sur les bactéries isolées pour déterminer leur sensibilité aux antibiotiques et guider le choix du traitement.

En plus des bactéries habituelles, des bactéries atypiques, des virus ou des champignons responsables de pneumonie peuvent être recherchés. Des techniques telles que la PCR (réaction de polymérase en chaîne) et la culture fongique peuvent être utilisées (63) (64).

A cela peut s'ajouter une radiographie pulmonaire ou un scanner thoracique pour aider à confirmer le diagnostic clinique, caractériser l'étendue, la gravité de la maladie, la nature de l'atteinte tissulaire et la localisation de l'infection pulmonaire (65).

Les résultats de tous ces tests sont interprétés en fonction du contexte clinique pour établir le diagnostic de pneumopathie infectieuse (66).

B) *Pseudomonas aeruginosa* dans les pneumonies

La pneumonie causée par cette bactérie se présente sous différentes formes de syndromes distincts. La plus fréquente est la pneumonie nosocomiale qui survient habituellement en unité de soins intensifs. Plus rare, la pneumonie communautaire se développe généralement chez les patients souffrant d'une maladie pulmonaire chronique. Enfin, la pneumonie bactériémique se manifeste généralement chez les patients neutropéniques (23). Concernant les unités de soins intensifs, d'après le réseau français de surveillance des infections nosocomiales en réanimation adulte (Réa-RAISIN), en 2017 environ 7,7% des patients présentent une pneumopathie au cours du séjour, et pour 18,2% d'entre elles *P. aeruginosa* est isolée dans les prélèvements (Figure 7). Les pneumonies bactériennes à *P. aeruginosa* en réanimation sont associées à un taux de mortalité autour de 50 % (38).

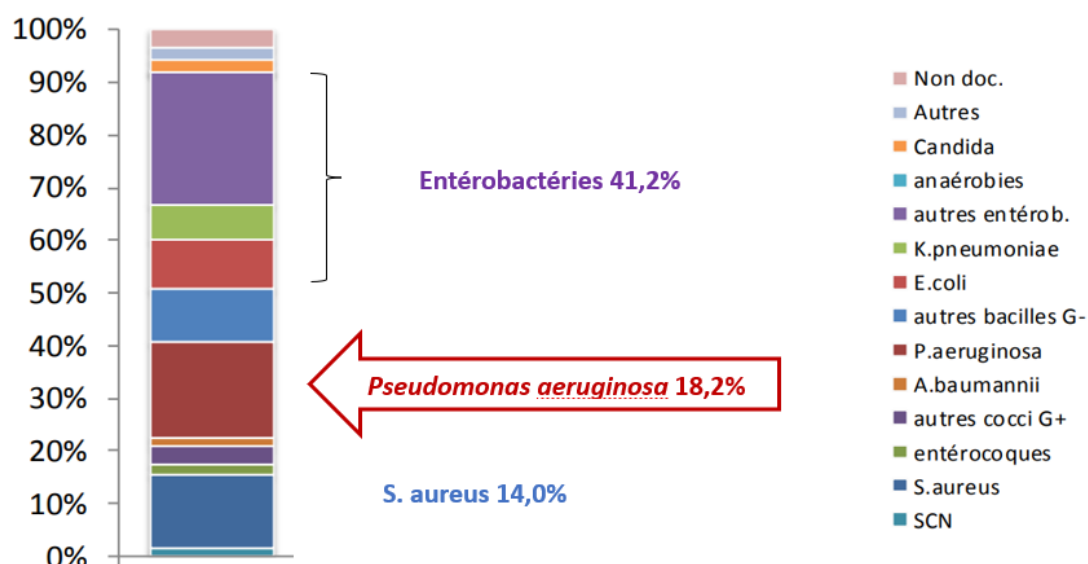


Figure 7 : Répartition des micro-organismes en cause des pneumonies en réanimation (Réa RAISIN 2017-Santé publique France (67))

B. *Pseudomonas aeruginosa* chez les patients atteints de mucoviscidose

A) Généralités sur la mucoviscidose

La mucoviscidose est une des maladies génétiques les plus fréquentes dans la population caucasienne. Elle affecte environ 70 000 patients dans le monde dont 6000 en France selon le rapport de l'OMS de 2020. C'est une maladie héréditaire à transmission autosomique récessive : seuls les sujets ayant hérité de deux mutations sont atteints ; l'une provenant du père, l'autre de la mère. Le gène CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator) responsable de la maladie a été identifié en 1989 ; il est situé sur le bras long du chromosome 7 (7q31) et code pour la protéine CFTR intervenant dans la régulation du transport des ions chlorures au niveau de la membrane cellulaire (3). Les cellules de l'immunité innée présentes dans les poumons sont les polynucléaires neutrophiles et les macrophages alvéolaires. La clairance mucociliaire et l'activité antimicrobienne du surfactant pulmonaire sont deux mécanismes de défense supplémentaires vis-à-vis des microorganismes. Dans le cas de patients atteints de mucoviscidose, les sécrétions respiratoires présentent des niveaux anormaux d'ions chlore en raison d'une déficience du canal CFTR. La présence de concentrations élevées de chlore entraîne une diminution de la capacité de phagocytose des neutrophiles et une augmentation de l'apoptose. Le surfactant pulmonaire contient des peptides antimicrobiens tels que la défensine de type 1 et des lysozymes, qui sont altérés en raison des différences de composition ionique du liquide,

entraînant leur inhibition. La clairance mucociliaire repose sur le mucus biphasique et les cils présents sur l'épithélium des voies respiratoires. Les cils se déplacent de manière continue pour créer un courant qui élimine la couche supérieure du mucus, où les microorganismes étrangers sont piégés. Cependant, chez les patients présentant une forte concentration de chlore, la viscosité du mucus augmente, réduisant ainsi sa réabsorption. Cette augmentation de viscosité entrave le mouvement des cils, ce qui empêche l'élimination adéquate du mucus (voir Figure 8). L'ensemble de ces facteurs contribue à la persistance des bactéries dans les bronches des patients.

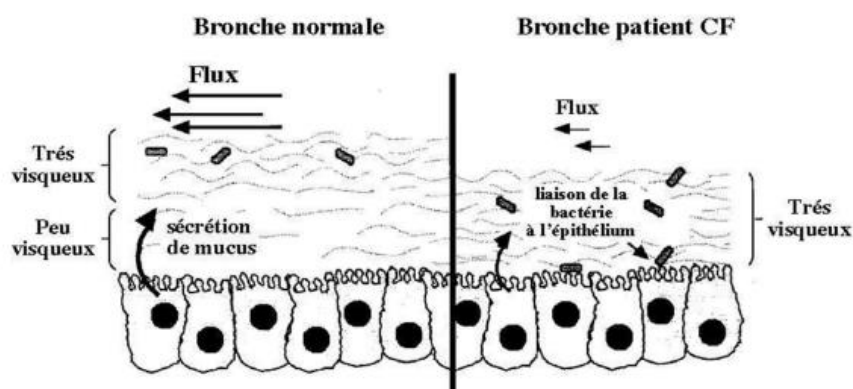


Figure 8 : Comparaison de la clairance mucociliaire entre des bronches saines et des bronches d'un patient atteint de mucoviscidose (68)

B) *Pseudomonas aeruginosa* dans la mucoviscidose

Cette pathologie qui altère la qualité de vie des malades entraîne principalement des complications pulmonaires comme la broncho-pneumopathie chronique obstructive ou l'insuffisance respiratoire avec notamment en cause la bactérie *P. aeruginosa*.

Cette dernière se positionne comme la bactérie la plus fréquente dans la colonisation du tractus respiratoire chez 30 à 40% des adultes, et en deuxième position chez environ 20% à 40% des enfants et les jeunes adultes (Figure 9) (3).

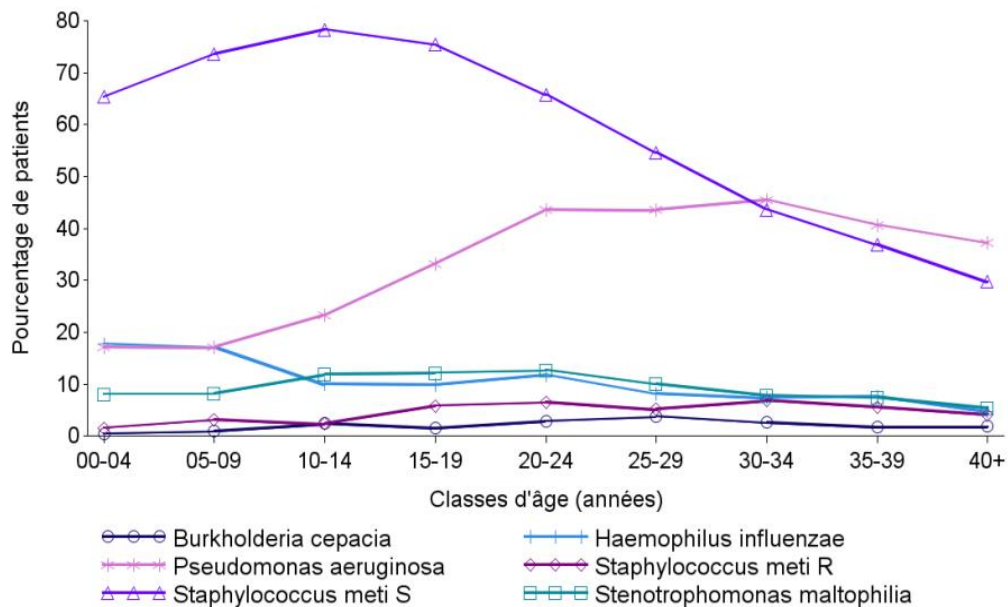


Figure 9 : Principales bactéries colonisant le tractus respiratoire en fonction de l'âge des patients atteints de mucoviscidose (3)

Le tractus respiratoire de ces patients est initialement colonisé par des souches de *P. aeruginosa* relativement sensibles aux antibiotiques et ne produisant pas beaucoup de biofilm. L'inflammation pulmonaire chronique induit une augmentation de la production d'alginate par acquisition de mutations, notamment au niveau du gène *mucA*, menant à la conversion de *P. aeruginosa* vers un phénotype mucoïde (69). Ces souches produisent ainsi une grande quantité d'alginate et de biofilm qui les protègent de la phagocytose, des antibiotiques et atténuent la réponse de l'hôte (Figure 10) (70–72).

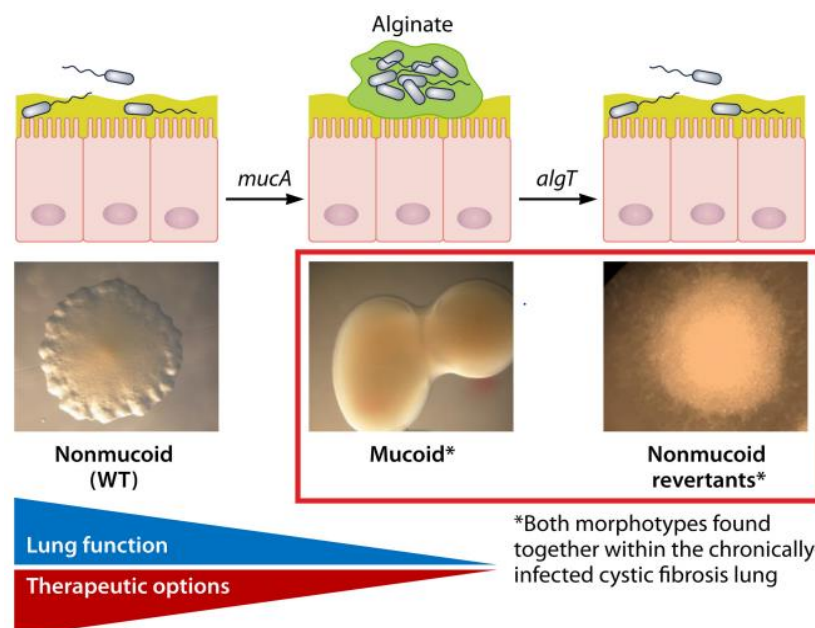


Figure 10 : Production d'alginate et impact sur la souche bactérienne (70)

Chez les souches « sauvages » non mucoïdes, l'opéron de biosynthèse de l'alginate (*algD*-*algA*) est inactif, car un facteur sigma, AlgT, est séquestré à la membrane interne par son facteur anti-sigma apparenté, MucA. L'acquisition d'une mutation de *mucA* se traduit par une protéine MucA tronquée qui n'est plus en mesure de lier AlgT. AlgT peut alors activer la biosynthèse de l'alginate de deux manières principales : (i) en activant la transcription de l'opéron biosynthétique de l'alginate au niveau du promoteur *algD* (*P_{algD}*) et (ii) en activant la transcription des gènes codant pour trois facteurs de transcription auxiliaires, AlgB, AlgR et AmrZ, qui se lient également à *P_{algD}* (Figure 11). Les souches mucoïdes de *P. aeruginosa* peuvent revenir à un phénotype non-mucoïde par l'acquisition d'une mutation secondaire (suppresseur) dans *algT* qui inactive la biosynthèse de l'alginate (73).

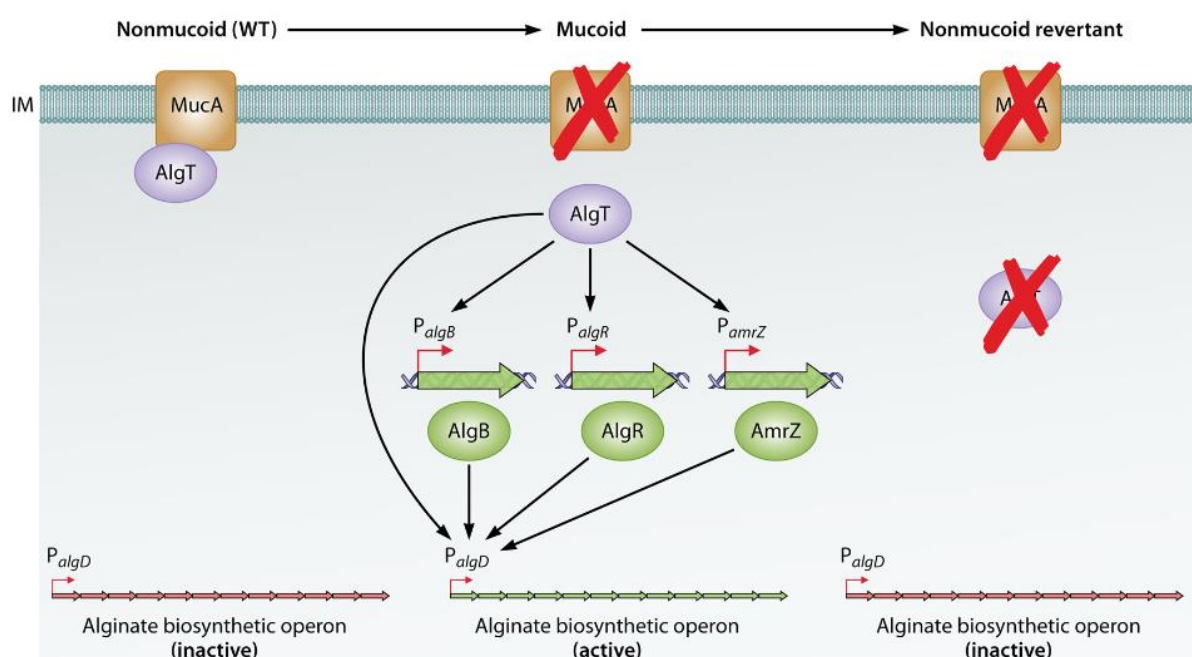


Figure 11 : Régulation de la biosynthèse de l'alginate : conversion mucoïde et réversion (74)

Ainsi, la transition de la colonisation à l'infection chronique peut être associée à un changement de phénotype de la bactérie, passant de la formation de colonies non-mucoïdes à mucoïdes (69). Des populations mixtes de mutants mucoïdes et non mucoïdes de *P. aeruginosa* sont couramment observées dans les prélèvements respiratoires de ces patients, ce qui suggère un avantage sélectif pour la co-infection mucoïde/non-mucoïde.

Dans les infections chroniques, en particulier chez les patients atteints de mucoviscidose, *P. aeruginosa* peut aussi s'adapter, en perdant ses particularités les plus immunogènes comme les fimbriae et le flagelle. Ainsi en s'isolant des défenses de l'hôte et en adhérant à l'épithélium respiratoire en formant des biofilms, il n'est pas reconnu par le système immunitaire et n'est donc pas éliminé.

Les biofilms sont des communautés de micro-organismes où les cellules s'agglutinent et adhèrent souvent à une surface, ce qui favorise le développement de colonies bactériennes. Ainsi les bactéries peuvent s'attacher à une variété de surfaces, y compris les surfaces des cathéters, des prothèses et des tissus biologiques. Les cellules adhérentes sont en général enrobées dans une matrice produite par elles-mêmes, appelée substance polymère extracellulaire (EPS). Le biofilm protège la bactérie contre les traitements antibiotiques en limitant la diffusion des antibiotiques dans la matrice extracellulaire. Les antibiotiques ont du mal à pénétrer dans le biofilm et à atteindre les cellules bactériennes, ce qui rend le traitement de ces infections difficile. Le biofilm protège également la bactérie de la réponse immunitaire de l'hôte, en empêchant les cellules immunitaires de pénétrer dans la matrice extracellulaire et d'atteindre les bactéries.

Il permet également la communication intercellulaire entre les cellules bactériennes. Les signaux de quorum-sensing (Figure 12) permettent aux bactéries de coordonner leur comportement et de réguler l'expression de gènes spécifiques. Cette communication intercellulaire est importante pour la formation et la maturation du biofilm (75).

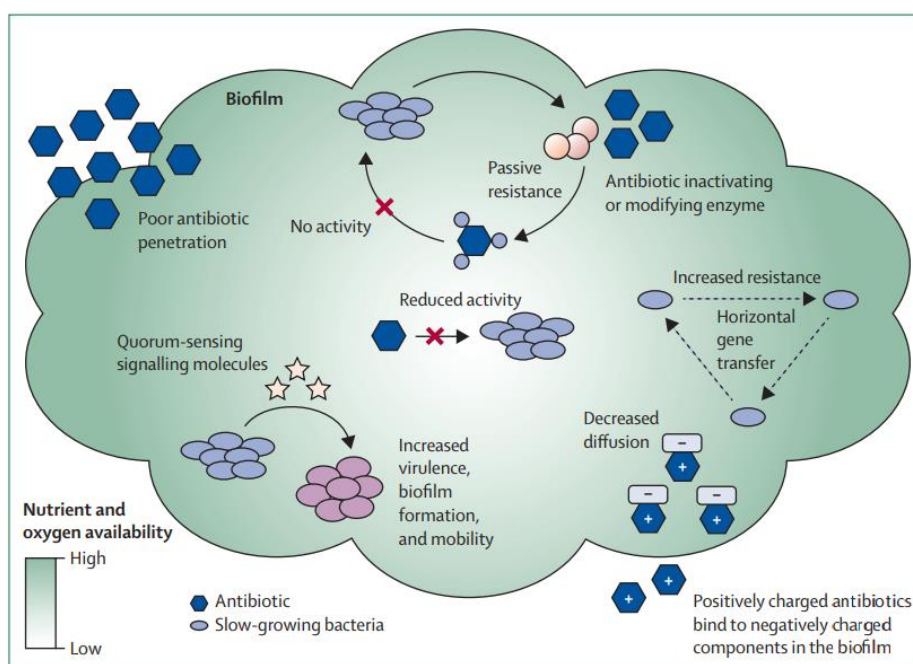


Figure 12 : Les différents impacts du biofilm (76)

Les souches mucoïdes qui produisent une grande quantité de biofilm survivent donc mieux au sein de l'hôte, leur permettant de persister lors d'une antibiothérapie (77). Ainsi, les souches mucoïdes et non-mucoïdes de *P. aeruginosa* présentent des différences dans leur profil de sensibilité aux antibiotiques, avec plus de résistance chez les souches mucoïdes (78,79).

La persistance à long terme des bactéries dans le tractus respiratoire chez un patient traité par antibiotiques peut résulter de l'expression ou de l'acquisition de mécanismes génétiques de résistance. Elle peut aussi être influencée par le microenvironnement qui existe et qui se développe dans les voies aériennes des patients atteints de mucoviscidose. Notamment, la sécrétion de l'ion bicarbonate peut être défectueuse dans cette pathologie, ce qui se traduit par un mucus plus visqueux, mais également un pH plus bas dans le tractus respiratoire inhibant sa fonction antimicrobienne, réduisant ainsi la destruction des bactéries. De plus, de forts gradients d'oxygène et des niches anaérobies se développent au sein de la couche de mucus en raison d'une consommation accrue en oxygène par les cellules épithéliales, associée à une mauvaise diffusion de l'oxygène dans les plaques de mucus (69,71).

C) Traitements de la pneumonie à *Pseudomonas aeruginosa*

Le traitement des infections à *P. aeruginosa* de phénotype "sauvage" (non résistant) dépend de la gravité de l'infection et de la sensibilité de la souche bactérienne aux antibiotiques. La monothérapie est généralement recommandée pour les infections urinaires non compliquées tandis que la bithérapie est normalement recommandée pour les infections graves, telles que la bactériémie et la pneumonie (80).

Dans la classe des β -lactamines, la pipéracilline est peu utilisée dans le traitement des infections causées par *P. aeruginosa* car elle n'est efficace que sur les souches présentant un phénotype « sauvage ». Cependant, elle peut être utilisée en association avec un inhibiteur de β -lactamase, tel que le tazobactam, pour améliorer son efficacité. Cette combinaison est souvent utilisée dans le traitement des infections intra-abdominales et des infections des voies urinaires. La ceftazidime est une β -lactamine de troisième génération qui est active contre *P. aeruginosa*. Elle est souvent utilisée dans le traitement des infections respiratoires causées par cette bactérie, telles que la pneumonie nosocomiale. Les infections légères à modérées peuvent souvent être traitées par des antibiotiques tels que les céphalosporines de troisième génération (comme la ceftazidime), les fluoroquinolones (comme la ciprofloxacine) ou les carbapénèmes (comme l'imipénème ou le méropénème).

Les options thérapeutiques pour le traitement des infections par des souches *P. aeruginosa* multirésistantes (MDR), ultra-résistantes (XDR) ou résistantes difficilement traitables (DTR) sont souvent limitées aux polymyxines, à l'amikacine et/ou au fosfomycine. Cela s'explique par les mutations rapides et l'adaptation de cette bactérie à la résistance aux antibiotiques

(7). Ces dernières années, des avancées dans le développement d'antibiotiques ont conduit à la mise sur le marché de nouvelles molécules, le plus souvent des β -lactamines associées à des inhibiteurs de β -lactamase. Les nouveaux agents thérapeutiques tels que le ceftazidime-avibactam, le ceftolozane-tazobactam, l'imipénème-relebactam sont utiles pour le traitement des infections à *P. aeruginosa* multirésistantes. Comparativement aux aminoglycosides et aux polymyxines, ces agents sont plus efficaces et moins toxiques, ce qui les rend adaptés pour lutter contre les pathogènes résistant aux β -lactamines habituellement utilisées en première intention (81).

Le céfidérocol est une nouvelle céphalosporine sidérophore arrivée sur le marché. Elle est active sur les souches produisant des β -lactamases de classes A, C et D. Son avantage chez *P. aeruginosa* est qu'il reste actif sur les souches produisant des métallo- β -lactamases (classe B d'Ambler), le principal type de carbapénémase, notamment l'enzyme VIM-2 fréquemment retrouvée en France. Actuellement, le céfidérocol est approuvé en Europe pour lutter contre les infections chez les adultes, avec des options de traitement limitées pour les infections causées par des bactéries aérobies à Gram négatif, dont *P. aeruginosa* (57).

III. Méthode de test de sensibilité in vitro de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques

La détermination de la sensibilité in vitro aux antibiotiques constitue une étape cruciale dans la gestion des infections bactériennes. Ces tests in vitro sont conduits sur les micro-organismes susceptibles de provoquer une infection. Les résultats de ces tests ont également un intérêt pour la surveillance épidémiologique des résistances et pour comparer les nouveaux antibiotiques à ceux déjà existants.

En plus de la sensibilité aux antibiotiques, certaines méthodes permettent de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI). La norme M07-A10 du CLSI définit qu'une CMI « vraie » se situe entre la plus faible concentration d'antibiotique qui inhibe la croissance de l'organisme et la plus faible concentration d'antibiotique suivante (9).

A. Sensititre®

La méthode Sensititre est une approche couramment utilisée en bactériologie pour tester la sensibilité aux antibiotiques. Elle est aussi utilisée en mycologie pour tester la sensibilité des champignons aux antifongiques.

A) Présentation de la méthode

La méthode Sensititre permet de déterminer un statut de sensibilité et de mesurer la CMI d'un antibiotique pour une souche bactérienne donnée. Le dispositif se présente sous forme de microplaques de 96 puits contenant des dilutions de deux en deux de quinze antibiotiques sous forme déshydratée. A partir d'une culture fraîche, une suspension bactérienne pure est ajustée à une densité de 0.5 McFarland dans un milieu de culture Mueller-Hinton. Chaque puits de la plaque est rempli avec un volume défini de cette solution. Les plaques sont ensuite incubées à $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 18h à 24h pour favoriser la croissance bactérienne. La sensibilité aux antibiotiques est déterminée en observant la présence ou l'absence de croissance bactérienne dans chaque puits. Les puits sans croissance bactérienne indiquent une inhibition de la croissance, ce qui est interprété comme une sensibilité à l'antibiotique. La lecture des résultats peut se faire à l'œil nu ou à l'aide d'un système semi-automatisé de lecture des plaques (automate Vizion).

B) Avantages et limites

Les plaques de micro-dilution Sensititre offrent la possibilité de tester une large gamme d'antibiotiques sur une même plaque, ce qui permet de prendre en compte la diversité des traitements disponibles. De plus, il existe différentes plaques avec des schémas d'antibiotiques différents adaptés en fonction du genre et de l'espèce pathogène à tester. Le deuxième avantage du Sensititre est qu'il permet la détermination de la CMI. Cela fournit une mesure quantitative de la sensibilité et permet une évaluation plus précise de l'efficacité d'un antibiotique contre une souche bactérienne donnée. Enfin, cette technique offre la possibilité d'automatiser certaines étapes du processus, telles que la préparation des plaques de micro-dilution et la lecture des résultats à l'aide d'instruments spécifiques. Cela permet d'améliorer l'efficacité et la reproductibilité des tests, réduisant ainsi le risque d'erreurs humaines.

Malgré ses avantages, la méthode Sensititre présente également certaines limites qu'il convient de prendre en compte. Les plaques de micro-dilution Sensititre et l'équipement

nécessaire à leur utilisation peuvent représenter un investissement financier important pour les laboratoires cliniques. A cela s'ajoutent les coûts de réapprovisionnement en plaques et en consommables. De plus, la méthode peut être influencée par les variations de la densité de la suspension bactérienne. Une préparation soignée de l'inoculum bactérien et une utilisation appropriée de la méthode de McFarland sont essentielles pour obtenir des résultats fiables et reproductibles. Cette méthode nécessite une période d'incubation de minimum 18h à 24h pour permettre la croissance bactérienne et l'évaluation de la sensibilité aux antibiotiques. Cette durée peut varier en fonction des bactéries, des souches testées et des antibiotiques utilisés. Par conséquent, l'obtention des résultats peut prendre plus de temps, notamment chez des souches de croissance difficile, par rapport à d'autres méthodes plus rapides telles que la diffusion ou VITEK 2. Il est donc primordial de tenir compte de ces avantages et limites lors de l'utilisation de la méthode Sensititre.

Pour les souches de *P. aeruginosa*, la micro-plaque d'antibiotique la plus adaptée est « EUMDRXXF » qui teste les molécules suivantes : amikacine, aztréonam, céfépime, céfiderocol (supprimé), ceftazidime/avibactam, ceftolozane/tazobactam, colistine, eravacycline, fosfomycine+glucose-6-phosphate, imipénème, imipénème/relebactam, méropénème, méropénème/Vaborbactam, pipéracilline/Tazobactam, tigécycline, tobramycine.

B. VITEK 2 ®

Parmi les autres méthodes disponibles de détermination de la sensibilité in vitro aux antibiotiques, le système VITEK 2 ® est largement utilisé dans les laboratoires de microbiologie médicale.

A) Présentation de la méthode

La carte d'antibiogramme pour le système VITEK 2 est une méthode de test automatisée qui repose sur la technique de CMI rapportée par MacLowry et Marsh et par Gerlach (82).

Chaque carte d'antibiogramme possède un puits de contrôle contenant seulement un milieu de culture microbiologique. Les autres micro-puits contiennent des concentrations pré-établies des antibiotiques donnés et un milieu de culture. La suspension bactérienne à tester doit être diluée à une concentration standard dans une solution saline à 0,45 % avant d'être utilisée pour réhydrater l'antibiotique de la carte. La carte est ensuite remplie, scellée puis

placée dans l'incubateur et le lecteur de l'instrument, soit automatiquement (comme avec le VITEK® 2 60 ou VITEK® 2 XL), soit manuellement (comme avec le VITEK® 2 Compact). L'instrument lit la croissance bactérienne dans chaque micro-cuve en utilisant des systèmes de détection de turbidité pendant un délai défini (jusqu'à 18 heures pour les Gram-négatifs). Au terme du cycle d'incubation, les données obtenues sont ensuite traitées par un logiciel spécialisé qui analyse la courbe de croissance bactérienne et détermine une approximation de la CMI de la souche testée et un statut de sensibilité pour chaque antibiotique. Les résultats sont généralement interprétés selon les critères établis par les organismes de référence, tels que le CASFM de l'EUCAST. Les résultats peuvent être présentés sous forme de catégories telles que "sensible à posologie standard", "sensible à forte posologie" ou "résistant", ou sous forme de valeurs numériques pour la CMI.

B) Avantages et limites

La méthode VITEK 2 présente plusieurs avantages, notamment la possibilité de tester simultanément plusieurs antibiotiques, l'obtention plus rapide de résultats que la méthode de référence et l'automatisation du processus. Cette approche objective permet d'obtenir des résultats fiables et reproductibles. De plus, les cartes de test sont standardisées, les protocoles bien établis et les résultats sont interprétés par un logiciel spécifique qui suit des critères définis, ce qui réduit les risques d'erreurs humaines dans l'interprétation des résultats et améliore la reproductibilité. Concernant le risque de contamination, le système est scellé et sécurisé, limitant ainsi la contamination par aérosols, projection, déversement et contact.

Des cartes sont disponibles pour tester la sensibilité de nouvelles associations d'antibiotiques sur les bacilles gram négatif ayant des résistances acquises comme AST-XN12, AST-N240 pour *P. aeruginosa*. Concernant les nouvelles associations de molécules pour les bactéries ayant acquis des résistances, le VITEK 2 se révèle performant et précis pour le test de sensibilité du méropénème-vaborbactam (83), du ceftazidime/avibactam (84) sur *P. aeruginosa*. Il peut être une solution alternative à la méthode de référence en micro-dilution en bouillon qui demande beaucoup de travail manuel.

Malgré ces avantages, la méthode VITEK 2 présente également certaines limites. La limite majeure est qu'elle fournit des CMI « approchées » et non de « réelles » CMI. Les méthodes de référence qui strictement se conforment aux normes ISO 20776-1:2006 ou M07-A102 du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) seraient considérées comme fournissant des

valeurs de CMI "vraies". Ainsi pour les autres tests de sensibilité aux antibiotiques comme le système VITEK 2, la loi a exigé des données de performances équivalentes à la méthode de référence obtenues au cours d'un essai clinique (marquage CE ou approbation de la FDA) (9).

Bien que la méthode VITEK 2 offre une interprétation automatisée des résultats, il peut arriver que certains résultats soient ambigus (égaux au break-point) ou nécessitent une validation supplémentaire pour arriver à une interprétation. Dans de tels cas, une confirmation par une autre méthode ou une évaluation plus approfondie peut être requise, ce qui peut prolonger le processus et introduire un élément de subjectivité.

C. Diffusion (méthode de Kirby-Bauer)

A) Introduction à la méthode de diffusion

La méthode de diffusion des antibiotiques, également connue sous le nom de méthode de Kirby-Bauer, est l'une des techniques les plus couramment utilisées. Cette méthode repose sur le principe de la diffusion des antibiotiques sur une gélose à partir de disques imprégnés d'une concentration fixée d'antibiotiques dans un milieu de culture Mueller-Hinton. La diffusion se fait en fonction de la concentration de l'antibiotique et de sa solubilité dans le milieu. Lorsque le disque est placé sur le milieu de culture contenant les bactéries, l'antibiotique se diffuse dans le milieu et crée une zone d'inhibition de la croissance bactérienne. Avant d'inoculer la souche bactérienne, il est nécessaire de préparer une suspension bactérienne dont la densité est équivalente à celle de la norme 0,5 de McFarland. La suspension bactérienne est ensuiteensemencée uniformément sur la gélose Mueller-Hinton. Ensuite, les disques d'antibiotiques sont déposés sur la surface de la gélose. Puis, les boîtes de Pétri sont incubées à $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 18 à 24 heures. Enfin, les diamètres des zones d'inhibition de croissance bactérienne sont mesurés. L'interprétation des résultats implique de classer les souches bactériennes en fonction de leur sensibilité à l'antibiotique testé, généralement en catégories telles que "sensible à posologie standard", "sensible à forte posologie" ou "résistant". Cette classification est basée sur des seuils de diamètre d'inhibition établis pour chaque antibiotique par des organismes de référence, tels que le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ou l'European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST).

B) Avantages et limites de la méthode de diffusion

Les principaux avantages de la méthode de Kirby-Bauer sont sa simplicité, son moindre coût et sa faisabilité dans la plupart des laboratoires. Elle ne nécessite pas d'équipement complexe et coûteux, et les disques d'antibiotiques sont disponibles dans le commerce. De plus, la méthode de diffusion est utilisée pour tester un large éventail d'antibiotiques, ce qui en fait une méthode polyvalente pour évaluer la sensibilité des bactéries à différents agents antimicrobiens.

Cependant, la méthode de diffusion présente également certaines limitations qu'il convient de prendre en compte. L'interprétation des zones d'inhibition sur les géloses peut être subjective et dépendante de l'observateur, ce qui peut entraîner une certaine variation dans les résultats finaux. Pour minimiser cette subjectivité, il est important de suivre des critères d'interprétation standardisés et d'utiliser des contrôles de qualité. De plus, la méthode de diffusion est influencée par les variations de culture bactérienne et les conditions de test. Des facteurs tels que la densité optique de la suspension bactérienne, la durée d'incubation et la température ont un impact sur les résultats. Il est donc important de suivre des protocoles standardisés pour obtenir des résultats fiables et reproductibles.

Contrairement à d'autres méthodes de sensibilité aux antibiotiques, la méthode de diffusion ne permet pas de mesurer directement la concentration minimale inhibitrice (CMI) des antibiotiques. La CMI est une mesure plus précise de la sensibilité d'une souche bactérienne à un antibiotique spécifique.

En résumé, la méthode de diffusion présente des avantages tels qu'un coût relativement faible, une simplicité de mise en œuvre et un large panel d'antibiotiques disponibles. Cependant, elle présente également des limitations, notamment une interprétation subjective des zones d'inhibition, une sensibilité aux variations de culture et aux conditions de test, ainsi qu'une absence de mesure directe de la concentration minimale inhibitrice.

D. E-test®

Les bandelettes de type E-test® (BioMérieux, Marcy-l'Étoile, France) contiennent un gradient d'antibiotiques. Cette approche permet de déterminer la CMI pour un antibiotique sur un milieu gélosé. La bandelette est placée sur une gélose préalablement ensemencée avec une suspension bactérienne standardisée à 0,5 McFarland. Après incubation de 18 à 24 heures, la

CMI (exprimée en mg/L) est déterminée par la valeur située à l'intersection entre l'ellipse d'inhibition de la croissance et la bandelette (85).

CHAPITRE 2 : MATERIELS ET METHODES

Inclusion des souches bactériennes

Dans cette étude, les souches de *P. aeruginosa* ont été incluses lorsqu'elles étaient isolées de prélèvements respiratoires (expectorations, aspirations bronchiques et trachéales, liquide broncho-alvéolaire) entre décembre 2022 et avril 2023 au Centre Hospitalier et Universitaire de Lille. Cela concernait des patients atteints de mucoviscidose, (hospitalisés ou reçus en consultation), mais aussi les hospitalisés en réanimation avec des prélèvements respiratoires positifs à *P. aeruginosa*. En cas de multiples prélèvements positifs pour un même patient sur la période, seule la première souche a été prise en compte.

Traitement des prélèvements

Les prélèvements ont été fluidifiés et homogénéisés après dilution au 1/2 dans une solution de N-acétylcystéine, puis à nouveau dilués au 1/1000^{ème}, et enfinensemencés sur les plusieurs types de géloses (gélose au sang avec et sans antibiotiques (acide nalidixique et colistine) gélose BCP, gélose HAEM) afin d'isoler les bactéries.

Culture bactérienne

Les géloses ont été incubées à 35±2°C pendant 48h. Les colonies de *P. aeruginosa* ont été identifiées par un spectromètre de masse Matrix Assisted Laser Desorption Ionization - Time of Flight MALDI-TOF (Bruker, Wissembourg, France). Les souches ont été congelées à -20°C ± 2°C puis ré-isolées sur gélose BCP avant une nouvelle incubation à 35 ± 2°C pendant 18h à 24h.

Tests de sensibilité aux antibiotiques

Dans le cadre de cette étude, la sensibilité aux antibiotiques est testée pour chaque souche, par une méthode de micro-dilution Sensititre. 10µL d'une suspension Mc Farland à 0,5 ont été introduits dans 10 mL de bouillon Mueller-Hinton, puis 50 µL de ce mélange a été distribué par l'automate Sensititre AIM Automated Inoculation Delivery System dans chaque puits de la plaque Sensititre Gram Negative EUMDRXXF. Sur cette plaque représentée en figure 13, la sensibilité aux antibiotiques suivants a été testée : amikacine, aztréonam, céfépime, ceftazidime/avibactam, ceftolozane/tazobactam, colistine, eravacycline, imipénème, imipénème/relebactam, méropénème, méropénème/vaborbactam, pipéracilline/tazobactam, tigécycline, tobramycine.

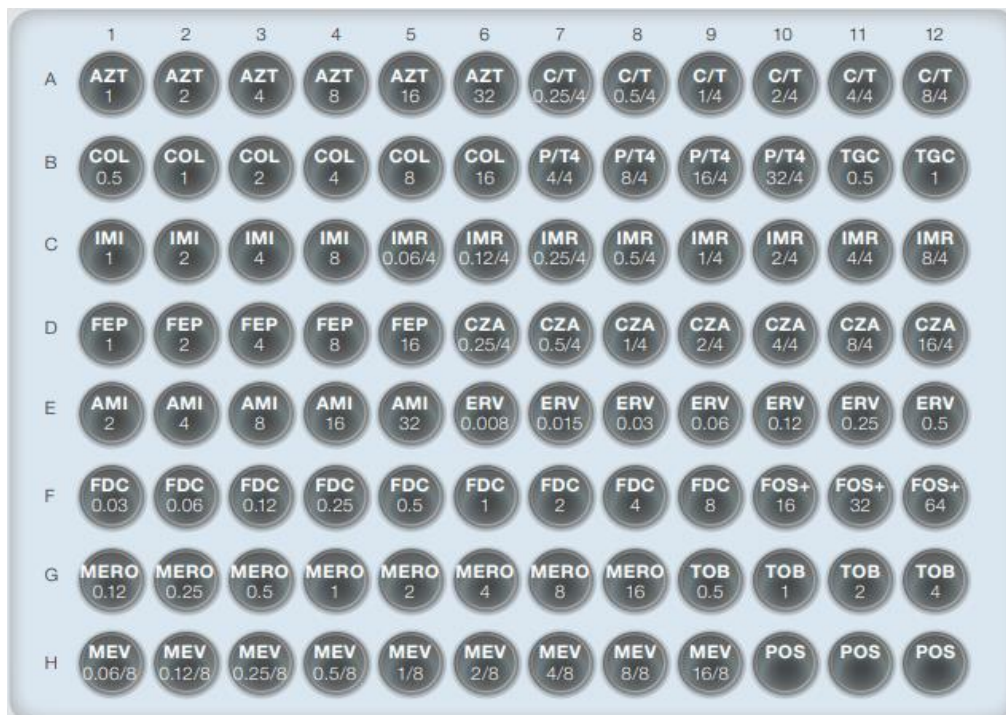


Figure 13 : Plan d'une plaque de micro-dilution Sensititre Gram Negative EUMDRXX. AMI : Amikacine, AZT : Aztréonam, FEP : Céfépime, FDC : Céfiderocol (supprimé), CZA : Ceftazidime/Avibactam, C/T : Ceftolozane/Tazobactam, COL : Colistine, ERV : Eravacycline, FOS + : Fosfomycin+glucose-6-phosphate, IMI : Imipénème, IMR : Imipénème/Relebactam, MERO : Méropénème, MEV : Méropénème/Vaborbactam, P/T4 : Pipéracilline/Tazobactam, TGC : Tigecycline, TOB : Tobramycine. FDC : céfidérol, mais non-disponible dans la version des plaques utilisée dans notre étude.

Les plaques ont été incubées à $35 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 24h pour les souches non mucoïdes et jusqu'à 48h pour certaines souches mucoïdes en cas de croissance insuffisante à 24h. Ensuite, elles ont été lues à l'aide du Système Sensititre Vizion qui permet d'optimiser l'éclairage de la plaque, puis numérisées grâce au logiciel Thermo Scientific Sensititre SWIN. Des concentrations minimales inhibitrices (CMI) ont ainsi été déterminées pour chaque antibiotique testé, aboutissant à une catégorisation clinique (sensible à posologie standard, sensible à forte posologie, ou résistant) en suivant les recommandations du CASFM 2022.

Comparaison du statut de sensibilité et des CMI obtenues avec les deux techniques

Dans cette étude, les CMI et la catégorisation clinique (sensible à posologie standard, sensible à forte posologie, ou résistant) des souches aux antibiotiques obtenues en micro-dilution ont été comparées à la méthode réalisée dans notre laboratoire lors de la prise en charge initiale des prélèvements. La méthode réalisée initialement au laboratoire peut être la diffusion (pour les souches mucoïdes) ou la méthode automatisée (VITEK 2). Cette dernière peut être dans certains cas associée à la méthode E-test[®] (BioMérieux, Marcy-l'Étoile, France), ainsi qu'à la détermination de la sensibilité à la colistine en micro-dilution en barrettes UMIC (Bruker, Wissembourg, France).

Tableau 5: Données du CASFM 2022 sur les CMI et les diamètres de diffusion

Code disque	Charge disque	Antibiotique	Diamètre			CMI			Résultat
			S≥	R<	ZIT	S≤	R>	ZIT	
TIC	75 µg	Ticarilline	50	18		0.001	16		
TCC	75/10 µg	Ticarilline/Ac.clavulanique	50	18		0.001	16		
PIL	30 µg	Pipéracilline	50	18	18-19	0.001	16		
PTZ	30/6 µg	Pipéracilline/Tazobactam	50	18	18-19	0.001	16		
IPM	10 µg	Imipénème	50	20		0.001	4		
IMRE	10/25 µg	Imipénème/Relebactam	22	22		2	2		
MEM	10 µg	Méropénème (<i>P. aeruginosa</i>)	20	14		2	8		
		Méropénème méningite (<i>P. aeruginosa</i>)	20	20		2	2		
		Méropénème (autres espèces)	24	18		2	8		
		Méropénème méningite (autres espèces)	24	24		2	2		
MEVA	20/10 µg	Méropénème/Vaborbactam	14	14		8	8		
ATM	30 µg	Aztréonam	50	18		0.001	16		
CZD	10 µg	Ceftazidime	50	17		0.001	8		
FEP	30 µg	Céfépime	50	21		0.001	8		
CLT40	30/10 µg	Ceftolozane/Tazobactam	23	23		4	4		
CZAV	10/4 µg	Ceftazidime/Avibactam	17	17	16-17	8	8		
TMN	10 µg	Tobramycine	18	18		2	2		
AKN	30 µg	Amikacine	15	15		16	16		
GMN	10 µg	Gentamicine (données PKPD) (rendre N et exclure E)	EPI	EPI		0.5	0.5		
CT	Micro-dilution	Colistine	–	–		2	2	4	
CIP	5 µg	Ciprofloxacine	50	26		0.001	0.5		
LVX	5 µg	Lévofloxacine	50	22		0.001	1		
FOS	200 µg	Fosfomycine	12	12		128	128		

Recueil des données clinico-biologiques

Pour cette étude, les données ont été recueillies dans un fichier Excel par analyse des courriers de sortie médicaux informatisés des patients en utilisant le logiciel Sillage.

Définitions des données

- Les caractéristiques démographiques du patient : âge (en années, le jour du prélèvement) et sexe ;
- La nature du prélèvement : expectoration, aspiration trachéale, aspiration bronchique, liquide broncho-alvéolaire, expectoration chez un patient mucoviscidosique ;
- La quantification de la bactérie : nombre d'unités formant colonies (UFC)/mL, par rapport à un seuil de significativité dépendant du type de prélèvement ;

- Patient atteint de mucoviscidose ou non ;
- Pour les patients atteints de mucoviscidose : la présence d'un épisode d'exacerbation des symptômes respiratoires ;
- Un contexte d'infection causée par *P. aeruginosa* ;
- Un contexte de colonisation du tractus respiratoire par *P. aeruginosa* ;
- Situation de pneumonie ou d'une autre infection respiratoire définie par les médecins ;
- Le patient est-il hospitalisé en service de réanimation au moment du prélèvement ;
- La durée d'hospitalisation du patient en jours ;
- La dernière ligne d'antibiothérapie reçue par le patient (IV ou *per os*) ;
- L'antibiothérapie reçue par aérosols ;
- La durée de l'antibiothérapie dans le cadre d'une infection (et non lors de colonisation) ;
- Antibiothérapie au long cours ou non chez les patients atteints de mucoviscidose ;
- L'aspect mucoïde ou non de la souche en culture ;
- La présence d'une résistance au ceftazidime : déterminée par le VITEK 2 ou la méthode de diffusion ;
- La survie du patient à 30 jours du prélèvement ;
- L'association du prélèvement à une hémoculture positive à *P. aeruginosa* ;
- La présence de facteurs d'immunodépression, incluant : diabète, corticothérapie, les patients greffés traités par immunosuppresseurs, maladie auto-immune, les patients atteints d'un cancer traités par chimiothérapie ou immunothérapie ;
- L'association à d'autres bactéries (en dehors la flore pharyngée) dans le prélèvement respiratoire ;
- Association à une infection respiratoire virale ;
- L'exposition à des antibiotiques dans les 6 mois précédents ;
- La durée de positivité des prélèvements à *P. aeruginosa* à partir du 1^{er} prélèvement positif.

Analyse statistique

Afin de comparer les résultats obtenus entre différentes méthodes pour un même antibiotique, les indicateurs suivants ont été calculés :

- L'accord essentiel (AE) qui se définit par des résultats de CMI obtenus par le dispositif DMSA (Dispositif de Mesure de Sensibilité Antimicrobienne), qui sont entre plus ou moins une double dilution de la valeur de CMI établie avec la méthode de référence ;
- L'accord de catégorie (AC) qui correspond à l'accord des résultats S/SFP/R entre un essai de concentration critique ou un essai CMI et la méthode de référence ;
- L'écart très majeur (ETM) lorsque le résultat d'essai par la méthode de référence est interprété R et que le résultat de dispositif DMSA est interprété S/SFP ;
- L'écart majeur (EM) lorsque le résultat d'essai par la méthode de référence interprété S/SFP et que le résultat de dispositif DMSA est interprété R.

La méthode de référence dans nos statistiques est la technique en micro-dilution (Sensititre).

L'écart mineur n'a pas été calculé en raison de la disparition du statut « intermédiaire » (I) dans le CASFM 2022. Il désignait selon la norme ISO la situation où le résultat d'essai par la méthode de référence était interprété comme R ou S et que le résultat de dispositif DMSA est interprété I ou bien lorsque le résultat d'essai par la méthode de référence était interprété comme I et que le résultat de dispositif DMSA est interprété R ou S.

Les données ont été importées dans le logiciel de statistiques R à partir des fichiers Excel sources. Un nettoyage des données a été réalisé (traitement des données manquantes, convertir le type de données si nécessaire). Des statistiques descriptives ont été calculées pour les variables de l'étude (moyenne et écart-type pour les variables paramétriques, médiane et intervalles interquartiles pour les données non-paramétriques). Des tests de Mann-Whitney ont été utilisés pour comparer les distributions des variables continues entre les deux groupes de patients (atteints de mucoviscidose ou non) et des tests Chi-carré pour les variables catégorielles. Des coefficients de corrélation de Spearman ont été calculés pour évaluer la relation entre la résistance aux antibiotiques et les différentes variables. L'accord essentiel (AE) est évalué en calculant la proportion de mesures dans lesquelles les résultats des deux méthodes comparées sont suffisamment proches l'un de l'autre (dans une gamme de plus ou moins une double dilution). L'accord de catégorie (AC) est évalué en calculant la proportion de mesures dans lesquelles les deux méthodes classent les échantillons dans la même catégorie (par exemple, résistant ou sensible). Une valeur de $p < 0,05$ a été considérée comme significative.

CHAPITRE 3 : RESULTATS

I. Description des patients inclus

Au total, 45 souches ont été retenues pour l'étude, correspondant à 45 patients. Le Tableau 6 présente les caractéristiques des patients de l'étude qui ont été divisés en deux groupes : les patients atteints de mucoviscidose (n=30) et les patients hospitalisés en réanimation (n=15).

Tableau 6 : Description des patients inclus et des souches bactériennes incluses

Caractéristiques des patients	Réanimation	Mucoviscidose	P	n
N	15	30		
Sexe				
F	10 (66,7%)	12 (40,0%)	0,17	45
M	5 (33,3%)	18 (60,0%)		
Age	52,8	32,8	0,001	45
Facteurs d'immunodépression	7 (46,7%)	10 (35,7%)	0,709	43
Pneumonie aigüe	9 (60,0%)	1 (3,33%)	<0,001	45
Infection	12 (80,0%)	1 (3,33%)	<0,001	45
Colonisation	4 (28,6%)	30 (100%)	<0,001	44
Contexte d'infection virale	1 (6,67%)	4 (13,8%)	0,647	44
Exposition aux antibiotiques < 6mois	9 (90,0%)	25 (89,3%)	1	38
Durée antibiothérapie (en jours)	12,4	8,73	0,3	23
Séjour en réanimation	15 (100%)	0 (0,000%)	NA	45
Durée hospitalisation (en jours)	64,3	0,9	0,002	42
Décès à J30	2 (14,3%)	1 (3,45%)	0,243	43
Antibiotiques au long cours	0 (0,00%)	14 (50,0%)	0,003	40
Caractéristiques des souches				
Caractère mucoïde en culture	0 (0,00%)	20 (66,7%)	<0,001	45
Résistance à la ceftazidime	9 (60,0%)	10 (33,3%)	0,194	45
Hémoculture positive à PA	2 (13,3%)	0 (0,0%)	0,111	45
Autres bactéries	5 (33,3%)	12 (40,0%)	0,847	45

Le groupe de 30 patients atteints de mucoviscidose est composé des patients souvent reçus en consultation de suivi (durée moyenne d'hospitalisation inférieure à 1 jour). Les patients atteints de mucoviscidose sont plus jeunes que les patients de réanimation (moyenne d'âge à 32,8 ans contre 52,8 ans, $p = 0,001$). Ils sont tous colonisés à *P. aeruginosa* dans des prélèvements respiratoires antérieurs (100% pour les patients atteints de mucoviscidose, contre 28,6% pour les patients de réanimation, $p < 0,001$).

Le groupe de 15 patients hospitalisés en réanimation présente des durées d'hospitalisation longues (moyenne à 64 jours). Ainsi, pour 90% d'entre eux, ils ont déjà été exposés aux antibiotiques dans les 6 mois premiers précédents et la souche de *P. aeruginosa* isolée est fréquemment résistante au ceftazidime (60% des patients). Deux patients étaient bactériémiques à *P. aeruginosa* (13,3%), soulignant la gravité potentielle des pneumopathies à *P. aeruginosa* en réanimation. La mortalité à 30 jours était plus élevée en réanimation (14,3% contre 3,5% pour les patients atteints de mucoviscidose), mais cette différence n'était pas significative ($p=0,24$). La différence de répartition des sexes n'est pas significative entre les deux groupes.

Le caractère mucoïde des souches de *P. aeruginosa* isolées en culture était retrouvé chez 66,7% des souches isolées de patients atteints de mucoviscidose, contre 0% des souches de patients de réanimation.

II. Comparaison au Sensititre

A. Définitions

Afin de comparer les résultats d'antibiogramme obtenus entre les méthodes utilisées au laboratoire et ceux obtenus avec le Sensititre, les indicateurs précédemment mentionnés (cf. matériels et méthodes) ont été calculés et représentés sous forme d'un histogramme et d'un tableau (accord de catégorie, accord essentiel, écart majeur, écart très majeur).

Pour les souches de patients de réanimation, la technique VITEK 2® a été comparée au Sensititre ; pour les patients atteints de mucoviscidose la méthode d'antibiogramme en diffusion a été comparée au Sensititre, ce qui correspond à ce qui est habituellement réalisé en routine au CHU de Lille.

B. Comparaison des méthodes au Sensititre

A) Comparaison du VITEK 2 (patients hospitalisés en réanimation)

Les accords de catégorie (AC) de la tobramycine, l'amikacine et l'imipénème sont de 100%. Les accords essentiels (AE) et les accords de catégorie de la tobramycine sont proches alors que pour l'amikacine, son accord essentiel était légèrement plus faible (86,7%) que son accord

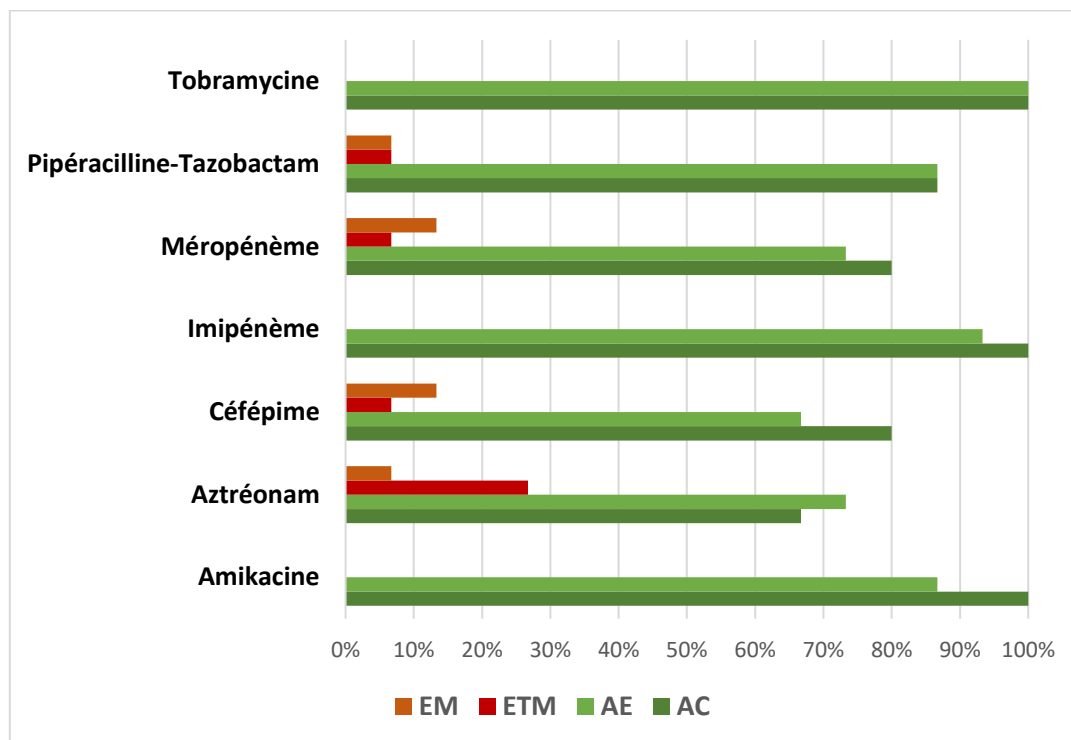
de catégorie. Les quelques écarts de CMI approchées avec le VITEK 2 par rapport à la CMI du Sensititre pour l'amikacine et l'imipénème n'ont pas eu d'impact sur la catégorie du statut de sensibilité. Ainsi, le Vitek 2 s'avère performant pour la détermination du statut de sensibilité pour ces trois antibiotiques, pour les souches étudiées.

Pour la pipéracilline/tazobactam, le méropénème et le céfépime la concordance est légèrement moins bonne mais reste élevée avec des taux d'AC supérieurs ou égaux à 80%. En revanche, le céfépime et le méropénème ont des taux d'AE inférieurs à 75%, ce qui suggère une concordance plus faible entre les deux techniques pour ces antibiotiques sur le panel de souches testées.

Pour le céfépime, l'accord essentiel est seulement de 66,7%, donc dans un tiers des cas, la CMI approchée diffère d'une double dilution de la valeur de CMI établie avec la méthode de référence. Les pourcentages de l'écart très majeur de 6,7% et de l'écart majeur de 13,3% indiquent qu'il y a un impact plus modéré sur le statut de sensibilité. Ces résultats sont d'autant plus importants que le céfépime est un traitement de choix pour les pneumopathies à *P. aeruginosa* car il est fréquemment utilisé dans les pneumonies nosocomiales du fait de sa bonne diffusion et de sa relative stabilité vis-à-vis de la céphalosporinase AmpC.

Concernant le méropénème avec un taux d'AE de 73,3%, pour les deux souches classées à tort comme résistantes par le Vitek (écart majeur), cela correspondait à des CMI à 8 mg/L pour le Sensititre et >8 pour le Vitek, 8 mg/L étant le cut-off retenu par le CASFM.

L'accord de catégorie de l'aztréonam est le plus faible parmi les antibiotiques testés avec un taux de 66,7%, malgré un accord essentiel de 73,3%. Cinq souches présentaient une classification différente par le Vitek : 1 en écart majeur (6,7%) et 4 en écarts très majeurs (26,7%). Pour 2 d'entre elles, similairement au méropénème, cela correspondait à des CMI à 32mg/L pour le Sensititre et 16mg/L pour le Vitek, 16 mg/L étant le cut-off retenu par le CASFM.



	AC	AE	ETM	EM	n souches
Amikacine	100,0%	86,7%	0,0%	0,0%	15
Aztréonam	66,7%	73,3%	26,7%	6,7%	15
Céfépime	80,0%	66,7%	6,7%	13,3%	15
Imipénème	100,0%	93,3%	0,0%	0,0%	15
Méropénème	80,0%	73,3%	6,7%	13,3%	15
Pipéracilline-Tazobactam	86,7%	86,7%	6,7%	6,7%	15
Tobramycine	100,0%	100,0%	0,0%	0,0%	15

Figure 14 : Écarts majeurs (EM), erreurs très majeures (ETM), accords essentiels (AE) et accords de catégorie pour la méthode VITEK 2 par rapport au Sensititre pour chaque antibiotique testé

Les figures suivantes (Figure 15 à 21) illustrent pour chaque antibiotique la répartition des souches en fonction de leur CMI déterminée par méthode Sensititre ou VITEK 2. La zone grisée correspond à la zone pour laquelle les CMI du Sensititre et les CMI approchées du VITEK 2 ont la même valeur à une dilution d'écart près, correspondant à l'accord essentiel (AE). La zone en haut à gauche correspond à l'écart majeur et celle en bas à droite à l'écart très majeur. Ces zones sont délimitées par une ligne rouge qui correspond à la valeur du break-point selon le CASFM 2022. Les valeurs de CMI dépassant cette ligne rouge sont associées à une catégorisation « résistante » pour l'antibiotique testé.

Vitek CMI approchée (mg/L)	>32	EM					3
	32	1					
	16	Breakpoint CASFM				1	
	8			1	2		1
	4				1		
	2	1		1	2		
	<=1				1		ETM
		<=1	2	4	8	16	>16
		Sensititre CMI (mg/L)					

Figure 15 : Nombre de souches pour une valeur de CMI obtenue en VITEK 2 et en Sensititre pour le céfépime

Pour le céfépime, 2 souches sur les 15 testées ne se situent pas dans la zone grisée d'accord essentiel (Figure 15). De plus, deux souches se situent dans la zone d'écart majeur et une dans la zone d'écart très majeur.

Vitek CMI approchées (mg/L)	>8				2	5
	8	Breakpoint CASFM				
	4					
	2	1	3	1		
	<=1	1	1	1		ETM
		<=1	2	4	8	>8
		Sensititre CMI (mg/L)				

Figure 16 : Nombres de souches pour une valeur de CMI obtenue en VITEK 2 et en Sensititre pour l'imipénème

Vitek 2 CMI approchées (mg/L)	>8	EM						2	1	2
	8	Breakpoint CASFM								1
	4						1			
	2									
	1			2	2					
	0,5									
	<=0.25	1		1	1	1				ETM
		<=0.12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	>16
		Sensititre CMI (mg/L)								

Figure 17 : Nombre de souches pour une valeur de CMI obtenue en VITEK 2 et en Sensititre pour le méropénème

Vitek2 CMI approchées (mg/L)	>8	EM			2	
	8					
	4	Breakpoint CASFM				
	2		1			
	<=1	6	4	2	ETM	
		<=0,5	1	2	4	>4
		Sensititre CMI (mg/L)				

Figure 18 : Nombre de souches pour une valeur de CMI obtenue en VITEK 2 et en Sensititre pour la tobramycine

Vitek2 CMI approchées (mg/L)	>64	EM			1	5
	64				1	1
	32	Breakpoint CASFM			1	2
	16		1			
	8		1			
	<=4		1		1	ETM
		<=4	8	16	32	>32
		Sensititre CMI (mg/L)				

Figure 19 : Nombre de souches pour une valeur de CMI obtenue en VITEK 2 et en Sensititre pour Pipéracilline/tazobactam

Vitek CMI approchée (mg/L)	>32	EM					3	1
	32	Breakpoint CASFM					1	
	16				1	2	2	1
	8							
	4			1	1		1	
	2					1		
	<=1							ETM
		<=1	2	4	8	16	32	>32
		Sensititre CMI (mg/L)						

Figure 20 : Nombre de souches pour une valeur de CMI obtenue en VITEK 2 et en Sensititre pour l'aztréonam

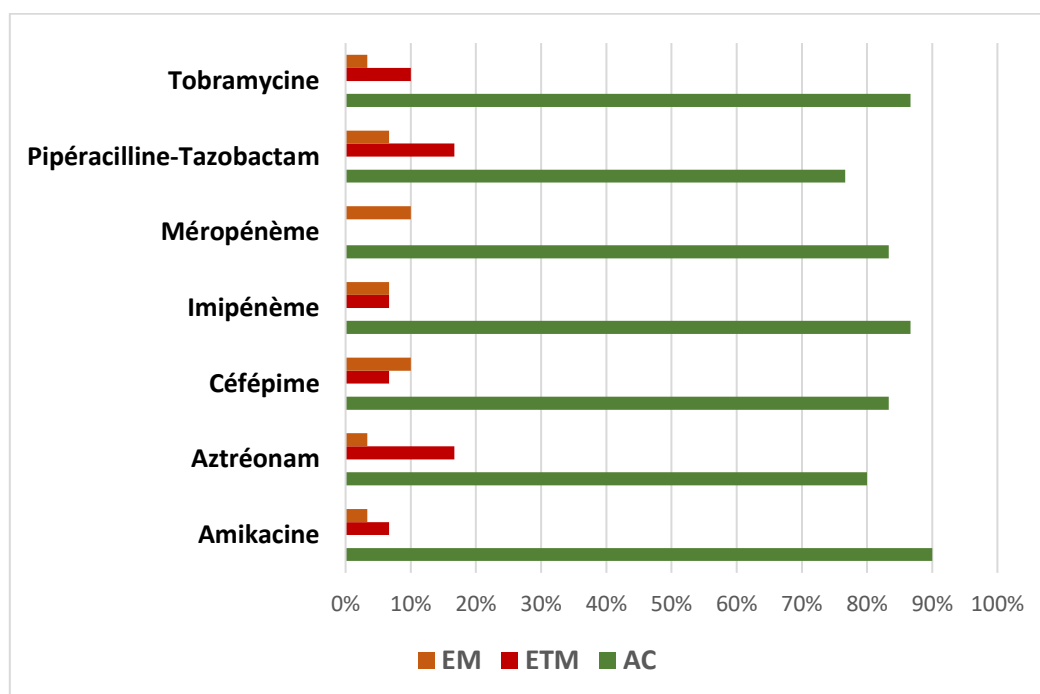
Vitek CMI approchée (mg/L)	>32	EM				2	
	32	Breakpoint CASFM					
	16			1			
	8			2			
	4		1	1			
	<=2	4	2		2	ETM	
		<=2	4	8	16	32	>32
		Sensititre CMI (mg/L)					

Figure 21 : Nombre de souches pour une valeur de CMI obtenue en VITEK 2 et en Sensititre pour l'amikacine

B) Comparaison de la méthode en diffusion (patients atteints de mucoviscidose)

La méthode de diffusion consiste à mesurer le diamètre de la zone d'inhibition de croissance bactérienne par l'antibiotique et ne fournit pas de CMI. De ce fait, l'accord essentiel n'est pas calculable. Nous nous intéresserons uniquement à l'accord de catégorie, à l'écart majeur et à l'écart très majeur pour comparer cette méthode au Sensititre.

Les accords de catégories sont satisfaisants car ils se situent tous entre 80 et 90% à l'exception de la pipéracilline/tazobactam qui est à 76,7% (Figure 22). Les écarts majeurs n'excèdent pas 10%. A propos des écarts très majeurs, ceux de la pipéracilline/tazobactam et de l'aztréonam sont à 16,7%, ce qui implique un taux important de souches considérées comme sensibles en diffusion qui s'avèrent être résistantes par la méthode Sensititre.



	AC	AE	ETM	EM	Total souches
Amikacine	90,0%	NA	6,7%	3,3%	30
Aztréonam	80,0%	NA	16,7%	3,3%	30
Céfépime	83,3%	NA	6,7%	10,0%	30
Imipénème	86,7%	NA	6,7%	6,7%	30
Méropénème	90,0%	NA	0,0%	10%	30
Pipéracilline-Tazobactam	76,7%	NA	16,7%	6,7%	30
Tobramycine	86,7%	NA	10,0%	3,3%	30

Figure 22 : Ecart major (EM), erreurs très majeures (ETM), accords essentiels (AE) et accords de catégorie (AC) des résultats obtenus en diffusion par rapport au Sensititre pour chaque antibiotique testé

C) Comparaison de la méthode E-test et de la micro-dilution pour la Colistine

Pour la méthode E-test (Tableau 7), le facteur limitant à l'interprétation des résultats est le nombre de souches testées. Pour le ceftolozane-tazobactam et le ceftazidime-avibactam, il n'y avait qu'onze souches et seulement quatre souches pour les associations de carbapénèmes. Cela s'explique par le fait que ces molécules sont testées au laboratoire uniquement sur des souches dont le profil est résistant aux antibiotiques de première ligne et dans des contextes cliniques particuliers.

Pour le ceftolozane-tazobactam et le ceftazidime-avibactam, les résultats sont similaires avec un accord essentiel faible (54,5%) et un accord de catégorie correct entre 72,7% et 81,8%. Les écarts majeurs et très majeurs sont non négligeables (entre 9,1% et 18,2%).

Avec seulement quatre souches testées pour le méropénème/vaborbactam et l'imipénème/relebactam, la comparaison de méthode n'est pas interprétable.

Pour le test de sensibilité par micro-dilution de la colistine, on observe une très bonne corrélation avec la méthode Sensititre avec un AC à 100%, un AE de 75% et pas d'écarts majeurs. Cette bonne concordance était attendue dans la mesure où le Sensititre et la technique de micro-dilution en barrette utilisée au laboratoire en routine reposent toutes les deux sur la même méthode (micro-dilution).

Tableau 7: Ecartés majeurs (EM), écartés très majeurs (ETM), accords essentiels (AE) et accords de catégorie (AC) des résultats obtenus par E-test et micro-dilution par rapport au Sensititre pour chaque antibiotique testé

	AC	AE	ETM	EM	N
E-test Ceftazidime/Avibactam	81,8%	54,5%	9,1%	9,1%	11
E-test Ceftolozane/Tazobactam	72,7%	54,5%	18,2%	9,1%	11
E-test Méropénème/Vaborbactam	50,0%	75,0%	0,0%	50,0%	4
E-test Imipénème/Relebactam	100,0%	50,0%	0,0%	0,0%	4
Micro-dilution Colistine	100,0%	75,0%	0,0%	0,0%	9

III. Sensibilités aux antibiotiques obtenues avec la méthode Sensititre

Les pourcentages de sensibilité obtenus sur les 45 souches de notre étude avec le Sensititre pour la pipéracilline/tazobactam, les carbapénèmes, l'amikacine, le céfépime s'avèrent inférieurs aux données de 2021 en France recueillies par l'ECDC (Tableau 4).

Sur la totalité des souches de patients inclus, parmi les nouvelles molécules développées pour être utilisées sur les souches multi-résistantes de *P. aeruginosa*, la plus efficace était le ceftazidime-avibactam (86,7%), suivie du méropénème-vaborbactam (82,2%), du ceftolozane-tazobactam (77,8%), et de l'imipénème-relebactam (68,9%). Toutefois, la sensibilité au méropénème-vaborbactam (82,2%) est quasiment équivalente à celle du méropénème seul (80,0%) (Figure 23).

Parmi les molécules fréquemment utilisées en première intention pour traiter des pneumopathies nosocomiales, le céfépime reste plus fréquemment sensible (68,9%) que la pipéracilline-tazobactam (46,7%). On peut noter une bonne sensibilité aux molécules utilisées en association lors de bithérapie ou en aérosols, comme la tobramycine (82,2%) ou la colistine (95,6%).

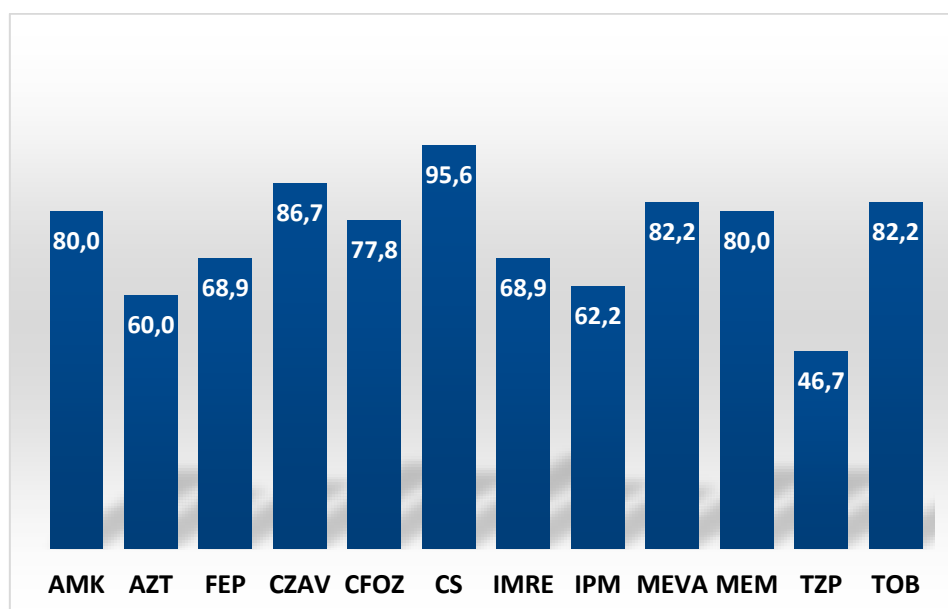


Figure 23 : Pourcentage des souches de *P. aeruginosa* sensibles à posologie standard ou sensible à forte posologie pour chaque antibiotique testé avec la méthode par micro-dilution Sensititre dans les 2 groupes

Lorsqu'on compare la sensibilité des souches isolées de patients hospitalisés en réanimation aux souches de patients atteints de mucoviscidose, on retrouve des sensibilités à peu près

équivalentes pour les nouvelles molécules comme le ceftolozane-tazobactam, le ceftazidime-avibactam ou l'imipénème-relebactam (Figure 24). Cependant, des différences importantes étaient retrouvées pour la pipéracilline-tazobactam (20% de sensibilité contre 78,3%, respectivement) ainsi que pour des carbapénèmes.

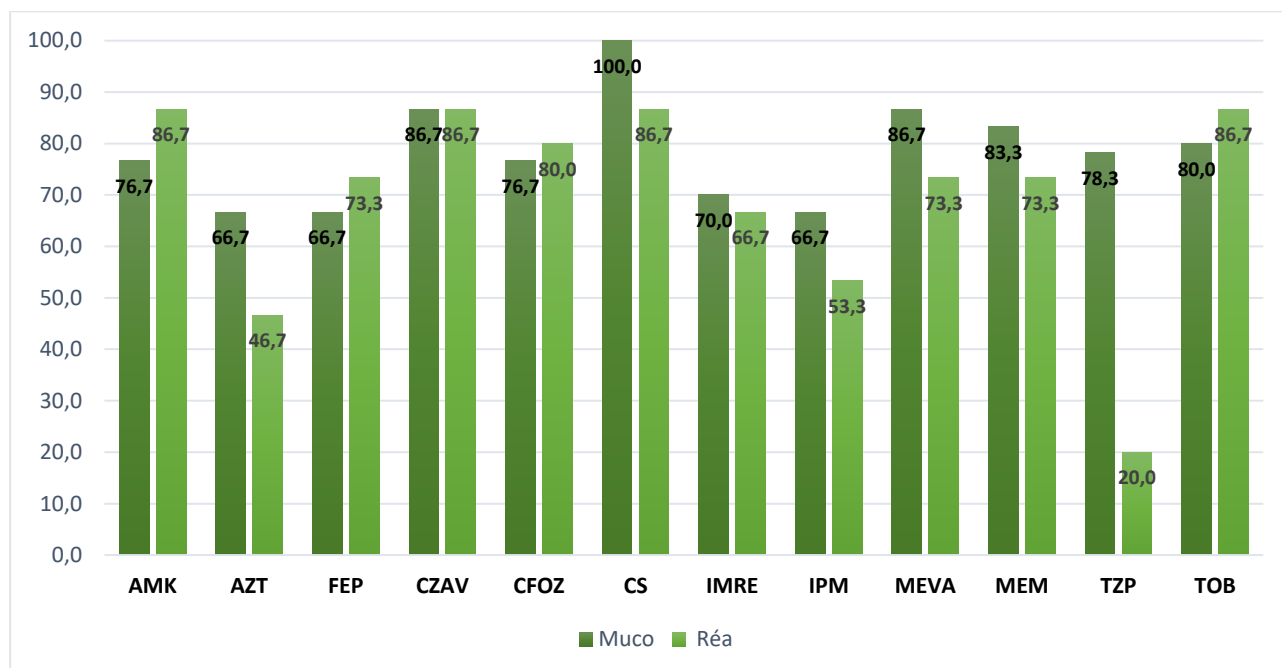


Figure 24 : Comparaison des pourcentages des souches de P. aeruginosa sensibles à posologie standard ou sensible à forte posologie pour chaque antibiotique testé avec la méthode par micro-dilution Sensititre sur les souches du groupe de patients atteints de mucoviscidose et de réanimation

CHAPITRE 4 : DISCUSSION

Notre étude a comparé plusieurs méthodes d'antibiogrammes en prenant comme référence la méthode Sensititre, et en la comparant à la méthode VITEK 2 pour les souches de *P. aeruginosa* isolées de patients de réanimation, ou à la diffusion pour les souches de patients atteints de mucoviscidose. Des discordances ont pu être observées entre ces méthodes, notamment pour certains antibiotiques de la famille des β -lactamines.

Lors de la comparaison de méthode VITEK 2 au Sensititre, nous avons retrouvé des discordances importantes pour l'aztréonam, le céfépime et le méropénème (accords de catégorie entre 66,7% et 80,0%), et dans une moindre mesure pour la pipéracilline-tazobactam (accord de catégorie de 86,7%). Par contre, l'imipénème, ainsi que les aminosides présentaient de meilleures performances (accords de catégorie de 100%). Juretschko *et al.* ont décrit un taux élevé d'erreurs très majeures concernant la pipéracilline-tazobactam (21,7% de résultats faussement sensibles) en comparant le VITEK 2 à un gold standard de micro-dilution sur 30 souches de *P. aeruginosa* (86). Cependant, ils retrouvaient peu d'erreurs majeures ou très majeures pour le céfépime ou l'aztréonam dans leur étude (moins de 6,7%). Il est toutefois difficile de comparer les résultats de leur étude par rapport à la nôtre car ils ont utilisé comme référence les critères du CLSI de 2007, alors que nous avons utilisé les recommandations du CASFM de 2022. Par exemple, une souche de *P. aeruginosa* avec une CMI à 16 mg/L au céfépime est considérée comme « intermédiaire » pour le CLSI de 2007, alors qu'elle est résistante pour le CASFM de 2022. Juretschko *et al.* rapportaient un taux élevé d'erreurs mineures (souche « résistante » ou « sensible » rendue « intermédiaire ») pour le céfépime (13,3%) ou l'aztréonam (28,3%) qui auraient été considérées comme des erreurs majeures ou très majeures dans notre étude du fait du changement de break-points entre les deux référentiels et la disparition de la catégorie « intermédiaire ».

Une autre étude réalisée en 2008 comparant le VITEK 2 à la micro-dilution trouve des accords de catégorie entre 60,2% et 88,4%, et des accords essentiels entre 74,3% et 93,5% pour les β -lactamines sur 78 souches de *P. aeruginosa*. La moitié de ces souches était résistante à la ceftazidime. Pour l'ensemble des 546 combinaisons isolat-antimicrobien testées, l'accord de catégorie moyen était de 83,6 % (87), ce qui correspond à ce qui a été retrouvé dans notre étude où les souches retenues de *P. aeruginosa* ont également des profils plus résistants qu'en population générale. Le taux de résistance élevé aux antibiotiques s'explique par notre recrutement de patients. En effet nous avons inclus des patients atteints de mucoviscidose,

colonisés depuis plusieurs années à *P. aeruginosa*, et régulièrement exposés aux antibiotiques, ainsi que des patients de réanimation également exposés aux antibiotiques et hospitalisés sur de longues durées, avec des risques accrus d'acquisition de résistance en milieu hospitalier.

Plus récemment, Bobenchik *et al.* ont retrouvé des accords de catégorie plus élevés (>89%) et des accords essentiels excellents (>97%) sur 99 souches de *P. aeruginosa* en comparant le VITEK 2 à la micro-dilution (88). Cependant, seulement 16% des souches incluses étaient résistantes à la ceftazidime. Dans notre étude, 60% des souches isolées de patients hospitalisés en réanimation étaient résistantes au ceftazidime, ce qui pourrait peut-être expliquer les moins bonnes corrélations observées. En effet, il y a moins de discordances entre les différentes méthodes lorsque le panel de souches testées inclut un grand nombre de souches multi-sensibles (phénotype sauvage). Les souches qui vont poser des problèmes de catégorisation sont celles dont la CMI est proche du break-point utilisé pour la classification sensible à forte posologie ou résistant. Cependant en pratique, le fait de rendre une CMI encore considérée comme sensible à forte posologie (ex. 8 mg/L pour le céfépime ou le méropénème) mais qui serait considérée comme résistante à une dilution supérieure (ex. 16 mg/L) conduit habituellement les réanimateurs à ne pas utiliser l'antibiotique en question. En effet, il est difficile d'atteindre les objectifs pharmacocinétiques/pharmacodynamiques pour des CMI de l'ordre 8 mg/L pour le céfépime chez un patient de réanimation, même si cette valeur est encore considérée sensible à forte posologie. De plus, la micro-dilution (méthode de référence) est considérée fiable à une dilution près. Une CMI rendue à 8 mg/L peut potentiellement correspondre à une CMI de 16 mg/L (considérée comme résistante pour le céfépime).

Lors de la comparaison de méthode d'antibiogramme par diffusion au Sensititre, nous avons retrouvé de meilleurs accords de catégorie, de l'ordre de 80% pour l'aztréonam, le céfépime, et la pipéracilline-tazobactam, et de 90% pour les carbapénèmes. Les souches testées en diffusion étaient isolées de patients atteints de mucoviscidose. Ces souches étaient moins fréquemment résistantes au ceftazidime (33,3%). Cependant 60% de ces souches présentaient un phénotype mucoïde, associé à une culture fastidieuse et à une interprétation difficile des résultats de l'antibiogramme, que ce soit en diffusion ou par méthode Sensititre. Une incubation des souches mucoïdes pendant une durée prolongée (48 à 72h) était habituellement nécessaire avant d'observer une croissance suffisante pour l'interprétation. L'antibiogramme par diffusion est habituellement recommandé pour les souches isolées de

patients atteints de mucoviscidose. En effet les systèmes automatisés comme le VITEK 2 permettent rarement la croissance des souches mucoïdes et ne sont pas considérés fiables dans ce contexte. Burns *et al.* ont comparé la diffusion, la méthode E-test, et la micro-dilution sur 498 souches de *P. aeruginosa* isolés de patients atteints de mucoviscidose, dont 130 isolats présentant un phénotype mucoïde (26,1%) (89). Cette étude retrouvait peu d'erreurs majeures (<4%) ou très majeures (<1,3%), par contre le taux d'erreurs mineures atteignait fréquemment 10 à 20%. Ces erreurs mineures auraient été considérées comme des erreurs majeures ou très majeures dans notre étude du fait de l'absence de la catégorisation « intermédiaire » dans le CASFM 2022, les souches étant soit sensibles à forte posologie, soit résistantes. Dans le sous-groupe de souches présentant un phénotype mucoïde, le taux d'erreurs mineures était plus élevé (de l'ordre de 15 à 30%). Dans notre étude, nous avons inclus un plus fort pourcentage de souches présentant un phénotype mucoïde, pour lesquelles la réalisation d'un antibiogramme est d'interprétation plus délicate (60% dans notre étude, contre 26% dans l'étude de Burns *et al.*).

Concernant la résistance aux différents antibiotiques testés de manière systématique dans le panel Sensititre, nous avons été surpris de constater un pourcentage de sensibilité au ceftolozane-tazobactam relativement faible (76,7% pour les patients atteints de mucoviscidose, et 80% pour les patients hospitalisés en réanimation) par rapport au ceftazidime-avibactam (86,7% et 86,7%). Dans la littérature, le ceftolozane-tazobactam est décrit comme étant un peu plus actif sur les souches de *P. aeruginosa* résistantes au carbapénème (76%) par rapport au ceftazidime-avibactam (74%) (90). Le ceftolozane-tazobactam est habituellement utilisé de manière préférentielle sur les souches de *P. aeruginosa* en France pour préserver le ceftazidime-avibactam. Ce dernier présente l'avantage d'être un des seuls antibiotiques efficaces sur les entérobactéries productrices de carbapénémase de type OXA-48, très fréquentes en France. Pour les souches de *P. aeruginosa* isolées de patients atteints de mucoviscidose, il semblerait que le ceftazidime-avibactam soit plus souvent actif sur que le ceftolozane-tazobactam (96% versus 90,5%, respectivement) (91). Une autre étude a évalué la sensibilité d'antibiotiques de dernier recours sur des souches de *P. aeruginosa* isolées d'enfants atteints de mucoviscidose en utilisant la méthode Sensititre (92). Le ceftolozane-tazobactam était l'antibiotique pour lequel les souches étaient le plus fréquemment sensibles (95,2 %), par rapport au méropénème (92,8%) ou à la pipéracilline-tazobactam (88,3%). Toutefois, cette étude n'a pas évalué l'activité du ceftazidime-avibactam.

Dans notre étude, nous avons également objectivé une souche de *P. aeruginosa* résistante au méropénème, mais sensible à l'association méropénème-vaborbactam, chez un patient atteint de mucoviscidose. Le CASFM 2022 mentionne pourtant que « l'addition de vaborbactam ne permet pas de récupérer l'activité du méropénème chez *Pseudomonas aeruginosa*, à l'exception de rares souches productrices de carbapénémase type KPC » (93). Les mécanismes de résistance des souches de *P. aeruginosa* isolées de patients de mucoviscidose étant multiples et complexes, il paraît intéressant de tester un large éventail de molécules de dernier recours pour les souches résistantes aux antibiotiques utilisés en première intention.

La première limite de notre étude est que les antibiogrammes en méthode VITEK 2 ou en diffusion ont été réalisés lors de la prise en charge initiale du prélèvement, alors que ceux en méthode Sensititre ont été effectués dans un second temps après que les souches aient été congelées. Cela implique que l'inoculum utilisé pour la réalisation des antibiogrammes réalisés en routine et l'antibiogramme réalisé par méthode Sensititre n'était pas le même. Dans les deux cas, nous sommes partis d'une suspension bactérienne standardisée à 0,5 McFarland, conformément aux recommandations du CASFM 2022. Cependant, il aurait été intéressant de réaliser les antibiogrammes de routine et Sensititre au même moment à partir de la même suspension bactérienne afin de s'affranchir de ce biais. Deuxièmement, si un patient était infecté ou colonisé par de multiples souches de *P. aeruginosa* présentant un même phénotype, il est possible qu'une seule souche ait été congelée. Cependant l'antibiogramme de routine a pu être réalisé sur un mélange de plusieurs souches. Nous sommes partis de la gélose ayant servi à vérifier la pureté de la suspension bactérienne utilisée pour l'antibiogramme réalisé en routine pour minimiser ce biais, mais cela souligne de nouveau le fait qu'il aurait été préférable d'utiliser une suspension bactérienne unique pour comparer les différentes méthodes.

CHAPITRE 5 : CONCLUSION

L'évaluation de diverses méthodes d'antibiogramme a révélé des discordances dans la détermination de la sensibilité de souches de *P. aeruginosa*, particulièrement pour certains antibiotiques de la famille des β -lactamines. Ces discordances ont été plus prononcées lors de la comparaison entre les méthodes VITEK 2 et Sensititre pour les souches isolées de patients en réanimation. Néanmoins, des résultats satisfaisants ont été observés avec d'autres antibiotiques. Il est à noter que les souches utilisées dans notre étude sont en moyenne plus résistantes et plus fréquemment de phénotype mucoïde que celles d'études précédentes. Nous avons utilisé les recommandations récentes 2022 du CASFM, rendant les comparaisons directes quelque peu complexes par rapport aux études utilisant d'autres référentiels.

La technique Sensititre présente l'intérêt de tester en même temps un grand nombre d'antibiotiques de dernier recours avec une méthode de référence : la micro-dilution. Cette méthode semble utile pour les souches de *P. aeruginosa* difficiles à traiter (multi-résistantes aux antibiotiques) ou bien présentant des CMI proches des break-points CASFM pour éviter les erreurs potentielles de catégorisation des techniques utilisées en routine. Pour les souches de *P. aeruginosa* difficiles à traiter isolées de patients de réanimation, ou de patients atteints de mucoviscidose, il est difficile de prévoir quel antibiotique de dernier recours va se révéler efficace. Ainsi, il y a un intérêt de tester un large panel d'antibiotiques sans a priori.

CHAPITRE 6 : BIBLIOGRAPHIE

1. Weiner LM, Webb AK, Limbago B, Dudeck MA, Patel J, Kallen AJ, et al. Antimicrobial-Resistant Pathogens Associated With Healthcare-Associated Infections: Summary of Data Reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2011–2014. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2016 Nov;37(11):1288–301.
2. Vincent JL, Sakr Y, Singer M, Martin-Loeches I, Machado FR, Marshall JC, et al. Prevalence and Outcomes of Infection Among Patients in Intensive Care Units in 2017. *JAMA*. 2020 Apr 21;323(15):1478–87.
3. Vaincre la Mucoviscidose [Internet]. 2015 [cited 2023 Jul 21]. Registre français de la mucoviscidose. Available from: <https://www.vaincrelamuco.org/registredelamuco>
4. Rahme LG, Tan MW, Le L, Wong SM, Tompkins RG, Calderwood SB, et al. Use of model plant hosts to identify *Pseudomonas aeruginosa* virulence factors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997 Nov 25;94(24):13245–50.
5. 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*. 1999 Jul;67(7):3625–30.
6. KuKanich KS, Bagladi-Swanson M, KuKanich B. *Pseudomonas aeruginosa* susceptibility, antibiogram and clinical interpretation, and antimicrobial prescribing behaviors for dogs with otitis in the Midwestern United States. *J Vet Pharmacol Ther*. 2022 Sep;45(5):440–9.
7. World Health Organization : Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) Report 2021
8. European Centre for Disease Prevention and Control., World Health Organization. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2022: 2020 data. [Internet]. LU: Publications Office; 2022 [cited 2023 Aug 5]. Available from: <https://data.europa.eu/doi/10.2900/112339>
9. Farnham S. Qu'est-ce qu'une CMI « réelle » ou « vraie » ? Et VITEK® 2 la fournit-il ? [Internet]. BIOMÉRIEUX iNEWS. 2017 [cited 2023 Jul 24]. Available from: <https://www.biomerieux-microbio.com/fr/quest-ce-quune-cmi-reelle-ou-vraie-et-vitek-2-la-fournit-il/>
10. *Pseudomonas aeruginosa*. NCBI [Internet]. [cited 2023 Aug 1]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/taxonomy/287/>
11. Denis F, Ploy MC, Poyart C, Cattoir V, Martin C. *Bactériologie médicale: Techniques usuelles*. Elsevier Health Sciences; 2016. 599 p.
12. HUGH R, LESSEL EF. *Pseudomonas aeruginosa* or *Pseudomonas pyocyanea*? *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 1967;43–51.
13. Schroeter: *Beitrag zur Biologie der Pflanzen* - Google Scholar. [cited 2023 Aug 1]; Available from: https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Beitrag+zur+Biologie+der+Pflanzen&author=J+Schroeter&publication_year=1872&
14. Classics in infectious diseases. On the blue and green coloration that appears on bandages. By Carle Gessard (1850-1925). *Rev Infect Dis*. 1984;6 Suppl 3:S775-776.

15. Vasil ML. *Pseudomonas aeruginosa*: biology, mechanisms of virulence, epidemiology. J Pediatr. 1986 May;108(5 Pt 2):800–5.
16. Freney J, Renaud F, Leclercq R, Riegel P. Précis de bactériologie clinique. Éditions ESKA; 2007. 1764 p.
17. Lau GW, Hassett DJ, Ran H, Kong F. The role of pyocyanin in *Pseudomonas aeruginosa* infection. Trends Mol Med. 2004 Dec;10(12):599–606.
18. 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 Aug 31;406(6799):959–64.
19. Botelho J, Grosso F, Peixe L. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* - Mechanisms, epidemiology and evolution. Drug Resist Updat Rev Comment Antimicrob Anticancer Chemother. 2019 May;44:100640.
20. Khan NH, Ishii Y, Kimata-Kino N, Esaki H, Nishino T, Nishimura M, et al. Isolation of *Pseudomonas aeruginosa* from open ocean and comparison with freshwater, clinical, and animal isolates. Microb Ecol. 2007 Feb;53(2):173–86.
21. Kamei A, Koh AY, Gadjeva M, Priebe GP, Lory S, Pier GB. Analysis of acquisition of *Pseudomonas aeruginosa* gastrointestinal mucosal colonization and horizontal transmission in a murine model. J Infect Dis. 2010 Jan 1;201(1):71–80.
22. Morrison AJ, Wenzel RP. Epidemiology of infections due to *Pseudomonas aeruginosa*. Rev Infect Dis. 1984;6 Suppl 3:S627–642.
23. Fujitani S, Sun HY, Yu VL, Weingarten JA. Pneumonia due to *Pseudomonas aeruginosa*: part I: epidemiology, clinical diagnosis, and source. Chest. 2011 Apr;139(4):909–19.
24. Ben Haj Khalifa A, Moissenet D, Vu Thien H, Khedher M. [Virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and modes of regulation]. Ann Biol Clin (Paris). 2011;69(4):393–403.
25. Ma Q, Zhai Y, Schneider JC, Ramseier TM, Saier MH. Protein secretion systems of *Pseudomonas aeruginosa* and *P. fluorescens*. Biochim Biophys Acta. 2003 Apr 1;1611(1–2):223–33.
26. 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. 2011 Sep;39(9):2113–20.
27. Hauser AR. The type III secretion system of *Pseudomonas aeruginosa*: infection by injection. Nat Rev Microbiol. 2009 Sep;7(9):654–65.
28. Hueck CJ. Type III protein secretion systems in bacterial pathogens of animals and plants. Microbiol Mol Biol Rev MMBR. 1998 Jun;62(2):379–433.
29. Koh AY, Priebe GP, Ray C, Van Rooijen N, Pier GB. Inescapable need for neutrophils as mediators of cellular innate immunity to acute *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. Infect Immun. 2009 Dec;77(12):5300–10.
30. Franzetti F, Cernuschi M, Esposito R, Moroni M. *Pseudomonas* infections in patients with AIDS and AIDS-related complex. J Intern Med. 1992 Apr;231(4):437–43.

31. Aguilera-Sáez J, Andreu-Solà V, Larrosa Escartín N, Rodríguez Garrido V, Armadans Gil L, Sánchez García JM, et al. Extensively drug-resistant *Pseudomonas Aeruginosa* outbreak in a burn unit: management and solutions. *Ann Burns Fire Disasters*. 2019 Mar 31;32(1):47–55.
32. Öncül O, Öksüz S, Acar A, Ülkür E, Turhan V, Uygur F, et al. Nosocomial infection characteristics in a burn intensive care unit: analysis of an eleven-year active surveillance. *Burns J Int Soc Burn Inj*. 2014 Aug;40(5):835–41.
33. Hurley JC. Worldwide variation in *Pseudomonas* associated ventilator associated pneumonia. A meta-regression. *J Crit Care*. 2019 Jun;51:88–93.
34. Mirsoleymani SR, Salimi M, Shareghi Brojeni M, Ranjbar M, Mehtarpour M. Bacterial pathogens and antimicrobial resistance patterns in pediatric urinary tract infections: a four-year surveillance study (2009-2012). *Int J Pediatr*. 2014;2014:126142.
35. Qureishi A, Lee Y, Belfield K, Birchall JP, Daniel M. Update on otitis media - prevention and treatment. *Infect Drug Resist*. 2014 Jan 10;7:15–24.
36. Greene SL, Su WP, Muller SA. *Pseudomonas aeruginosa* infections of the skin. *Am Fam Physician*. 1984 Jan;29(1):193–200.
37. Ferry T, Boucher F, Fevre C, Perpoint T, Chateau J, Petitjean C, et al. Innovations for the treatment of a complex bone and joint infection due to XDR *Pseudomonas aeruginosa* including local application of a selected cocktail of bacteriophages. *J Antimicrob Chemother*. 2018 Oct 1;73(10):2901–3.
38. Recio R, Viedma E, González-Bodí S, Villa J, Orellana MÁ, Mancheño-Losa M, et al. Clinical and bacterial characteristics of *Pseudomonas aeruginosa* affecting the outcome of patients with bacteraemic pneumonia. *Int J Antimicrob Agents*. 2021 Dec;58(6):106450.
39. Hogardt M, Heesemann J. Adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* during persistence in the cystic fibrosis lung. *Int J Med Microbiol IJMM*. 2010 Dec;300(8):557–62.
40. Qin S, Xiao W, Zhou C, Pu Q, Deng X, Lan L, et al. *Pseudomonas aeruginosa*: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics. *Signal Transduct Target Ther*. 2022 Jun 25;7(1):199.
41. Rossi E, La Rosa R, Bartell JA, Marvig RL, Haagensen JAJ, Sommer LM, et al. *Pseudomonas aeruginosa* adaptation and evolution in patients with cystic fibrosis. *Nat Rev Microbiol*. 2021 May;19(5):331–42.
42. Nikaido H. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiol Mol Biol Rev MMBR*. 2003 Dec;67(4):593–656.
43. Morita Y, Tomida J, Kawamura Y. MexXY multidrug efflux system of *Pseudomonas aeruginosa*. *Front Microbiol*. 2012;3:408.
44. Lister PD, Wolter DJ, Hanson ND. Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. *Clin Microbiol Rev*. 2009 Oct;22(4):582–610.
45. Poole K. Efflux-mediated antimicrobial resistance. *J Antimicrob Chemother*. 2005 Jul;56(1):20–51.

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.* 2005 Aug;187(15):5341–6.
47. Li XZ, Nikaido H, Poole K. Role of mexA-mexB-oprM in antibiotic efflux in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1995 Sep;39(9):1948–53.
48. Breidenstein EBM, de la Fuente-Núñez C, Hancock REW. *Pseudomonas aeruginosa*: all roads lead to resistance. *Trends Microbiol.* 2011 Aug;19(8):419–26.
49. Davies J, Davies D. Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. *Microbiol Mol Biol Rev MMBR.* 2010 Sep;74(3):417–33.
50. Zhang S, Huang J, Zhao Z, Cao Y, Li B. Hospital Wastewater as a Reservoir for Antibiotic Resistance Genes: A Meta-Analysis. *Front Public Health.* 2020;8:574968.
51. Surveillance Atlas of Infectious Diseases [Internet]. [cited 2023 Aug 14]. Available from: <http://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx>
52. Berkowitz FE. Antibiotic resistance in bacteria. *South Med J.* 1995 Aug;88(8):797–804.
53. Barceló IM, Jordana-Lluch E, Escobar-Salom M, Torrens G, Fraile-Ribot PA, Cabot G, et al. Role of Enzymatic Activity in the Biological Cost Associated with the Production of AmpC β -Lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiol Spectr.* 2022 Oct 26;10(5):e0270022.
54. Courvalin P, Leclercq R. *Antibiogramme*, 3ème édition. ESKA Pub; 2012.
55. Danel F, Hall LM, Gur D, Akalin HE, Livermore DM. Transferable production of PER-1 beta-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother.* 1995 Feb;35(2):281–94.
56. Masson E. EM-Consulte. [cited 2023 Aug 12]. Épidémiologie de la résistance aux β - lactamines chez *Pseudomonas aeruginosa*. Available from: <https://www.em-consulte.com/article/1060964/epidemiologie-de-la-resistance-aux-?-lactamine>
57. Devoos L, Biguenet A, Rousselot J, Bour M, Plésiat P, Fournier D, et al. Performance of discs, sensititre EUMDROXF microplates and MTS gradient strips for the determination of the susceptibility of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* to cefiderocol. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis.* 2023 May;29(5):652.e1-652.e8.
58. Kois AK, Nicolau DP, Kuti JL. Unresolved issues in the identification and treatment of carbapenem-resistant Gram-negative organisms. *Curr Opin Infect Dis.* 2020 Dec;33(6):482–94.
59. Zilberberg MD, Chen J, Mody SH, Ramsey AM, Shorr AF. Imipenem resistance of *Pseudomonas* in pneumonia: a systematic literature review. *BMC Pulm Med.* 2010 Aug 26;10:45.
60. Trias J, Nikaido H. Outer membrane protein D2 catalyzes facilitated diffusion of carbapenems and penems through the outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1990 Jan;34(1):52–7.
61. Barbier F, Wolff M. [Multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*: towards a therapeutic dead end?]. *Med Sci MS.* 2010 Nov;26(11):960–8.
62. Masuda N, Sakagawa E, Ohya S, Gotoh N, Tsujimoto H, Nishino T. Substrate specificities of MexAB-OprM, MexCD-OprJ, and MexXY-oprM efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000 Dec;44(12):3322–7.

63. Riccobono E, Bussini L, Giannella M, Viale P, Rossolini GM. Rapid diagnostic tests in the management of pneumonia. *Expert Rev Mol Diagn.* 2022 Jan;22(1):49–60.
64. Douglas IS. New diagnostic methods for pneumonia in the ICU. *Curr Opin Infect Dis.* 2016 Apr;29(2):197–204.
65. Katz DS, Leung AN. Radiology of pneumonia. *Clin Chest Med.* 1999 Sep;20(3):549–62.
66. Cunha BA. Pneumonia in the elderly. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis.* 2001 Nov;7(11):581–8.
67. SPF. Surveillance des infections nosocomiales en réanimation adulte : Réseau REA-Raisin, France, Résultats 2017 [Internet]. [cited 2023 Aug 14]. Available from: <https://www.santepubliquefrance.fr/import/surveillance-des-infections-nosocomiales-en-reanimation-adulte-reseau-rea-raisin-france-resultats-2017>
68. Lyczak JB, Cannon CL, Pier GB. Lung infections associated with cystic fibrosis. *Clin Microbiol Rev.* 2002 Apr;15(2):194–222.
69. Mathee K, Ciofu O, Sternberg C, Lindum PW, Campbell JIA, Jensen P, et al. Mucoid conversion of *Pseudomonas aeruginosa* by hydrogen peroxide: a mechanism for virulence activation in the cystic fibrosis lung. *Microbiol Read Engl.* 1999 Jun;145 (Pt 6):1349–57.
70. Ramsey DM, Wozniak DJ. Understanding the control of *Pseudomonas aeruginosa* alginate synthesis and the prospects for management of chronic infections in cystic fibrosis. *Mol Microbiol.* 2005 Apr;56(2):309–22.
71. Hentzer M, Teitzel GM, Balzer GJ, Heydorn A, Molin S, Givskov M, et al. Alginate overproduction affects *Pseudomonas aeruginosa* biofilm structure and function. *J Bacteriol.* 2001 Sep;183(18):5395–401.
72. Cobb LM, Mychaleckyj JC, Wozniak DJ, López-Boado YS. *Pseudomonas aeruginosa* flagellin and alginate elicit very distinct gene expression patterns in airway epithelial cells: implications for cystic fibrosis disease. *J Immunol Baltim Md 1950.* 2004 Nov 1;173(9):5659–70.
73. Hay ID, Wang Y, Moradali MF, Rehman ZU, Rehm BHA. Genetics and regulation of bacterial alginate production. *Environ Microbiol.* 2014;16(10):2997–3011.
74. Malhotra S, Hayes D, Wozniak DJ. Cystic Fibrosis and *Pseudomonas aeruginosa*: the Host-Microbe Interface. *Clin Microbiol Rev.* 2019 Jun 19;32(3):e00138-18.
75. Mulcahy LR, Isabella VM, Lewis K. *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in disease. *Microb Ecol.* 2014 Jul;68(1):1–12.
76. Sherrard LJ, Tunney MM, Elborn JS. Antimicrobial resistance in the respiratory microbiota of people with cystic fibrosis. *Lancet Lond Engl.* 2014 Aug 23;384(9944):703–13.
77. Murray TS, Egan M, Kazmierczak BI. *Pseudomonas aeruginosa* chronic colonization in cystic fibrosis patients. *Curr Opin Pediatr.* 2007 Feb;19(1):83.
78. Owlia P, Nosrati R, Alaghebandan R, Lari AR. Antimicrobial susceptibility differences among mucoid and non-mucoid *Pseudomonas aeruginosa* isolates. *GMS Hyg Infect Control.* 2014;9(2):Doc13.

79. Srifuengfung S, Tiensasitorn C, Yungyuen T, Dhiraputra C. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* mucoid and non-mucoid type. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2004 Dec;35(4):893–6.
80. 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*. 2005 Jul;11 Suppl 4:17–32.
81. Blomquist KC, Nix DE. A Critical Evaluation of Newer β -Lactam Antibiotics for Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* Infections. *Ann Pharmacother*. 2021 Aug;55(8):1010–24.
82. MacLowry JD, Marsh HH. Semiautomatic microtechnique for serial dilution-antibiotic sensitivity testing in the clinical laboratory. *J Lab Clin Med*. 1968 Oct;72(4):685–7.
83. Dwivedi HP, Franklin S, Chandrasekaran S, Garner O, Traczewski MM, Beasley D, et al. Multicenter Clinical Evaluation of Vitek 2 Meropenem-Vaborbactam for Susceptibility Testing of Enterobacterales and *Pseudomonas aeruginosa*. *J Clin Microbiol*. 2022 Jan 19;60(1):e0161021.
84. Humphries R, Campeau S, Davis TE, Nagaro KJ, LaBombardi VJ, Franklin S, et al. Multicenter Evaluation of Ceftazidime-Avibactam Susceptibility Testing of Enterobacterales and *Pseudomonas aeruginosa* on the Vitek 2 System. *J Clin Microbiol*. 2021 Feb 18;59(3):e01870-20.
85. bioMérieux France [Internet]. [cited 2023 Aug 13]. ETEST®. Available from: <https://www.biomerieux.fr/diagnostic-clinique/etestr>
86. Juretschko S, LaBombardi VJ, Lerner SA, Schreckenberger PC, and the *Pseudomonas* AST Study Group. Accuracies of β -Lactam Susceptibility Test Results for *Pseudomonas aeruginosa* with Four Automated Systems (BD Phoenix, MicroScan WalkAway, Vitek, and Vitek 2). *J Clin Microbiol*. 2007 Apr;45(4):1339–42.
87. Mazzariol A, Aldegheri M, Ligozzi M, Lo Cascio G, Koncan R, Fontana R. Performance of Vitek 2 in Antimicrobial Susceptibility Testing of *Pseudomonas aeruginosa* Isolates with Different Mechanisms of β -Lactam Resistance. *J Clin Microbiol*. 2008 Jun;46(6):2095–8.
88. Bobenchik AM, Deak E, Hindler JA, Charlton CL, Humphries RM. Performance of Vitek 2 for Antimicrobial Susceptibility Testing of *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Stenotrophomonas maltophilia* with Vitek 2 (2009 FDA) and CLSI M100S 26th Edition Breakpoints. *J Clin Microbiol*. 2017 Feb;55(2):450–6.
89. Burns JL, Saiman L, Whittier S, Larone D, Krzewinski J, Liu Z, et al. Comparison of agar diffusion methodologies for antimicrobial susceptibility testing of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from cystic fibrosis patients. *J Clin Microbiol*. 2000 May;38(5):1818–22.
90. Tamma PD, Aitken SL, Bonomo RA, Mathers AJ, van Duin D, Clancy CJ. Infectious Diseases Society of America 2023 Guidance on the Treatment of Antimicrobial Resistant Gram-Negative Infections. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2023 Jul 18;ciad428.
91. Sader HS, Duncan LR, Doyle TB, Castanheira M. Antimicrobial activity of ceftazidime/avibactam, ceftolozane/tazobactam and comparator agents against *Pseudomonas aeruginosa* from cystic fibrosis patients. *JAC-Antimicrob Resist*. 2021 Sep;3(3):dlab126.
92. Kanwar N, Harrison CJ, Pence MA, Qin X, Selvarangan R. Comparative in vitro antipseudomonal activity of ceftolozane/tazobactam against *Pseudomonas aeruginosa* isolates from children with cystic fibrosis. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2023 Apr;105(4):115904.

93. Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie [Internet]. Société Française de Microbiologie. [cited 2023 Aug 21]. Available from: <https://www.sfm-microbiologie.org/boutique/comite-de-lantibiogramme-de-la-sfm-casfm/>

Université de Lille
FACULTE DE PHARMACIE DE LILLE
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Année Universitaire 2023/2024

Nom : WICES

Prénom : Sarah

Titre de la thèse : Détermination de l'activité in vitro de 15 antibiotiques de dernier recours sur des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées d'infection respiratoire

Mots-clés : micro-dilution, *Pseudomonas aeruginosa*, antibiotiques, mucoviscidose, antibiogramme, résistances, Sensititre

Résumé

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie opportuniste, impliquée dans environ 20 % des pneumopathies de réanimation et colonise environ 30% des patients atteints de mucoviscidose. Les infections nosocomiales causées par *P. aeruginosa* sont causées par des souches souvent résistantes aux antibiotiques, posant ainsi des problèmes majeurs à l'hôpital. Afin de traiter les patients infectés avec une antibiothérapie adaptée, les laboratoires de biologie médicale disposent de différentes méthodes pour tester la sensibilité des bactéries pathogènes.

L'objectif de ce travail est de comparer plusieurs méthodes d'antibiogrammes, en prenant comme référence la méthode Sensititre, et en la comparant à la méthode VITEK 2 pour des souches de *P. aeruginosa* isolés de patients de réanimation, ou à la diffusion pour des souches de patients atteints de mucoviscidose. Nous avons inclus des souches de prélèvements respiratoires des patients suivis pour mucoviscidose, ainsi que des souches de *P. aeruginosa* isolés de prélèvements respiratoires de patients en réanimation de décembre 2022 à avril 2023 au CHU de Lille. Avec le VITEK 2, les accords de catégorie (AC) de la tobramycine, l'amikacine et l'imipénème sont de 100%. Pour la pipéracilline/tazobactam, le méropénème et le céfépime la concordance est légèrement moins bonne mais reste élevée avec des taux d'AC supérieurs ou égaux à 80%. Avec la méthode en diffusion, les accords de catégories se situent tous au-dessus entre 80 et 90% à l'exception de la pipéracilline/tazobactam qui est à 76,7%. Les écarts majeurs n'excèdent pas 10%. A propos des écarts très majeurs, ceux de la pipéracilline/tazobactam et de l'aztréonam sont à 16,7%.

La technique Sensititre présente l'intérêt de tester en même temps un grand nombre d'antibiotiques de dernier recours avec une méthode de référence : la micro-dilution. Cette méthode semble utile pour les souches de *P. aeruginosa* difficiles à traiter (multi-résistantes aux antibiotiques) ou bien présentant des CMI proches des break-points CASFM pour éviter les erreurs potentielles de catégorisation des techniques utilisées en routine.

Membres du jury :

Président : Pr Goffard Anne, PU-PH en microbiologie à la faculté de Pharmacie de Lille

Assesseur(s) : Dr Le Guern Rémi, MCU-PH en bactériologie au CHU de Lille

Dr Loridant Séverine, PH en parasitologie-mycologie au CHU de Lille

Dr Duployez Claire, AHU en bactériologie au CHU de Lille