



**HAL**  
open science

# Intérêt de la PCR multiplex Unyvero dans le diagnostic précoce des pneumopathies acquises sous ventilation mécanique, et dans la stratégie d'épargne des antibiotiques

Monika Muszynska

## ► To cite this version:

Monika Muszynska. Intérêt de la PCR multiplex Unyvero dans le diagnostic précoce des pneumopathies acquises sous ventilation mécanique, et dans la stratégie d'épargne des antibiotiques. Médecine humaine et pathologie. 2018. dumas-02078846

**HAL Id: dumas-02078846**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02078846v1>**

Submitted on 25 Nov 2019

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



UNIVERSITE DES ANTILLES  
FACULTE DE MEDECINE  
HYACINTHE BASTARAUD  
Année 2018  
N° 2018ANTI0350

# **Intérêt de la PCR multiplex Unyvero dans le diagnostic précoce des pneumopathies acquises sous ventilation mécanique, et dans la stratégie d'épargne des antibiotiques**

## **THESE D'EXERCICE EN MEDECINE**

Présentée et soutenue publiquement à la Faculté de Médecine Claude Bernard à Lyon  
et examinée par les Enseignants de ladite Faculté pour le compte de la Faculté de Médecine  
des Antilles

Par

**Mme Monika MUSZYNSKA**

### Examineurs de la thèse :

Président du jury : Monsieur le Professeur ALLAOUCHICHE Bernard

Membres du jury :

Monsieur le Professeur CARLES Michel

Monsieur le Professeur FELLAHI Jean-Luc

Monsieur le Professeur BOHE Julien

Directeur de Thèse : Monsieur le Professeur ALLAOUCHICHE Bernard

**Le Président de l'Université des Antilles : Eustase JANKY**

**Doyen de la Faculté de Médecine : Raymond CESAIRE**

**Vice-Doyen de la Faculté de Médecine : Suzy DUFLO**

<b>Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers</b>	
<b>Bruno HOEN</b>	<b>Maladies Infectieuses</b> CHU de POINTE- À -PITRE/ABYMES Tel : 05 90 89 15 45
<b>Pascal BLANCHET</b>	<b>Chirurgie Urologique</b> CHU de POINTE- À -PITRE/ABYMES Tel : 05 90 89 13 95
<b>André-Pierre UZEL</b>	<b>Chirurgie Orthopédique et Traumatologie</b> CHU de POINTE-A-PITRE/ABYMES Tel : 05 90 89 14 66
<b>Pierre COUPPIE</b>	<b>Dermatologie</b> CH de CAYENNE Tel : 05 94 39 53 39
<b>Thierry DAVID</b>	<b>Ophthalmologie</b> CHU de POINTE-A-PITRE/ABYMES Tel : 05 90 89 14 55
<b>Suzy DUFLO</b>	<b>ORL – Chirurgie Cervico-Faciale</b> CHU de POINTE-A-PITRE/ABYMES

	Tel : 05 90 93 46 16
<b>Eustase JANKY</b>	<b>Gynécologie-Obstétrique</b> CHU de POINTE-A-PITRE/ABYMES Tel 05 90 89 13 89
<b>François ROQUES</b>	<b>Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire</b> CHU de FORT- DE - FRANCE Tel : 05 96 55 22 71
<b>Jean ROUDIE</b>	<b>Chirurgie Digestive</b> CHU de FORT- DE - FRANCE Tel : 05 96 55 21 01 - Tel : 05 96 55 22 71
<b>Jean-Louis ROUVILLAIN</b>	<b>Chirurgie Orthopédique</b> CHU de FORT- DE - FRANCE Tel : 05 96 55 22 28
<b>André CABIE</b>	<b>Maladies Infectieuses</b> CHU de FORT- DE - FRANCE Tel : 05 96 55 23 01
<b>Philippe CABRE</b>	<b>Neurologie</b> CHU de FORT- DE - FRANCE Tel : 05 96 55 22 61
<b>Raymond CESAIRE</b>	<b>Bactériologie-Virologie-Hygiène option virologie</b> CHU de FORT- DE - FRANCE Tel : 05 96 55 24 11
<b>Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers</b> <i>(Suite)</i>	
<b>Maryvonne DUEYMES-BODENES</b>	<b>Immunologie</b> CHU de FORT- DE - FRANCE Tel : 05 96 55 24 24
<b>Régis DUVAUFERRIER</b>	<b>Radiologie et imagerie Médicale</b>

	<p>CHU de FORT- DE - FRANCE</p> <p>Tel : 05 96 55 21 84</p>
<b>Annie LANNUZEL</b>	<p><b>Neurologie</b></p> <p>CHU de POINTE- À -PITRE/ABYMES</p> <p>Tel : 05 90 89 14 13</p>
<b>Louis JEHEL</b>	<p><b>Psychiatrie Adulte</b></p> <p>CHU de FORT- DE - FRANCE</p> <p>Tel : 05 96 55 20 44</p>
<b>Mathieu NACHER</b>	<p><b>Epidémiologie, Economie de la Santé et Prévention</b></p> <p>CH de CAYENNE</p> <p>Tel : 05 94 93 50 24</p>
<b>Guillaume THIERY (en disponibilité)</b>	<p><b>Réanimation</b></p> <p>CHU de POINTE-A-PITRE/BYMES</p> <p>Tel : 05 90 89 17 74</p>
<b>Magalie DEMAR - PIERRE</b>	<p><b>Parasitologie et Infectiologue</b></p> <p>CH de CAYENNE</p> <p>Tel : 05 94 39 53 09</p>
<b>Vincent MOLINIE</b>	<p><b>Anatomie Cytologie Pathologique</b></p> <p>CHU de FORT DE FRANCE</p> <p>Tel : 05 96 55 20 85/55 23 50</p>
<b>Philippe KADHEL</b>	<p><b>Gynécologie-Obstétrique</b></p> <p>CHU de POINTE-A-PITRE/ABYMES</p> <p>Tel : 05 90 89 13 20</p>
<b>Michel DEBANDT</b>	<p><b>Rhumatologie</b></p> <p>CHU de FORT- DE - FRANCE</p> <p>Tel : 05 96 55 23 52</p>
<b>Jeannie HELENE-PELAGE</b>	<p><b>Médecine Générale</b></p>

	<p>CHU de Pointe-à-Pitre / Cabinet libéral</p> <p>Tel : 05 90 84 44 40</p>
<b>Karim FARID</b>	<p><b>Médecine Nucléaire</b></p> <p>CHU de FORT- DE - FRANCE</p> <p>Tel : 05 96 55 21 67</p>
<b>Mehdi MEJDOUBI</b>	<p><b>Radiodiagnostic et imagerie Médicale</b></p> <p>CHU de FORT- DE - FRANCE</p> <p>Tel : 05 96 55 21 84</p>
<b>Rémi NEVIERE</b>	<p><b>Physiologie</b></p> <p>CHU de FORT- DE - FRANCE</p> <p>Tel : 05 96 55 20 00</p>
<b>Christian SAINTE-ROSE</b>	<p><b>Radiodiagnostic et imagerie Médicale</b></p> <p>CHU de FORT- DE - FRANCE</p> <p>Tel : 05 96 55 20 00</p>

**Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers  
(Suite)**

<b>Sébastien BREUREC</b>	<b>Bactériologie &amp; Vénérologie</b> CHU de POINTE- À -PITRE/ABYMES Tel : 05 90 89 12 80
<b>Félix DJOSSOU</b>	<b>Maladies infectieuses et tropicales</b> CH de CAYENNE Tel : 05 94 39 50 50.
<b>Nicolas VENISSAC</b>	<b>Chirurgie thoracique et cardiovasculaire</b> CHU de FORT- DE - FRANCE Tel : 05 96 55 ...

**Professeurs Associés de Médecine Générale**

<b>Franciane GANE-TROPLENT</b>	<b>Médecine générale</b> Cabinet libéral les Abymes Tel : 05 90 20 39 37
--------------------------------	--

**Maître de Conférences des Universités - Praticiens Hospitaliers**

<b>Christophe DELIGNY</b>	<b>Médecine Interne</b> CHU de FORT- DE - FRANCE Tel : 05 96 55 22 55
<b>Jocelyn INAMO</b>	<b>Cardiologie</b> CHU de FORT- DE - FRANCE Tel : 05 96 55 23 72 - Fax : 05 96 75 84 38
<b>Fritz-Line VELAYOUDOM épouse CEPHISE</b>	<b>Endocrinologie</b> CHU de POINTE- À -PITRE/ABYMES

	Tel : 05 90 89 13 03
<b>Marie-Laure LALANNE-MISTRIH</b>	<b>Nutrition</b> CHU de POINTE- À -PITRE/ABYMES Tel : 05 90 89 13 00
<b>Narcisse ELENGA</b>	<b>Pédiatrie</b> CH de CAYENNE Tel : 05 94 39 77 37
<b>Moana GELU-SIMEON</b>	<b>Gastroentérologie hépatologie</b> CHU de POINTE-A-PITRE/ABYMES Tel : 05 90 89 10 10
<b>TABUE TEGUO Maturin</b>	<b>Médecine interne : Gériatrie et Biologie du vieillissement</b> CHU de POINTE-A-PITRE/ABYMES Tel : 05 90 89 10 10
<b>BACCINI Véronique</b>	<b>Hématologie</b> CHU de POINTE-A-PITRE/ABYMES Tel : 05 90 89 10 10
<b>Chefs de Clinique des Universités - Assistants des Hôpitaux</b>	
<b>BANCEL Paul</b>	<b>ORL/Chirurgie maxillo faciale</b> CHU de Pointe-à-Pitre Tél. : Tél. : 0590 89 14 60
<b>BORJA DE MOZOTA Daphné</b>	<b>Gynécologie-Obstétrique</b> CHU de POINTE- À -PITRE/ABYMES Tél. : 0590 89 19 80
<b>DARCHE Louis</b>	<b>Chirurgie Digestive et Viscérale</b> CHU de Martinique

	Tél. : 0596 55 20 00
<b>DE RIVOYRE Benoit</b>	<b>Ophthalmologie</b> CHU de Pointe-à-Pitre Tél. : 0590 89 14 50 / 0690 00 93 95
<b>DEBBAGH Hassan</b>	<b>Chirurgie thoracique</b> CHU de Martinique Tél. : 0596 55 22 71
<b>DOURNON Nathalie</b>	<b>Maladies infectieuses</b> CHU de Pointe-à-Pitre Tel : 05 90 89 10 10
<b>GALLI-DARCHE Paola</b>	<b>Neurologie</b> CHU de Martinique Tél. : 0596 55 20 00.
<b>GHASSANI Ali</b>	<b>Gynécologie-Obstétrique</b> CHU de Pointe-à-Pitre Tél. : 0590 89 19 89
<b>CHARMILLON Alexandre</b>	<b>Anesthésie-Réanimation</b> CHU de Pointe-à-Pitre Tél. : 0590 89 11 82
<b>MARY Julia</b>	<b>Rhumatologie</b> CHU de Martinique Tél. : 0596 55 23 52
<b>MOINET Florence</b>	<b>Rhumatologie-médecine interne</b> CHU de Martinique Tél. : 0596 55 22 55

<b>MONFORT Astrid</b>	<b>Cardiologie</b> CHU de Martinique Tél. : 0596 55 23 72
<b>MOUREAUX Clément</b>	<b>Urologie</b> CHU de Pointe-à-Pitre Tél. : 0590 89 13 95
<b>NABET Cécile</b>	<b>Parasitologie et Mycologie</b> CH "Andrée ROSEMON" de Cayenne Tél. : 0594 39 53 59
<b>PARIS Eric</b>	<b>Réanimation</b> CHU de Pointe-à-Pitre Tél. : 0590 89 10 10
<b>PIERRE-JUSTIN Aurélie</b>	<b>Neurologie</b> CHU de Pointe-à-Pitre Tél. : 0590 89 13 40
<b>Chefs de Clinique des Universités - Assistants des Hôpitaux</b> <i>(Suite)</i>	
<b>SAJIN Ana Maria</b>	<b>Psychiatrie</b> CHU de Martinique Tél. : 0596 55 20 44
<b>SEVERYNS Mathieu</b>	<b>Chirurgie orthopédique</b> CHU de Martinique Tél. : 0596 55 22 21

<b>Chefs de Clinique des Universités – Médecine Générale</b>	
<b>CARRERE Philippe</b>	<b>Médecine Générale</b>

	<p>CHU de Pointe-à-Pitre /Cabinet Tél. : 0590 8084 05 /Fax : 0590 99 33 07</p>
<b>PLACIDE Axiane</b>	<p><b>Médecine Générale</b> CHU de Martinique / Cabinet Tél. : 05 96 75 48 27</p>
<b>NIEMETZKI Florence</b>	<p><b>Médecine Générale</b> CH « Andrée Rosemon » de Cayenne/Cabinet Tél. : 05 94 39 50 50 poste 59 28</p>
<b>MOUNSAMY Josué</b>	<p><b>Médecine Générale</b> CHU de Pointe-à-Pitre /Cabinet</p>

<b>Professeurs EMERITES</b>	
<b>Georges JEAN-BAPTISTE</b>	<p><b>Rhumatologie</b> CHU de FORT- DE - FRANCE Tel : 05 96 55 23 52 - Fax : 05 96 75 84 44</p>
<b>Serge ARFI</b>	<p><b>Médecine interne</b> CHU de FORT- DE – France Tel : 05 96 55 22 55 - Fax : 05 96 75 84 45</p>

<b>Bernard CARME</b>	<p><b>Parasitologie</b> CH « Andrée Rosemon » de Cayenne/Cabinet Tél. : 05 94 39 50 50</p>
----------------------	--

# UFR SCIENCES MEDICALES HYACINTHE BASTARAUD **SERMENT D'HIPPOCRATE**

Au moment d'être admise à exercer la médecine, en présence des maîtres de cette école et de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité qui la régissent.

Mon premier souci sera, de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous les éléments physiques et mentaux, individuels collectifs et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions.

J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou dignité.

Même sous la contrainte, je ne ferai usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients de décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences.

Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer leurs consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera.

Je ne me laisserai influencer ni par la recherche du gain ni par la recherche de la gloire.

Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me sont confiés.

Reçu à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers.

Et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances, sans acharnement.

Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission.

Que je sois modérée en tout, mais insatiable de mon amour de la science.

Je n'entreprendrai rien qui ne dépasse mes compétences ; je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, Que je sois déshonorée et méprisée si j'y manque.

## **Remerciements**

### **A Monsieur le Professeur Bernard ALLAOUCHICHE,**

Vous me faites l'honneur de présider le jury de thèse. Je vous remercie pour vos précieux conseils lors de la préparation de cette étude. Vos connaissances scientifiques et vos expériences cliniques resteront pour moi un exemple. Soyez assuré de ma profonde reconnaissance.

### **A Monsieur le Professeur Michel CARLES,**

Vous me faites l'honneur de participer à ce jury de thèse. Je vous suis très reconnaissante pour l'intérêt que vous y portez. Soyez assuré de mon plus grand respect.

### **A Monsieur le Professeur Jean-Luc FELLAHI,**

Je vous remercie d'avoir accepté de faire partie du jury de ma thèse. Le semestre d'internat réalisé dans votre service m'a apporté des connaissances précieuses en anesthésie-réanimation, et tout particulièrement en chirurgie cardiaque. Je vous remercie pour la qualité de votre enseignement et pour le soutien que vous m'avez apporté. Soyez assuré de ma respectueuse considération.

### **A Monsieur le Professeur Julien BOHE,**

Vous avez accepté d'apporter vos connaissances et expériences en réanimation pour évaluer mon travail. Le semestre passé dans votre service m'a enrichi professionnellement et a renforcé mon choix de pratiquer la réanimation. Soyez assuré de ma sincère gratitude.

**Au Docteur Brice GUERPILLON,**

Merci pour vos précieux conseils et votre aide au démarrage de ce travail. Soyez assuré de ma profonde admiration pour vos impressionnantes connaissances d'interniste, infectiologue, réanimateur et surtout pour votre passion de la médecine.

**A Monsieur Jean NAIGRE,**

Merci pour ton aide et ta grande implication dans cette étude.

### **A mon père,**

Merci d'avoir cru en moi pendant toutes ces années et de m'avoir accompagné sur ce long chemin vers ma soutenance de thèse. Sans ton soutien et ta confiance, je n'y serais pas arrivée. Même si tu ne m'as jamais vraiment poussée vers la médecine, ta passion et tes histoires ont grandement influencé mon choix. Tu seras toujours mon mentor.

Dla mojego taty,

Dziękuję Ci za Twoje wsparcie i że, we mnie wierzyłeś. Byłeś ze mną przez całą tę długą drogę, od przedszkola, aż po dzień dzisiejszy, dzień obrony mojego doktoratu. Bez Twojego wsparcia i zaufania nie byłoby mnie tu teraz. Nawet jeśli nigdy nie nakładniles mnie na studia medyczne, to Twoja pasja i różne opowieści miały duży wpływ na mój wybór zawodowy. Zawsze będziesz moim mentorem

### **A mon mari,**

Merci pour ton amour, ton soutien infaillible et ton support. Tu m'apportes sérénité et apaisement. La vie semble plus belle à tes côtés. Merci pour ta compréhension et ton recul parfois nécessaire sur ce métier passionnant. Merci pour tes conseils et ta relecture lors de la préparation de ce travail.

### **A ma belle-famille,**

Merci de m'avoir accueillie avec tant d'amour et de sincérité. J'ai de la chance de pouvoir faire partie de votre famille. Merci tout particulièrement à ma belle-mère, Christine, pour ses relectures et ses corrections. Je sais que cela t'a demandé beaucoup de travail et je t'en suis reconnaissante.

### **A mes amis des Antilles,**

Merci d'avoir partagé avec moi cette belle aventure qui est l'internat aux Antilles-Guyane. Beaucoup de chemin parcouru depuis notre rencontre lors des choix de stages à Bordeaux. Sans vous, cet internat n'aurait pas été le même. Vous êtes des personnes formidables et courageuses. Vous êtes beaux et vous avez "zéro défaut". A mes rossignols, les 8 000 kilomètres parcourus étaient un maigre effort à réaliser pour avoir la chance de tous vous rencontrer. Même si nous prendrons certainement des chemins différents après cet internat, je souhaite continuer à passer du temps avec vous lors des longues années à venir. Vous êtes à jamais dans mon cœur : IAG forever ! Aurore, Caro, Celia, Claire (ma Boccia et son rire légendaire, tu seras mon rayon de soleil des Caraïbes à Brest), Elie (merci pour tes conseils lors de la rédaction), Florian (réunis dès le commencement depuis Lille en passant par les Antilles jusqu'à Lyon), Hugo (je te vois encore en P2 devant le Zeppelin ! Presque 10 ans déjà !), Karine (ma chérie la plus antillaise de tous les antillais), JB (tu nous as quittés trop tôt mais je ne t'oublierai jamais), Marie, Marion, Mickaël, Nathalie (à bientôt en Guyane), Sophie, Stephen, Thomas (c'est grâce à toi que j'ai rencontré mon mari !), Quentin, Vincent.

A Thibaut, merci d'être toujours là pour moi et mon époux. Ton soutien, ton amitié et ta gentillesse sont un vrai don pour nous. C'est avec plaisir et fierté que nous pouvons dire que tu es un membre à part entière au sein de notre famille. Même si c'est pour ton plus grand bonheur, ton retour aux sources antillaises va laisser un vide dans notre vie. Merci pour tout ce temps consacré à la relecture, tes précieux conseils et la correction de ce travail.

### **A mes co-internes de Lyon,**

A Augustin et Nadir, mes co-internes en anesthésie à Lyon Sud, je suis ravie d'avoir fait votre connaissance. Vous êtes trop sympathiques avec moi, même si j'étais la co-interne « surprise » qui venait vous "piquer" vos blocs quand je suis arrivée dans le service

A Camille, Clément, Isabelle, Julie, Marion, Nicolas et ce semestre au top au B16. J'espère qu'on va tous se retrouver au Canada au mariage de Caro et Nico.

A Cyril, Guilhem, Julie, Julien, Laure, Marine, Sophie, Thomas, un semestre inoubliable dans le service G-réa, ne changez rien vous êtes PARFAITS !!

Alex, Anaïs, Aveligue, Enzo, Lucas, tout a commencé avec vous, un super semestre en réa à Lyon Sud.

### **A mes amis polonais,**

Nous nous connaissons depuis plus de la moitié de ma vie ! Sans vous je ne serais pas ce que je suis. En 15 ans, rien n'a changé, même si nous ne nous voyons pas aussi souvent que nous le souhaiterions. Même loin, je pense à vous tout le temps !

Dla moich przyjaciol ,

Zanmy sie juz pol zycia ! Bez Was nie bylambym kim jestem. Nic sie nie zmienilo przez te 15 lat , mimo, ze nie widzimy sie tak czesto jalbysmy chcieli . Newet jeli jestem daleko to caly czas o Was mysle.

Iga ( jestes z przyjacoimi , poniwaz jestes nie tylko siostra ale i najlepsza przyjaciolka )Kasia B i Olga Z , Kasia W , Olga W , Agata , Ekipa Gruzuz, ... i dlugo by tak wymieniac.

### **A ceux qui m'ont appris mon métier,**

#### Aux Antilles

L'équipe d'anesthésie à Pointe-à-Pitre : là où tout a commencé ! Merci au Docteur Bahsoun, Jean-Christophe, Maria, Alberto, Sébastien et Anne-Laure qui m'ont particulièrement appris durant ce semestre.

L'équipe de réanimation à Pointe-à-Pitre, et plus particulièrement le Professeur Guillaume Thiery, qui m'a appris ce que c'était un P/F et une PAVM.

Je remercie l'équipe d'anesthésie de Fort-de-France du bloc central et de la MFME. C'était un énorme plaisir de travailler avec vous.

#### A Lyon

Merci au Professeur Chassard pour m'avoir accepté comme interne dans son inter-région. Grâce à lui, j'ai pu rencontrer tous ces gens formidables qui m'ont acceptée, formée et aidée pendant ces quatre semestres.

A l'équipe de Réanimation Sud

J'adresse mes vifs remerciements au Professeur Piriou pour m'avoir accepté dans son service. Il a su effacer mes angoisses et mes craintes lors de mon premier stage en métropole à Lyon. Grâce à lui, j'ai reçu un accueil chaleureux et j'ai profité d'une bonne ambiance et d'une bonne formation.

A l'équipe de G-réanimation

Merci au Professeur Rimmelé de m'avoir accueillie dans son service. Vous m'avez appris la rigueur en traumatologie qui me sera des plus utiles, sans aucun doute, dans ma future pratique professionnelle.

A l'équipe d'anesthésie orthopédique de Lyon Sud

J'adresse un remerciement tout particulier au Professeur Piriou pour son soutien dans ces moments difficiles que j'ai traversés cette année. Merci à toute l'équipe du bloc orthopédique pour votre patience, votre rigueur et votre bonne humeur.

# **SOMMAIRE**

<b><u>Liste des abréviatio</u></b> .....	21
<b><u>Résumé</u></b> .....	22
<b><u>Introduction</u></b> .....	25
<b><u>Le contexte épidémiologique</u></b> .....	25
<b><u>Les outils diagnostiques des PAVM</u></b> .....	25
<b><u>Emergence des bactéries multi-résistantes</u></b> .....	26
<b><u>Rationnel de l'étude</u></b> .....	26
<b><u>Matériel et méthodes</u></b> .....	28
<b><u>Résultats</u></b> .....	31
<b><u>Population d'étude</u></b> .....	31
<b><u>Concordance des résultats</u></b> .....	33
<b><u>Pathogènes identifiés</u></b> .....	34
<b><u>Gènes de résistance</u></b> .....	35
<b><u>Impact écologique</u></b> .....	36
<b><u>L'intérêt de l'examen direct du score clinique (CPIS)</u></b> .....	37
<b><u>Discussion</u></b> .....	38
<b><u>Bibliographie</u></b> .....	42
<b><u>Annexes</u></b> .....	45
<b><u>Annexe I : Score CPIS, répartition des microorganismes responsables des pneumopathies en réanimation selon le rapport Réa Raisin 2015</u></b> .....	45
<b><u>Annexe II : Score CPIS</u></b> .....	46
<b><u>Annexe III : Critères d'interprétation des prélèvements respiratoires</u></b> .....	47
<b><u>Annexe IV</u></b>	
<b><u>Annexe V : Abstract accepté comme communication au 60ème congrès de la SFAR (septembre2018)</u></b> .....	48

## **Liste des abréviations**

AT : Aspiration trachéale

BGN : Bacille à Gram Négatif

BLSE : Bêta-Lactamase à Spectre Etendu

BMR : Bactérie Multi-Résistante aux antibiotiques

BPCO : Broncho-Pneumopathie Chronique Obstructive

C3G : Céphalosporine de 3<sup>e</sup> Génération

CGP : Cocci à Gram Positif

CHIP : Chimiothérapie intra péritonéale

CNIL : Commission nationale de l'informatique et des libertés

CPIS : Clinical Pulmonary Infection Score

CPP : Comité de protection des personnes

IC : Intervalle de confiance

IGS II : Index de Gravité Simplifié II

LBA : Lavage broncho alvéolaire

PAVM : Pneumopathie acquise sous ventilation mécanique

PCR : Polymerase Chain Reaction

PID : Pneumopathie interstitielle diffuse

PDP : Prélèvement distale protégé

RVN : Rapport Vraisemblance Négatif

RVP : Rapport Vraisemblance Positif

SIDA : Syndrome de l'immunodéficience acquise

SRLF : Société de Réanimation de Langue Française

SFAR : Société Française de l'Anesthésie-Réanimation

VEA : Ventilator Associated Events

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

VPN : Valeur Prédicative Négative

VPP : Valeur Prédicative Positive

## **Résumé**

**Introduction** : La pneumopathie acquise sous ventilation mécanique (PAVM) représente un problème majeur en réanimation. Il s'agit d'une pathologie fréquente, grave et de diagnostic complexe.

Les techniques de microbiologie standard sont lentes (entre 48 et 72 heures). Le traitement probabiliste à large spectre, souvent introduit dans l'attente des résultats, provoque une émergence de bactéries multi-résistantes.

La PCR multiplex Unyvero Pneumonia permet la détection rapide des 20 pathogènes fréquemment impliqués dans les infections respiratoires basses et cible 19 mécanismes de résistance. Le but de cette étude était d'analyser la performance diagnostique de la PCR multiplex et son intérêt dans la stratégie d'épargne d'antibiotique en réanimation.

**Matériel et méthode** : La population d'étude était constituée de patients hospitalisés en réanimation avec un diagnostic de PAVM évoqué. Tous les patients étaient inclus de manière prospective. Les prélèvements respiratoires étaient envoyés en microbiologie standard et analysés grâce au PCR multiplex Unyvero. Nous avons étudié la concordance des résultats entre les deux techniques. Pour chaque patient, nous avons analysé quel impact la connaissance des résultats de la PCR aurait pu avoir sur l'antibiothérapie débutée en probabiliste.

**Résultats** : Entre décembre 2016 et novembre 2017, 60 patients ont été inclus dans l'étude, majoritairement des hommes (63 %). L'âge médian était de 61 ans, la moyenne d'IGS II à l'admission de 56. Seulement 18 patients avaient un score CPIS > 6. Parmi les 60 patients, 41 avaient reçu les antibiotiques dès la réalisation du prélèvement microbiologique. Chez 23 patients (38 %), le diagnostic de la PAVM était retenu à la sortie de réanimation.

La concordance parfaite entre la PCR multiplex et la microbiologie standard dans notre étude est de 73%. Sept analyses de la PCR multiplex ont fait l'objet d'une erreur technique. La sensibilité et la spécificité du PCR multiplex sont toutes les deux de 86 % avec les intervalles de confiance à 95 % respectivement de (70-100 %) et (75-97 %). La valeur prédictive positive est de 78 % (61-95 %) et la valeur prédictive négative est de 91 % (82-100 %). Nous retrouvons les meilleures performances diagnostiques pour les BNG non fermentant avec la sensibilité de 87 % (64-110 %) et spécificité de 97 % (93-101%). La sensibilité la plus basse de 75 % (32-117 %) est retrouvée pour les Entérobactéries

groupe 3. La spécificité est supérieure à 90 % pour toutes les bactéries étudiées. Le coefficient d'agrément kappa varie entre 0,60 et 0,85. Dans 71 % des cas, la résistance aux antibiotiques était correctement détectée par la PCR multiplex. La connaissance des résultats de la PCR multiplex aurait influencé le choix de l'antibiothérapie dans 35 cas (58 %).

**Conclusion** : La PCR multiplex pourrait être une alternative efficace et rapide à la microbiologie standard. Cette technique semble être un outil intéressant dans le diagnostic plus précoce des PAVM et la politique d'épargne d'antibiotique en réanimation.

Néanmoins, le caractère monocentrique et le faible nombre de prélèvements sont des facteurs limitants pour l'extrapolation de nos résultats. Une étude d'un plus grand effectif doit être menée afin de les confirmer.

## Introduction

### **Le contexte épidémiologique :**

Une pneumopathie acquise sous ventilation mécanique (PAVM) est définie comme une pneumopathie survenant chez un malade ayant besoin d'une assistance respiratoire assurée par une machine dans les 48 heures précédant la survenue de l'infection <sup>1</sup>. Elle représente un problème majeur en réanimation car il s'agit d'une l'infection fréquente et grave. Son incidence en France excède 15 pour 1 000 jours de ventilation <sup>2,3</sup>. Elle est associée à un allongement de durée de l'hospitalisation et une augmentation de la morbi-mortalité <sup>4</sup>.

Selon le dernier rapport de surveillance des infections nosocomiales en réanimation adulte <sup>3</sup> les germes les plus fréquemment rencontrés sont :

- Entérobactéries, responsables des pneumopathies dans 39,8% des cas. Parmi ces Entérobactéries, deux sont le plus souvent rencontrées :
  - o *E. coli* (9,5% des pneumopathies),
  - o *Klebsiella pneumoniae* (7,2 % des pneumopathies) ;
- *Pseudomonas aeruginosa*, responsable des pneumopathies dans 15,1 % des cas ;
- Cocci à Gram positif, retrouvés dans uniquement 20,5 % des cas ; en grande majorité, il s'agit de *Staphylococcus aureus* (12,3 %) (cf. Annexe I). <sup>3</sup>

Cependant l'écologie est très variable selon le service et la période d'observation.

### **Les outils diagnostiques des PAVM :**

Le diagnostic de PAVM est difficile car les signes cliniques, biologiques et radiologiques ne sont pas spécifiques<sup>5</sup>. Dans l'espoir d'améliorer la rapidité et la performance diagnostiques, de nombreux outils cliniques ont été développés. Parmi ces outils, le Clinical Pulmonary Infection Score (Score CPIS) est le plus connu et le plus souvent utilisé. Ce score décrit en 1991 <sup>6</sup> prend en compte des critères cliniques et paracliniques (cf. Annexe II). Un CPIS > 6 serait associé à une forte probabilité de pneumopathie.

Depuis sa publication, certaines études ont remis en question ces performances diagnostiques <sup>7,8</sup>. En effet, des nombreux processus non-infectieux peuvent être responsables de fièvre et d'infiltrat pulmonaire ; de même, les signes systémiques d'infection, tels que la leucocytose, peuvent être engendrés par n'importe quelle condition induisant une synthèse de cytokines. L'identification des germes par la microbiologie standard (examen direct et la culture) reste l'outil le plus utilisé dans la pratique courante. Cependant cet examen comporte plusieurs inconvénients. Premièrement,

certaines bactéries fréquemment responsables d'infection respiratoire sont fragiles et exigeantes (comme *Haemophilus influenzae* ou *Streptococcus pneumoniae*<sup>9</sup>). Par conséquent, elles sont plus difficiles à mettre en évidence en culture. Deuxièmement, la qualité du prélèvement respiratoire est à prendre en compte. Il doit idéalement être réalisé avant l'antibiothérapie et en évitant la contamination lors du passage par les voies aériennes supérieures.

En dépit des progrès de diagnostic, le diagnostic est difficile et l'étiologie de la pneumonie est établie dans moins de la moitié des cas<sup>10</sup>.

### **Emergence des bactéries multi-résistantes :**

Le problème principal est le délai de 48 heures nécessaire à l'obtention du résultat de la culture microbienne. En attendant ce résultat, une antibiothérapie probabiliste est débutée et souvent injustifiée. L'utilisation d'une telle antibiothérapie n'est pas sans conséquence puisqu'elle va faciliter la colonisation et la surinfection par des germes multi résistants.

Selon le dernier rapport<sup>3</sup>, les souches de *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline continuent à diminuer pour atteindre 16,0 % en 2015 (1). Pour les *Enterococcus (faecalis et faecium)*, la résistance à l'ampicilline est de 26,6 % avec 0,6 % d'entérocoques intermédiaires ou résistants aux glycopeptides. Le problème principal pose l'émergence des bacilles à Gram négatif (BGN) multi résistants<sup>11</sup>. Parmi les souches d'entérobactéries, la résistance aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération (C3G) reste élevée, 31,0 % en 2015 avec 17,8 % de BLSE. Enfin, 1 % de souches d'entérobactéries sont observées intermédiaires ou résistantes à l'imipénème<sup>3</sup>. Près de 91 % des isolats résistants aux carbapénèmes étaient producteurs de carbapénemase<sup>11</sup>. Dans le cas de *Pseudomonas aeruginosa*, la résistance la plus souvent observée est celle aux fluoroquinolones (14,5%)<sup>12</sup>.

### **Rationnel de l'étude :**

Pour toutes ces raisons, la recherche d'un outil fiable et rapide pour réaliser un diagnostic de pneumopathie en réanimation reste un sujet d'actualité. La PCR multiplex (*Polymerase Chain Reaction*) pourrait faire gagner un temps précieux dans ce contexte. En effet, cette technique permet de rechercher directement la présence des gènes d'identification et donc de s'affranchir de la latence des cultures. De plus, elle détecte la présence des gènes de résistance aux antibiotiques le plus souvent rencontrés. Les résultats de la PCR multiplex sont disponibles en 5 heures versus minimum 48 heures pour la microbiologie standard. Ces résultats très rapides pourraient non seulement aider au diagnostic et au traitement adapté d'une PAVM, mais surtout éviter l'introduction d'une antibiothérapie probabiliste en cas d'absence de germes pathogènes.

Cette étude est conçue pour évaluer l'intérêt de la PCR multiplex Unyvero dans le diagnostic de PAVM et dans la stratégie d'épargne d'antibiotiques en réanimation.

## **Matériels et Méthodes**

Il s'agit d'une étude diagnostique, prospective et mono centrique. La période d'inclusion se déroule entre décembre 2016 et novembre 2017. La population de l'étude était constituée de patients hospitalisés en réanimation polyvalente, intubés ventilés depuis plus de 24 heures chez qui un diagnostic de pneumopathie acquise sous ventilation mécanique (PAVM) était évoqué. Chaque patient a pu être inclus à plusieurs reprises en cas d'événement respiratoire nouveau (avec un intervalle libre entre deux événements de minimum une semaine).

En cas de suspicion d'une PAVM par le clinicien, le patient a bénéficié d'un prélèvement pulmonaire microbiologique à visée diagnostique. La nature du prélèvement était laissée libre au choix du médecin prescripteur. Dans notre service de réanimation nous utilisons différents types de prélèvements respiratoires tels que les aspirations trachéales (AT), les prélèvements distaux protégés (PDP) ou les lavages broncho alvéolaires (LBA). Les aspirations trachéales ont été réalisées de manière propre par une infirmière ou par un kinésithérapeute du service. Les PDP et les LBA ont été réalisés de manière stérile par un interne ou un médecin sénior en charge du patient. Tous les prélèvements ont été envoyés en laboratoire de microbiologie et analysés par PCR multiplex.

Un examen bactériologique standard était défini par un examen direct sous microscope, mise en culture avec inoculation sur les milieux habituels tels que gélose chocolat, PolyViteX, MacConkey et une incubation à 36°C. En cas d'identification de germes pathogènes, une recherche de résistance bactérienne a été effectuée avec la réalisation d'un antibiogramme par automate VITEK II (Biomerieux®). A la demande du clinicien, il était possible de réaliser un test Clearview à la recherche d'un gène *MecA* pour le *Staphylococcus aureus*. Le biologiste n'était pas informé de l'inclusion dans l'étude afin de ne pas influencer les pratiques habituelles.

Le délai mesuré, à l'occasion de ces examens conventionnels, s'étalait de l'heure de réception du prélèvement par le laboratoire jusqu'au moment de la diffusion des résultats définitifs avec l'antibiogramme.

Selon le contexte clinique, le médecin prenant en charge le patient pouvait demander d'autres examens microbiologiques à visée diagnostique tels que l'antigénurie légionelle ou pneumocoque, une recherche des bactéries atypiques et une PCR virale incluant une recherche grippale lors du pic épidémique.

Parallèlement à ces examens conventionnels, une partie du prélèvement respiratoire (une quantité  $\geq$  2 ml) était allouée à la réalisation de la PCR multiplex Unyvero Pneumonia.

La machine utilisée dans l'étude était l'Unyvero P55 Pneumonia (CURETIS®). Il s'agit d'un test ADN basé sur l'exécution en parallèle de huit réactions de PCR multiplexes pour le dépistage simultané de multiples acides nucléiques associés à des agents pathogènes et les gènes de résistance aux antibiotiques. Les performances diagnostiques de cette machine sont limitées aux 20 agents pathogènes les plus souvent rencontrés dans les infections pulmonaires (Annexe II) et 17 gènes de résistance (Annexe III).

Tous les prélèvements ont été préparés stérilement par le kinésithérapeute du service. Les prélèvements réalisés dans la journée du lundi au vendredi ont été préparés immédiatement. Les prélèvements réalisés la nuit ou les week-ends ont été congelés et préparés à distance. Dans un premier temps, l'échantillon est lysé pendant 30 minutes. A la fin de cette première étape de lyse, l'échantillon est traité dans l'Analyzer. C'est l'étape la plus longue de l'examen, qui dure environ 4 heures. Nous avons estimé que la durée totale de l'analyse du prélèvement pulmonaire, jusqu'à l'obtention des résultats, était de 5 heures maximum. Les médecins prescripteurs, en charge des patients, étaient en aveugle des résultats de PCR multiplex.

Nous avons classé les pathogènes étudiés dans différents groupes. Le premier groupe était constitué par les Cocci Gram Positifs (CGP) avec *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus pneumoniae*. Pour classer les Bacilles Gram Négatif (BGN) nous nous sommes appuyés sur une classification habituelle des Entérobactéries basée sur un profil de résistance naturelle<sup>13</sup> (Annexe V). Nous avons ainsi distingué trois groupes d'Entérobactéries et un groupe de BGN non-fermentant :

- Entérobactéries groupe 1 : *E. coli* et *Proteus spp* ;
- Enterobacteries groupe 2 : *Klebsielle spp* ;
- Entérobactéries groupe 3 : *Enterobacter spp*, *Serratia spp.*, *Morganella morgani* et *Citrobacter spp* ;
- Entérobactéries non- fermentant : *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*.

Parmi les micro-organismes dépistés par la PCR multiplex Unyvero Pneumonia : *Haemophilus influenzae*, le *Pneumocystis jiroveci*, *Legionella pneumophila* et *Stenotrophomonas maltophilia* restaient non classés dans un groupe.

Nous avons décidé de classer le résultat de la PCR multiplex par rapport à la microbiologie standard de trois manières : parfaitement concordant, partiellement concordant et discordant.

Nous avons défini comme parfaitement concordants les prélèvements dont nous retrouvions le même pathogène sur le résultat microbiologique et sur le résultat PCR Multiplex ou en cas d'absence de germe retrouvé. Les prélèvements, dans lesquels nous avons trouvé des pathogènes en commun sur

la PCR et microbiologie, accompagnés des pathogènes détectés par une des deux techniques, ont été classés comme partiellement concordants. Les résultats discordants ne retrouvaient pas de germe en commun.

Pour chaque groupe, nous avons étudié les performances diagnostiques de PCR Unyvero avec la sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive et négative avec ses intervalles de confiance (IC) à 95% . Nous avons aussi calculé le rapport de vraisemblance positif et négatif, ainsi que le coefficient d'agrément kappa.

Nous avons étudié les dossiers médicaux des patients à la recherche de caractéristiques épidémiologiques telles que l'âge, le sexe, l'immunodépression, les antécédents respiratoires et la présence des facteurs de risque des bactéries multi résistantes (BMR). Nous avons considéré les patients comme immunodéprimés s'ils présentaient :

- une infection VIH au stade SIDA ;
- une hémopathie maligne ;
- des antécédents d'une chimiothérapie (à l'exclusion d'une chimiothérapie intra péritonéale : CHIP).

Nous avons calculé le score de CPIS et IGS II le jour du prélèvement respiratoire. Chez tous les patients, nous avons recherché la présence d'une antibiothérapie curative dans les 48 heures précédant le prélèvement respiratoire. Nous avons noté une éventuelle instauration d'une antibiothérapie probabiliste dès la réalisation du prélèvement respiratoire.

Le recueil des antibiotiques n'a pas pris en compte le traitement par le Sulfaméthoxazole et la Pénicilline à visée préventive ni le traitement par l'érythromycine à visée prokinétique. Nous avons étudié le taux d'antibiothérapie probabiliste adaptée aux germes retrouvés ainsi qu'aux antibiothérapies introduites à tort chez les malades qui présentaient une dégradation respiratoire d'origine non infectieuse.

Cette étude a obtenu l'avis favorable du CPP Sud Est IV et une déclaration à la CNIL a été effectuée. Les patients ou leurs proches ont été informés oralement de la réalisation de cette étude avant l'inclusion.

## **Résultats**

### **Population d'étude :**

Entre novembre 2016 et novembre 2017, nous avons analysé 60 prélèvements pulmonaires dont 29 aspirations trachéales, 16 LBA et 15 PDP. Nous avons inclus 56 patients dont 36 hommes et 20 femmes. Quatre patients (2 femmes et 2 hommes) ont été inclus deux fois lors de deux épisodes de suspicion de PAVM indépendants.

Les caractéristiques cliniques des patients sont présentées dans le tableau I. La médiane d'âge est de 60,7 ans. La moyenne de Score IGS II à l'admission est de 55,6. Vingt patients présentaient un antécédent respiratoire (dans 11 cas, il s'agissait de BPCO), et 12 patients étaient immunodéprimés. La moyenne de score CPIS le jour du prélèvement est de 5,3. Dix-huit patients présentaient le score CPIS > 6 au moment de l'inclusion. Dans 41 cas, les patients ont reçu l'antibiothérapie dans les 48 heures précédant le prélèvement respiratoire. Dans 7 cas, l'antibiothérapie était justifiée par la présence d'un autre foyer infectieux. Les antibiotiques les plus souvent utilisés étaient C3G (14 cas) suivi de Pipéracillin-Tazobactam (8 cas) et de macrolides notamment Spiramycine (7 cas). Chez 23 patients le diagnostic de PAVM est définitivement retenu sur le courrier de sortie.

Caractéristiques		
<b>Hommes</b>	38	63 %
<b>Femmes</b>	22	37 %
<b>Age</b>	60,7	[56,2 ; 65,2]
<b>IGS II</b>	55,6	[50,9 ; 60,3]
<b>Antécédents respiratoires :</b>	20	33 %
BPCO	11	18,3 %
Fibrose pulmonaire	0	0 %
Insuffisance respiratoire chronique	5	8,3 %
Asthme	3	5 %
Pneumopathie interstitielle	1	1,7 %
<b>Immunodéprimés</b>	12	20 %
Hémopathie	4	6,7 %
Traitement immunosuppresseur	7	11,7 %
SIDA	1	1,7 %
<b>Facteurs de risque des BMR</b>	27	45 %
<b>Choc septique</b>	2	3,3 %
<b>CIPIS</b>	5,3	[4,8 ; 5,9]
<b>CIPIS &gt; 6</b>	18	30 %
<b>Type de prélèvement</b>		
AT	29	48,3 %
PDP	15	25 %
LBA	16	26,7 %
<b>Prélèvements purulente</b>	36	60 %
<b>PAVM retenue</b>	23	38,3 %
<b>Durée de ventilation (en jours) le jour du prélèvement</b>	3	[2 ; 9]
<b>Durée d'antibiothérapie en jours</b>	5	[2 ; 7]
<b>Durée pour obtenir les résultats microbiologiques</b>	48	[46 - 66]
<b>Durée de ventilation mécanique</b>	8,5	[4 ; 18,5]
<b>Durée d'hospitalisation</b>	13,5	[6,3 ; 24,8]
<b>Mortalité</b>	20	33,3%

**Tableau I : caractéristiques des patients**

Les données quantitatives sont exprimées en nombres absolus et pourcentage. Les données qualitatives sont exprimées soit en moyennes et écart-type soit médianes et interquartiles.

## Concordance des résultats :

Parmi les 60 prélèvements analysés, 7 ont présenté une erreur lors de l'analyse PCR multiplex, dont une liée à une erreur de manipulation. Dans 6 cas, il s'agit d'une erreur mineure sur une chambre de la cassette ne gênant pas l'interprétation du résultat. Les résultats de la microbiologie standard retrouvent des pathogènes sur 23 prélèvements (36,2 %) dont 18 (85,7 %) sont identifiés comme positifs sur la PCR.

Sur les 60 prélèvements, nous retrouvons une concordance parfaite des résultats (résultats positifs ou négatifs) dans 46 cas (76,7 %).

Les résultats sont partiellement concordants dans 6 cas (10 %). Parmi ces résultats, dans 3 cas, la PCR n'a pas identifié correctement les pathogènes présents sur la microbiologie (*Pseudomonas aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pneumocystis jirovecii*). Dans les 3 autres cas, la PCR a détecté des germes non présents sur la microbiologie (*Klebsiella oxytoca*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Escherichia coli* et *Serratia marcescens* [les deux germes présents sur le même prélèvement]).

Sur les 8 cas discordants, un cas avait un résultat non interprétable (erreur de manipulation), un cas comportait une erreur d'identification (un *Staphylococcus aureus* identifié comme un *Haemophilus influenzae*). Sur les 6 autres cas, des germes sont retrouvés uniquement sur la PCR (trois fois *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*) (cf. Figure I). Sur les 37 prélèvements négatifs, 33 (89 %) sont correctement identifiés par la PCR multiplex.

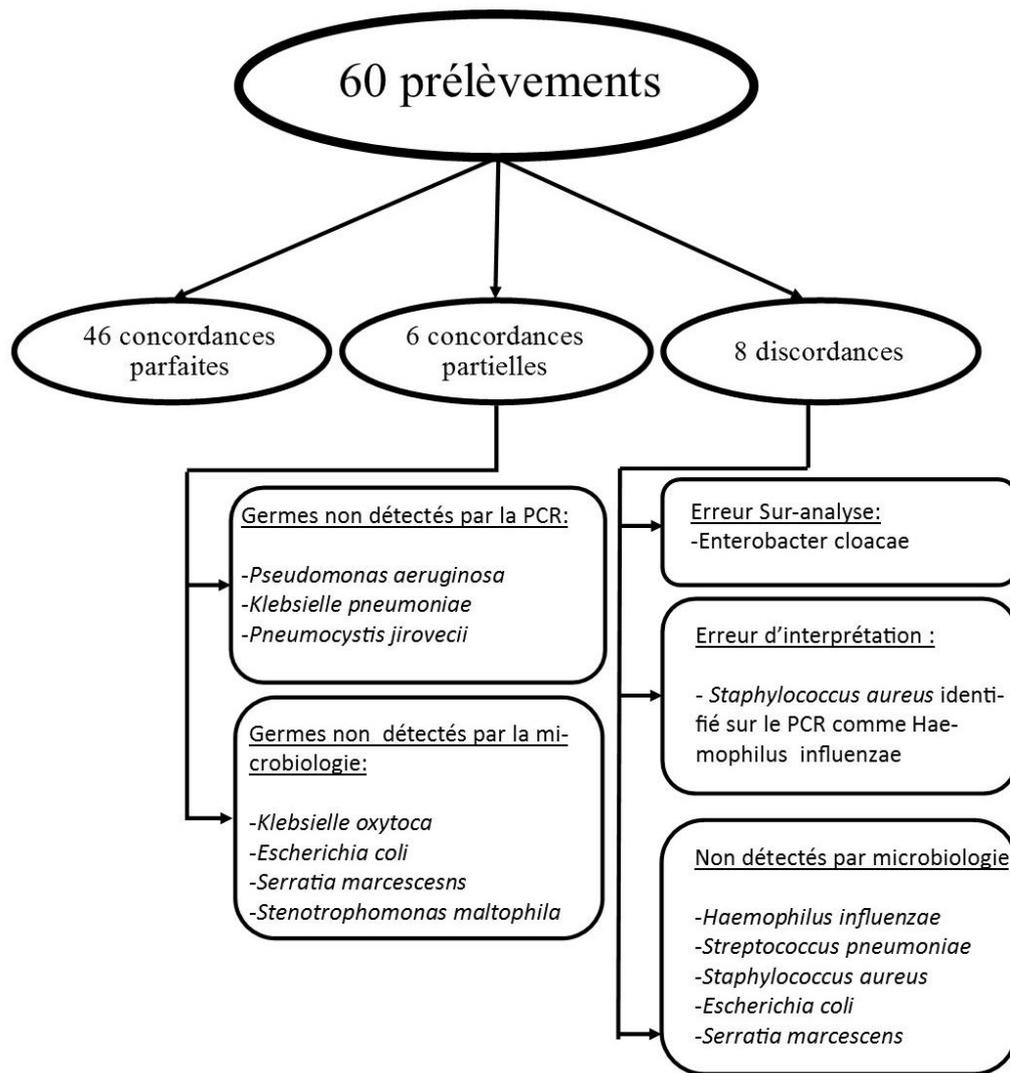


Figure 1 : Diagramme de concordance entre la microbiologie et la PCR multiplex

### Pathogènes identifiés :

Plusieurs espèces bactériennes du panel de la PCR Multiplex Unyvero n'ont pas été mises en évidence durant l'étude comme *Chlamydia* et *Mycoplasme pneumoniae*, *Pneumocystis jirovecii*,

*Streptococcus pneumoniae*, et *Legionella pneumophila*. D'autres germes sont présents dans un nombre très faible. Pour pouvoir faire des analyses statistiques, nous avons regroupé les germes en 4 groupes (*Staphylococcus aureus* ; Entérobactéries groupe 1 et 2 ; Entérobactéries groupe 2 et Bacilles Gram Négatif Non Fermentant. Pour chaque groupe nous avons calculé les performances diagnostiques de la PCR Multiplex (cf. tableau II).

	Sensibilité IC 95%	Spécificité IC 95	RVP	RVN	VPP	VPN	Kappa
<b>CGP</b>							
S.A	80 % (45-115 %)	98 % (94-100 %)	43	0,2	80 % (45-115 %)	98 % (94-100 %)	0,85
<b>BGN</b>							
Enterobactéries 1 & 2	86 % (60-111 %)	94 % (88-100 %)	14	0,15	66 % (35-97 %)	97% (94-100 %)	0,60
Enterobactéries 3	75 % (32-117 %)	96 % (90-100 %)	20	0,26	60 % (17-103%)	98 % (94-101 %)	0,63
Non fermentants	87 % (64-110 %)	97% (93-101 %)	42	0,12	87 % (64-110 %)	97 % (93-101 %)	0,85
<b>Globale</b>	86 % (70-100 %)	86 % (75-97 %)	6	0,16	78 % (61-95 %)	91 (82-100 %)	0,74

Tableau II : Performances diagnostiques de la PCR multiplex par rapport à la microbiologie standard.

Dans notre étude, les germes les plus souvent retrouvés étaient des BGN non fermentant et CGP (13,3 % chaque). Parmi les BGN non fermentant, dans 7 cas, il s'agissait du *Pseudomonas aeruginosa*.

Parmi les CGP, nous retrouvons un *Staphylococcus aureus* dans 5 cas (62,5 %), un *Streptococcus pneumoniae* et deux *Enterococcus*. Les *Enterococcus* n'ont pas pu être pris en compte dans l'analyse car ils ne sont pas détectés par PCR multiplex Unyvero Pneumonia.

Les Entérobactéries groupe 1 et 2 représentaient 11,7 % des prélèvements. Dans ce groupe, les germes les plus souvent retrouvés sont : *Escherichia coli*, suivi de *Klebsielle* et *Citrobacter*. Les entérobactéries groupe 3 (avec *Enterobacter* et *Serratia*) sont retrouvés dans 5 % des prélèvements.

Dans 2 cas, nous avons retrouvé des virus respiratoires (un *Haemophilus influenzae* et un *Picornavirus*).

Sur le plan mycologique, nous avons noté un cas de Pneumocystose non détecté par la PCR Multiplex.

### Gènes de résistance :

Le gène le plus souvent identifié était erm B (13 cas) suivi de tem (7 cas). Dans 11 cas, la PCR a retrouvé un gène de résistance sans pathogène identifié. Dans 8 cas, il s'agissait du gène erm B, et dans 3 cas

du gène *mec A*. Nous avons étudié tout particulièrement la concordance des résistances dans les pneumopathies retenues. Parmi les Cocci à Gram Positif, nous avons retrouvé deux fois le *Staphylococcus* sensible à la Méricilline ; dans les deux cas, l'absence du gène *Mec A* est correctement identifiée sur la PCR. Sur 9 entérobactéries, la PCR a détecté correctement le profil de résistance dans 7 cas (78 %). Dans 2 cas, il s'agissait des bactéries sauvages, sans gène de résistance détecté à la PCR. Dans 4 cas, nous avons retrouvé des entérobactéries classe 1 résistantes à la Pénicilline avec un gène de résistance *tem* correctement identifié. Dans un cas, l'examen microbiologique retrouve un *E.coli* avec BLSE et une résistance aux Quinolones avec les gènes *tem*, *ctx* et *gyr A83* correctement identifiés. Dans 2 cas, la PCR n'a pas correctement identifié les résistances des Entérobactéries. Dans un cas, il s'agissait d'une *Klebsiella* résistante aux Céphalosporines sans gène de résistance retrouvée. Dans l'autre cas l'examen microbiologique retrouve une *Serratia* BLSE, alors que la PCR multiplex ne retrouve pas de gène de résistance. Concernant les BGN non fermentant, nous retrouvons 6 fois le *Pseudomonas aeruginosa* et 4 fois (67 %), le profil de résistance est correctement identifié. Dans un cas il s'agit d'un *Pseudomonas* sauvage sans gène de résistance retrouvé. Dans 3 cas, la PCR multiplex a détecté la présence du gène de résistance *gyrA83* et/ou *gyr87* et l'antibiogramme a retrouvé une résistance ou sensibilité diminuée aux Quinolones. Dans 2 cas, nous avons noté une discordance entre la PCR et la microbiologie. Dans un cas, la PCR détecte un gène de résistance *gyr* alors que l'antibiogramme ne retrouve pas de résistance aux Quinolones. Dans l'autre cas, le *Pseudomonas* est résistant aux Pénicillines et Céphalosporines alors que PCR ne détecte pas de gène de résistance.

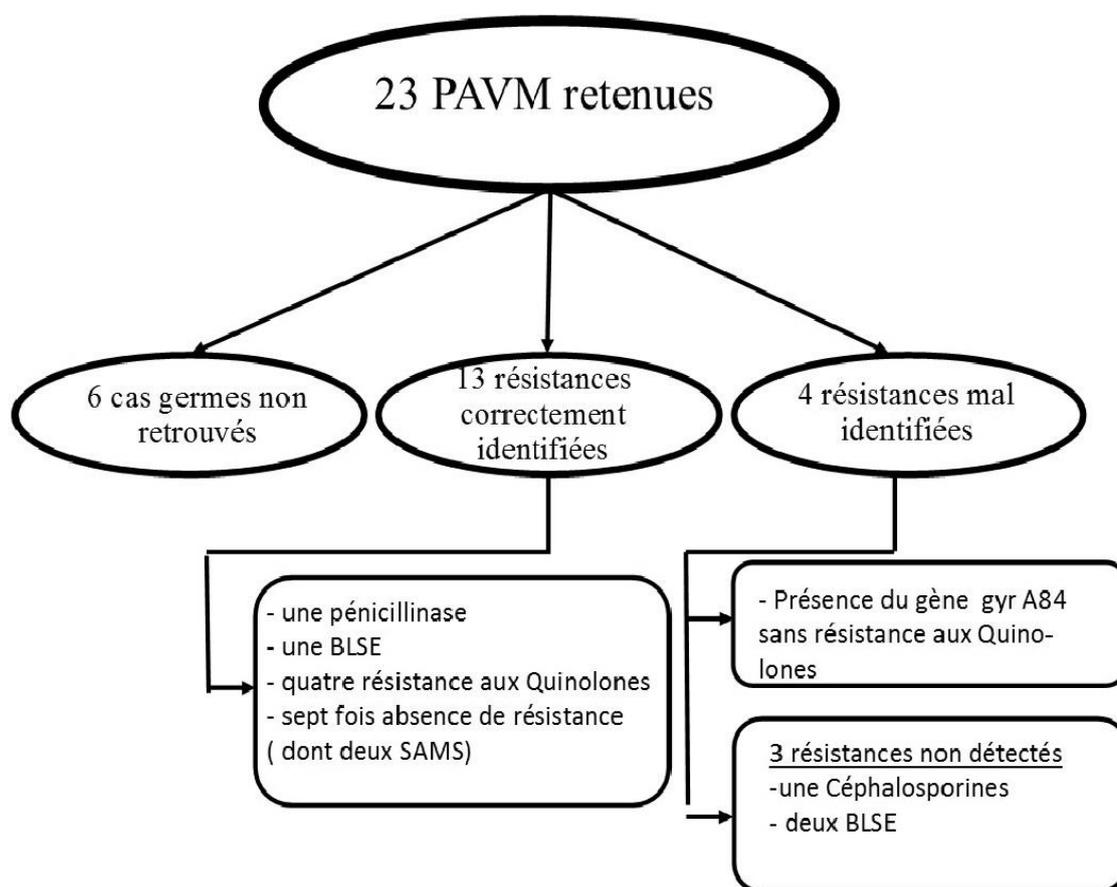


Figure II : Diagramme de concordance des résistances dans les PAVM retenus

## Impact écologique

Le délai médian d'obtention des résultats microbiologiques avec l'antibiogramme est de 48 heures, contre 5 heures avec la PCR multiplex. En attendant les résultats microbiologiques, 41 patients ont reçu l'antibiothérapie empirique. L'antibiotique le plus souvent utilisé était C3G (15 cas), suivi du C4G (7 cas) et des aminosides (6 cas). Les 38 prélèvements respiratoires reviennent négatifs sur l'examen microbiologique et 32 sont négatifs sur la PCR et sur la microbiologie standard. Nous pouvons donc considérer que sur 60 cas de suspicion de PAVM, pour 32 cas, il s'agit d'une autre cause de dégradation respiratoire ne nécessitant pas une antibiothérapie. Parmi ces 32 patients, 19 ont reçu une antibiothérapie probabiliste.

La connaissance des résultats de la PCR Multiplex aurait influencé le choix de l'antibiothérapie dans 35 cas (58 %). Dans 10 cas, nous aurions pu introduire l'antibiothérapie adaptée plus tôt. Dans 27 cas, nous aurions pu anticiper une désescalade ou arrêt de l'antibiothérapie probabiliste. Au total, une épargne des C3G était possible sept fois, cinq pour C4G et quatre fois respectivement pour la Pipéracilline-tazobactam et les Pénèmes, 3 fois pour les Fluoroquinolones, 1 fois par Amoxicilline-Acide Clavulanique et une fois par C2G.

### **L'intérêt de l'examen direct du score clinique CPIS :**

Nous avons étudié la performance diagnostique de l'examen direct et des critères cliniques. Dans notre étude, la présence d'un ou plusieurs germes à l'examen direct prédit une pneumopathie avec une sensibilité de 60 % (40-80 %) et Spécificité de 78% (64-91 %).

Sur 23 cas de PAVM retenus, seulement 10 cas avaient un CPIS > 6. Nous retrouvons la sensibilité de ce test à 43 % (22-63 %) et la spécificité 78 % (65-91 %). De même, la présence de sécrétions purulentes ne semble pas prédictive d'une pneumopathie, avec une sensibilité 69 % (50-88 %) et une spécificité de 45 % (29-62 %).

## **Discussion**

Dans cette étude prospective, nous avons étudié les performances diagnostiques de la PCR multiplex Unyvero Pneumonia. Il s'agit d'un outil rapide de détection des pathogènes dans les prélèvements respiratoires, par rapport à l'examen microbiologique standard. Nous savons aujourd'hui que la mortalité de PAVM est directement corrélée avec le retard de l'antibiothérapie efficace<sup>14</sup>. Nous savons aussi que l'usage abusif des antibiotiques est le principal facteur épidémiologique responsable de l'émergence des résistances<sup>15</sup>. Pour ces raisons, il existe un réel besoin d'améliorer nos outils diagnostiques de pneumopathie, notamment chez les patients fragiles en réanimation.

Dans notre travail, nous retrouvons une faible corrélation avec score CPIS > 6 et le diagnostic de pneumopathie (la sensibilité de 43 % et la spécificité de 73 %). Ces résultats confirment que le score CPIS a une faible utilité pour le diagnostic de pneumopathie en réanimation. Par conséquent, il n'est plus recommandé par les sociétés savantes<sup>16</sup>.

Il est néanmoins important de noter que nos résultats sont en-dessous des performances diagnostiques retrouvées dans la littérature, la sensibilité et la spécificité variant de 60 à 80 %<sup>6-8</sup>. Sur les 60 cas de suspicion de PAVM objets de notre étude, seuls 18 patients avaient un score de CPIS  $\geq$  6. Cela peut être en partie expliqué par la présence du traitement antipyrétique par Paracétamol chez tous les patients. Un autre paramètre à prendre en compte est la prévalence relativement élevée des patients immunodéprimés (20 %).

Dans cette étude, nous retrouvons 36 % de prélèvements positifs, ce qui est en accord avec les résultats d'autres articles publiés récemment<sup>17</sup>. Nous retrouvons dans 7 prélèvements (11 %) des erreurs dans certaines chambres, dont un cas empêchant l'interprétation du résultat. Nous avons noté moins d'erreurs que dans d'autres études sur la PCR Multiplex<sup>17,18</sup>. Cette différence peut être expliquée par l'utilisation des différentes versions des cassettes.

Les germes les plus souvent retrouvés dans notre étude sont des BGN et notamment les BGN non fermentant (principalement le *Pseudomonas aeruginosa*) et les Entérobactéries. Ce résultat est concordant avec les autres données de la littérature<sup>19,20</sup> et l'écologie locale du service.

La sensibilité et spécificité globale de la PCR sont toutes les deux de 86 %. Nous retrouvons les meilleures performances diagnostiques pour BNG non fermentant avec la sensibilité de 87 %

(64-110 %) et spécificité de 97 % (93-101%). La sensibilité la plus basse de 75 % (32-117 %) est retrouvée pour les Entérobactéries groupe 3. Ces résultats sont proches de ceux obtenus récemment par Papan<sup>17</sup>.

Sur 60 prélèvements, une concordance parfaite des résultats est observée dans 76 % des cas.

Les résultats entre PCR et la microbiologie sont partiellement concordants dans 6 cas (10 %). Dans les 3 autres cas, la PCR a détecté des germes non présents sur la microbiologie (une fois *Klebsielle oxytoca*, un prélèvement avec deux germes *E.coli* et *Serratia marcescens* et un prélèvement avec *Stenotrophomonas maltophilia*). Parmi ces 3 cas, la PCR a détecté dans 1 cas une *Klebsielle oxytoca* qui n'était pas détectée par la microbiologie standard, probablement en raison d'antibiothérapie par Augmentin au moment du prélèvement.

Sur les 8 cas discordants, dans un cas, les résultats ne sont pas interprétables en raison d'une erreur. Dans 6 cas, des germes sont retrouvés uniquement sur la PCR (trois fois *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*). Parmi ces 6 cas, 5 patients ont reçu une antibiothérapie efficace sur les germes retrouvés sur la PCR avant le prélèvement. Tous ces cas de discordance sont probablement liés à la plus grande sensibilité de la PCR multiplex par rapport à la microbiologie standard qui devient rapidement négative en cas d'antibiothérapie préalable.

Le gène de résistance le plus souvent retrouvé est l' *erm B* et *Mec A*. Dans les nombreux cas, ils sont présents sans identification du pathogène. Ce phénomène peut être expliqué par la présence d'une flore commensale comme Staphylocoque à coagulase négative, comportant des gènes de résistance mais n'étant pas cible par la PCR multiplex.

Sur 60 prélèvements analysés, l'antibiothérapie aurait été modifiée plus précocement dans 35 cas en connaissance des résultats de la PCR multiplex. Dans 7 cas, nous aurions introduit l'antibiothérapie plus précocement au vu des résultats de la PCR positif. Dans 3 cas, nous aurions modifié l'antibiothérapie plus précocement, car l'antibiothérapie probabiliste n'était pas efficace contre le *Pseudomonas* retrouvé dans les prélèvements.

*Pseudomonas aeruginosa*, est le pathogène le plus souvent retrouvé. Cependant, dans la plupart des cas, il s'agit de PAVM précoces (médiane de durée de ventilation est de 3 jours). Ce résultat renforce l'idée que la classification des patients atteints de PAVM en fonction de durée de l'intubation pourrait potentiellement entraîner un sous-traitement. Le choix d'antibiothérapie doit donc être basé sur les risques individuels et une prévalence locale des pathogènes<sup>5</sup>

Nous nous sommes intéressés au possible bénéfice de la PCR multiplex dans la stratégie d'épargne des antibiotiques. C'est un sujet particulièrement préoccupant en réanimation en raison d'émergence des bactéries résistantes aux antibiotiques. Tous les antibiotiques exercent une pression de sélection et doivent faire l'objet d'une utilisation raisonnée. Cependant, il est admis que certains antibiotiques à

spectre large puissent être plus particulièrement générateurs de résistances bactériennes en tenant compte de leur impact sur les flores commensales. Pour 19 patients, nous aurions pu éviter l'exposition aux antibiotiques (prélèvements définitivement stériles). Dans 6 cas, nous aurions pu faire une désescalade de l'antibiothérapie plus précocement (43 heures en moyenne) . Au total, une épargne de presque 2 jours d'antibiothérapie à large spectre était possible dans 21 cas (7 fois pour les C3G, 5 fois pour C4G et 4 fois respectivement pour la Pipéracilline-Tazobactam et les Pénèmes, 3 fois pour les Fluoroquinolones une fois par Amoxicilline-Acide Clavulanique). Tous ces antibiotiques (sauf Piperacilline-Tazobactam) figurent sur la liste des antibiotique particulièrement générateur de résistances bactériennes <sup>21</sup>.

A notre connaissance il s'agit d'une première étude sur la PCR multiplex, menée en réanimation avec un automate de biologie délocalisé. Nous nous sommes intéressés plus précisément aux pneumopathies acquises sous ventilation mécanique, contrairement aux études antérieures analysant les pneumopathies liées aux soins au sens large. Dans notre étude, nous avons recueilli les informations cliniques telles que le score CPIS le jour du prélèvement et l'exposition antérieure aux antibiotiques, ce qui n'était pas le cas dans d'autres études <sup>17,18,22</sup>.

Sur 60 prélèvements, la PAVM est retenue sur le courrier d'hospitalisation dans 23 cas seulement. Dans 47 cas, il s'agissait donc d'une autre cause de dégradation respiratoire. Pour définir une dégradation respiratoire chez les patients intubés et ventilés sans infection pulmonaire, le nouveau diagnostic était décrit par les événements associés à la ventilation (Ventilator Associated Events [VAE]<sup>23</sup>). Ceux-ci correspondent à la détérioration de l'état respiratoire du patient après une période de stabilité ou d'amélioration de deux jours, objectivée par la nécessité d'augmenter la pression expiratoire positive (PEEP) ou la FiO<sub>2</sub> de façon prolongée (plus de 48h). En l'absence de syndrome inflammatoire, les VAE ne nécessitaient pas d'antibiothérapie en première intention.

L'aspect monocentrique de cette étude est un facteur limitant. Le service de réanimation polyvalente du Centre Hospitalier Universitaire dans lequel elle a été conduite applique déjà largement la stratégie d'épargne d'antibiotique. Il est intéressant de noter que 19 patients ne présentant pas de signe de gravité n'ont pas reçu d'antibiothérapie empirique dès les prélèvements. A cause de cette politique restrictive d'antibiothérapie, nous sous-estimons probablement le bénéfice potentiel de la PCR multiplex.

L'absence de critères d'inclusion clairement définis peut également être reprochée. Nous avons laissé le choix libre aux praticiens d'inclure les patients suspectés de PAVM. Malheureusement, nous ne savons pas sur quels critères le diagnostic de PAVM était alors évoqué. Cela conduit à une grande hétérogénéité au sein de la population objet de l'étude. Cependant, nous retrouvons une proportion

des prélèvements microbiologiques positifs (36 %) similaire voire plus élevée que d'autres études sur les PAVM<sup>24,25</sup>.

Par ailleurs, le faible nombre de patients, sur lequel l'étude a pu porter, est une autre limite pour l'extrapolation de nos résultats. Notre étude comporte en effet un faible nombre de prélèvements analysés, dont seulement 23 sont positifs. Une autre étude de plus grand effectif est nécessaire pour confirmer nos résultats.

## **Bibliographie :**

1. CTINILS – Définition des infections associées aux soins [Internet]. [cited 2018 Sep 8];Available from: [https://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/rapport\\_vcourte.pdf](https://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/rapport_vcourte.pdf)
2. Koulenti D, Tsigou E, Rello J. Nosocomial pneumonia in 27 ICUs in Europe: perspectives from the EU-VAP/CAP study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2017;36(11):1999–2006.
3. REA Raisin. Surveillance des infections nosocomiales en réanimation adulte / 2018 / Maladies infectieuses / Rapports et synthèses / Publications et outils / Accueil [Internet]. 2017 [cited 2018 Aug 26];Available from: <http://invs.santepubliquefrance.fr/fr,/Publications-et-outils/Rapports-et-syntheses/Maladies-infectieuses/2018/Surveillance-des-infections-nosocomiales-en-reanimation-adulte>
4. Heyland DK, Cook DJ, Griffith L, Keenan SP, Brun-Buisson C. The Attributable Morbidity and Mortality of Ventilator-Associated Pneumonia in the Critically Ill Patient. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159(4):1249–56.
5. Nair GB, Niederman MS. Ventilator-associated pneumonia: present understanding and ongoing debates. *Intensive Care Med* 2015;41(1):34–48.
6. Pugin J, Auckenthaler R, Mili N, Janssens JP, Lew PD, Suter PM. Diagnosis of ventilator-associated pneumonia by bacteriologic analysis of bronchoscopic and nonbronchoscopic “blind” bronchoalveolar lavage fluid. *Am Rev Respir Dis* 1991;143(5 Pt 1):1121–9.
7. Fartoukh M, Maître B, Honoré S, Cerf C, Zahar J-R, Brun-Buisson C. Diagnosing Pneumonia during Mechanical Ventilation. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;168(2):173–9.
8. Schurink CAM, Nieuwenhoven CAV, Jacobs JA, et al. Clinical pulmonary infection score for ventilator-associated pneumonia: accuracy and inter-observer variability. *Intensive Care Med* 2004;30(2):217–24.
9. Problèmes rencontrés lors du diagnostic microbiologique [Internet]. [microbiologiemedicale.fr](http://microbiologiemedicale.fr). [cited 2018 Sep 8];Available from: <https://microbiologiemedicale.fr/physiopathologie-et-diagnostic-des-infections/plan-bronchopulmonaire/problemes-rencontres-lors-du-diagnostic-microbiologique/>
10. Musher DM, Roig IL, Cazares G, Stager CE, Logan N, Safar H. Can an etiologic agent be identified in adults who are hospitalized for community-acquired pneumonia: results of a one-year study. *J Infect* 2013;67(1):11–8.
11. Hogberg LD. AMR Reporting Protocol 2017. :43.

12. 2017\_EARS\_NationalReport\_Belgium.pdf [Internet]. [cited 2018 Sep 1]; Available from: [http://www.nsih.be/download/2017\\_EARS\\_NationalReport\\_Belgium.pdf](http://www.nsih.be/download/2017_EARS_NationalReport_Belgium.pdf)
13. ATB\_Phenotype\_resistance\_enterobacteries\_B\_lactamines\_1\_.pdf [Internet]. [cited 2018 Sep 10]; Available from: [http://cismed-inov.org/IMG/pdf/ATB\\_Phenotype\\_resistance\\_enterobacteries\\_B\\_lactamines\\_1\\_.pdf](http://cismed-inov.org/IMG/pdf/ATB_Phenotype_resistance_enterobacteries_B_lactamines_1_.pdf)
14. Luna et al. et al. Impact of BAL Data on the Therapy and Outcome of Ventilator-Associated Pneumonia - CHEST [Internet]. 1997 [cited 2018 Aug 25]; Available from: [https://journal.chestnet.org/article/S0012-3692\(15\)46823-0/fulltext](https://journal.chestnet.org/article/S0012-3692(15)46823-0/fulltext)
15. Carle S. La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important ! Pharmactuel [Internet] 2009 [cited 2018 Aug 30];42(0). Available from: <http://www.pharmactuel.com/pharmactuel/index.php/pharmactuel/article/view/977>
16. V3-Recommandations-formalisees-d-experts-Validation-CRCSFAR-CRESRLF.pdf [Internet]. [cited 2018 May 20]; Available from: <http://sfar.org/wp-content/uploads/2014/04/V3-Recommandations-formalisees-d-experts-Validation-CRCSFAR-CRESRLF.pdf>
17. Papan C, Meyer-Buehn M, Laniado G, Nicolai T, Griese M, Huebner J. Assessment of the multiplex PCR-based assay Unyvero pneumonia application for detection of bacterial pathogens and antibiotic resistance genes in children and neonates. *Infection* 2018;46(2):189–96.
18. Kunze N, Moerer O, Steinmetz N, Schulze MH, Quintel M, Perl T. Point-of-care multiplex PCR promises short turnaround times for microbial testing in hospital-acquired pneumonia – an observational pilot study in critical ill patients. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* 2015;14(1):33.
19. REA Raisin. Rapport Réa-Raisin [Internet]. 2017 [cited 2018 May 20]; Available from: <http://invs.santepubliquefrance.fr/Publications-et-outils/Rapports-et-syntheses/Maladies-infectieuses/2017/Surveillance-des-infections-nosocomiales-en-reanimation-adulte>
20. Pulido MR, Moreno-Martínez P, González-Galán V, et al. Application of BioFire FilmArray Blood Culture Identification panel for rapid identification of the causative agents of ventilator-associated pneumonia. *Clinical Microbiology and Infection* [Internet] 2018 [cited 2018 Aug 25];0(0). Available from: [https://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198-743X\(18\)30460-9/fulltext](https://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198-743X(18)30460-9/fulltext)
21. Les antibiotiques considérés comme “critiques” : premières réflexions sur leur caractérisation - Point d’information - ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé [Internet]. [cited 2018 Sep 1]; Available from: <https://www.anism.sante.fr/S-informer/Points-d-information-Points-d-information/Les-antibiotiques-consideres-comme-critiques-premieres-reflexions-sur-leur-caracterisation-Point-d-information>

22. Pickens C, Qi C, Donnelly H, Breganio M, Wunderink R g. Rapid Diagnostic Testing of Bronchoalveolar Lavage to Detect Non-Fermenting Gram-Negative Bacteria and Antibiotic Resistance Genes [Internet]. In: C61. PULMONARY INFECTIONS: CLINICAL INVESTIGATIONS. American Thoracic Society; 2018
23. Gross C. Ventilator-Associated Events. :125.
24. Morris AC, Gadsby N, McKenna JP, et al. 16S pan-bacterial PCR can accurately identify patients with ventilator-associated pneumonia. *Thorax* 2016;thoraxjnl-2016-209065.
25. Chastre J, Fagon J-Y. Ventilator-associated Pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165(7):867–903.
26. Gibot S, Bollaert P. Diagnostic non bactériologique des pneumopathies acquises sous ventilation mécanique. *Réanimation* 2005;14(4):238–44.

## Annexes

### Annexe I : Répartition des micro-organismes responsables des pneumopathies en réanimation selon le rapport Réa Raisin 2015

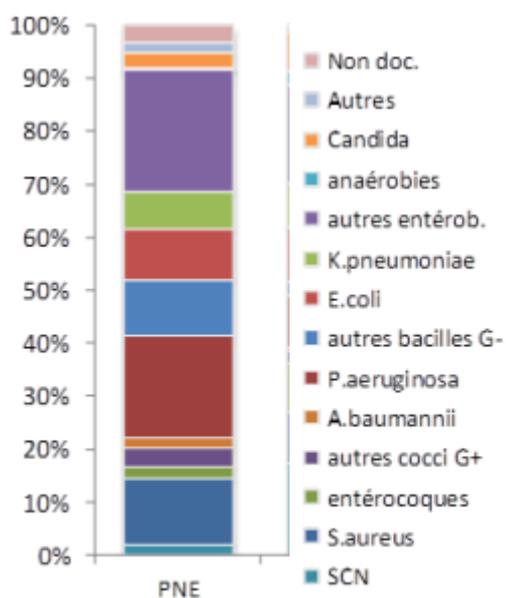


Figure 1. Répartition des micro-organismes responsables des pneumopathies en réanimation ; Selon le rapport Réa Raisin 2015 (1)

## Annexe I : Score CPIS

	0 point	1 point	2 points
Température en °C	$\geq 36,5$ ou $\leq 38,4$	38,5 – 38,9	$\geq 39$ ou $\leq 36$
Globules blancs en mm <sup>3</sup>	$\geq 4,000$ ou $\leq 11,0000$	$< 4,000$ ou $> 11,000$	$< 4,000$ ou $> 11,000$ et > 50 % forme immature
Sécrétions respiratoires	Absence	Non purulente	Purulentes
Oxygénation PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub>	$> 250$		$\leq 250$
Radiographie thoracique	Absence d'opacité	Opacités diffuses	Opacité localisée
Culture semi-quantitative	Bactéries pathogène $\leq$ 1	Bactéries pathogènes $> 1$	Si même bactéries sur Gram

[https://www.srlf.org/wp-content/uploads/2015/11/0506-Reanimation-Vol14-N4-p238\\_244.pdf](https://www.srlf.org/wp-content/uploads/2015/11/0506-Reanimation-Vol14-N4-p238_244.pdf)<sup>26</sup>

## Annexe II : Agents pathogènes détectés par la PCR multiplex Unyvero Pneumonie

Tableau 3 Micro-organismes du panel de l'Unyvero Pneumonia

Groupe	Agent pathogène
Bactéries Gram-positives	<i>Staphylococcus aureus</i>
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Enterobacteriaceae	<i>Citrobacter freundii</i>
	<i>Escherichia coli</i>
	<i>Enterobacter cloacae complex</i> <sup>6</sup>
	<i>Enterobacter aerogenes</i>
	<i>Proteus spp.</i> <sup>7</sup>
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <sup>8</sup>
	<i>Klebsiella oxytoca</i>
	<i>Klebsiella variicola</i> <sup>9</sup>
	<i>Serratia marcescens</i>
	<i>Morganella morganii</i>
	<i>Moraxella catarrhalis</i>
Non-fermenting bacteria	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	<i>Acinetobacter baumannii complex</i> <sup>10</sup>
	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
	<i>Legionella pneumophila</i>
	<i>Pneumocystis jirovecii</i>
Autres / Fungi	<i>Haemophilus influenzae</i>
	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>

<sup>6</sup> y compris *E. cloacae*, *E. amnigenus*, *E. asburiae*, *E. hormaechei*

<sup>7</sup> y compris *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *P. penneri*, *P. hauseri*

<sup>8</sup> y compris *Klebsiella pneumoniae* Cluster *kp I + II* ; Lit : Alves et al., J Clin Microbiol, 44(10), 2006

<sup>9</sup> auparavant *K. pneumoniae*, classée depuis 2004 comme espèce distincte

<sup>10</sup> y compris *A. baumannii*, *A. oleivorans*, *A. calcoaceticus*

### Annexe III : gènes de résistance ciblés par la PCR multiplex Unyvero pneumonia

<u>Marqueras</u>	<u>Résistance aux antibiotiques</u>
<i>ermB</i>	Macrolides / Lincosamides
<i>mecA</i>	Oxacilline
<i>mecC (LGA 251)</i>	Oxacilline
<i>ctx - M12</i>	C3G, class A
<i>gyrA83 of E.coli and P.aeruginosa</i>	Fluoroquinolones
<i>gyr A87 of E.coli and P.aeruginosa</i>	Fluoroquinolones
<i>imp13</i>	Carbapénèmes, class B
<i>kpc14</i>	Carbapénèmes, class A
<i>ndm15</i>	Carbapénèmes, class B
<i>oxa - 23</i>	Carbapénèmes, class D
<i>oxa - 24</i>	Carbapénèmes, class D
<i>oxa - 48</i>	Carbapénèmes, class D
<i>oxa - 58</i>	Carbapénèmes, class D
<i>sul1</i>	Sulfamides
<i>shv</i>	Pénicilline, class A
<i>tem</i>	Pénicilline, class A
<i>vim</i>	Carbapénèmes, class B

## Annexe IV : Critères d'interprétation des prélèvements respiratoires

**Figure 5 : Aspiration endotrachéale**

<u>Prélèvements</u>	<u>Principes</u>	<u>Critères d'interprétation</u>
<b><u>Aspiration endotrachéale ou bronchique</u></b>	Non invasif L'utilisation d'une sonde ou d'un fibroscope afin d'évacuer les sécrétions produites par la muqueuse de la trachée ou des bronches. Elle peut être réalisée par la sonde d'intubation.	Les prélèvements ensemencés sont ceux contenant des bactéries visibles au microscope ou contenant moins de 10 cellules épithéliales par champ microscopique. Un seuil de 10 <sup>6</sup> UFC/ml est considéré comme significatif.

<u>Prélèvements</u>	<u>Principes</u>	<u>Critères d'interprétation</u>
<b><u>Prélèvement distal protégé</u></b>	Invasif. Brosse (dispositif de Wimberley) télescopique glissée au travers d'un fibroscope et dirigée sous contrôle de la vue dans une petite bronche de 4 <sup>ème</sup> ordre drainant le territoire pulmonaire radiologiquement suspect. Le cathéter interne est alors poussé, expulsant le bouchon et permettant d'avancer la brosse de quelques centimètres, pour réaliser le prélèvement bactériologique. Le cathéter interne est désinfecté par de l'alcool à 90 °, puis on fait sortir la brosse interne et on la coupe avec des ciseaux stériles pour qu'elle tombe dans 1 ml de liquide (eau physiologique tamponnée stérile ou liquide de Ringer) que l'on agite sur place au lit du malade (agitation mécanique de type Vortex pendant 2min).	Un seuil de 10 <sup>6</sup> UFC/ml est considéré comme significatif. Le seuil de significativité peut-être abaissé à 5. 10 <sup>5</sup> UFC/ml notamment chez les malades recevant des antibiotiques.

<u>Prélèvements</u>	<u>Principes</u>	<u>Critères d'interprétation</u>
<b><u>L.B.A</u></b>	Invasif. Instillation après blocage du broncho-fibroscope dans une bronche segmentaire ou sous-segmentaire des échantillons de 50 ml de sérum physiologique à (37 ° C) 4 à 6 fois et on ramène entre 20 et 60 ° de la quantité injectée.	Un dénombrement des germes banaux supérieur à 10 <sup>6</sup> UFC/ml est généralement considéré comme significatif d'une pneumonie.

## Annexe V : Phénotype de résistance des entérobactéries

### PHENOTYPES DE RESISTANCE DES ENTEROBACTERIES AUX $\beta$ -LACTAMINES

#### I) RESISTANCES NATURELLES DES ENTEROBACTERIES AUX $\beta$ -LACTAMINES :

Les entérobactéries sont naturellement résistantes aux pénicillines G et M, en fonction des résistances supplémentaires aux autres  $\beta$ -lactamines, elles sont classées en quatre groupes :

Groupe de $\beta$ -lactamines	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	Groupe 4
Principaux genres d'entérobactéries rencontrées en milieu hospitalier.	<i>Escherichia coli</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Salmonella</i> <i>Shigella</i>	<i>Klebsiella</i> <i>Citrobacter koseri</i>	<i>Enterobacter</i> <i>Serratia</i> <i>Morganella</i> <i>Providencia</i> <i>Citrobacter freundii</i>	<i>Yersinia</i>
Aminopénicillines	S	R	R	R
Carboxypénicillines	S	R	S	R
Uréidopénicillines	S	I/R	S	I/R
C1G	S	S	R	R
C3G	S	S	S	S
Carbapénèmes	S	S	S	S
Mécanismes de résistances	Absence de $\beta$ -lactamase	Pénicillinase à bas niveau	Céphalosporinase à bas niveau	Pénicillinase + céphalosporinase

[http://cismed-inov.org/IMG/pdf/ATB\\_Phenotype\\_resistance\\_enterobacteries\\_B\\_lactamines\\_1\\_.pdf](http://cismed-inov.org/IMG/pdf/ATB_Phenotype_resistance_enterobacteries_B_lactamines_1_.pdf)

## **Annexe : Abstract acceptée comme communication au 60<sup>e</sup> congrès de la SFAR (septembre 2018)**

### **Position du problème et objectifs de l'étude :**

La pneumopathie acquise sous ventilation mécanique (PAVM) représente l'un des problèmes majeurs en réanimation. Le diagnostic basé sur les scores clinico-biologiques tels que CPIS n'est pas toujours aisé. Les techniques de microbiologie standard sont relativement lentes et nous permettent d'obtenir les résultats en 48-72 heures en moyenne. Le traitement antibiotique probabiliste à large spectre est souvent introduit en cas de suspicion d'une PAVM en attendant les résultats microbiologiques. Cette utilisation large des antibiotiques est liée à un risque d'émergence des bactéries résistantes.

La PCR multiplex Unyvero permet la détection des 20 germes qui sont les plus fréquemment impliqués dans les infections respiratoires basses. Elle cible aussi les mécanismes de résistance les plus souvent retrouvés.

Le but de cette étude est d'analyser la performance diagnostique de la PCR multiplex et son intérêt dans la politique d'épargne d'antibiotique en réanimation.

### **Matériel et méthodes :**

La population d'étude était constituée de patients hospitalisés en réanimation polyvalente chez qui le diagnostic de PAVM était évoqué. Les prélèvements respiratoires ont été envoyés en microbiologie standard et analysés grâce au PCR multiplex Unyvero. Nous avons étudié la concordance des résultats entre la PCR multiplex et de la microbiologie ainsi qu'une éventuelle épargne d'antibiotique en cas d'absence de germe dans le prélèvement respiratoire. Les patients ont été inclus de manière prospective. Les médecins en charge de ces malades ont disposé des résultats de la microbiologie standard mais pas ceux de la PCR multiplex.

### **Résultats et discussion :**

Entre décembre 2016 et novembre 2017, 60 patients ont été inclus dont 38 hommes et 22 femmes. L'âge médian est de 61 ans, la moyenne d'IGS II à l'admission est de 56. Seulement 18 patients ont un score CPIS > 6. Parmi les 60 patients, 41 ont reçu les antibiotiques dès la réalisation du prélèvement microbiologique. Chez 23 patients, le diagnostic de la PAVM était retenu à la sortie de réanimation.

L'erreur technique est survenue sur 7 analyses de la PRC multiplex. La concordance parfaite entre la PCR multiplex et la microbiologie standard dans notre étude est de 73%. La correspondance des résultats pour les Entérobactéries de classes 1 et 2, Entérobactéries de classe 3 et pour les bactéries non fermentant est respectivement de 90 %, 96 % et de 96 %. Les résultats sont conformes dans 96%

pour le staphylocoque doré. Dans 71 % des cas, la résistance aux antibiotiques était correctement détectée par la PCR multiplex. La sensibilité et la spécificité du PCR multiplex sont toutes les deux de 86 %. La valeur prédictive positive est de 78% et la valeur prédictive négative est de 91 %.

**Conclusion :**

La PCR multiplex pourrait être une alternative plus rapide à la microbiologie standard. Cette technique semble être un outil intéressant non seulement dans le diagnostic plus précoce des PAVM mais aussi dans la politique d'épargne d'antibiotique en réanimation.

MUSZYNSKA Monika

Sujet de la thèse : Intérêt de la PCR multiplex Unyvero dans le diagnostic précoce des pneumopathies acquises sous ventilation mécanique, et dans la stratégie d'épargne des antibiotiques

Thèse : Médecine - Université des Antilles et de la Guyane Année 2018  
Numéro d'identification : 2018ANTI0350

MOTS-CLES : PAVM, PCR multiplex, résistance aux antibiotiques, outils diagnostique

**Introduction** : La pneumopathie acquise sous ventilation mécanique (PAVM) représente un problème majeur en réanimation. Il s'agit d'une pathologie fréquente, grave et de diagnostic complexe. La PCR multiplex Unyvero Pneumonia permet la détection rapide des 20 pathogènes fréquemment impliqués et cible 19 mécanismes de résistance. Le but de cette étude était d'analyser la performance diagnostique de la PCR multiplex et son intérêt dans la stratégie d'épargne d'antibiotique en réanimation.

**Matériel et méthode** : La population d'étude était constituée de patients avec un diagnostic de PAVM évoqué. Les prélèvements respiratoires étaient envoyés en microbiologie standard et analysés grâce au PCR multiplex Unyvero. Nous avons étudié la concordance des résultats entre les deux techniques. Pour chaque patient, nous avons analysé quel impact la connaissance des résultats de la PCR aurait pu avoir sur l'antibiothérapie débutée en probabiliste.

**Résultats** : Entre décembre 2016 et novembre 2017 nous avons inclus 60 patients. La concordance parfaite entre la PCR multiplex et la microbiologie standard est de 73%. Sept analyses de la PCR multiplex ont fait l'objet d'une erreur technique. La sensibilité et la spécificité du PCR multiplex sont toutes les deux de 86 % avec les intervalles de confiance à 95 % respectivement de (70-100 %) et (75-97 %). Nous retrouvons les meilleures performances diagnostiques pour les BNG non fermentant avec la sensibilité de 87 % (64-110 %) et spécificité de 97 % (93-101%). Dans 71 % des cas, la résistance aux antibiotiques était correctement détectée par la PCR multiplex. La connaissance des résultats de la PCR multiplex aurait influencé le choix de l'antibiothérapie dans 35 cas (58 %).

**Conclusion** : La PCR multiplex pourrait être une alternative efficace et rapide à la microbiologie standard.

**Président du jury** : Monsieur le Professeur ALLAOUCHICHE Bernard

**Membres du jury** :

Monsieur le Professeur CARLES Michel

Monsieur le Professeur FELLAHI Jean-Luc

Monsieur le Professeur BOHE Julien

**Directeur de Thèse** : Monsieur le Professeur ALLAOUCHICHE Bernard