



**HAL**  
open science

**PEPPER : performance de la PCR multiplex en réanimation pour la détection des pneumopathies acquises sous ventilation mécanique. étude monocentrique, rétrospective, d'évaluation d'une méthode diagnostique**

Benjamin Gallet

► **To cite this version:**

Benjamin Gallet. PEPPER : performance de la PCR multiplex en réanimation pour la détection des pneumopathies acquises sous ventilation mécanique. étude monocentrique, rétrospective, d'évaluation d'une méthode diagnostique. Médecine humaine et pathologie. 2022. dumas-04409963

**HAL Id: dumas-04409963**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04409963>**

Submitted on 22 Jan 2024

**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.

## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance.

La propriété intellectuelle du document reste entièrement celle du ou des auteurs. Les utilisateurs doivent respecter le droit d'auteur selon la législation en vigueur, et sont soumis aux règles habituelles du bon usage, comme pour les publications sur papier : respect des travaux originaux, citation, interdiction du pillage intellectuel, etc.

Il est mis à disposition de toute personne intéressée par l'intermédiaire de [l'archive ouverte DUMAS](#) (Dépôt Universitaire de Mémoires Après Soutenance).

Si vous désirez contacter son ou ses auteurs, nous vous invitons à consulter en ligne les annuaires de l'ordre des médecins, des pharmaciens et des sages-femmes.

Contact à la Bibliothèque universitaire de Médecine Pharmacie de Grenoble :

[bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr](mailto:bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr)

Année : 2022

**PEPPER :**

**PERFORMANCE DE LA PCR MULTIPLEX EN RÉANIMATION POUR LA  
 DÉTECTION DES PNEUMOPATHIES ACQUISES SOUS VENTILATION  
 MÉCANIQUE : ÉTUDE MONOCENTRIQUE, RÉTROSPECTIVE, D'ÉVALUATION  
 D'UNE MÉTHODE DIAGNOSTIQUE**

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

SPÉCIALITÉ : ANESTHÉSIE-RÉANIMATION

Par M. Benjamin GALLET

*[Données à caractère personnel]*

THÈSE SOUTENUE PUBLIQUEMENT À LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE GRENOBLE

Le 18/10/2022

DEVANT LE JURY COMPOSÉ DE :

Président du jury :

M. le Pr Jean-François PAYEN

Membres :

M. le Dr Remi WOLF (directeur de thèse)

Mme le Dr Patricia Arcangela PAVESE

M. le Dr Yvan CASPAR

*L'UFR de Médecine de Grenoble n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.*

# ENSEIGNANTS



Doyen de la Faculté : Pr Patrice MORAND  
ANNEE 2021-2022  
ENSEIGNANTS DE L'UFR DE MEDECINE

CORPS	NOM-PRENOM	Discipline universitaire
PU-PH	ALBALADEJO Pierre	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
PU-PH	ARVIEUX-BARTHELEMY Catherine	Chirurgie viscérale et digestive
PU-PH	BAILLET Athan	Rhumatologie
PU-PH	BARONE-ROCHETTE Gilles	Cardiologie
PU-PH	BAYAT Sam	Physiologie
MCF Ass.MG	BENDAMENE Farouk	Médecine Générale
PU-PH	BENHAMOU Pierre-Yves	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
PU-PH	BERGER François	Biologie cellulaire
MCU-PH	BETRY Cécile	Nutrition
MCU-PH	BIDART-COUTTON Marie	Biologie cellulaire
PU-PH	BIOULAC-ROGIER Stéphanie	Pédopsychiatrie ; addictologie
PU-PH	BLAISE Sophie	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire
PR Ass. Méd.	BOILLOT Bernard	Urologie
MCU-PH	BOISSET Sandrine	Bactériologie-virologie ; Hygiène hospitalière
PU-PH	BONAZ Bruno	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
PU-PH	BONNETERRE Vincent	Médecine et santé au travail
PU-PH	BOREL Anne-Laure	Nutrition
PU-PH	BOSSON Jean-Luc	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
MCU-PH	BOTTARI Serge	Biologie cellulaire
PR Ass.MG	BOUCHAUD Jacques	Médecine Générale
PU-PH	BOUGEROL Thierry	Psychiatrie d'adultes
PU-PH	BOUILLET Laurence	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie
MCU-PH	BOUSSAT Bastien	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
PU-PH	BOUZAT Pierre	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
PU-PH émérite	BRAMBILLA Christian	Pneumologie
PU-PH émérite	BRAMBILLA Elisabeth	Anatomie et cytologie pathologiques
MCU-PH	BRENIER-PINCHART Marie Pierre	Parasitologie et mycologie
PU-PH	BRICAULT Ivan	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	BRICHON Pierre-Yves	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
MCU-PH	BRIOT Raphaël	Thérapeutique-médecine de la douleur ; Addictologie
PU-PH émérite	CAHN Jean-Yves	Hématologie
PU-PH émérite	CARPENTIER Patrick	Chirurgie vasculaire, médecine vasculaire
PR Ass.MG	CARRILLO Yannick	Médecine Générale
MCU-PH	CASPAR Yvan	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
PU-PH	CESBRON Jean-Yves	Immunologie
PU-PH	CHABARDES Stephan	Neurochirurgie
PU-PH	CHABRE Olivier	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
PU-PH	CHAFFANJON Philippe	Anatomie
MCF Ass.MG	CHAMBOREDON Benoît	Médecine Générale
PU-PH	CHARLES Julie	Dermato-vénérologie
MCF Ass.MG	CHAUVET Marion	Médecine Générale
PU-PH	CHAVANON Olivier	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire

CORPS	NOM-PRENOM	Discipline universitaire
PU-PH	CHIQUET Christophe	Ophthalmologie
PU-PH	CHIRICA Mircea	Chirurgie viscérale et digestive
PU-PH	CINQUIN Philippe	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
MCU-PH	CLAVARINO Giovanna	Immunologie
MCU-PH	CLIN CHERPEC Rita	Nutrition
PU-PH	COHEN Olivier	Histologie, embryologie et cytogénétique
PU-PH	COSTENTIN Charlotte	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
PU-PH	COURVOISIER Aurélien	Chirurgie infantile
PU-PH	COUTTON Charles	Génétique
PU-PH	COUTURIER Pascal	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie
PU-PH	CRACOWSKI Jean-Luc	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie
PU-PH	DEBATY Guillaume	Médecine d'Urgence
PU-PH	DEBILLON Thierry	Pédiatrie
PU-PH	DECAENS Thomas	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
PR Ass. Méd.	DEFAYE Pascal	Cardiologie
PU-PH	DEGANO Bruno	Pneumologie ; addictologie
PU-PH	DEMATTEIS Maurice	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie
PU-PH émérite	DEMONGEOT Jacques	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
MCU-PH	DERANSART Colin	Physiologie
PU-PH	DESCOTES Jean-Luc	Urologie
PU-PH	DETANTE Olivier	Neurologie
MCU-PH	DIETERICH Klaus	Génétique
MCU-PH	DOUTRELEAU Stéphane	Physiologie
PU-PH	EPAULARD Olivier	Maladies infectieuses ; Maladies tropicales
PU-PH	ESTEVE François	Biophysique et médecine nucléaire
MCU-PH	EYSSERIC Hélène	Médecine légale et droit de la santé
PU-PH émérite	FAGRET Daniel	Biophysique et médecine nucléaire
PU-PH	FAUCHERON Jean-Luc	Chirurgie viscérale et digestive
MCU-PH	FAURE Julien	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	FERRETTI Gilbert	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	FONTAINE Éric	Nutrition
PU-PH	FRANCOIS Patrice	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
MCU-MG	GABOREAU Yoann	Médecine Générale
PU-PH	GARBAN Frédéric	Hématologie ; Transfusion
PU-PH	GAUDIN Philippe	Rhumatologie
PU-PH	GAVAZZI Gaétan	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie
PU-PH	GAY Emmanuel	Neurochirurgie
MCU-PH	GIAI Joris	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
MCU-PH	GILLOIS Pierre	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
PU-PH	GIOT Jean-Philippe	Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; Brûlologie
MCU-PH	GRAND Sylvie	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH émérite	GRIFFET Jacques	Chirurgie infantile
PU-PH	HAINAUT Pierre	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH émérite	HALIMI Serge	Nutrition
PU-PH	HENNEBICQ Sylviane	Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale
PU-PH	HOFFMANN Pascale	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale

CORPS	NOM-PRENOM	Discipline universitaire
PU-PH émérite	HOMMEL Marc	Neurologie
PU-MG	IMBERT Patrick	Médecine Générale
PU-PH émérite	JOUK Pierre-Simon	Génétique
PU-PH	KAHANE Philippe	Physiologie
MCU-PH	KASTLER Adrien	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	KRAINIK Alexandre	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	LABARERE José	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
MCU-PH	LABLANCHE Sandrine	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
PU-PH	LANDELLE Caroline	Bactériologie – virologie ; Hygiène hospitalière
PU-PH	LANTUEJOL Sylvie	Anatomie et cytologie pathologiques
PR Ass. Méd.	LARAMAS Mathieu	Cancérologie ; radiothérapie
MCU-PH	LARDY Bernard	Biochimie et biologie moléculaire
MCU-PH	LE GOUELLEC LE PISSART Audrey	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	LECCIA Marie-Thérèse	Dermato-vénérologie
PR Ass.MG	LEDoux Jean-Nicolas	Médecine Générale
PU-PH émérite	LETOUBLON Christian	Chirurgie viscérale et digestive
PU-PH	LEVY Patrick	Physiologie
PU-PH	LONG Jean-Alexandre	Urologie
MCU-PH	LUPO Julien	Bactériologie-virologie ; Hygiène hospitalière
PU-PH	MAITRE Anne	Médecine et santé au travail
MCU-PH	MARLU Raphaël	Hématologie ; Transfusion
PR Ass. Méd.	MATHIEU Nicolas	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
MCU-PH	MAUBON Danièle	Parasitologie et mycologie
PU-PH	MAURIN Max	Bactériologie-virologie ; Hygiène hospitalière
MCU-PH	MC LEER Anne	Histologie, embryologie et cytogénétique
PR Ass. Méd	MICHY Thiery	Gynécologie-obstétrique
MCU-PH	MONDET Julie	Histologie, embryologie et cytogénétique
PU-PH	MORAND Patrice	Bactériologie-virologie ; Hygiène hospitalière
PU-PH	MOREAU-GAUDRY Alexandre	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
PU-PH	MORO Elena	Neurologie
PU-PH	MORO-SIBILOT Denis	Pneumologie ; addictologie
MCU-PH	MORTAMET Guillaume	Pédiatrie
PU-PH	MOUSSEAU Mireille	Cancérologie ; radiothérapie
PU-PH émérite	MOUTET François	Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie
MCF Ass.MG	ODDOU Christel	Médecine Générale
PR Ass. Méd.	ORMEZANO Olivier	Cardiologie
MCU-PH	PACLET Marie-Hélène	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	PAILHE Régis	Chirurgie orthopédique et traumatologie
PU-PH	PALOMBI Olivier	Anatomie
PU-PH	PARK Sophie	Hématologie ; Transfusion
PR Ass.MG	PAUMIER-DESBRIERES Françoise	Médecine Générale
PU-PH	PAYEN DE LA GARANDERIE Jean-François	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
MCU-PH	PAYSANT François	Médecine légale et droit de la santé
MCU-PH	PELLETIER Laurent	Biologie cellulaire
PU-PH	PELLOUX Hervé	Parasitologie et mycologie
PU-PH	PEPIN Jean-Louis	Physiologie

CORPS	NOM-PRENOM	Discipline universitaire
PU-PH	PERARD DUMESTRE Chantal	Immunologie
PU-PH	PERENNOU Dominique	Médecine physique et de réadaptation
PU-PH	PERNOD Gilles	Chirurgie vasculaire ; Médecine vasculaire
MCF	PINSAULT Nicolas	Sciences de la rééducation et de réadaptation
PU-PH	PIOLAT Christian	Chirurgie infantile
PU-PH	PISON Christophe	Pneumologie ; Addictologie
PU-PH	PLANTAZ Dominique	Pédiatrie
PU-PH	POIGNARD Pascal	Bactériologie-virologie ; Hygiène hospitalière
PU-PH émérite	POLACK Benoît	Hématologie ; Transfusion
PU-PH	POLOSAN Mircea	Psychiatrie d'adultes ; Addictologie
PU-PH émérite	RAMBEAUD Jean-Jacques	Urologie
PU-PH	RAY Pierre	Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale
PR Ass. Méd.	RECHE Fabian	Chirurgie viscérale et digestive
MCU-PH	RENDU John	Biochimie et biologie moléculaire
MCU-PH émérite	RIALLE Vincent	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
PU-PH	RIETHMULLER Didier	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
PU-PH	RIGHINI Christian	Oto-rhino-laryngologie
PU-PH émérite	ROMANET Jean Paul	Ophthalmologie
PU-PH	ROSTAING Lionel	Néphrologie
PU-PH	ROUSTIT Matthieu	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie
MCU-PH	ROUX-BUISSON Nathalie	Biochimie et biologie moléculaire
PR Ass.MG	ROYER DE VERICOURT Guillaume	Médecine Générale
PU-PH émérite	SARAGAGLIA Dominique	Chirurgie orthopédique et traumatologie
MCU-PH	SATRE Véronique	Génétique
PU-PH	SAUDOU Frédéric	Biologie cellulaire
PU-PH	SCHMERBER Sébastien	Oto-rhino-laryngologie
PU-PH	SCHWEBEL Carole	Médecine intensive-réanimation
PU-PH	SCOLAN Virginie	Médecine légale et droit de la santé
PU-PH	SEIGNEURIN Arnaud	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
PU-PH	SPEAR Rafaëlle	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire
PU-PH émérite	STAHL Jean-Paul	Maladies infectieuses ; Maladies tropicales
PU-PH	STANKE Françoise	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie
MCU-PH	STASIA Marie-José	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	STURM Nathalie	Anatomie et cytologie pathologiques
PU-PH	TAMISIER Renaud	Physiologie
PU-PH	TERZI Nicolas	Médecine intensive-réanimation
PU-PH	THEVENON Julien	Génétique
PU-PH	TOFFART Anne-Claire	Pneumologie ; Addictologie
PU-PH	TONETTI Jérôme	Chirurgie orthopédique et traumatologie
PU-PH	TOUSSAINT Bertrand	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	VALMARY-DEGANO Séverine	Anatomie et cytologie pathologiques
PU-PH	VANZETTO Gérald	Cardiologie
PU-PH	VUILLEZ Jean-Philippe	Biophysique et médecine nucléaire
PU-PH	WEIL Georges	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
PU-PH	ZAOUI Philippe	Néphrologie
PU-PH émérite	ZARSKI Jean-Pierre	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie

# TABLE DES MATIERES

<b>I. INTRODUCTION .....</b>	<b>10</b>
<b>A. LES PNEUMONIES ASSOCIEES AUX SOINS DE REANIMATION.....</b>	<b>10</b>
1. DEFINITION .....	10
2. PHYSIOPATHOLOGIE .....	10
3. EPIDEMIOLOGIE et PRONOSTIQUE .....	13
4. DIAGNOSTIC.....	14
5. TRAITEMENT .....	17
<b>B. LES RESISTANCES BACTERIENNES .....</b>	<b>22</b>
1. INTRODUCTION.....	22
2. EPIDEMIOLOGIE .....	22
3. RESISTANCES DES PRINCIPAUX GERMES RESPONSABLES DE PAVM .....	24
<b>C. UN NOUVEL OUTIL, LA PCR MULTIPLEX .....</b>	<b>38</b>
1. POLYMERASE CHAIN REACTION DEFINITION .....	38
2. APPROCHE SYNDROMIQUE. ....	39
3. AVANTAGES .....	40
4. LIMITES .....	41
5. DES ETUDES DISCORDANTES. ....	42
<b>II. MATERIEL ET METHODE.....</b>	<b>45</b>
<b>A. METHODE.....</b>	<b>45</b>
1. DESIGN DE L'ETUDE.....	45
2. OBJECTIF PRINCIPAL.....	45
3. POPULATION.....	45
4. BACTERIOLOGIE CONVENTIONNELLE .....	46
5. PCR MULTIPLEX SYNDROMIQUE "THE FILMARRAY" .....	46
6. DONNEES .....	46
7. ETHIQUE .....	47
<b>B. CRITERE DE JUGEMENT .....</b>	<b>47</b>
1. PRINCIPAL .....	47
2. SECONDAIRES .....	48
<b>C. ANALYSE STATISTIQUE.....</b>	<b>52</b>
<b>III. RÉSULTATS.....</b>	<b>53</b>
<b>A. ETUDE DE LA POPULATION .....</b>	<b>53</b>
1. CARACTERISTIQUE GENERALES .....	53
2. FACTEUR DE RISQUE DE RESISTANCE .....	54



3.	INDICATION LBA et TIMING.....	54
<b>B.</b>	<b>CRITERE DE JUGEMENT PRINCIPAL .....</b>	<b>56</b>
1.	PERFORMANCE GERME PAR GERME .....	56
2.	PERFORMANCE POUR LA DETECTION DES RESISTANCES .....	58
<b>C.</b>	<b>CRITERE DE JUGEMENT SECONDAIRE .....</b>	<b>58</b>
1.	PERFORMANCE TEST PAR TEST.....	58
2.	PERFORMANCE THEORIQUE.....	59
3.	ANALYSE MULTIVARIEE .....	60
4.	ANALYSE DES DELAIS.....	64
5.	REGRESSION LOGISTIQUE.....	65
6.	MODIFICATION D'ANTIBIOTIQUE .....	66
<b>IV.</b>	<b>DISCUSSION .....</b>	<b>73</b>
<b>V.</b>	<b>CONCLUSION.....</b>	<b>80</b>
<b>VI.</b>	<b>REMERCIEMENTS .....</b>	<b>83</b>

RÉSUMÉ :

**INTRODUCTION :** La détection rapide des agents infectieux responsables des pneumopathies acquises sous ventilation mécanique, principal site d'infection en réanimation, est un enjeu majeur, tant à titre individuel pour optimiser le traitement antibiotique de chaque patient, qu'à titre collectif pour lutter contre l'émergence de bactéries multirésistantes. La PCR multiplex TheFilmArray, grâce à la détection de 19 bactéries et 7 gènes de résistance, pourrait permettre d'adapter précocement l'antibiothérapie des patients atteints de PAVM et ainsi limiter l'utilisation d'antibiothérapie à large spectre en réanimation. **METHODE :** Dans cette étude rétrospective, menée au CHU de Grenoble en Réanimation Polyvalente Chirurgicale et dans l'Unité de Réanimation Cardio-Vasculaire-Thoracique entre février 2020 et juin 2022, nous avons évalué les performances et l'impact potentiel sur la prescription d'antibiotiques de la PCR multiplex. Les patients inclus étaient des patients majeurs ayant bénéficié sur un même prélèvement respiratoire d'une PCR multiplex syndromique associée à une méthode de bactériologie standard devant une suspicion de surinfection pulmonaire. **RESULTATS :** 143 couples PCR/bactériologie standard ont pu être analysés, la sensibilité était de 71.1% et la spécificité de 99%, la majorité des germes non détectés étaient des germes absents du panel de détection avec une sensibilité théorique en excluant ces germes à 87%. Dans cette étude l'utilisation de la PCR aurait pu permettre 45.4% (65) d'épargne d'antibiotique et dans 7.7% (11) des cas elle aurait pu permettre d'élargir le spectre d'une antibiothérapie initialement inefficace, cependant cela aurait entraîné une surconsommation d'antibiothérapie à large spectre chez 12.6% des patients (18) et une inefficacité de l'antibiothérapie chez 2% (3) des patients. En moyenne les résultats de la PCR multiplex étaient rendus en 25.9 heures soit 47 heures avant l'antibiogramme. **CONCLUSION :** La PCR multiplex pourrait être un outil précieux pour adapter les antibiothérapies des patients atteint de PAVM à condition d'en définir précisément les indications et d'avoir une bonne connaissance de ses forces et ses faiblesses. **MOTS CLÉS :** PAVM, Détection, Résistance, PCR, Antibiogramme, antibiothérapie, bactéries.

FILIÈRE : [REANIMATION CHU Grenoble](#)

**INTRODUCTION:** The quick detection and identification of the infectious agents responsible for Ventilator Acquired Pneumopathies, the main site of infection in intensive care, is a major challenge both individually to optimize the antibiotic treatment of each patient, and collectively to fight against the emergence of multi-resistant bacteria. The FilmArray multiplex PCR, thanks to the detection of 19 bacteria and 7 resistance genes, could make it possible to adapt antibiotic therapy early in patients with VAP and thus limit the use of broad-spectrum antibiotic therapy in the intensive care. **METHOD:** In this retrospective study, carried out at the Grenoble University Hospital/CHU Grenoble Alpes in surgical and cardiovascular and thoracic intensive care units between February 2020 and June 2022, we have evaluated the performance and potential impact on antibiotics prescription of the multiplex PCR. The patients included were adults who underwent syndromic multiplex PCR analysis, combined with a standard bacteriological method on the same respiratory sample in the face of suspected pulmonary superinfection. **RESULTS:** 143 PCR/standard bacteriology pairs have been analyzed, the sensitivity was 71.1% and the specificity 99%, the majority of the undetected germs were those absent from the detection panel with a theoretical sensitivity by excluding these germs of 87%. In this study, the use of PCR could have allowed 45.4% antibiotic sparing (65), and 7.7% (11) spectrum catch-up. However, this would have led to overconsumption of broad-spectrum antibiotic therapy in 12.6% of patients (18) and ineffectiveness of antibiotic therapy in 2% of patients (3). On average, the results of the multiplex PCR were returned in 25.9 hours, i.e. 47 hours before the antibiogram. **CONCLUSION:** Multiplex PCR could be a valuable tool for adapting antibiotic therapies for patients with VAP as long as the processes are precisely defined and there is a good knowledge of its strengths and weaknesses.

# I. INTRODUCTION

## A. LES PNEUMONIES ASSOCIEES AUX SOINS DE REANIMATION

### 1. DEFINITION

Les pneumonies associées aux soins de réanimation sont des infections du parenchyme pulmonaire, comprenant plusieurs entités et sous-entités en fonction du délai entre l'admission à l'hôpital, en réanimation, ou l'intubation et le début de la pneumonie.

L'entité la plus fréquente et la plus étudiée est la pneumonie acquise sous ventilation mécanique (PAVM) ; cette dernière survient chez un malade ventilé soit de manière invasive par l'intermédiaire d'un tube endotrachéal ou d'une trachéotomie, soit de manière non-invasive par l'intermédiaire d'un masque facial ou d'une autre interface, dans les 48 heures précédant la survenue de l'infection (**3**).

Elle fait partie du spectre des infections nosocomiales, en particulier des pneumonies acquises au cours d'une hospitalisation, celles-ci intégrant également les pneumonies survenant en l'absence de ventilation mécanique.

Il faut souligner que plusieurs aspects des pneumonies nosocomiales restent sujets d'étude non résolus. C'est le cas notamment concernant leur diagnostic, leur traitement, leur impact sur le pronostic et leur prévention.

### 2. PHYSIOPATHOLOGIE

L'infection du poumon résulte d'un pullulement microbien qui va être responsable d'une atteinte bronchiolo-alvéolaire avec alvéolite neutrophilique. Les raisons de cet envahissement sont multiples chez un malade de réanimation, dont entre autres l'altération des mécanismes de défense locaux et généraux, la présence d'un ou de plusieurs micro-organismes pathogènes et l'inoculation importante. La très grande majorité de ces infections pulmonaires est due à la colonisation croisée des réservoirs bactériens oro-naso-pharyngés, leur convergence vers les voies respiratoires hautes sous glottiques, puis la contamination des voies respiratoires basses à l'occasion de la perte des mécanismes de protection comme lors la sédation, l'intubation, la ventilation mécanique, l'immunodépression, les pathologies des voies aériennes comme la BPCO ou le SDRA, les troubles de la conscience ou de la déglutition. L'estomac pourrait également constituer un réservoir pour les bacilles à Gram négatif (BGN) avec, lors des reflux, un ensemencement de l'oropharynx et de la trachée. Ce mécanisme est favorisé par la diminution de la mobilité et du pH gastriques causés par un séjour en réanimation. L'importance de cette source est cependant contestée car la majorité des études ayant observé les cinétiques de colonisation montre que la colonisation de l'estomac suit plus

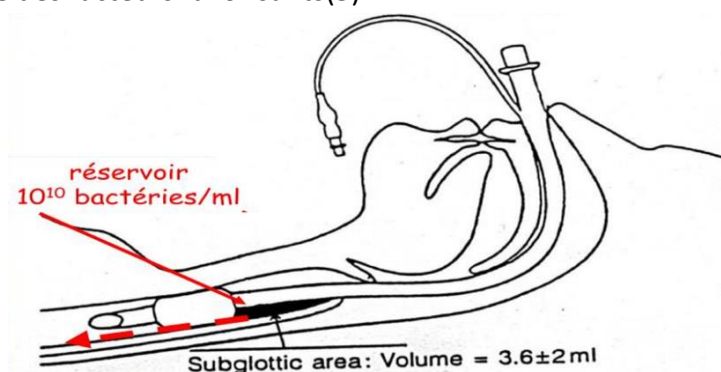
qu'elle ne précède la colonisation de l'oropharynx et des voies aériennes. Enfin, l'infection par voie hématogène à partir d'un autre foyer ou au cours d'une translocation est possible mais semble très rare (3,4).

Un sujet sain héberge dans son oropharynx des milliards de bactéries, essentiellement anaérobies. Elles constituent une flore dite « de barrière » car s'opposant à la colonisation de l'oropharynx par des bactéries aérobies dont certaines ont un pouvoir pathogène. Parmi celles-ci, certaines sont fréquemment présentes en faible quantité chez tout individu, telles que *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *B. catarrhalis*, *S. aureus*, etc. D'autres, telles que *Pseudomonas* ou *Acinetobacter*, ne sont présentes que dans des conditions pathologiques.

La bascule d'un état stable, non pathologique, vers un état infectieux peut se décomposer en plusieurs étapes :

La première étape du processus correspond à la modification de la flore oro-pharyngée résidente avec apparition en particulier d'entérobactéries normalement non présentes à ce niveau. Cette colonisation oro-pharyngée s'opère rapidement après l'admission en réanimation, en deux ou trois jours. Elle est la conséquence de plusieurs facteurs, dominés par la gravité de la maladie de fond (état inflammatoire) et la pression de sélection induite sur la flore commensale par l'utilisation d'antibiotiques. La durée du séjour hospitalier préalable, un mauvais état nutritionnel et la présence d'une sonde d'intubation endotrachéale constituent également des facteurs favorisant cette colonisation.

La deuxième étape du processus correspond à la colonisation de l'arbre trachéo-bronchique par le biais de micro-inhalations autour du ballonnet. De plus, la présence de la sonde d'intubation altère la muqueuse et la clairance muco-ciliaire, gêne la toux, et impose le plus souvent une immobilisation en décubitus dorsal. La formation d'un biofilm au niveau de la sonde d'intubation pourrait également contribuer au maintien de la colonisation trachéale. La présence d'une sonde gastrique et le recours à des médicaments sédatifs sont aussi considérés comme des facteurs favorisant(5).

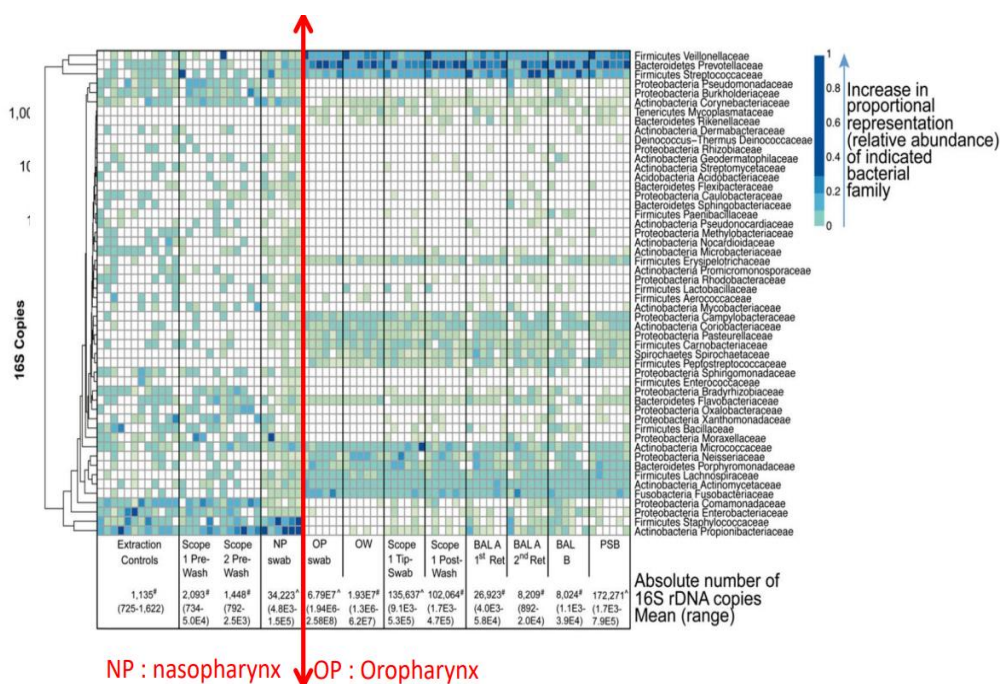


1. illustration du réservoir bactérien oropharyngé en lien avec une sonde d'intubation endotrachéale (Mahul, P., Auboyer, C., Jospe, R., Ros, A., Guerin, C., El Khouri, Z., Galliez, M., Dumont, A., & Gaudin, O. (1992). Prevention of nosocomial pneumonia in intubated patients : Respective role of mechanical subglottic secretions drainage and stress ulcer prophylaxis. *Intensive Care Medicine*, 18(1), 20–25. <https://doi.org/10.1007/bf01706421> p. 2).

La troisième et dernière étape du processus correspond au développement d'une infection parenchymateuse, qui va seulement concerner certains patients. Les mécanismes biologiques conduisant à cette phase d'infection ne sont pas clairement élucidés, même si certaines prédispositions génétiques sont suspectées.

Les poumons ont été considérés comme un organe stérile pendant des décennies car les techniques de culture microbiologique avaient toujours montré des résultats bactériologiques négatifs dans le poumon sain.

Des techniques indépendantes de la culture ont récemment révélé que les poumons sains abritent un écosystème diversifié et dynamique (extraction puis amplification par PCR de l'ARN 16S) de bactéries, modifiant notre compréhension de la physiopathologie respiratoire. (cf illustration2)



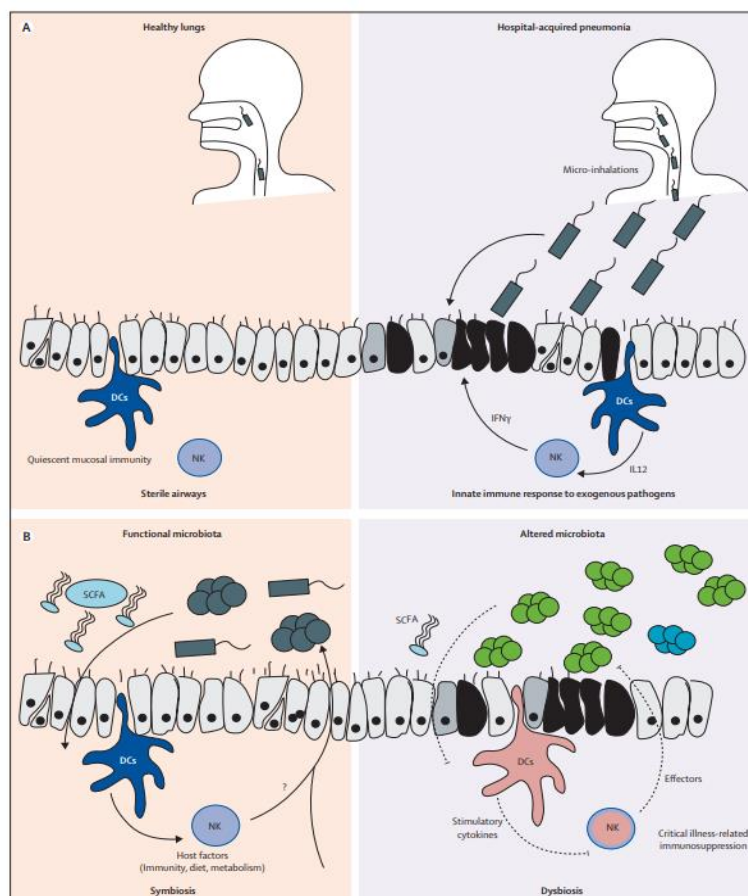
Charlson et al. AJRCCM 2011

- Détection de l'écosystème bactérien pulmonaire (Charlson ES, Bittinger K, Haas AR, Fitzgerald AS, Frank I, Yadav A, Bushman FD, Collman RG. *Topographical Continuity of Bacterial Populations in the Healthy Human Respiratory Tract. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* [En ligne]. 15 oct 2011 [cité le 4 oct 2022];184(8):957-63. Disponible : <https://doi.org/10.1164/rccm.201104-0655oc> p.961).

Des études récentes ont montré qu'il existe une symbiose respiratoire, déterminée par les interactions entre le microbiome pulmonaire et l'immunité muqueuse. Il est reconnu que le microbiote façonne directement le système immunitaire de l'hôte via la production de composés immunomodulateurs et de métabolites chez le sujet sain.

Ces observations suggèrent que le microbiome joue un rôle dans la gravité de l'inflammation et dans la sévérité des lésions pulmonaires dans les pneumonies nosocomiales et dans les PAVM. Les modifications de la flore endogène oro-pharyngée et pulmonaire lors d'un séjour en réanimation entraînent une dysbiose, modifiant les interactions entre le microbiome

et le système immunitaire (**illustration 3** :), dysbiose qui participerait au développement et à la gravité de l'inflammation pulmonaire (24, 25, 26).



**Figure 1: Physiopathology of hospital-acquired pneumonia**  
 DC=dendritic cells, NK=natural killer cells, IFN=interferon, IL=interleukin, SCFA=short chain fatty acids. (A) Historical pathophysiological concept. Healthy distal airways are sterile (left). In response to the lung contamination by digestive bacteria, immune cells release cytokines which control the bacterial load but cause epithelial injuries. (B) Refined pathophysiological concept. In healthy lungs (left), the commensal derived metabolites induce tolerance by mucosal immunity. During hospital acquired pneumonia, the dysbiosis between microbiome and immunity results in epithelial injuries.

3. A Roquilly ,lancet Respir Med 2019 (Roquilly A, Torres A, Villadangos JA, Netea MG, Dickson R, Becher B, Asehnoune K. Pathophysiological role of respiratory dysbiosis in hospital-acquired pneumonia. *The Lancet Respiratory Medicine* [En ligne]. Août 2019 [cité le 4 oct 2022];7(8):710-20. Disponible : [https://doi.org/10.1016/s2213-2600\(19\)30140-7](https://doi.org/10.1016/s2213-2600(19)30140-7) p.4)

La compréhension de la dysbiose du microbiome respiratoire et des mécanismes cellulaires à l'origine de l'altération de l'immunité muqueuse chez les patients de réanimation ouvre la perspective de développer des immunothérapies ciblées régulant la cascade inflammatoire afin de restaurer une symbiose. Cette approche permettrait de diminuer le recours aux traitements antibiotiques et ainsi de limiter l'émergence de résistances bactériennes qui représentent une problématique majeure de santé publique au niveau mondiale (27, 28 , 29).

### 3. EPIDEMIOLOGIE ET PRONOSTIQUE

#### a) INCIDENCE ET PREVALENCE.

La pneumonie nosocomiale (Hospital Acquired Pneumonia HAP) et la pneumonie acquise sous ventilation mécanique (PAVM) sont les infections nosocomiales les plus courantes en réanimation. En Europe, on compte 500 000 cas de pneumonie nosocomiale par an, dont 2/3 sous ventilation mécanique (1).

La prévalence rapportée par le réseau français de surveillance des infections liées aux soins en réanimation est d'environ 8%. Elle atteint 20 % selon les services, voire plus dans certaines populations à risque telles que les patients traumatisés, atteints de cancers, de bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO) ou de Syndrome de Détresse Respiratoire Aigüe (SDRA).

L'incidence des PAVM est d'environ 15 pour 1000 jours d'intubation en France, avec de grandes disparités entre services de réanimation. Cette incidence correspond à une augmentation du risque relatif de 10 à 21 par rapport aux malades non ventilés. L'incidence augmente avec la durée de ventilation, de façon plus importante au début de la ventilation, avec une incidence qui augmente de 3 % par jour les 5 premiers jours, 2 % les 5 jours suivants, et finalement de 1 % par jour au-delà du 10e jour de ventilation (1, 15, 18).

#### **b) PRONOSTIC**

Les pneumonies acquises sous ventilation mécanique sont la principale cause de décès en soins intensifs avec une mortalité augmentée de 4% et une cause importante de morbidité avec notamment une augmentation des durées de ventilations mécanique et des durées d'hospitalisation, de 7 jours en moyenne (15, 18, 2).

#### **c) FACTEURS DE RISQUES**

Les facteurs de risques non modifiables liés au patient sont, la bronchopathie chronique obstructive (BPCO), un score de dysfonction d'organe (SOFA) ou score physiologique de gravité (IGS II) élevé, l'âge supérieur à 60 ans, un coma, un arrêt cardiaque, un SDRA, un traumatisme crânien, et le sexe masculin.

Les facteurs de risques modifiables liés au traitement retrouvés dans la littérature sont ; la neurochirurgie, la chirurgie thoracique, un transport hors-réanimation, une ré-intubation, l'utilisation d'anti-H2 ou d'antiacide, un changement de circuit de ventilation toutes les 24 heures, une antibiothérapie, la position déclive stricte, la nutrition entérale, la pression du ballonnet < 20mmHg, une trachéotomie, un traitement par aérosol (2, 6).

### **4. DIAGNOSTIC**

La problématique est de différencier une simple colonisation des voies aériennes d'une véritable infection du parenchyme pulmonaire. La prescription injustifiée d'antibiotiques entraîne un risque d'effets secondaires, un coût supplémentaire et une pression de sélection au niveau individuel comme à celui l'unité de réanimation aboutissant à l'émergence de souches multi-résistantes. À l'inverse, une prescription tardive ou inappropriée vis-à-vis de la sensibilité du ou des micro-organismes responsables s'avère néfaste pour le devenir immédiat du patient.



### a) CLINIQUE

La suspicion clinique repose sur l'association d'une fièvre (dès  $T^{\circ} \geq 38.3^{\circ}$ ) ou plus rarement d'une hypothermie, d'aspirations trachéales purulentes, de l'apparition d'une toux ou d'une dyspnée. La suspicion de PAVM est également légitime devant une aggravation de l'état hémodynamique ou respiratoire du patient.

La suspicion d'infection peut être difficile à confirmer dans certaines situations telles qu'une atteinte pulmonaire préexistante, un SDRA ou l'utilisation de traitements rendant ininterprétable la courbe thermique (circulation extracorporelle, corticoïdes). Si l'association de ces critères cliniques est considérée comme sensible, elle reste très peu spécifique.

### b) PARACLINIQUE

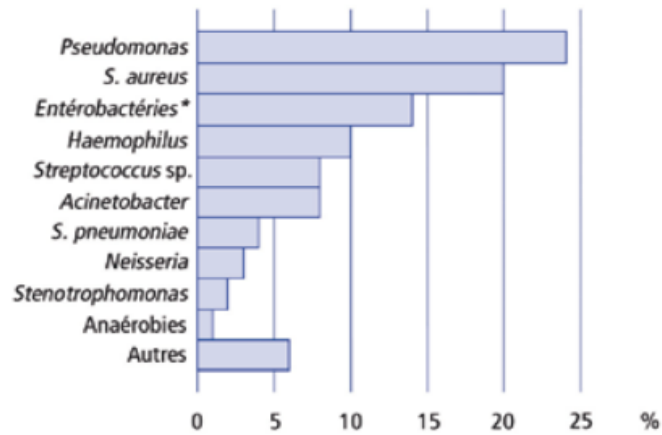
Sur le plan paraclinique, la suspicion est confortée en cas d'hyperleucocytose ( $>12000/\text{mm}^3$ ) ou de leucopénie ( $<4000/\text{mm}^3$ ), associée à la présence d'un syndrome inflammatoire biologique (CRP, procalcitonine) et d'une image radiologique « compatible ». Ce terme volontairement imprécis tient aux difficultés d'interprétation des radiographies pulmonaires en réanimation (**14, 12**).

### c) MICROBIOLOGIQUE

Quelles que soient les techniques de prélèvements utilisées, les études montrent que la majorité des PAVM sont dues à des Bacilles Gram Négatif (BGN), tels que les entérobactéries aérobies (*Escherichia Coli*, *Enterobacter sp*, *Klebsiella sp*) le *Pseudomonas aeruginosus*. *Staphylococcus aureus* est le principal Cocci gram positif, en cause (**7, illustration 4** :).

Les PAVM sont généralement classées en pneumonies précoces et en pneumonies tardives, classification essentiellement fondée sur des données bactériologiques. Au moment de l'intubation et durant les premiers jours de ventilation mécanique, c'est la flore habituelle du patient qui est inhalée et va causer la majorité des pneumonies dites précoces, avec une écologie principalement oropharyngée comme le *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* et le *Staphylococcus aureus* méticilline sensible (SAMS), germes également retrouvés au cours de pneumopathies communautaires.

Secondairement, c'est la flore colonisante, constituée essentiellement de BGN ou de bactéries hospitalières, qui va être responsable des pneumonies dites tardives. La limite habituellement retenue se situe autour du 5e jour de ventilation mécanique (entre le 4e et le 7e jour) (**7, 31**). Un pathogène est identifié dans environ 70 % des cas et dans 30 % des cas l'infection est polymicrobienne.

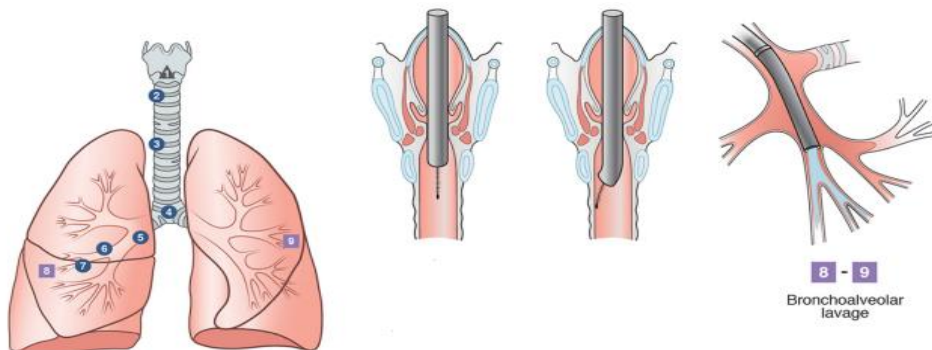


**Figure** Microbiologie des pneumonies acquises sous ventilation mécanique (PAMV)

\* *Enterobacter* sp, *E. coli*, *Proteus* sp, *Klebsiella* sp, *Serratia* sp, *Citrobacter* sp, *Hafnia alvei*.

4. Microbiologie des PAMV indépendamment du temps de ventilation mécanique (Chastre J, Fagon JY. Ventilator-associated Pneumonia. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* [En ligne]. Avril 2002 [cité le 6 jan 2023];165(7):867-903. Disponible : <https://doi.org/10.1164/ajrccm.165.7.2105078> p.884)

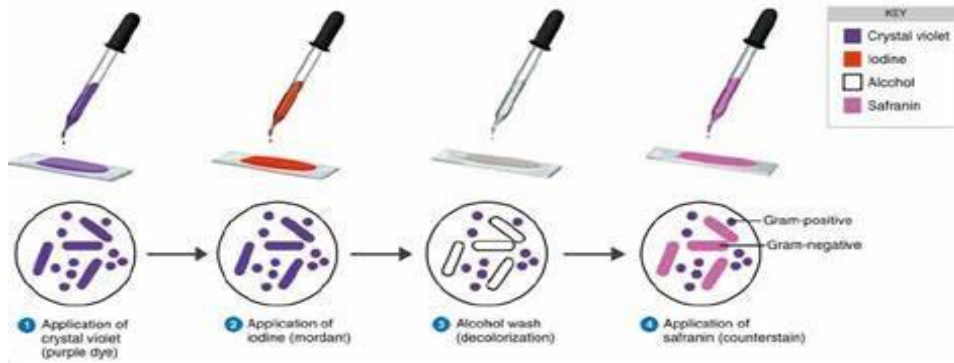
La méthode de détection conventionnelle des microorganismes lors d'une PAMV est réalisée sur un lavage broncho-alvéolaire (LBA) ou une cytologie broncho-trachéale (CBT), avec des seuils d'infection respectivement à  $10^4$  et  $10^5$  (9).



#### 5. Réalisation d'un lavage broncho-alvéolaire

(<https://www.trialexhibitsinc.com/library-item/bronchial-lavage>, consultée le 01/10/2022)

Cette méthode retourne successivement 3 types de résultats. En quelques heures, L'examen direct par microscopie optique après coloration nous rend un premier résultat, selon l'aspect et la coloration du germe « Cocci » ou « bacille », GRAM « positif » ou « négatif ». Une valeur qualitative sera également donnée en fonction du nombre de bactéries visible sur la coupe : « rare(s) », « quelque(s) », « nombreux ». Cela permet d'avoir une première orientation sur la famille du germe en cause et permet parfois déjà de modifier l'antibiothérapie.



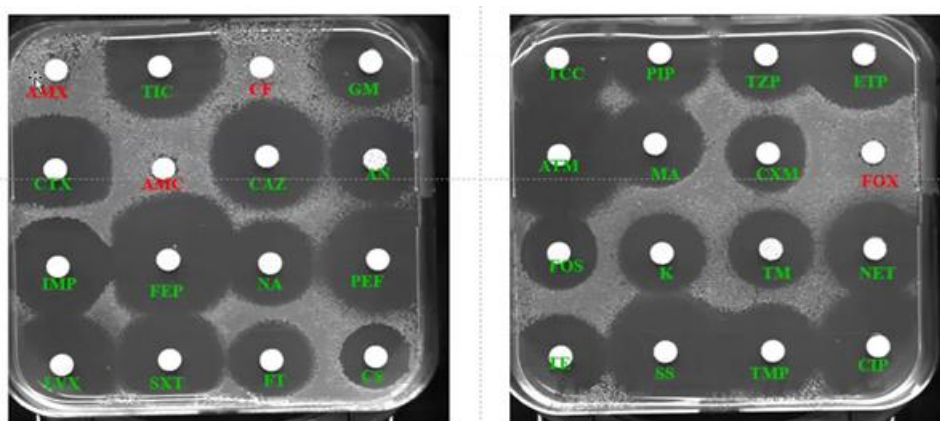
6. Exemple d'examen direct (<http://www.svi-stu.com/2017/10/info-lacoloration-de-gram.html>, consultée le 10/09/2022)

En 24 à 48 heures la culture du germe permettra l'identification de l'espèce.



7. Exemple de culture (<http://www.microbes-edu.org/professionnel/observations/obs18/J12/>, consultée le 10/09/2022)

En 72-96H, l'antibiogramme permettra de déterminer la sensibilité aux antibiotiques du germe (11, 22).



8. Exemple d'antibiogramme (<http://www.microbes-edu.org/mecanisme/Pheno1/.html>, consultée le 10/09/2022)

## 5. TRAITEMENT

### a) ANTIBIOTHERAPIE

Un traitement antimicrobien précoce de la pneumonie est impératif, la littérature montre que le retard dans la mise en place d'un traitement approprié a un impact négatif sur le pronostic et est associé à une augmentation de la mortalité (23).

Par conséquent, il est indispensable d'initier une antibiothérapie probabiliste précoce en cas de signes de gravités

### (1) ANTIBIOTHERAPIE PROBABILISTE

Le choix de cette antibiothérapie doit être basé sur plusieurs arguments :

- le délai de survenue de la PAVM traitée par rapport à l'hospitalisation : les PAVM d'apparition précoce (survenant moins de 5 jours après l'hospitalisation) sont plus fréquemment dues à des bactéries communautaires qu'à des bactéries multirésistantes en comparaison avec les PAVM d'apparition tardive (survenant 5 jours après l'hospitalisation). Pour les PAVM précoces, l'introduction d'un traitement probabiliste à large spectre n'est donc en général pas nécessaire, à l'inverse des PAVM tardives.
- l'écologie bactériologique du pays, de l'hôpital et de la réanimation en question.
- les facteurs de risques individuels du patient d'infection à germes multirésistants, que nous aborderons plus bas.

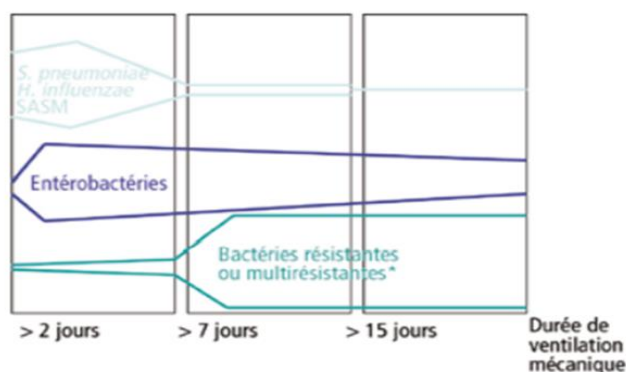


Figure Agents pathogènes habituellement responsables des PAVM en fonction des différentes périodes de risques

\*Risque d'autant plus grand que les patients ont reçu une antibiothérapie préalable.

(Park DR. The microbiology of ventilator-associated pneumonia. Respir Care. 2005 Jun;50(6):742-63; discussion 763-5. PMID: 15913466. p 748)

### (2) ADAPTATION DE L'ANTIBIOTHERAPIE PROBABILISTE

Chez chaque patient, le traitement doit être modifié sur la base de la réponse clinique et des résultats de l'analyse microbiologique. L'antibiothérapie devra être adaptée aux résultats de l'examen direct, de la culture et enfin de l'antibiogramme.

En absence d'amélioration après 48 à 72 heures, la présence éventuelle d'autres agents pathogènes non recherchés, une complication spécifique (abcès), un autre site d'infection, ou un diagnostic non infectieux devront être considéré.

En cas d'identification de germes multirésistants, plusieurs travaux ont démontré l'intérêt de recourir à un avis spécialisé (*antimicrobial stewardship*) afin d'optimiser l'utilisation des antibiotiques récemment développés pour lutter spécifiquement contre les mécanismes de résistance émergents (cf infra) (17, 20).

### (3) DUREE DE L'ANTIBIOTHERAPIE

Le traitement doit être poursuivi pendant la durée minimale adéquate pour le patient, soit en général une durée de 5 jours. Certains travaux proposent d'adapter la durée d'antibiothérapie à la réponse clinique du patient et à l'évolution de marqueurs biologiques spécifiques (procalcitonine en particulier [12, 14]). Dans tous les cas, la poursuite de l'antibiothérapie au-delà de 5 jours doit être justifiée par une évolution non favorable ou l'existence d'un foyer profond (13).

## **b) AUTRES TRAITEMENTS**

Les autres traitements comprennent l'évacuation d'un foyer profond, tel qu'une pleurésie purulente ou un abcès pulmonaire, dans lesquels l'inoculum bactérien est important et la diffusion de l'antibiotique altérée.

L'approche de régulation de l'inflammation pulmonaire par immunomodulation reste pour le moment au stade de la recherche pré-clinique [76, 77].

Les mesures préventives pour éviter l'apparition des PAVM ne sont efficaces qu'appliquées sous forme de procédure d'équipe (bundles), et comprennent entre autres les mesures d'hygiène (désinfection des mains, respect des précautions contact si indiquées), des procédures de surveillance et de monitoring de l'écologie du service, le retrait précoce des dispositifs invasifs (extubation), l'aspiration sus-glottique, la décontamination digestive (30).

### References :

1. Rello J, Ollendorf DA, Oster G, Vera-Llonch M, Bellm L, Redman R, Kollef MH. *Epidemiology and Outcomes of Ventilator-Associated Pneumonia in a Large US Database*. *Chest*.122(6):2115-21. Disponible: <https://doi.org/10.1378/chest.122.6.2115>
2. Bekaert M, Timsit JF, Vansteelandt S, Depuydt P, Vésin A, Garrouste-Orgeas M, Decruyenaere J, Clec'h C, Azoulay E, Benoit D. *Attributable Mortality of Ventilator-Associated Pneumonia*. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* [En ligne]. 15 nov 2011 [cité le 4 oct 2022];184(10):1133-9. Disponible : <https://doi.org/10.1164/rccm.201105-0867oc>
3. Chastre J, Fagon JY. *Ventilator-associated Pneumonia*. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* [En ligne]. Avril 2002 [cité le 6 jan 2023];165(7):867-903. Disponible : <https://doi.org/10.1164/ajrccm.165.7.2105078>
4. Combes A, Luyt CE, Fagon JY, et al. *Early predictors for infection recurrence and death in patients with ventilator-associated pneumonia*. *Crit Care Med*. 2007;35:146-54.
5. Safdar N, Crnich CJ, Maki DG. *The pathogenesis of ventilator-associated pneumonia: its relevance to developing effective strategies for prevention*. *Respir Care*. 2005;6:725-41.
6. Cook DJ, Walter SD, Cook RJ, et al. *Incidence of and risk factors for ventilator-associated pneumonia in critically ill patients*. *Ann Intern Med*. 1998;129:433-40.
7. Park DR. *The microbiology of ventilator-associated pneumonia*. *Respir Care*. 2005 Jun;50(6):742-63; discussion 763-5. PMID: 15913466.

8. Heyland, DK, Cook DJ, Griffith L, et al. The attributable morbidity and mortality of ventilator-associated pneumonia in the critically ill patient. The canadian critical trials group. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999;159:1249-56
9. Luyt CE, Combes A, Trouillet JL, et al. Marqueurs sériques et alvéolaires de pneumonie acquise sous ventilation mécanique : pour qui, pourquoi, comment ? *Réanimation.* 2010;19:35-42.
10. Luyt CE, Chastre J, Fagon JY, et al. Value of the clinical pulmonary infection score for the identification and management of ventilator-associated pneumonia. *Intensive care Med.* 2004;30:844-5
11. Hayon J, Figliolini C, Combes A, et al. Role of serial routine microbiologic culture results in the initial management of ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;165:41-6.
12. Bouadma L, Luyt CE, Tubach F, et al. Use of procalcitonin to reduce patients' exposure to antibiotics in intensive care units (PRORATA trial): a multicentre randomised controlled trial. *Lancet.* 2010;375:463-741.
13. Chastre J, Wolff M, Fagon JY, et al. Comparison of 8 vs 15 days of antibiotic therapy for ventilator-associated pneumonia in adults: a randomized trial. *JAMA.* 2003;290:2588-98.
14. Luyt CE, Combes A, Trouillet JL, Chastre J. Value of the serum procalcitonin level to guide antimicrobial therapy for patients with ventilator-associated pneumonia. *Semin Respir Crit Care Med.* 2011;32:181-7
15. Roth GA, Abate D, Abate KH, et al. Global, regional, and national age-sex-specific mortality for 282 causes of death in 195 countries and territories, 1980-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet* 2018; 392: 1736–88.
16. Magill SS, Edwards JR, Bamberg W, et al. Multistate pointprevalence survey of health care-associated infections. *N Engl J Med* 2014; 370: 1198–208
17. Kalil AC, Metersky ML, Klompas M, et al. Management of adults with hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia: 2016 clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. *Clin Infect Dis.* 2016;63(5):e61–e111. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw353>.
18. Magill SS, O'Leary E, Janelle SJ, et al. Changes in prevalence of health care-associated infections in U.S. hospitals. *N Engl J Med.* 2018;379(18):1732–44. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1801550>.
19. Ibn Saied W, Mourvillier B, Cohen Y, et al. A comparison of the mortality risk associated with ventilator-acquired bacterial pneumonia and nonventilator ICU-acquired bacterial pneumonia. *Crit Care Med.* 2019;47(3):345–52. <https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000003553>.
20. Amin, A.N., E.A. Cerceo, S.B. Deitelzweig, J.C. Pile, D.J. Rosenberg, and B.M. Sherman. 2014. The hospitalist perspective on treatment of community-acquired bacterial pneumonia. *Postgrad. Med.* 126:18–29.

21. Alvarez-Lerma, F. 1996. Modification of empiric antibiotic treatment in patients with pneumonia acquired in the intensive care unit. ICU-Acquired Pneumonia Study Group. *Intensive Care Med.* 22:387–394.
22. Rello, J., M. Gallego, D. Mariscal, R. Sonora, and J. Valles. 1997. The value of routine microbial investigation in ventilator-associated pneumonia. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 156:196–200.
23. Snyderman, D.R. 2012. Empiric antibiotic selection strategies for healthcare-associated pneumonia, intraabdominal infections, and catheter-associated bacteremia. *J. Hosp. Med.* 7 Suppl 1:S2–S12.
24. Dickson RP, Erb-Downward JR, Martinez FJ, Huffnagle GB. The microbiome and the respiratory tract. *Annu Rev Physiol* 2016; 78: 481–504.
25. Segal LN, Clemente JC, Tsay J-CJ, et al. Enrichment of the lung microbiome with oral taxa is associated with lung inflammation of a Th17 phenotype. *Nat Microbiol* 2016; 1: 996–
26. Charlson ES, Bittinger K, Haas AR, Fitzgerald AS, Frank I, Yadav A, Bushman FD, Collman RG. Topographical Continuity of Bacterial Populations in the Healthy Human Respiratory Tract. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* [En ligne]. 15 oct 2011 [cité le 4 oct 2022];184(8):957-63. Disponible : <https://doi.org/10.1164/rccm.201104-0655oc>
27. Roquilly A, Torres A, Villadangos JA, Netea MG, Dickson R, Becher B, Asehnoune K. Pathophysiological role of respiratory dysbiosis in hospital-acquired pneumonia. *The Lancet Respiratory Medicine* [En ligne]. Août 2019 [cité le 4 oct 2022];7(8):710-20. Disponible : [https://doi.org/10.1016/s2213-2600\(19\)30140-7](https://doi.org/10.1016/s2213-2600(19)30140-7)
28. Beura LK, Hamilton SE, Bi K, et al. Normalizing the environment recapitulates adult human immune traits in laboratory mice. *Nature* 2016; 532: 512–16.
29. Brestoff JR, Artis D. Commensal bacteria at the interface of host metabolism and the immune system. *Nat Immunol* 2013; 14: 676–84
30. Dubois, V., C. Arpin, M. Melon, B. Melon, C. Andre, C. Frigo, and C. Quentin. 2001. Nosocomial outbreak due to a multiresistant strain of *Pseudomonas aeruginosa* PHRATES trial (Evaluating the Use of Polymyxin B Hemoperfusion in a Randomized controlled trial of Adults Treated for Endotoxemia and Septic shock): study protocol for a randomized controlled trial. *Trials* 15:218
31. Weber DJ, Rutala WA, Sickbert-Bennett EE, et al. Microbiology of ventilator-associated pneumonia compared with that of hospital-acquired pneumonia. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2007;28:825-31.

## **B. LES RESISTANCES BACTERIENNES**

### **1. INTRODUCTION**

La prévalence croissante des infections dues aux bactéries gram-négatives multirésistantes (BMR *ou multi-drug resistant*, MDR) constitue une menace grave pour la santé publique mondiale en raison d'options de traitement limitées et de la lenteur historique de développement de nouveaux agents antimicrobiens.

L'utilisation croissante d'antibiotiques à large spectre (comme les carbapénèmes) de façon probabiliste en réponse à cette émergence de résistances, y compris très courte (1 à 3 jours), est finalement associée à un risque plus élevé de sélection de mutants résistants chez les patients traités, et donc entretient cette augmentation des résistances(51, 52, 45).

Les pneumonies associées aux soins de réanimation étant responsables de 50% de la consommation d'antibiotiques en réanimation, il est critique de développer des approches permettant de limiter l'utilisation inadéquate d'antibiotiques à large spectre en réanimation pour freiner l'émergence de résistances (33, 34).

A cette tendance de fond d'émergence de bactéries MDR, l'épidémie de SARS COV 2 récente a ajouté une augmentation de la prévalence de SDRA en réanimation ainsi que des durées de ventilation, multipliant le risque de PAVM et le temps d'exposition aux antibiotiques.

### **2. EPIDEMIOLOGIE**

#### **a) QUELQUES CHIFFRES**

##### **(1) DANS LE MONDE :**

Les infections dues aux souches de bactéries multirésistantes (BMR) sont associées à une augmentation de la morbidité et de la mortalité ainsi qu'un allongement des durées d'hospitalisation. Il en résulte une charge significative sur les systèmes de santé (réf 34).

Ces dernières années, le taux de BMR chez les patients hospitalisés atteints de pneumonie a augmenté de façon spectaculaire (réf 38, 36, 39, 47). Leur prévalence varie d'un hôpital à un autre et selon la population étudiée le monitoring des données de surveillance locales est indispensable (réf 33).

Les pathogènes MDR le plus courants causant les pneumopathies acquises à l'hôpital sont le *Pseudomonas aeruginosa*, les souches MDR de *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Acinetobacter spp* et *E. coli* (33).

Les données du programme de surveillance Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) ont montré que l'incidence mondiale des isolats producteurs de BLSE d'*E. coli* est passée de 9,2 % en 2002 à 21,2 % en 2010 ( 44).



Parmi les souches d'*A. baumannii*, les taux de résistance aux carbapénèmes (doripénèmes) ont été signalés comme étant en augmentation en Europe ; en 2011, plus de 50 % des isolats dans 4 pays d'Europe (Italie, Grèce, Espagne et Portugal) étaient résistants aux carbapénèmes (45).

Aux États-Unis, une étude a montré que près de 20 % des agents pathogènes de toutes les infections nosocomiales déclarées possédaient un phénotype MDR (39).

## (2) EN FRANCE

D'après les données du réseau REA RAISON de 2017 évaluant les infections nosocomiales dans 199 réanimations de 174 établissements pour un total de 68 581 patients, les entérobactéries présentaient comme taux de résistance :

4. 66 % à l'Augmentin (Amoxicilline-acide clavulanique).
5. 28 % aux Céphalosporines de 3<sup>e</sup> génération (C3G)
6. 18% exprimaient une bêta-lactamase de spectre étendu (BLSE).

Micro-organisme	Indicateur	n	n'	%
<i>Staphylococcus aureus</i> (1 595)	Oxacilline	1 570	248	15,8
	Glycopeptides	1 503	3	0,2
	PanR probable	1 518	2	0,1
	PanR confirmé	1 518	2	0,1
<i>Enterococcus faecalis</i> (410)	Ampicilline	383	29	7,6
	Glycopeptides (ERG)	386	3	0,8
	PanR probable	385	0	0,0
	PanR confirmé	385	0	0,0
<i>Enterococcus faecium</i> (166)	Ampicilline	159	122	76,7
	Glycopeptides (ERG)	158	2	1,9
	PanR probable	159	0	0,0
	PanR confirmé	159	1	0,6
Entérobactéries (5 246)	Amoxicilline/acide clavulanique	5 102	3 371	66,1
	Céphalosporine 3 <sup>e</sup> génération	5 113	1 445	28,3
	Carbapénème	5 049	78	1,5
	BLSE	5 044	902	17,9
	PanR probable	5 020	26	0,5
	PanR confirmé	5 020	5	0,1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (2 089)	Pipéracilline/tazobactam	2 049	573	28,0
	Ceftazidime	2 050	442	21,6
	Carbapénème	2 044	401	19,6
	Colistine	1 459	43	2,9
	PanR probable	2 015	32	1,6
	PanR confirmé	2 015	9	0,4
<i>Acinetobacter baumannii</i> (187)	Ceftazidime	182	74	40,7
	Carbapénème	183	44	24,0
	Colistine	129	9	7,0
	PanR probable	181	5	2,8
	PanR confirmé	181	5	2,8

10. Réseau REA RAISON 2017, santé publique France, surveillance des infections nosocomiales en France (<https://www.youtube.com/watch?v=Nlr6-W6CQZ4&list=PLuyY2Yw-mIQDoUZrgVcaxzSlzVG49exl>), consultée le 25/09/2022).

Ce réseau a également montré que la prévalence de résistances chez les entérobactéries a connu une forte augmentation dans le début des années 2000, avant d'atteindre un plateau depuis 2014.

Micro-organisme	Marqueur antibiotique	Pourcentage de résistance dans l'espèce												
		2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Entérobactéries	C3G	17,2	20,3	20,2	19,9	23,7	27,1	45,4	38,8	35,9	32,9	31,0	28,4	28,3
	BLSE	9,9	6,8	13,2	12,3	13,9	18,4	19,1	17,5	21,4	18,3	17,8	16,8	17,9
	impipénème	-	-	-	-	-	-	2,4	2,4	1,6	1,6	1,0	1,8	1,5

11. Réseau REA RAISON 2017, santé publique France, surveillance des infections nosocomiales en France (<https://www.youtube.com/watch?v=Nlr6-W6CQZ4&list=PLuyY2Yw-mIQDoUZrgVcaxzSllzVG49exl>, consultée le 25/09/2022).

#### b) FACTEURS FAVORISANT L'ÉMERGENCE DE RESISTANCE

Les facteurs qui ont contribué à la persistance et à la propagation de bactéries gram-négatives multi résistantes sont multiples.

- la prescription excessive d'agents antimicrobiens existants, même très courte, entraînant le développement de mécanismes de résistance adaptative par les bactéries.
- un défaut de gestion raisonnée des antimicrobiens, notamment l'utilisation inadéquate de plusieurs agents à large spectre a contribué à perpétuer le cycle de résistance croissante.
- Des causes non liées à la médecine humaine comme l'utilisation massive d'antibiotique en médecine vétérinaire dans certains élevages (36, 38, 39, 47, 48, 49, 50, 51, 52).

#### c) FACTEURS DE RISQUE

De nombreux facteurs de risque sont associés à la survenue d'infection par des organismes résistants (48, 49, 50), notamment :

- Un traitement antimicrobien antérieur, de surcroît un agent à large spectre, dans les 90 jours précédents
- Une hospitalisation en cours, depuis 5 jours ou plus
- Une forte prévalence d'organismes résistants dans l'hôpital
- Un traitement immunosuppresseur
- Une hospitalisation d'au moins 2 jours dans les 90 jours précédents
- Un séjour en maison de repos ou séjour en établissement de soins de longue durée
- Une dialyse chronique dans les 30 jours précédents
- Des soins de plaie à domicile ou une thérapie par perfusion intraveineuse
- Un membre de la famille porteur d'agent pathogène résistant
- Une anomalie structurelle des bronches (BPCO sévère, dilatation des bronches, mucoviscidose)
- Un voyage récent en zone d'endémie de résistance bactérienne.

### 3. RESISTANCES DES PRINCIPAUX GERMES RESPONSABLES DE PAVM

Les mécanismes impliqués dans le développement de la résistance antimicrobienne peuvent être naturels ou acquis.

Les résistances naturelles découlent de caractéristiques spécifiques d'un micro-organisme, telles que la composition d'une membrane à faible perméabilité et/ou la possession de pompes d'efflux constitutifs pour limiter la pénétration des agents antimicrobiens. Elles sont toujours chromosomiques et définissent le phénotype sauvage de la bactérie, un phénotype stable (transmission verticale).

Les résistances acquises peuvent résulter d'une mutation chromosomique ; les bactéries mutant de manière naturelle. Il s'agit d'évènements rares ( $10^6$  à  $10^9$ ) mais possible en cas d'inoculum élevé. La mutation sera stable donc transmise à la descendance mais pas aux autres espèces. Il existe un risque de sélectionner ce mutant résistant par pression antibiotique.

Un autre type de résistance peut naître via l'acquisition de nouveaux gènes par incorporation de matériel génétique, tel que des plasmides ou des transposons, porteurs de gènes de résistances. Les plasmides sont des éléments génériques pouvant se transmettre au sein d'une même espèce mais également entre 2 espèces différentes, transférant ainsi le mécanisme de résistances (enzymatique en général). De plus un plasmide peut porter plusieurs gènes de résistance et entraîner des co-résistances

Les mécanismes de résistance les plus couramment retrouvés chez les bactéries gram-négatives comprennent :

- La production de diverses enzymes beta-lactamases inactivatrices (BLSE)
- L'imperméabilité par la diminution de l'afflux d'agents antimicrobiens dans l'organisme en raison d'une réduction du nombre de canaux d'entrée des protéines qui facilitent leur absorption
- Le phénomène d'efflux en raison d'une surexpression de pompes membranaires évacuant l'antibiotique du cytoplasme de la cellule
- La modification de la protéine bactérienne ciblée par l'antibiotique.

#### a) LES ENTEROBACTERIES

Nous avons vu plus haut dans la partie physiopathologie (7) que les entérobactéries sont responsables de la majeure partie des PAVM. Ces entérobactéries sont des bacilles gram négatif classés en 6 catégories en fonction de leurs résistances naturelles.

<b>Groupe 0</b>	Absence de bêta-lactamase	<i>Salmonella</i> <i>Proteus mirabilis</i>
<b>Groupe I</b>	Céphalosporinase non exprimée	<i>E. coli</i> , <i>Shigella</i>
<b>Groupe II</b>	Pénicillinase chromosomique (bas niveau)	( <i>Klebsiella</i> , sauf <i>K. aerogenes</i> ), <i>C. koseri</i>
<b>Groupe III</b>	Céphalosporinase inductible	<i>Enterobacter</i> , <i>Morganella</i> , <i>C. freundii</i> , <i>Hafnia</i> , <i>Serratia</i> , <i>Providencia</i> <i>K. aerogenes</i>
<b>Groupe IV</b>	Pénicillinase + Céphalosporinase	<i>Yersinia</i> , <i>Serratia fonticola</i>
<b>Groupe V</b>	Céfuroximase	<i>Proteus vulgaris</i> , <i>P. penneri</i>

12. *Resistance naturelle des Entérobactéries aux beta-lactamines (Laurence Armand Lefèvre DURPI 2022 <https://www.youtube.com/watch?v=Nlr6-W6CQZ4&list=PLuyY2Yw-mIQDoUZrgVcaxzSllzVG49exl>, consultée le 05/09/2022)*

Les entérobactéries du groupe 0 comme *Proteus mirabilis* ou *Salmonella* ne possèdent pas de bêta-lactamase et sont donc à l'état sauvage sensible à la plupart des pénicillines.

Les entérobactéries du groupe 1 comme *E. coli* et *Shigella* possèdent une Céphalosporinase mais celle-ci n'est pas exprimée. Elles sont donc également sensibles à la plupart des pénicillines.

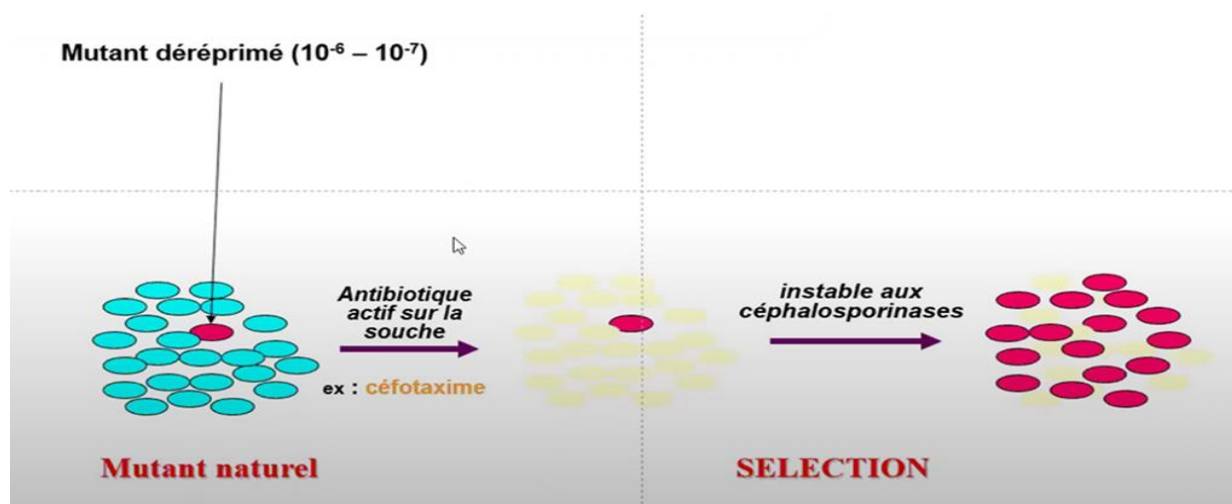
Les entérobactéries du groupe 2 comme *Citrobacter Koseri* possèdent une pénicillinase chromosomique de bas niveau les rendant résistantes à l'Amoxicilline et à la Ticarcilline, mais cette résistance est récupérée totalement par les inhibiteurs de pénicillinase comme l'Acide clavulanique ou le Tazobactam.

Les entérobactéries du groupe 3 comme les *Enterobacter*, le *Citrobacter freundii*, et les *Morganella*, possèdent une céphalosporinase inductible. Les céphalosporinases, à l'inverse des pénicillinases, ne touchent pas la ticarcilline. Mais elles ne sont pas récupérées par les inhibiteurs.

La notion d'inductibilité est une notion complexe dont l'impact clinique est pour l'instant uniquement suspecté. La présence d'antibiotique va induire l'activité de la céphalosporinase chez les bactéries du groupe 3. Cette induction est réversible, à l'ablation de la céphalosporine, la bactérie retrouve son antibiogramme de base. Cette céphalosporinase inductible n'hydrolyse pas le CEFEPIME ce qui en fait un antibiotique de choix contre les entérobactéries du groupe 3.

En effet lors d'une infection à inoculum élevé, il est possible qu'une des bactérie de l'inoculum est une mutation sur cette céphalosporinase conduisant à son expression en dehors de toute antibiothérapie, on parle de céphalosporinase dérprimée.

Le CEFEPIME qui reste actif sur cette céphalosporinase dérprimée, permettra d'éviter de sélectionner ce mutant résistant.



13. Principe de sélection d'un mutant résistant par l'antibiothérapie (Laurence Armand Lefèvre DURPI 2022, <https://www.youtube.com/watch?v=Nlr6-W6CQZ4&list=PLuyY2Yw-mIQDoUZrqVcaxzSllzVG49exl>, consultée le 05/09/2022)

Les entérobactéries du groupe 4 comme *Yersinia* possèdent à la fois une céphalosporinase et une pénicillinase.

Les Entérobactéries du groupe 5 comme *Proteus vulgaris* possèdent une forme mixte entre une céphalosporinase et pénicillinase, il s'agit d'une céphalosporinase récupérée par l'acide clavulanique. Cette enzyme hydrolyse fortement le Cefuroxime, on parle de cefuroximase.

**b) PSEUDOMONAS AERUGINOSA**

Le *Pseudomonas aeruginosa* est un BGN possédant de multiples résistances à l'état sauvage, via 3 principaux mécanismes :

- Une résistance enzymatique via une céphalosporinase inductible similaire aux entérobactéries du groupe 3.
- Une perméabilité médiocre empêchant l'entrée des antibiotiques dans le cytoplasme de la bactérie.
- Un système d'efflux permettant d'éliminer les antibiotiques ayant réussi à pénétrer dans le cytoplasme du *Pseudomonas*.

Par conséquent cette bactérie est naturellement résistante aux antibiotiques suivants : AMXOCILLINE, AUGMENTIN, C1G C2G, CEFOXITINE et CEFOTAXIME.

**c) STAPHYLOCOCCUS AUREUS**

Le *Staphylococcus aureus* est un Cocci gram positif fréquemment impliqué dans les PAVM. La souche sauvage est habituellement sensible aux bêta-lactamines(notamment la Cefazoline). Ce germe peut acquérir une mutation sur le gène **Mec A/C** entraînant une modification de la cible des bêta-lactamines, en lien avec l'acquisition d'une protéine de liaison au pénicillines (PLP) exogène appelée « PLP2a », qui va donner une résistance à toutes les bêta-lactamines (sauf la Ceftaroline, une céphalosporine de 5<sup>ème</sup> génération C5G), on parle alors de staphylocoque résistant à la méticilline (SARM).

La prévalence du SARM en France est estimée à 12% d'après la surveillance de *l'atlas of epidemiologic diseases*, et est en diminution depuis 20 ans.

**Cette mutation est détectée par la PCR multiplex.**

**d) RESISTANCES ACQUISES, ENZYMATIQUES**

Ces résistances peuvent potentiellement être acquises par l'ensemble des bactéries évoquées ci-dessus.

**(1) PENICILLINASE DE BAS NIVEAU**

Les pénicillines de bas niveaux sont des enzymes qui hydrolysent l'Amoxicilline et la Ticarcilline, mais avec une récupération de l'efficacité par les inhibiteurs de pénicillines comme l'Acide clavulanique ou le Tazobactam.

Ces enzymes peuvent être présentes naturellement dans le génome d'une bactérie comme pour les entérobactéries du groupe 2 ou être acquises par mutation chromosomique ou plasmidique.

## **(2) PENICILLINASE DE HAUT NIVEAU**

Souvent acquises par un plasmide avec un promoteur fort, donc encore plus exprimées, les pénicillines de haut niveau sont moins bien restaurées par les inhibiteurs.

Les céphalosporines de 1<sup>er</sup> générations (C1G) sont également souvent touchées.

La famille de pénicillines la plus fréquemment rencontrée est la famille des TEM (pour Temoniera).

Les pénicillines peuvent muter et devenir résistantes aux inhibiteurs. C'est le cas des IRT (= TEM muté et résistant aux inhibiteurs). Une mutation peut alors transformer une pénicilline en BLSE (exemple TEM 24).

## **(3) IRT : INHIBITOR RESISTANCE TEM**

Les TRI, TEM résistante aux inhibiteurs, sont des pénicillines qui ont muté et cette mutation les a rendues résistantes aux inhibiteurs.

## **(4) CEPHALOSPORINASE HYPER PRODUITE**

Les céphalosporines hyper produites sont des céphalosporines synthétisées en quantité importante via différents mécanismes :

- Une hyperproduction, via, par exemple, une mutation de promoteur et donc une surexpression comme pour la mutation du promoteur de E. Coli (entérobactéries du groupe 1 possédant à l'état sauvage une céphalosporine non exprimé).
- Une dérégulation via la levée du mécanisme de rétrocontrôle des céphalosporines inductibles des entérobactéries du groupe 3 par une mutation chromosomique.

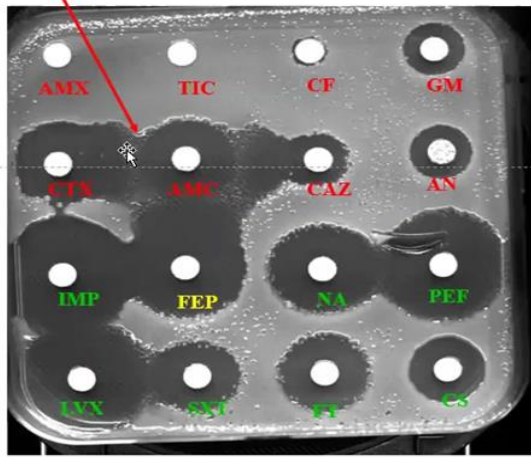
L'augmentation de production en quantité de céphalosporine va élargir le spectre de résistance à la Ticarcilline ainsi qu'aux C2G et aux C3G. On rappelle que les céphalosporines ne sont pas récupérées par les inhibiteurs.

Les C4G (CEFEPIME) restent actives sur les céphalosporines dérégulées.

## **(5) BETA LACTAMASE A SPECTRE ELARGIE**

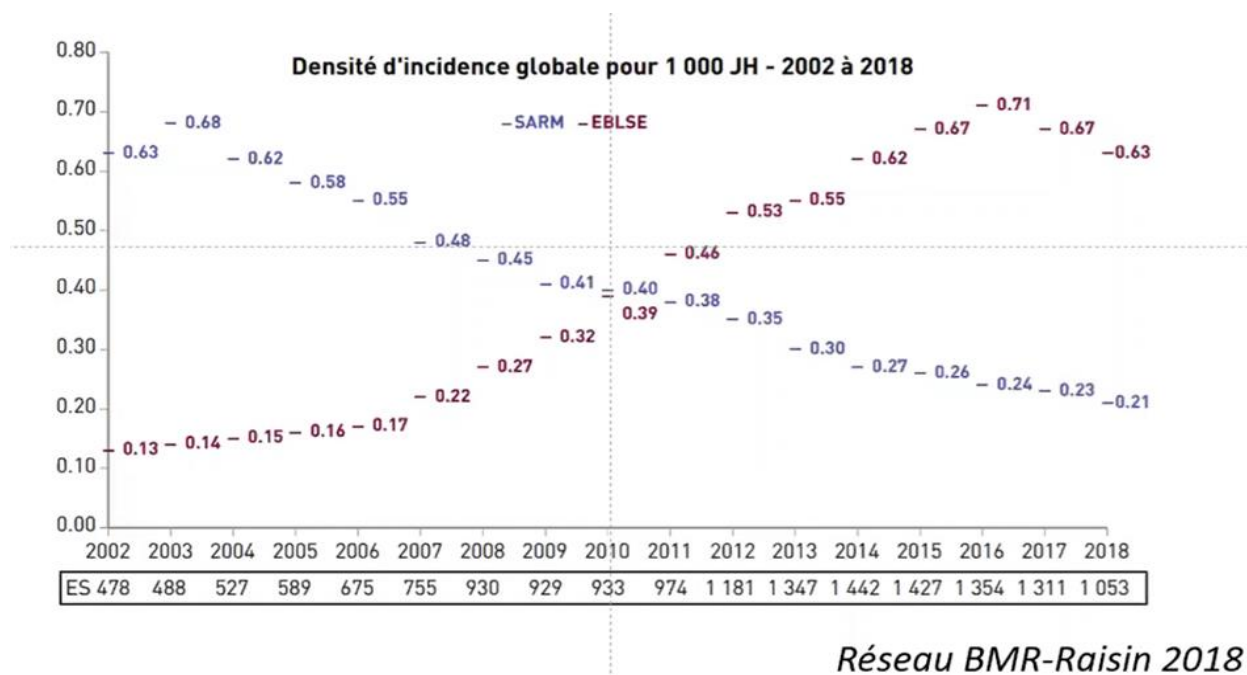
Une BLSE est une pénicilline de haut niveau qui a élargi son spectre aux C3G/C4G épargnant la Cefoxitine. Les BLSE sont rattrapées par les inhibiteurs de bêta-lactamase mais de façon variable.

Sur l'antibiogramme l'image en « bouchon de champagne » est caractéristique, il s'agit d'une image de synergie entre une C3G et un inhibiteur.



14. Image en bouchon de champagne d'un antibiogramme de BLSE (Laurence Armand Lefèvre DURPI 2022, <https://www.youtube.com/watch?v=Nlr6-W6CQZ4&list=PLuyY2Yw-mIQDoUZrgVcaxzSllzVG49exl> consultée le 06/09/2022)

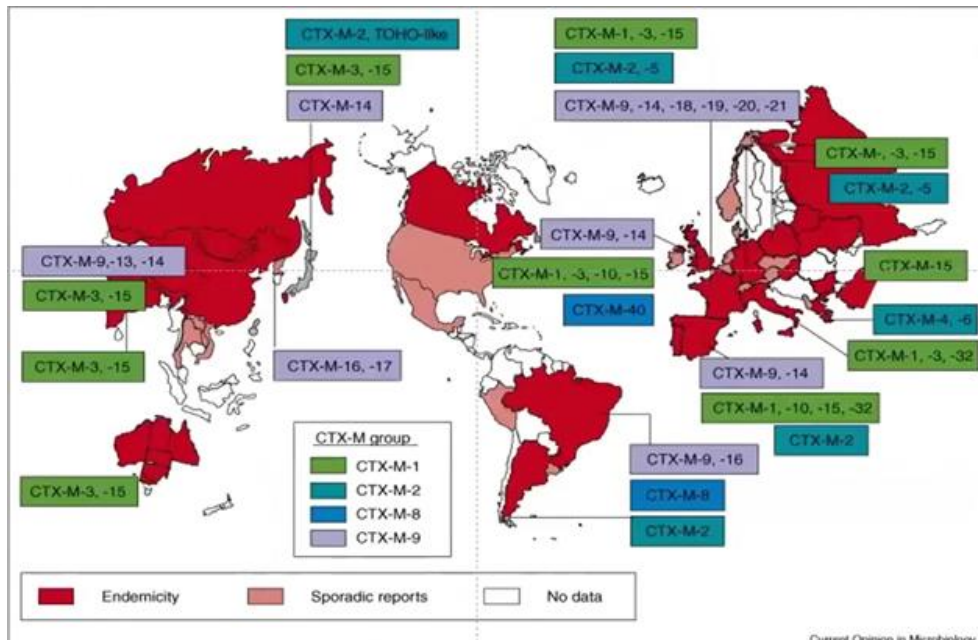
Les BLSE ont connu, en France, une forte augmentation depuis le début des années 2000 avec une impression de plateau depuis 2-3 ans, d'après le réseau RAISIN de 2018.



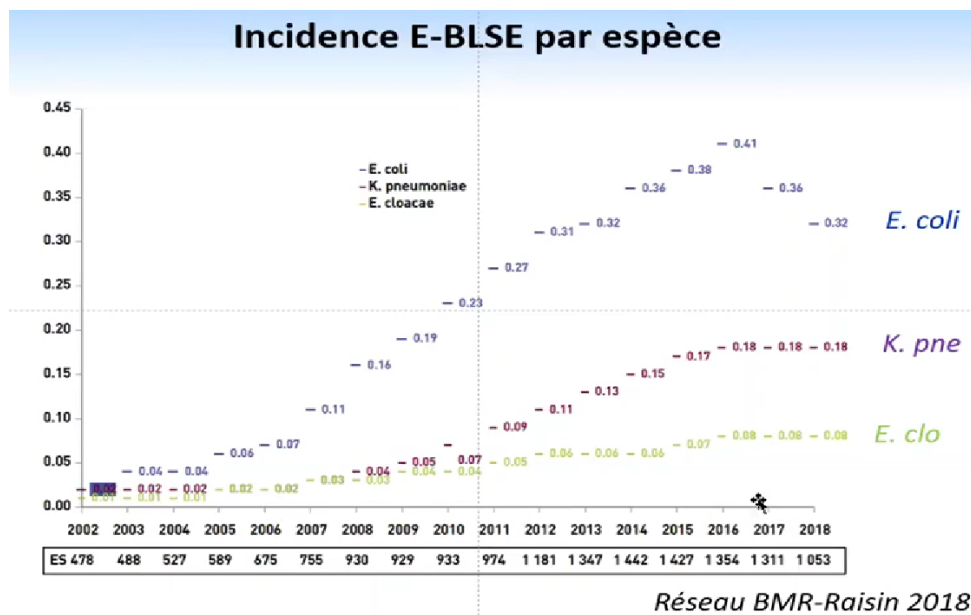
Réseau BMR-Raisin 2018

15. Densité d'incidence SARM et BLSE pour 1000 journée d'hospitalisation en France d'après le réseau BMR raison de 2018 (<https://www.youtube.com/watch?v=Nlr6-W6CQZ4&list=PLuyY2Yw-mIQDoUZrgVcaxzSllzVG49exl>, consultée le 25/09/2022)

Cette augmentation est en partie liée à l'arrivée en 2006 d'une nouvelle BLSE CTX-M (Cefotaximase), notamment chez E. coli, une bactérie communautaire, et donc avec un fort risque de diffusion de résistance dans la communauté.



16. Epidémiologie CTX-M dans le monde d'après (Cantón R, Coque TM. *The CTX-M  $\beta$ -lactamase pandemic. Current Opinion in Microbiology* [En ligne]. Oct 2006 [cité le 4 oct 2022];9(5):466-75. Disponible : <https://doi.org/10.1016/j.mib.2006.08.011>.)



17. Incidence des entérobactéries BLSE par espèce en France d'après le réseau Raison (2018) (<https://www.youtube.com/watch?v=Nlr6-W6CQZ4&list=PLuyY2Yw-mIQDoUZrgVcaxzSllzVG49exl>, consultée le 25/09/2022)

*E. coli* est d'ailleurs d'après les données du réseau RAISIN de 2018 la bactérie la plus porteuse de BLSE en France, suivie par *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter cloacae*.

**La BLSE CTX-M est détectée par la PCR multiplex.**

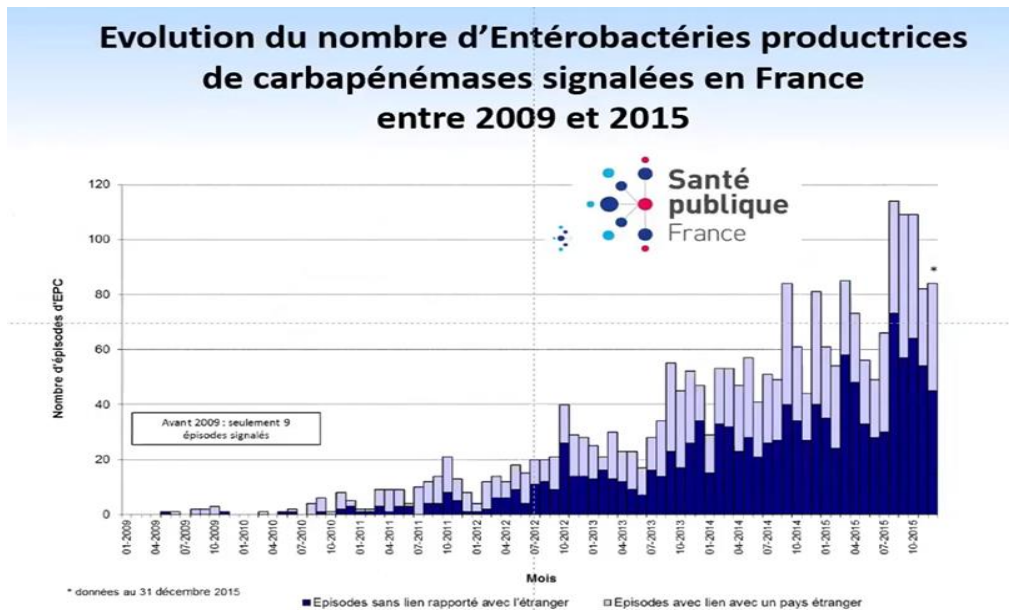
En termes d'antibiothérapie, le CEFTAZIDIME-AVIBACTAM est très efficace, tandis que le CEFTOLOZANE TAZOBACTAM a une activité plus variable sur les BLSE.



(6)

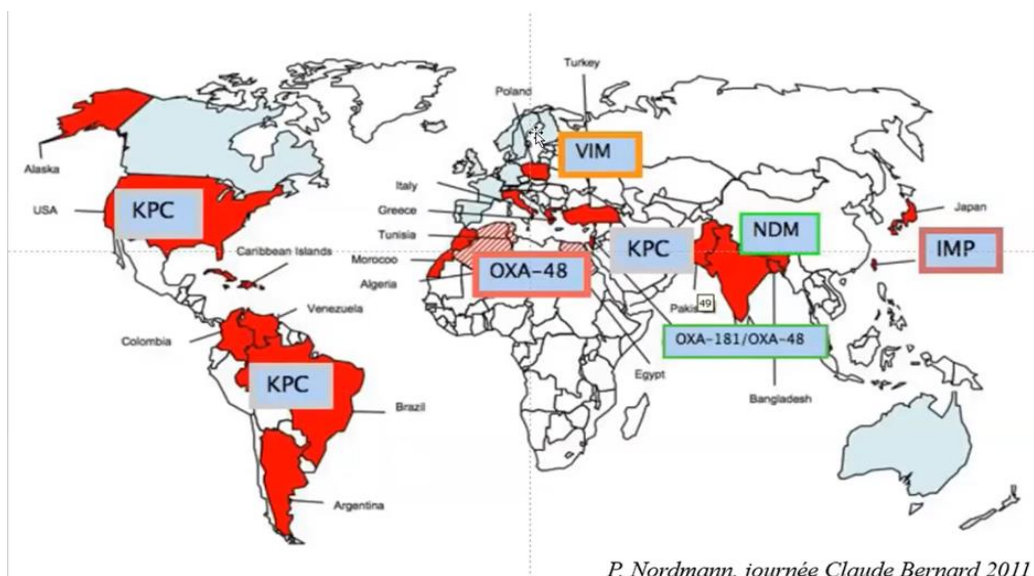
**CARBAPENEMASES :**

En France, la prévalence des carbapénèmases est en augmentation progressive (Santé Publique France).



18. Evolution du nombre de carbapénèmase en France entre 2009 et 2015 (santé publique France) (<https://www.youtube.com/watch?v=Nlr6-6CQZ4&list=PLuyY2Yw-mIQDoUZrqVcaxzSlzVG49exl>, consultée le 25/09/2022)

Elles sont majoritairement de type OXA-48, ceci en partie lié à nos relations avec le Maghreb, suivie des types NDM.

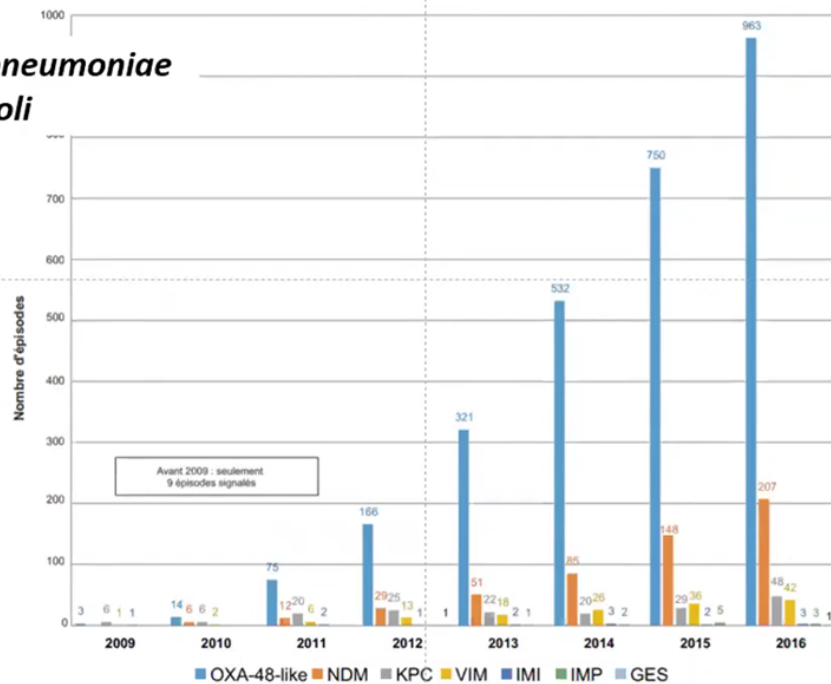


19. Répartition des carbapénèmases dans le monde en fonction de leur classe. (Cantón R, Coque TM. The CTX-M  $\beta$ -lactamase pandemic. *Current Opinion in Microbiology* [En ligne]. Oct 2006 [cité le 4 oct 2022];9(5):466-75. Disponible : <https://doi.org/10.1016/j.mib.2006.08.011>)

Elles sont portées dans 54% des cas par *K pneumoniae* et dans 34% des cas par *E. coli*

## La situation en France en sept 2016

54% *K. pneumoniae*  
34% *E. coli*



20. Répartition des carbapénèmases par classes en France (santé publique France) (<https://www.youtube.com/watch?v=Nlr6-W6CQZ4&list=PLuyY2Yw-mIQDoUZrgVcaxzSllzVG49exl>, consultée le 25/09/2022)

En France, dans les réanimations, 1.5% des entérobactéries sont résistantes aux carbapénèmes.

Entérobactéries	(5 248)	Amoxicilline/acide clavulanique	5 102	3 371	66,1
		Céphalosporine 3 <sup>e</sup> génération	5 113	1 445	28,3
		Carbapénème	5 049	78	1,5
		BLSE	5 044	902	17,9
		PanR probable	5 020	26	0,5
		confirmé	5 020	5	0,1

21. Réseau REA RAISIN 2017, Santé Publique France, surveillance des infections nosocomiales en France. (<https://www.youtube.com/watch?v=Nlr6-W6CQZ4&list=PLuyY2Yw-mIQDoUZrgVcaxzSllzVG49exl>, consultée le 25/09/2022)

Les carbapénèmases sont classées en 3 familles :

Les pénicillinases de classe A, comme par exemple la KPC de *Klebsiella pneumoniae*. Il s'agit d'une pénicillinase, qui n'hydrolyse pas la Cefoxitine, et qui est théoriquement récupérée par les inhibiteurs de pénicillinases. Cependant l'acide clavulanique et le Tazobactam ne sont pas assez puissants pour récupérer une efficacité antibactérienne sur les souches porteuses de KPC. Les seuls antibiotiques actifs sont donc le Cefiderocol (qui utilise les canaux fer pour augmenter sa concentration dans le cytoplasme) le Ceftazidime-Avibactam, et les carbapénèmes associé à un inhibiteur de pénicillinases.

**La mutation responsable du phénotype KPC est détectée par la PCR multiplex.**

Les métrallo-bêta-lactamase de classe B de la classification d'Ambler représentent une classe contenant uniquement des carbapénèmes de types VIM, IMP et NDM. Elles hydrolysent toutes les bêtalactamines à l'exception des monobactames, par conséquent l'antibiotique de choix est l'Aztreonam. Pourtant dans 98% des cas la carbapénémase est associée à une BLSE, il faut donc ajouter un inhibiteur, dans ce cas le Ceftazidime-Avibactam (une association aztreonam-avibactam serait efficace mais n'existe pas sur le marché).

**Les carbapénémases VIM, NDM, IMP sont détectées par la PCR multiplex.**

Les oxacillinasés de classe D de la classification d'Ambler, comme OXA-48 et les phénotypes oxa-48 like ont un spectre qui ne touche pas les C3G et C4G, mais dans 90% des cas elles sont associées à une BLSE. Ces enzymes sont très faiblement récupérées par les nouveaux inhibiteurs.

Par conséquent les antibiotiques à utiliser sont la CEFTAZIDIME en l'absence de BLSE, et le CEFTAZIDIME AVIBACTAM ou le CEFIDEROCOL en présence de BLSE.

C'est la carbapénémase la plus retrouvée en France.

**Oxa48 et Oxa48-like sont détectées par la PCR multiplex.**

Pour affirmer la présence d'une carbapénémase il faut toujours réaliser des tests supplémentaires à l'antibiogramme. En effet les résistances aux carbapénèmes sont souvent liées à une association de plusieurs mécanismes de résistances, plus qu'à une carbapénémase.

Méro +	Pénicillinasé bas niveau	Pénicillinasé haut niveau	IRT	BLSE	Céfalosporinasé bas niveau	Cefuroximasé	Céfalosporinasé hyperproduite	Carbapénémase
Amoxicilline	R	R	R	R	R	R	R	R
Amox. + ac. clav	S	I	R	S/I/R	R	S	R	R
Ticacilline	R	R	R	R	S	S	R	R
Ticar. + ac. clav	S	I	R	S/I/R	S	S	R	R
Pipéracilline	R	R	I/R	R	S	S	R	R
Piper. + tazobactam	S	S	I	S/I	S	S	R	R
Cefalotine (C1G)	S	I	S	R	R	R	R	R
Cefamandole (C2G)	S	S	S	R	I/R*	R	R	R
Cefuroxime (C2G)	S	S	S	R	I/R*	R	R	R
Cefotaxime (C3G)	S	S	S	I/R	S	S	R	R
Ceftazidime (C3G)	S	S	S	I/R	S	S	R	R
Cefepime (C4G)	S	S	S	I/R	S	S	S	R
Caz + avibactam	S	S	S	S	S	S	S	S/I/R
Ceftolozane + tazo	S	S	S	S/I	S	S	S/I	R
Cefoxitine	S	S	S	S	S/I/R*	S	R	R
Aztréonam	S	S	S	I/R	S	S	R	I/R
Imipénème	S	S	S	S	S	S	S	I/R
Méropénème	S	S	S	S	S	S	S	I/R
Imi + relebactam								S/I/R
Méro + vaborbactam								S/I/R
Cefiderocol	S	S	S	S	S	S	S	S

22. Tableau récapitulatif des résistances enzymatiques acquises (Laurence Armand Lefèvre DURPI 2022 <https://www.youtube.com/watch?v=Nlr6-W6CQZ4&list=PLuyY2Yw-mIQDoUZrgVcaxzSllzVG49exl> consultée le 06/09/2022).

**e) AUTRE RESISTANCE ACQUISE : EXEMPLE DU PSEUDOMONAS AERUGINOSA**

En 2017 le réseau RAISIN avait décrit que les *Pseudomonas aeruginosas* responsables d'infections liée aux soins en réanimation étaient résistant :

- A la TAZOCILLINE dans 28% des cas
- A la CEFTAZIDIME dans 21.6% des cas
- Aux CARBAPENEMES dans 19.6% des cas.

Ce réseau a également montré que l'incidence de ces résistances est stable depuis ces dernières années.

Micro-organisme	Indicateur	n	n'	%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (2 089)	Pipéracilline/tazobactam	2 049	573	28,0
	Ceftazidime	2 050	442	21,6
	Carbapénème	2 044	401	19,6
	Colistine	1 459	43	2,9
	PanR probable	2 015	32	1,6
	confirmé	2 015	9	0,4

**Résistance *P. aeruginosa***

- Pipera/tazobactam : **28,0%**
- Ceftazidime : **21,6%**
- Carbapénème : **19,6%**
- Colistine : **2,6%**

### 23. Résistance du Pseudomonas Aeruginosa en réanimation en France (Réseau REA-Raison 2017, santé publique France

<https://www.youtube.com/watch?v=Nlr6-W6CQZ4&list=PLuyY2Yw-mIQDoUZrgVcaxzSllzVG49exl> consultée le 06/09/2022).

Micro-organisme	Marqueur antibiotique	Pourcentage de résistance dans l'espèce													
		2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	
<i>P. aeruginosa</i>	Pipé/tazobactam													28,3	28,0
<i>P. aeruginosa</i>	ceftazidime	22,6	23,3	20,7	22,5	18,2	18,2	28,3	23,6	20,8	17,1	18,7	19,4	21,6	
<i>P. aeruginosa</i>	imipénème	-	-	-	-	-	-	22,6	23,4	24,6	19,7	18,4	23,3	19,6	
<i>P. aeruginosa</i>	colistine													2,6	2,9

### 24. Evolution des résistances du Pseudomonas Aeruginosa en réanimation en France (Réseau REA-Raison 2017,santé publique France

<https://www.youtube.com/watch?v=Nlr6-W6CQZ4&list=PLuyY2Yw-mIQDoUZrgVcaxzSllzVG49exl> consultée le 06/09/2022)

La particularité de Pseudomonas aeruginosa est sa faculté à acquérir des mécanismes de résistance multiples, additifs, rendant régulièrement la prise en charge thérapeutique des patients complexe.

Tous les mécanismes de résistance enzymatique vus précédemment peuvent en effet être acquis par le Pseudomonas aeruginosa. Ce dernier peut également développer des résistances à certains antibiotiques par la synthèse de pompes à efflux permettant de faire sortir l'antibiotique du cytoplasme de la bactérie. De plus, il peut acquérir des résistances par mécanisme d'imperméabilité. C'est le cas de la mutation de la porine D2, qui va empêcher l'antibiotique d'entrer dans la bactérie (mécanisme de résistance aux carbapénèmes le plus fréquent du Pseudomonas qui est retrouvé chez 85% des Pseudomonas aeruginosas résistants aux carbapénèmes)

Elle touche beaucoup plus l'Imipénème que le Méropénème.

**Il n'existe à l'heure actuelle pas de technique PCR permettant d'identifier la mutation de la porine D2 ainsi que les mutations surexprimant les pompes à efflux.**

Référence :

32. Torres A, Niederman MS, Chastre J, Ewig S, Fernandez-Vandellos P, Hanberger H, Kollef M, Li Bassi G, Luna CM, Martin-Loeches I, Paiva JA, Read RC, Rigau D, Timsit JF, Welte T, Wunderink R. *International ERS/ESICM/ESCMID/ALAT guidelines for the management of hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia. European Respiratory Journal [En ligne]. Sep 2017 [cité le 4 oct 2022];50(3):1700582. Disponible : <https://doi.org/10.1183/13993003.00582-2017>*
33. Kalil AC, Metersky ML, Klompas M, Muscedere J, Sweeney DA, Palmer LB, Napolitano LM, O'Grady NP, Bartlett JG, Carratalà J, El Solh AA, Ewig S, Fey PD, File TM, Restrepo MI, Roberts JA, Waterer GW, Cruse P, Knight SL, Brozek JL. *Management of Adults With Hospital-acquired and Ventilator-associated Pneumonia : 2016 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. Clinical Infectious Diseases [En ligne]. 14 juil 2016 [cité le 4 oct 2022];63(5):e61-e111. Disponible : <https://doi.org/10.1093/cid/ciw353>*
34. *Guidelines for the Management of Adults with Hospital-acquired, Ventilator-associated, and Healthcare-associated Pneumonia. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine [En ligne]. 15 fév 2005 [cité le 4 oct 2022];171(4):388-416. Disponible : <https://doi.org/10.1164/rccm.200405-644st>*
35. Cerceo E, Deitelzweig SB, Sherman BM, Amin AN. *Multidrug-resistant gram-negative bacterial infections in the hospital setting: overview, implications for clinical practice, and emerging treatment options. Microb Drug Resist 2016; 22: 412–31.*
36. Giacobbe DR, Karaiskos I. *Stewardship of Antibiotics for Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacteria. Antibiotics [En ligne]. 24 avril 2020 [cité le 4 oct 2022];9(4):206. Disponible : <https://doi.org/10.3390/antibiotics9040206>*
37. *Fraimow, H., and R. Nahra. 2013. Resistant gramnegative infections. Crit. Care Clin. 29:895–9*
38. *Kallen, A.J., and A. Srinivasan. 2010. Current epidemiology of multidrug-resistant gram-negative bacilli in the United States. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 31Suppl 1:S51–S54*
39. *O'Fallon, E., A. Pop-Vicas, and E. D'Agata. 2009. The emerging threat of multidrug-resistant gram-negative organisms in long-term care facilities. J. Gerontol. A Biol.Sci. Med. Sci. 64:138–141*
40. *Weiner LM, Webb AK, Limbago B, Dudeck MA, Patel J, Kallen AJ, Edwards JR, Sievert DM. 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. Infection Control & Hospital Epidemiology [En ligne]. 30 août 2016 [cité le 4 oct 2022];37(11):1288-301. Disponible : <https://doi.org/10.1017/ice.2016.174>*
41. *Tacconelli E, Cataldo MA, Dancer SJ, De Angelis G, Falcone M, Frank U, Kahlmeter G, Pan A, Petrosillo N, Rodríguez-Baño J, Singh N, Venditti M, Yokoe DS, Cookson B. ESCMID guidelines for the management of the infection control measures to reduce transmission of multidrug-resistant Gram-negative bacteria in hospitalized patients. Clinical Microbiology and Infection [En ligne]. Jan 2014 [cité le 4 oct 2022];20:1-55. Disponible : <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12427>*

42. Castanheira, M., S.E. Farrell, K.M. Krause, R.N.Jones, and H.S. Sader. 2014. Contemporary diversity of beta-lactamases among Enterobacteriaceae in the nine U.S. census regions and ceftazidime-avibactam activity tested against isolates producing the most prevalent beta lactamase groups. *Antimicrob. Agents Chemother.* 58:833–838.
43. Hawser, S.P., R.E. Badal, S.K. Bouchillon, D.J. Hoban, D.J. Biedenbach, R. Canton, and D.L. Paterson. 2013. Monitoring the global in vitro activity of ertapenem against *Escherichia coli* from intra-abdominal infections: SMART 2002–2010. *Int. J. Antimicrob. Agents* 41:224–228.
44. Castanheira, M., S.E. Costello, L.N. Woosley, L.M. Deshpande, T.A. Davies, and R.N. Jones. 2014. Evaluation of clonality and carbapenem resistance mechanisms among *Acinetobacter baumannii*-*Acinetobacter calcoaceticus* complex and Enterobacteriaceae isolates collected in European and Mediterranean countries and detection of two novel beta-lactamases, GES-22 and VIM35. *Antimicrob. Agents Chemother.*
45. Bassetti M, Righi E, Vena A, Graziano E, Russo A, Peghin M. Risk stratification and treatment of ICU-acquired pneumonia caused by multidrug-resistant/ extensively drug-resistant/pandrug-resistant bacteria. *Curr Opin Crit Care.* 2018;24(5):385–93. <https://doi.org/10.1097/MCC.0000000000000534>.
46. Bergmans DC, Bonten MJ, Gaillard CA, et al. Indications for antibiotic use in ICU patients: a one-year prospective surveillance. *J Antimicrob Chemother.* 1997;39(4):527–35. <https://doi.org/10.1093/jac/39.4.527>.
47. Barbier F, Andremont A, Wolff M, Bouadma L. Hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia: recent advances in epidemiology and management. *Curr Opin Pulm Med.* 2013;19(3):216–28. <https://doi.org/10.1097/MCP.0b013e32835f27be>.
48. Trouillet JL, Chastre J, Vuagnat A, Joly-Guillou ML, Combaux D, Dombret MC, et al. Ventilator-associated pneumonia caused by potentially drug-resistant bacteria. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;157:531-9
49. Rello J, Sa-Borges M, Correa H, et al. Variations in etiology of ventilator-associated pneumonia across four treatment sites: implications for antimicrobial prescribing practices. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999;160:608-13
50. Dupont H, Mentec H, Sollet JP, Bleichner G. Impact of appropriateness of initial antibiotic therapy on the outcome of ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med.* 2001;27:355-62.
51. Leone M, Garcin F, Bouvenot J, et al. Ventilator-associated pneumonia: breaking the vicious circle of antibiotic overuse. *Crit Care Med.* 2007;35:379-85.
52. Ruiz M, Ewig S, Marcos MA, et al. Etiology of community-acquired pneumonia: impact of age, comorbidity, and severity. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 397–405.
53. Cerceo E, Deitelzweig SB, Sherman BM, Amin AN. Multidrugresistant gram-negative bacterial infections in the hospital setting: overview, implications for clinical practice, and emerging treatment options. *Microb Drug Resist* 2016; 22: 412–31.

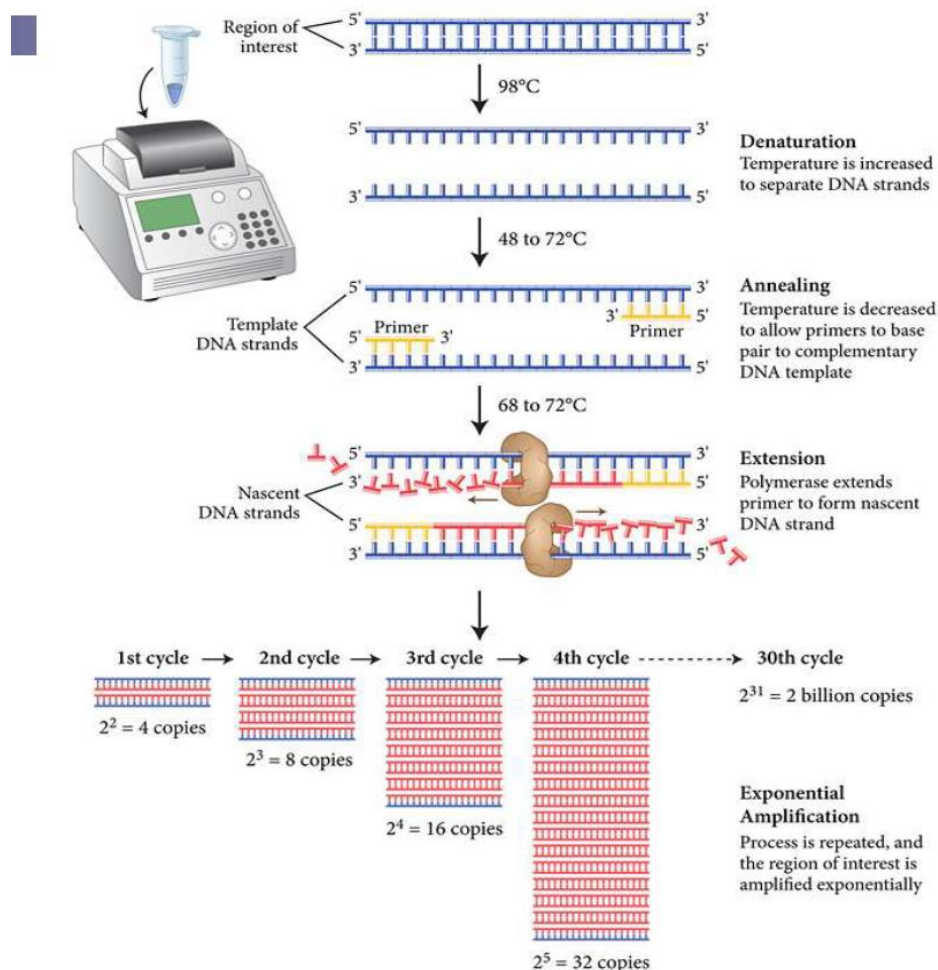
54. *Livermore DM. Current Epidemiology and Growing Resistance of Gram-Negative Pathogens. The Korean Journal of Internal Medicine [En ligne]. 2012 [cité le 4 oct 2022];27(2):128. Disponible : <https://doi.org/10.3904/kjim.2012.27.2.128>*
55. *Cantón R, Coque TM. The CTX-M  $\beta$ -lactamase pandemic. Current Opinion in Microbiology [En ligne]. Oct 2006 [cité le 4 oct 2022];9(5):466-75. Disponible : <https://doi.org/10.1016/j.mib.2006.08.011>*
56. *P Nordmann journée claude bernard 2011*

## C. UN NOUVEL OUTIL, LA PCR MULTIPLEX

Dans ce contexte, le diagnostic rapide des agents microbiologiques responsables des HAP et PAVM est une condition nécessaire pour une adéquation de l'antibiothérapie plus précoce, afin de limiter le risque de sélection de mutants résistants à l'échelle individuelle et collective. La PCR multiplex syndromique respiratoire sur liquide broncho-alvéolaire pourrait permettre cette identification accélérée grâce à une durée d'analyse de 4-5h entre le prélèvement et le rendu des résultats, afin d'optimiser le traitement antibiotique chez les patients graves et intubés.

### 1. POLYMERASE CHAIN REACTION DEFINITION

Pour rappel, la PCR (Polymerase Chain Reaction) ou amplification en chaîne par polymérase est une technique permettant de synthétiser in vitro un fragment d'acide nucléique donné (ADN cible) de façon exponentielle afin d'en obtenir une quantité suffisante pour le détecter (découverte en 1983 par Kary B. Mullis, prix Nobel de chimie en 1993).



25. Principe de la PCR (Laurence Armand, DURPI 2022  
<https://www.youtube.com/watch?v=Nlr6-W6CQZ4&list=PLuyY2Yw-mIQDoUZrgVcaxzSIzVG49exI> consultée le 08/09/2022 ).



## 2. UNE APPROCHE SYNDROMIQUE.

L'approche syndromique de la PCR multiplex permet, en utilisant plusieurs amorces (primers), la recherche simultanée de plusieurs dizaines de micro-organismes ainsi que de certaines de leurs résistances, le tout en en 1 à 5 heures.

Il s'agit d'un système totalement intégré (« 2 minutes of hands-on time ») avec de bonnes performances analytiques mais un coût important, d'environ 200 euros par examen.

### a) LA PCR THE FILMARRAY® DU LABORATOIRE BIOFIRE (BIOMERIEUX)

Au CHU de Grenoble les laboratoires de bactériologie et virologie utilisent spécifiquement le panel "pneumopathie" de la PCR syndromique respiratoire "The FilmArray®" du laboratoire Biofire (Biomérieux), qui permet la recherche des principaux micro-organismes responsables d'infection respiratoire avec notamment 18 bactéries (onze Gram négatif, quatre Gram positif et trois atypiques) et 7 résistances bactériennes (CTX-M, KPC, NDM, Oxa48-like, VIM, IMP, et MecA/C/MREJ), en 1h30 et pour un coût d'environ 200 euros.

Parmi les 18 bactéries, cette PCR permet de détecter :

#### Une entérobactérie du groupe 0 :

- *Proteus spp.*

#### Une entérobactérie du groupe 1 :

- *Escherichia coli*

#### 2 entérobactérie du groupe 2 :

- *Klebsiella pneumoniae.*
- *Klebsiella oxytoca*

#### 3 entérobactéries du groupe 3 :

- *Serratia marcesens.*
- *Enterobacter aerogenese.*
- *Enterobacter cloacae.*

#### Les germes les plus fréquemment responsables de pneumopathie communautaire :

- *Streptococcus pneumoniae*
- *Haemophilus influenza*
- *Mycoplasma pneumoniae*
- *Chlamydia pneumoniae*

#### Des germes potentiellement résistants rencontrés dans les PAVM

- *Staphylococcus aureus*
- *Acinetobacter baumannii*
- *Pseudomonas aeruginosa*

*Et enfin Legionella pneumophila, Moraxella catharalis et les Streptococcus pyogène et agalactiae sont également détectés.*

Parmi les 7 résistances, le panel "pneumopathie" de la PCR The Filmarray® permet la détection de :

- une BLSE : CTX-M.

- 5 carbapénèmases : VIM, NDM, IMP, KPC, OXA-48 like.
- la résistance à la méticilline du SARM par modification des PLP : Mec A et MREJ



## The FilmArray® Pneumonia Panel

Investigational Use Only

Sample Type: Sputum, Endotracheal Aspirate, and Bronchoalveolar Lavage

### Panel Menu

#### Bacteria

##### Semi-Quantitative Bacteria

*Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* complex  
*Serratia marcescens*  
*Proteus* spp.  
*Klebsiella pneumoniae* group  
*Enterobacter aerogenes*  
*Enterobacter cloacae*  
*Escherichia coli*  
*Haemophilus influenzae*  
*Moraxella catarrhalis*  
*Pseudomonas aeruginosa*  
*Staphylococcus aureus*  
*Streptococcus pneumoniae*  
*Klebsiella oxytoca*  
*Streptococcus pyogenes*  
*Streptococcus agalactiae*

#### Atypical Bacteria

##### Qualitative Bacteria

*Legionella pneumophila*  
*Mycoplasma pneumoniae*  
*Chlamydia pneumoniae*

#### Viruses

Influenza A  
Influenza B  
Respiratory Syncytial Virus  
Human Rhinovirus/Enterovirus  
Human Metapneumovirus  
Parainfluenza virus  
Adenovirus  
Coronavirus  
Middle East Respiratory  
Syndrome Coronavirus

#### Antimicrobial Resistance Genes

mecA/C and MREJ  
KPC  
NDM  
Oxa48-like  
CTX-M  
VIM  
IMP

26. Cibles de la PCR Multiplex syndromique *The Filmarray®* (Biofire, Biomérieux) utilisée au CHU de Grenoble. (<https://www.biomerieux.fr/diagnostic-clinique/biofire-filmarray-pneumonia-panel-plus>, consultée le 16/09/2022)

### 3. AVANTAGES DE LA PCR SYNDROMIQUE

#### a) LUTTER CONTRE L'EMERGENCE DE RESISTANCE

L'identification accélérée des bactéries responsables des pneumopathies en réanimation par l'utilisation de la PCR syndromique pourrait permettre d'optimiser le traitement antibiotique chez ces patients, en particulier en rétrogradant précocement l'antibiothérapie probabiliste initiale par une antibiothérapie à spectre plus étroit sans attendre les résultats de l'antibiogramme, disponibles habituellement en 72-96h. Cette optimisation pourrait contribuer à la lutte contre l'émergence de résistances bactériennes. Dans l'étude de Peiffer-

Smadja et al. (57), la PCR syndromique aurait pu conduire à une désescalade d'antibiothérapie précoce chez 37 patients sur 95 (39 %).

#### **b) LUTTER CONTRE LA SURMORTALITE PAR LA DETECTION PRECOCE DE RESISTANCES.**

L'identification précoce de certaines résistances pourrait permettre de redresser une inefficacité de l'antibiothérapie probabiliste initiale en élargissant le spectre antibactérien, afin de lutter contre la surmortalité des patients atteints d'une pneumopathie en réanimation.

Dans la même étude parisienne (57) la PCR syndromique aurait pu conduire à l'initiation plus précoce d'une antibiothérapie efficace chez 20 patients sur 95 (21 %) grâce à la détection précoce de 5 des 8 bêta-lactamases à spectre étendu (gène CTX-M) et de 4/4 carbapénèmases (3 NDM, une oxa-48).

### **4. LES LIMITES DE LA PCR SYNDROMIQUE.**

Il s'agit d'une technique permettant une détection rapide des micro-organismes mais cette technique présente certaines limites connues.

#### **a) LA SURDETECTION, FAUX POSITIF**

Une des limites est la sur-détection, c'est-à-dire la détection d'agents microbiens possiblement pathogènes sans pneumonie (donc sans atteinte tissulaire) observée. Une sur-détection peut être liée à la détection des acides nucléiques d'une bactérie non viable ou à la présence d'organismes ou de bactéries n'ayant pas atteint le seuil pathogène (colonisation). Cette forte sensibilité de la PCR syndromique expose à un risque de surconsommation d'antibiotiques, et donc à une émergence de résistance bactérienne (65).

#### **b) LA SOUS DETECTION, FAUX NEGATIF**

La deuxième limite de ce type de test est la sous-détection, c'est-à-dire qu'aucun pathogène n'est détecté malgré une croissance des agents pathogènes sur l'antibiogramme. Il peut y avoir plusieurs explications à ce manque de sensibilité. L'agent pathogène responsable de la pneumopathie peut être absent du panel de détection du test utilisé, comme c'est le cas pour certaines entérobactéries telles *Hafnia alvei*, *Citrobacter freundii* ou *Providencia sp* avec la PCR syndromique Filmarray® utilisée au CHU de Grenoble. Dans l'étude de Peiffer-Smadja et al. (57), ces bactéries non détectées étaient impliquées dans 8 pneumonies sur 95 : *Hafnia alvei* (n = 5), *Citrobacter koseri* (n = 2) et *Serratia rubidaea* (n = 1).

Par ailleurs, l'agent pathogène peut également être présent dans le panel de détection du test mais ne pas être détecté par un manque de sensibilité analytique pure de la technique.

Cette sous-détection expose au risque de sous-traiter un patient, induisant un risque de surmortalité par l'utilisation d'une antibiothérapie inadaptée au phénotype de la bactérie en cause.

### c) SUR-DETECTION DE RESISTANCE

Cette surdéttection peut également concerner la détection des résistances, l'exemple typique étant la détection par certaines techniques de PCR syndromique du gène *mecA* codant une protéine de liaison aux pénicillines. Ce gène est présent à l'état sauvage chez certains staphylocoques à coagulases négatives, non détectés par les techniques de PCR syndromique, et peut être acquis par *le Staphylococcus aureus* le rendant résistant à la métiqueiline. La présence sur un prélèvement respiratoire d'un staphylocoque à coagulase négative et d'un SAMS peut être faussement interprétée par l'automate comme un SARM. Ce risque est maintenant corrigé par l'ajout de la détection du gène *MERJ* non présent sur les staphylocoques à coagulase négative.

Cette sur-déttection expose également au risque de surconsommation d'antibiotique et d'émergence de résistance.

### d) SOUS-DETECTION DE RESISTANCE

Il existe également un risque de sous détection des résistances bactériennes, en effet la PCR syndromique ne détecte qu'une petite partie des résistances bactériennes aux antibiotiques. Le cas le plus typique est la mutation de la porine D2 du *Pseudomonas aeruginosa*, qui est la résistance acquise la plus fréquente du *Pseudomonas*, par un mécanisme d'imperméabilité qu'aucune technique de PCR ne peut détecter à l'heure actuelle.

Dans l'étude de Luyt, 22 des 24 erreurs dans la détection des résistances concernent le *Pseudomonas aeruginosa* (58).

Cette sous détection expose au risque de surmortalité par l'utilisation d'antibiotique à spectre trop étroit, inefficace face à la résistance bactérienne non détectée.

## 5. DES ETUDES DISCORDANTES.

La PCR multiplex est donc un nouvel outil pour lequel les données disponibles en termes de performance en pratique clinique sont peu nombreuses. De même, les études évaluant son impact sur l'épargne antibiotique sont discordantes (57, 58, 59, 60, 61, 63, 64, 65).

La PCR multiplex bactérienne varie en sensibilité (57–97 %) et en spécificité (14–99 %) selon l'origine de l'échantillon, le contexte clinique, et le type de PCR multiplex utilisé.

Les études mentionnées diffèrent par la population étudiée et donc la probabilité pré-test de surinfection bactérienne puisque certaines études ont réalisé les prélèvements à titre systématique chez des patients atteints de SDRA d'origine virale (principalement du à SARS-CoV2) (67) avec une faible probabilité de surinfection (14%) (66) tandis que d'autres ont uniquement réalisé les prélèvements en cas de forte probabilité de surinfection bactérienne (57, 58).

De plus certaines études utilisaient le panel pneumopathie de la PCR The Filmarray® (BioFire, Biomérieux) (67, 65), tandis que d'autres utilisaient le panel *hospitalized pneumonia* de la PCR t Unyvero (Curetis GmbH) (57, 58, 62, 63, 64, 68), ces test ayant des spectres de détection

différents tant en terme de germes que de résistances et des délais de rendu inégaux, n'ont donc pas les mêmes performances analytiques.

De plus les méthodes d'analyse étaient différentes, les performances étant parfois mesurée pour chaque germe (58-57) ou pour chaque prélèvement global (67).

Enfin ces études ont été réalisées dans des hôpitaux et dans des pays différents avec des écologies bactériennes différentes.

Deux études parisiennes bien menées observaient une sensibilité de 77.4% (57) et 80% (58) ; avec des spécificités opposées, 14.3% (57) (faible spécificité expliquée par les auteurs par le fait que le test a été utilisé uniquement chez les patients à très haut risque de PAVM donc peu de PCR négative (VN ou FP)) contre 99% (58).

Par conséquent il paraît nécessaire de réaliser de nouvelles études pragmatiques afin de déterminer les performances et l'impact de ce nouvel outil à l'échelle locale, dans différents environnements correspondant à différents écosystèmes en terme de prévalence de résistances bactériennes.

C'est le sujet de ce travail, qui cherche à évaluer les performances de la PCR syndromique The Filmarray (BioFire, Biomérieux) utilisée au sein de deux réanimations chirurgicales grenobloises.

57. *Peiffer-Smadja N, Bouadma L, Mathy V, Allouche K, Patrier J, Reboul M, Montravers P, Timsit JF, Armand-Lefevre L. Performance and impact of a multiplex PCR in ICU patients with ventilator-associated pneumonia or ventilated hospital-acquired pneumonia. Critical Care [En ligne]. 19 juin 2020 [cité le 4 oct 2022];24(1). Disponible : <https://doi.org/10.1186/s13054-020-03067-2>*
58. *Luyt CE, Hékimian G, Bonnet I, Bréchet N, Schmidt M, Robert J, Combes A, Aubry A. Usefulness of point-of-care multiplex PCR to rapidly identify pathogens responsible for ventilator-associated pneumonia and their resistance to antibiotics : an observational study. Critical Care [En ligne]. 26 juin 2020 [cité le 4 oct 2022];24(1). Disponible : <https://doi.org/10.1186/s13054-020-03102-2>*
59. *Jamal W, Al Roomi E, AbdulAziz LR, Rotimi VO. Evaluation of Curetis Unyvero, a multiplex PCR-based testing system, for rapid detection of bacteria and antibiotic resistance and impact of the assay on management of severe nosocomial pneumonia. J Clin Microbiol. 2014;52:2487–92.*
60. *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. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2015;14:33.*
61. *Schulte B, Eickmeyer H, Heininger A, Juretzek S, Karrasch M, Denis O, et al. Detection of pneumonia associated pathogens using a prototype multiplexed pneumonia test in hospitalized patients with severe pneumonia. PLoS One. 2014;9:e110566.*

62. *Personne Y, Ozongwu C, Platt G, Basurto-Lozada P, Shamin M, Gant VA, et al. "Sample-in, answer-out"? Evaluation and comprehensive analysis of the Unyvero P50 pneumonia assay. Diagn Microbiol Infect Dis. 2016;86:5–10.*
63. *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;46:189–96.*
64. *Gadsby NJ, McHugh MP, Forbes C, MacKenzie L, Hamilton SKD, Griffith DM, et al. Comparison of Unyvero P55 pneumonia cartridge, in-house PCR and culture for the identification of respiratory pathogens and antibiotic resistance in bronchoalveolar lavage fluids in the critical care setting. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019;38:1171–8*
65. *Yoo IY, Huh K, Shim HJ, Yun SA, Chung YN, Kang OK, et al. Evaluation of the BioFire FilmArray Pneumonia Panel for rapid detection of respiratory bacterial pathogens and antibiotic resistance genes in sputum and endotracheal aspirate specimens. Int J Infect Dis. 2020;95:326–31.*
66. *Lansbury L, Lim B, Baskaran V, Lim WS. Co-infections in people with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. J Infect. 2020;81:266–75.*
67. *Molina FJ, Botero LE, Isaza JP, Cano LE, López L, Tamayo L, Torres A. Diagnostic concordance between BioFire® FilmArray® Pneumonia Panel and culture in patients with COVID-19 pneumonia admitted to intensive care units : the experience of the third wave in eight hospitals in Colombia. Critical Care [En ligne]. 9 mai 2022 [cité le 4 oct 2022];26(1). Disponible : <https://doi.org/10.1186/s13054-022-04006-z>*
68. *Darje AM, Khanna N, Jahn K, Osthoff M, Bassetti S, Osthoff M, Schumann DM, Albrich WC, Hirsch H, Brutsche M, Grize L, Tamm M, Stolz D. Fast multiplex bacterial PCR of bronchoalveolar lavage for antibiotic stewardship in hospitalised patients with pneumonia at risk of Gram-negative bacterial infection (Flagship II): a multicentre, randomised controlled trial. Lancet Respir Med. 2022 Sep;10(9):877-887. doi: 10.1016/S2213-2600(22)00086-8. Epub 2022 May 23. PMID: 35617987.*

# II. MATERIEL ET METHODE.

## **A. METHODE**

### **1. DESIGN DE L'ETUDE**

PEPPER est d'une étude descriptive, monocentrique, d'évaluation d'une méthode diagnostique, avec recueil de données rétrospectif, réalisée au Centre Hospitalo-Universitaire de Grenoble entre février 2020 et juin 2022 dans les deux réanimations chirurgicales : Réanimation Polyvalente Chirurgicale (14 lits de réanimation et 4 lits de soins continus) et Unité de Réanimation Cardiovasculaire et Thoracique (12 lits de réanimation et 8 lits de soins continus).

### **2. OBJECTIF PRINCIPAL**

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer la performance de la PCR multiplex The FilmArray® pour la détection des micro-organismes responsables de surinfection pulmonaire dans une population cible de réanimation, avec pour gold standard la culture et l'antibiogramme du prélèvement respiratoire, les deux techniques étant réalisées sur le même prélèvement.

### **3. POPULATION**

La population regroupe des patients de réanimation, chez qui nous avons réalisé une PCR Multiplex The FilmArray®.

Ce prélèvement était réalisé majoritairement pour 2 indications :

- 1) une suspicion de surinfection bactérienne reposant soit sur les critères diagnostiques de la RFE de 2017 qui regroupe :
  - des critères cliniques comme la majoration de l'oxygène-requérance, la dyspnée et la toux, l'apparition d'expectoration purulente, la fièvre supérieure à 38.3°C
  - des critères radiologiques (foyer visible sur une radiographie thoracique ou une tomodensitométrie thoracique)
  - des critères biologiques tels un syndrome inflammatoire (CRP, Procalcitonine et leucocytes <4.0G/L ou >12G/L).

2) une suspicion de surinfection bactérienne reposant sur la simple majoration de l'oxygéno-requérance chez un patient déjà hospitalisé pour un syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA), l'étiologie du SDRA étant dans la grande majorité des cas le COVID 19. En effet dans cette population la majorité des critères cliniques, radiologiques et biologiques sont biaisés par la maladie COVID 19 et son atteinte pulmonaire.

#### **4. BACTERIOLOGIE CONVENTIONNELLE**

La méthode de détection conventionnelle réalisée sur un lavage broncho-alveolaire (LBA) ou une cytologie broncho trachéale (CBT) comprend trois entités.

L'examen direct : après cyto-centrifugation et coloration de GRAM du prélèvement, les techniciens l'examinent directement par microscopie optique, permettant de rendre un premier résultat selon l'aspect et la coloration du germe : Cocci ou Bacille, positif ou négatif.

La Culture du germe permet ensuite l'identification de l'espèce en 24-48H. Les cultures ont été quantifiées en "unités formant colonie" par millilitre.

Enfin l'antibiogramme, permet par la méthode du disque de diffusion, recommandée par Comité de l'antibiogramme de la société Française de microbiologie (CASFM), de déterminer la sensibilité aux antibiotiques du germe en question en 72-96H. Les analyses microbiologiques ont été réalisées par les techniciens du laboratoire de bactériologie du CHUGA.

#### **5. PCR MULTIPLEX SYNDROMIQUE "THE FILMARRAY"**

L'approche syndromique de la PCR multiplex permet la recherche de plusieurs dizaines de micro-organismes simultanément, ainsi que des informations sur certaines de leurs résistances.

Le CHU Grenoble Alpes utilise la PCR multiplex syndromique respiratoire (panel pneumopathie) "The FilmArray®" du laboratoire BioFire (Biomérieux) qui permet la recherche des principaux micro-organismes responsables d'infection respiratoire avec notamment 18 bactéries (onze Gram négatifs, quatre Gram positifs et trois atypiques), 7 résistances bactériennes (CTX-M, KPC, NDM, Oxa48-like, VIM, IMP, et MecA/C/MREJ).

En cas de résultat positif, des valeurs semi-quantitatives exprimées en copies d'ADN/ml ont également été récupérées pour chaque pathogène détecté.

Toutes les étapes, de l'extraction de l'acide nucléique à la détection finale des agents pathogènes, ont été réalisées dans un système automatisé au sein du laboratoire de bactériologie et virologie du CHUGA

#### **6. DONNEES**

Les données ont été recueillies de manière rétrospective à l'aide des logiciels informatiques du CHU de Grenoble (Centricity High Acuity Critical Care, GE Healthcare, , Easily (Hospices Civiles de Lyon), Cristal-Link(Syndicat inter hospitalier Limousin Poitou-Charentes ), avec un historique de données allant d'avril 2020 à février 2022.

Les données recueillies étaient les suivantes :

- Démographiques : sexe, âge, taille, poids des patients.



- Critères cliniques, biologiques et radiographiques posant la suspicion de PAVM : toux, expectorations purulentes, fièvre, images radiographiques, marqueurs d'un syndrome inflammatoire biologique (PCT, CRP, leucocytes et PNN).
- Facteurs de risque du patient d'être porteur de germes résistants : hospitalisation récente, antibiothérapie récente, voyage zone d'endémie, antécédents infectieux, respiratoires (BPCO, syndrome restrictif) ou d'immunodépression, épuration extra-rénale chronique, délais d'hospitalisation et de ventilation.
- Histoire infectieuse du patient lors de l'hospitalisation : différents sites infectieux, différents prélèvements microbiologiques positifs, différentes antibiothérapies reçues avant la PAVM étudiée
- Gravité des défaillances du patient, modifiant la stratégie d'antibiothérapie : décès au cours de l'hospitalisation, recours à l'ECMO veino-veineuse ou au décubitus ventral, oxygénorequance rapport PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>, FiO<sub>2</sub> ou en L/min, scores SOFA et IGS2.
- Et enfin sur les test diagnostiques étudiés, résultats, dates de prélèvement, délais de rendu des résultats.

## 7. ETHIQUE

Cette étude a été déclarée auprès de la DRCI du CHU Grenoble Alpes comme essai respectant la méthodologie de référence MR004, avec une autorisation à démarrer les recherches délivrée le 15/03/2022.

## **B. CRITERE DE JUGEMENT**

### **1. CRITERE DE JUGEMENT PRINCIPAL**

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer la performance de la PCR multiplex syndromique The FilmArray® (BioFire, Biomérieux) pour la détection des bactéries responsables de surinfection pulmonaire en réanimation, avec pour gold standard l'antibiogramme de la culture de LBA réalisé sur le même prélèvement que la PCR.

La performance est évaluée par la sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive, la valeur prédictive négative de la PCR multiplex TheFilmArray® par rapport à l'antibiogramme, espèce bactérienne par espèce bactérienne.

La sensibilité sera définie comme la probabilité d'avoir une PCR multiplex positive à un germe X quand la culture est positif à un germe X. (VP/VP+FN)

La spécificité sera définie comme la probabilité d'avoir une PCR négative à un germe X quand la culture est négatif à ce germe X (VN/VN+FP)

La valeur prédictive positive (VPP) sera définie comme la probabilité d’avoir un antibiogramme positif au germe X retrouvé par la PCR (VP/VP-FP)

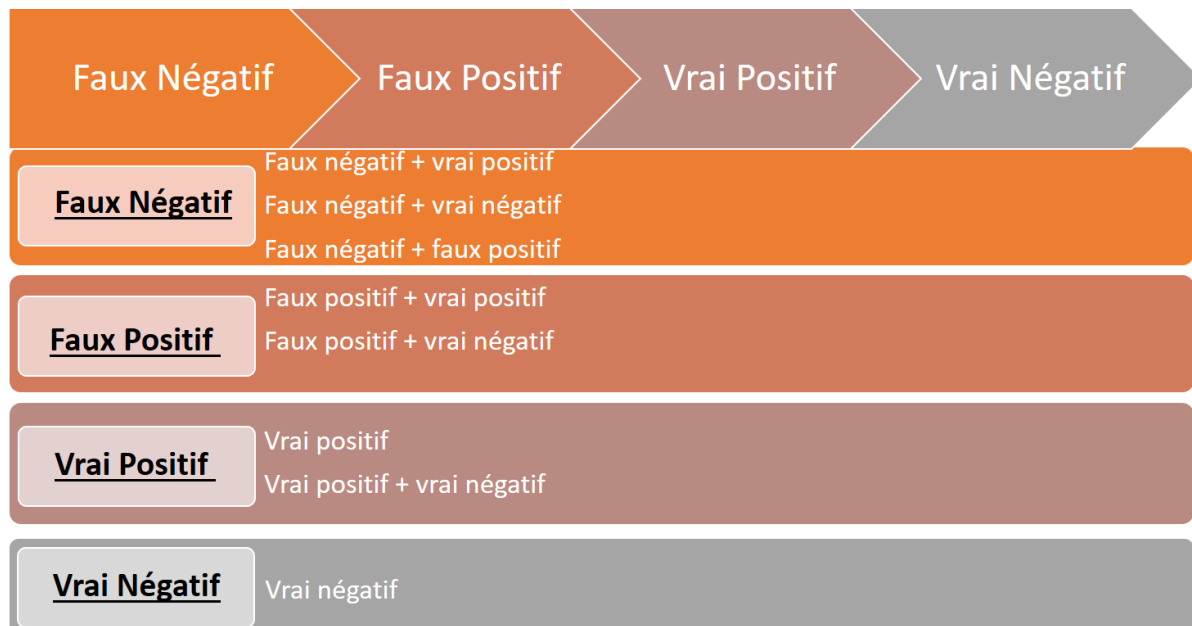
La valeur prédictive négative (VPN) sera définie comme la probabilité de ne pas retrouver de germe sur l’antibiogramme quand la PCR est négative (VN/VN+FN).

## 2. CRITERES DE JUGEMENT SECONDAIRES

### a) ÉTUDE DES PERFORMANCES DE LA PCR MULTIPLEX SYNDROMIQUE PATIENT PAR PATIENT

Cette méthode d’analyse sera plus proche de la réalité clinique mais plus subjective. elle fait perdre de l’information en agrégeant plusieurs résultats parfois différents (identification correcte de certains germes et échec de détection d’un germe chez un patient donné par exemple) en un résultat “composite”, avec des conséquences cliniques qui ne sont pas toujours significatives..

Par exemple : si nous rencontrons une situation où la PCR multiplex est positive pour un germe A et négative pour un germe B, alors que l’antibiogramme est négatif au germe A et positif au germe B nous considérons cet effectif comme faux négatif puisqu’en terme de risque pour le patient nous considérons que ne pas détecter un germe est responsable d’une morbidité plus importante que de sur-détecter un germe.



27. Illustration de la hiérarchisation des résultats de nos couple PCR/Antibiogramme

### b) ANALYSE APRES EXCLUSION DES BACTERIES NE FAISANT PAS PARTIE DU PANEL DE DETECTION :

On exclut de cette analyse les 7 espèces bactériennes qui ne sont pas détectables par PCR multiplex TheFilmArray®, et qui ont été détectées dans les cultures pour la population de l'étude. Il ne s'agit donc pas des performances de la technique diagnostique en vie réelle avec l'écologie bactérienne des services étudiés, mais des performances théoriques de détection pour les espèces incluses dans le panel de la PCR multiplex TheFilmArray® étudiée.

### c) ANALYSE MULTIVARIEE

#### (1) ANALYSE EN SOUS-GROUPE SOUS ANTIBIOTHERAPIE/HORS ANTIBIOTIQUE

Une des limites connues de la PCR multiplex est la sur-détection de bactéries, liée au fait que la PCR peut détecter de l'ADN bactérien et non une bactérie viable.

A l'inverse, une des limites des méthodes bactériologiques standard est que celles-ci peuvent être négativées par une antibiothérapie préalable, antibiothérapie qui empêcherait la pousse de la bactérie in vitro.

Notre hypothèse est que la PCR multiplex pourrait permettre la détection de bactérie responsable de surinfection pulmonaire dont le prélèvement bactériologique standard serait négativé par une antibiothérapie préalable.

Pour cela nous avons réalisé une analyse multivariée en séparant les patients sous antibiotique au moment du prélèvement de ceux hors antibiothérapie au moment du prélèvement, et nous concentrerons notre attention sur le pourcentage de faux positifs dans chaque groupe et donc sur la valeur prédictive positive (VP/VP+FP)

#### (2) ANALYSE EN SOUS-GROUPE EN FONCTION DE L'INDICATION DE REALISATION DU LBA

Dans cette analyse nous séparerons les patients ayant bénéficié d'une PCR multiplex devant des critères francs de surinfection bactériennes de ceux ayant bénéficié de la PCR devant la dégradation d'un SDRA Covid. Ces 2 sous-groupes devraient avoir des probabilités pré-test différentes, nous nous intéresserons donc aux valeurs prédictives positives et négatives de ces tests.

### d) COMPARER LES DELAIS DE RENDU DE RESULTATS DE LA PCR ET DE L'ANTIBIOGRAMME

Le deuxième objectif secondaire de cette étude est d'évaluer le délai de rendu de la PCR multiplex.

Ce délai théorique de rendu des résultats est de 1h30 contre 72h pour l'antibiogramme, ce qui permettrait d'épargner 70h d'antibiothérapie à large spectre dans l'idéal.

Cependant ces tests ne sont pas réalisés de manière continue et sont dépendants des capacités techniques et humaines des laboratoires de microbiologie.

Il paraît donc intéressant d'évaluer les délais de rendu des tests PCR en pratique quotidienne. Pour cela, nous avons recueilli les délais de rendu des résultats de la PCR

multiplex et des antibiogrammes, pour comparer leurs distributions par un test non paramétrique de Kruskal-Wallis.

#### e) ANALYSE DE L'IMPACT DE L'UTILISATION DE LA PCR MULTIPLEX THEFILMARRAY® SUR NOTRE PRATIQUE

Un des objectifs secondaires de cette étude est de déterminer l'impact thérapeutique de l'utilisation de la PCR multiplex en termes d'antibiothérapie, réel et potentiel en cas de bonne connaissance du test et des germes étudiés.

Nous avons étudié les modifications d'antibiothérapie réalisées en pratique par les praticiens hospitaliers, ainsi que les modifications « théoriques » qui auraient pu être réalisées avec une bonne connaissance de la PCR multiplex TheFilmArray®.

Nous avons défini 4 types d'actions réalisées après obtention des résultats de la PCR :

Escalade : élargissement du spectre.

Désescalade : diminution du spectre.

Arrêt : arrêt de l'antibiothérapie.

Pas de modification : pas de changement d'antibiothérapie.

Puis nous avons défini si cette modification était adaptée ou inadaptée par rapport aux résultats de l'antibiogramme.

Adaptée : l'antibiothérapie prescrite basée sur les données de la PCR, de l'examen direct, du contexte et de la clinique était actif sur le germe rendu par le résultat de l'antibiogramme, et si une désescalade était envisageable au vu des données ci-dessus, elle a été réalisée.

Inadaptée: L'antibiothérapie prescrite suite aux données de la PCR, de l'examen direct, du contexte et de la clinique était soit inactif sur le germe rendu par les résultats de l'antibiogramme, soit d'un spectre trop large par rapport aux informations présentes au moment de l'obtention des résultats de la PCR.

Une escalade appropriée était définie comme la modification de l'antibiothérapie initiale par une antibiothérapie plus large spectre nécessaire au vu des résultats de l'antibiogramme.

Une escalade inappropriée était définie par un élargissement du spectre d'antibiothérapie non nécessaire au vu des résultats de l'antibiogramme, notamment en cas de faux positif de la PCR.

Une désescalade appropriée était définie par la modification de l'antibiothérapie initiale par une antibiothérapie à spectre moins large, tout en restant efficace sur le(s) germe(s) retrouvés sur l'antibiogramme.

Une désescalade inappropriée était définie comme une diminution du spectre d'antibiothérapie entraînant une inefficacité de l'antibiothérapie sur le(s) germe(s) retrouvé(s) par l'antibiogramme (risque en cas de faux négatif de la PCR multiplex), ou une désescalade alors qu'un arrêt aurait été possible.

L'arrêt approprié correspondra à l'arrêt d'une antibiothérapie probabiliste après l'obtention des résultats de la PCR, avec un antibiogramme négatif.

L'arrêt inapproprié correspondra à un arrêt de l'antibiothérapie alors que l'antibiogramme est positif à un germe.

L'absence de modification appropriée était définie par l'absence de modification de l'antibiothérapie initiale, au final active sur le germe retrouvé par l'antibiogramme, sans qu'une désescalade soit possible au vu des informations disponibles au moment de l'obtention des résultats de la PCR.

L'absence de modification inappropriée était définie par les situations où il n'y a pas eu de modification d'antibiothérapie alors que les informations disponibles auraient pu permettre une désescalade, un arrêt de l'antibiothérapie ou que l'antibiothérapie initiale n'était pas active sur le germe retrouvé sur l'antibiogramme.

Pour l'analyse de l'impact potentiel que pourrait avoir la PCR multiplex sur notre prise en charge, nous avons réalisé une revue de dossier et décidé d'une antibiothérapie en fonction des informations disponibles au moment du rendu des résultats de la PCR multiplex.

Le choix de l'antibiothérapie « théorique » se fera à partir d'un arbre décisionnel basé sur :

- Le phénotype sauvage des bactéries détectées par la PCR : exemple entérobactérie groupe 3 : CEFEPIME
- La détection des résistances par la PCR multiplex.
- Le résultat du direct de la bactériologie standard car toujours disponible au moment de l'analyse de la PCR :
  - PCR – et direct – : arrêt
  - PCR – et direct BGN : CEFEPIME pour couvrir les entérobactéries non détectées comme *Hafnia alvei* (groupe 3)
  - PCR – et direct CGP : pas de modification de l'antibiothérapie probabiliste ou introduction de LINEZOLIDE si dégradation clinique depuis le début de l'antibiothérapie probabiliste.

Arbre décisionnel qui sera analysé en association à des critères:

- Cliniques : une dégradation sous forme de choc septique justifie une escalade thérapeutique même en l'absence de germe sur la PCR ou sur le direct.
- Paraclinique : la positivité d'un autre prélèvement infectieux, comme une péritonite avec des prélèvements digestifs positifs, justifie la poursuite d'une antibiothérapie même si la PCR multiplex respiratoire est négative.
- Et contextuel : comme les facteurs de risque de germes résistants du patient.

#### **f) DESCRIPTION DES ECOLOGIES MICROBIOLOGIQUES DES SERVICES DE RPC ET RCVT**

Cette étude permettra également de décrire les écologies des PAVM des services de réanimation polyvalente chirurgicale et de réanimation cardiovasculaire et thoracique, dans le but d'aider aux choix d'antibiothérapie probabiliste dans cette indication.

#### **g) REGRESSION LOGISTIQUE SUR LA DETECTION DE GERMES MULTRESISTANTS EN LIEN AVEC LES FACTEURS DE RISQUE DE RESISTANCE**

Dans cette analyse nous chercherons à déterminer les facteurs de risques de résistances significativement associés à la présence de germes résistants sur l'antibiogramme. Pour cela nous réaliserons une régression logistique multivariée sur les principaux facteurs de risque décrits (hospitalisation de plus de 5 jours, ventilation invasive de plus de 5 jours, trouble ventilatoire obstructif, épuration extra-rénale chronique, voyage en zone d'endémie, immunosuppression, antibiothérapie récente) pour identifier si certains sont significativement associées à la survenue d'infection à BMR dans notre population.

## **C.ANALYSE STATISTIQUE**

Les valeurs de sensibilité, spécificité, de VPN et VPP, ont été calculés à partir de tables de contingence classiques.

La concordance entre les deux méthodes diagnostiques sera déterminée par le calcul du coefficient kappa (0,01 - 0,20 accord léger, 0,21-0,40, accord passable, 0,41-0,60 accord modéré, 0,61-0,80 accord substantiel, 0,81 - 1,00 accord presque parfait).

Nous avons comparé les délais de rendu avec un test non paramétrique de Kruskal-Wallis.

L'analyse des modifications d'antibiothérapie est réalisée à l'aide de la comparaison de pourcentage.

Le lien entre facteur de risque de résistance et germe multi-résistant sera analysé à l'aide d'une régression logistique multivariée. Une association sera retenue pour  $p < 0.1$ .

L'ensemble des analyses statistiques a été réalisée avec R (version 4.2.1, The R Foundation for Statistical Computing, 2022) et les packages ISLR et ggmosaic.

# III. RÉSULTATS.

## A. ÉTUDE DE LA POPULATION

Un total de 143 couples PCR multiplex/antibiogramme ont pu être étudiés durant la période de février 2020 à mai 2022 en Réanimation Polyvalente Chirurgicale et en Réanimation CardioVasculaire et Thoracique du CHU Grenoble Alpes.

### 1. CARACTERISTIQUES GENERALES

Le tableau 1 présente les caractéristiques générales de la population.

<b>Démographie</b>	
Sexe masculin	96(67.1%)
Age (médiane, IQR)	67 [60-72]
<b>Antécédents</b>	
HTA	41.2 % (59)
Immunodépression	29 (20.27 %)
Diabète	33 (23%)
TVO	30 (21%)
TVR (dont obésité)	45 (31,5%)
Embolie pulmonaire	5 (3,5%)
IRC	12 (8,4%)
<b>Microbiologie</b>	
Antibiogramme positif	33 (23%)
PCR sous antibiotique	87 (60,9%)
FR BMR moyen	2,4
<b>Motif d'admission et sévérité</b>	
SDRA COVID-19	88 (61,5%)
IGSII médian	42 [35-49]
SOFA médian	7 [6-9]
Décès	53 (37%)

1. *Tableau des caractéristiques générales de la population*

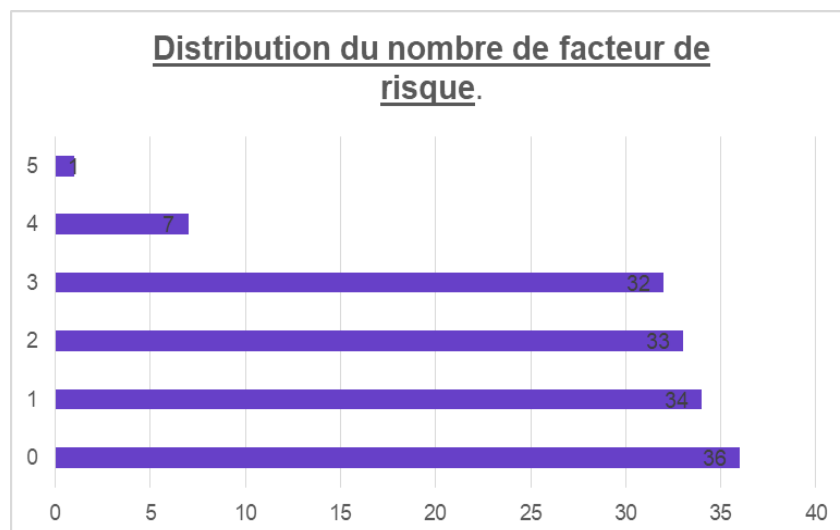
## 2. FACTEUR DE RISQUE DE RESISTANCE

Le tableau 2 représente la distribution des facteurs de risques (FDR) de bactéries multi-résistantes.

-

<b>hospitalisation &gt; 5J</b>	87
<b>ventilation invasive &gt; 5J</b>	45
<b>antibiothérapie récente</b>	69
<b>hospitalisation récente</b>	45
<b>anomalie structurelle des bronches</b>	30
<b>immunodépression</b>	29
<b>dialyse chronique</b>	4
<b>prélèvement BMR à l'entrée</b>	0
<b>voyage zone d'endémie</b>	0

### 2. *Distribution des FDR de BMR*



### 3. *Distribution du nombre de FDR de BMR par patient*

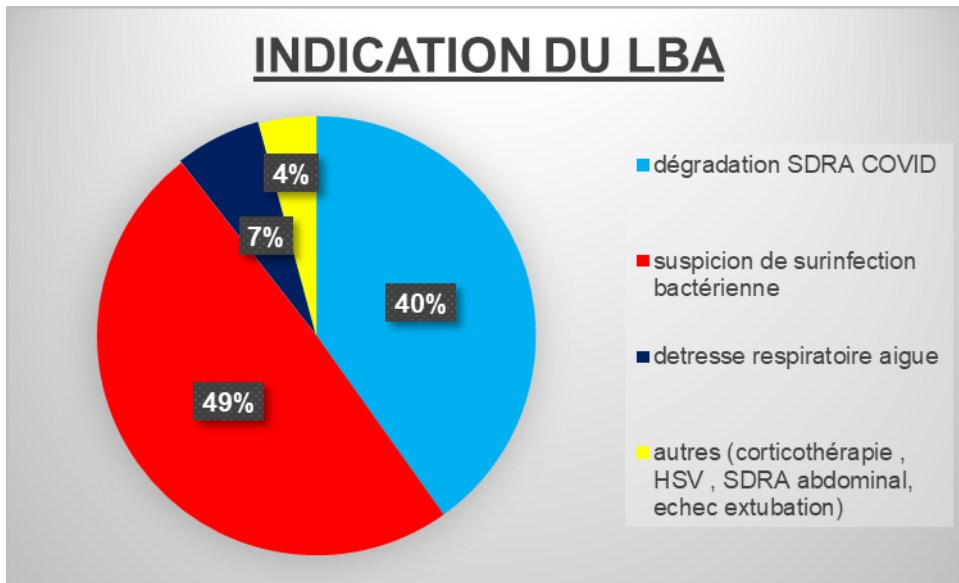
## 3. INDICATION DE LBA ET TIMING.

Les deux principales indications pour la réalisation du LBA étaient en premier lieu une suspicion de surinfection pulmonaire bactérienne dans 48.9% des cas (70), suivie de la

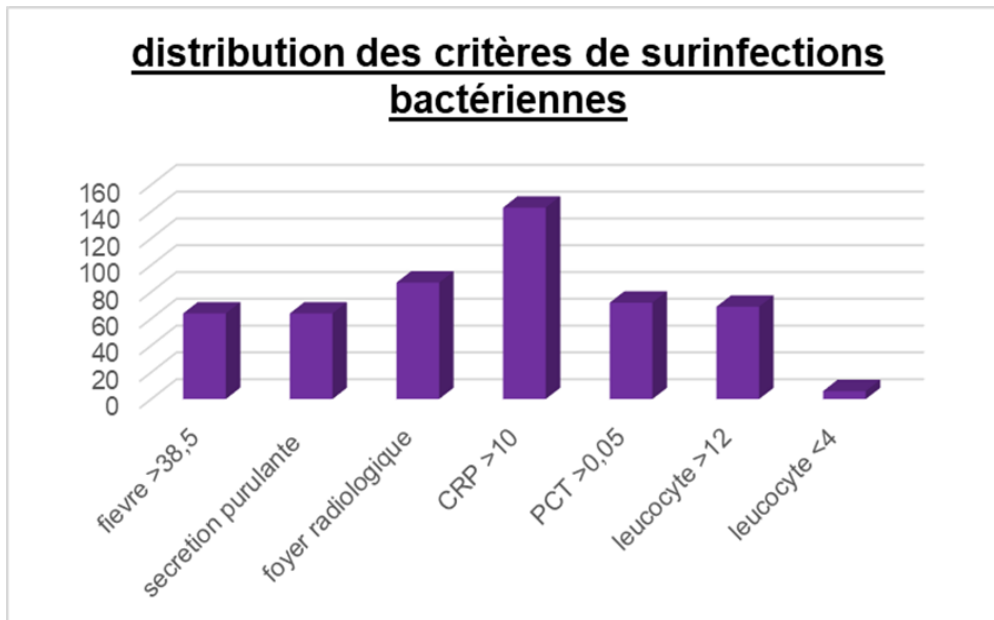


dégradation clinique d'un SDRA COVID dans 39.9% des cas, sans franc argument pour une surinfection bactérienne (57).

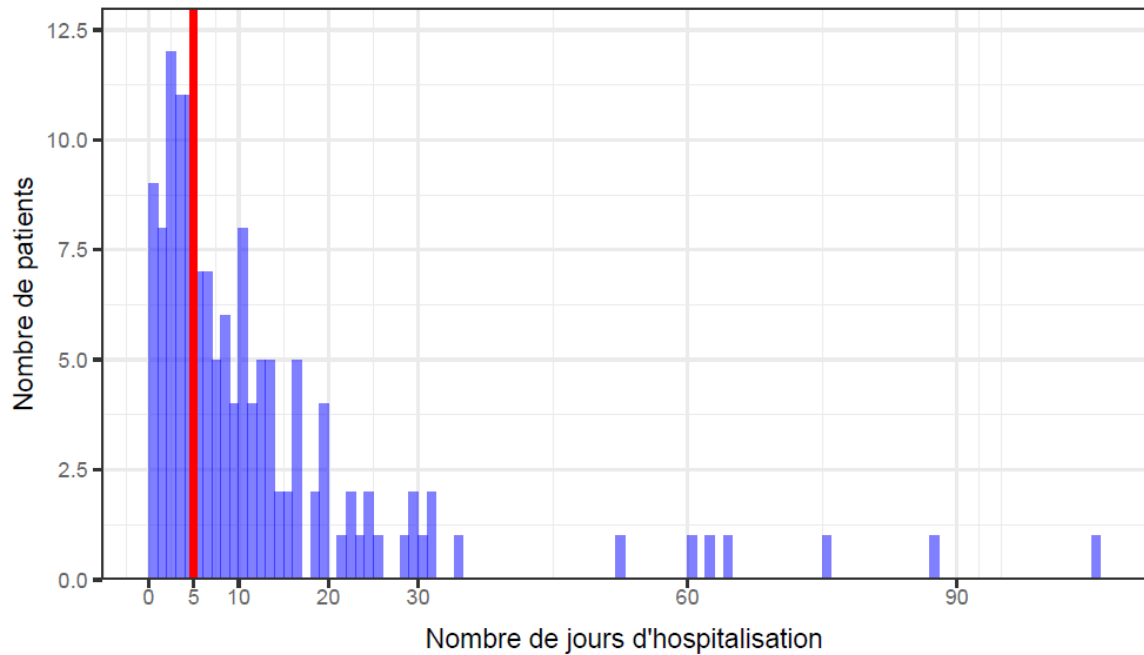
Les autres indications de LBA étaient : une détresse respiratoire aigüe hors covid et hors critère de surinfection, la recherche d'une surinfection pulmonaire à herpès simplex, et la recherche de surinfection bactérienne pulmonaire sans franc critère clinique et paraclinique avant l'introduction d'une corticothérapie anti-fibrose chez les patients atteints d'un SDRA covid 19.



4. Répartition des indications de LBA



5. Distribution des critères de surinfections bactériennes



6. Distribution du nombre de jours d'hospitalisation avant prélèvement

## **B. CRITERE DE JUGEMENT PRINCIPAL**

### **1. SENSIBILITE ET SPECIFICITE GERME PAR GERME**

#### **a) RESULTAT PRINCIPAL**

Concernant l'évaluation des performances de la PCR multiplex TheFilmArray® germe par germe, nous avons pu analyser 3575 résultats, 3476 vrais négatifs, 16 faux négatifs, 43 faux positifs et 40 vrais positifs.

La sensibilité de la PCR multiplex TheFilmArray® sur cet échantillon est de 0.714, sa spécificité de 0.988. Le coefficient kappa était de 0.567.

		Culture	
		FALSE	TRUE
PCR	FALSE	3476	16
	TRUE	43	40

DETAILS				
<b>Sensitivity</b> 0.714	<b>Specificity</b> 0.988	<b>Pos Pred Value</b> 0.482	<b>Neg Pred Value</b> 0.995	<b>Precision</b> 0.482
	<b>Accuracy</b> 0.983		<b>Kappa</b> 0.567	

7. Performances de la PCR multiplex germe par germe

## b) DETAILS

### (1) FAUX NEGATIF

Parmi les 16 faux négatifs, la majorité (10) concerne des germes non détectés par la PCR multiplex TheFilmArray® :

- *Hafnia alvei* (3)
- *Staphylocoque épidermidis* (1)
- *Enterococcus faecium* (1)
- *Stenotrophomonas maltophilia* (2)
- *Achromobacter xylosoxidans* (2)
- *Acinetobacter ursingii* (1)

Pour les faux négatifs, nous retrouvons :

- 1 *Enterobacter cloacae*
- 2 *Enterobacter aerogenes*
- 1 *Eroteus mirabilis*
- 1 *Staphylocoque aureus*
- 1 *Pseudomonas aeruginosa*.

L'analyse des 16 faux négatifs de la PCR multiplex a montré que dans 7 cas sur 16 le patient présentait une infection poly-microbienne, où la PCR a détecté des germes au moins aussi résistants (phénotype sauvage) que le germe non détecté.

Dans 4 cas sur 16 la PCR était négative mais l'examen direct de l'antibiogramme revenait positif à BGN.

Dans un cas sur 16, la PCR était négative et le direct était positif à CGP. (*Entérocoque faecium*)

Dans 4 cas sur 16, le direct et la PCR étaient négatifs, dans 3 cas sur 4 le germe était connu sur un autre prélèvement (hémoculture, ECBC).

La majorité des BGN qui n'ont pas été détectés par la PCR sont des germes potentiellement résistants avec notamment 6 *entérobactéries* du groupe 3, un *Pseudomonas aeruginosa*, 2 *Stenotrophomonas maltophilia*, 2 *Achromobacter xylosoxidans* et un *Acinetobacter ursingii*.

Ces différentes constatations ont participé à la création d'un arbre décisionnel pour le choix de l'antibiothérapie.

### (2) FAUX POSITIFS

Les faux positifs au nombre de 41 retrouvent :

9 *Staphylococcus aureus* dont 6 sous antibiothérapie.

6 *Pseudomonas aeruginosas* (germe pourtant pathogène) dont 4 sous antibiothérapie.

5 *Haemophilus influenza* dont 3 sous antibiotique au moment du prélèvement.

4 *Escherichia coli* dont 2 sous antibiothérapie.

3 *Proteus mirabilis* aucun sous antibiothérapie.  
3 *pneumocoques*, les 3 sous antibiothérapie  
2 *Enterobacter cloacae*, les 2 sous antibiothérapie.  
2 *Serratia marsecense* dont 1 sous antibiothérapie.  
2 *Klebsielle pneumoniae* les 2 sous antibiothérapie.  
1 *Klebsielle oxytoca* sous antibiothérapie.  
2 *Acinetobacter baumannii* dont 1 sous antibiothérapie.  
1 *Moxarella catharalis* sous antibiothérapie.  
1 *Enterobacter aerogenes* hors antibiothérapie.

26 « faux positifs » sur les 41 correspondent à des prélèvements réalisés sous antibiothérapie (63.4%), or dans ce contexte la culture peut être mise en défaut (“faux faux positif”).

## 2. SENSIBILITE ET SPECIFICITE POUR LA DETECTION DES RESISTANCES

Dans cette cohorte de patients nous n’avons détecté qu’un seul mécanisme de résistance via la PCR multiplex, un staphylocoque aureus résistant à la méticilline via la détection des gènes MecA et MREJ, qui s’est avéré être un faux positif.

L’antibiogramme a permis la détection de 13 bactéries multi-résistantes non détectées par la PCR multiplex, 12 de ces 13 bactéries (92% ) possédaient plusieurs mécanismes de résistances.

Les bactéries en cause étaient principalement des *Pseudomonas aeruginosa* (7/13 cas), suivis d’*Enterobacter cloacae* (2), d’un *Enterobacter aerogenese* (1), d’un *Hafnia alvei* (1), d’un *Enterobacter species*, et d’un *Achromobacter xyloshidas*.

Les mécanismes de résistance retrouvés étaient ; **12 céphalosporinases déréprimées**, 8 mutations de la porine D2 du *Pseudomonas aeruginosa*, 2 *carbapénémases*, une BLSE, et un mécanisme d’efflux.

Il est important de noter que sans test spécifique il est impossible d’assurer avec certitude la présence d’une carbapénémase, la distinction entre les différentes classes de carbapénémase n’étant également pas possible.

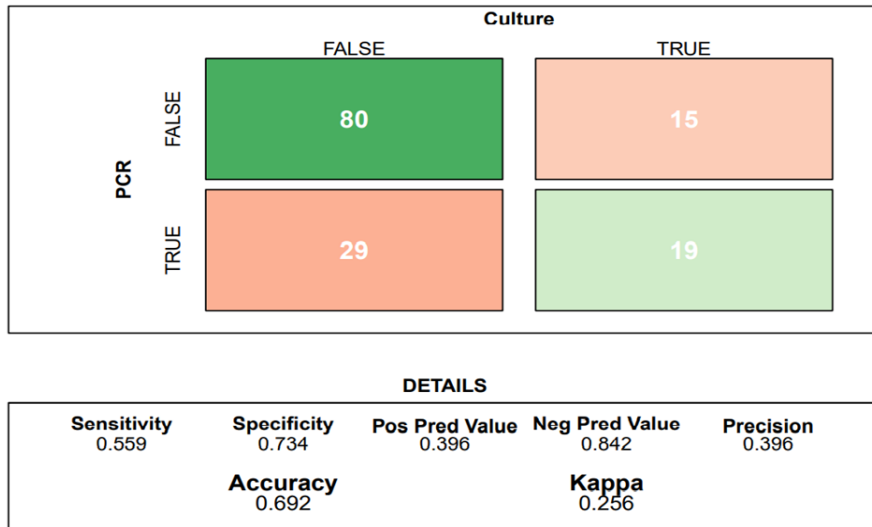
## C.CRITERE DE JUGEMENT SECONDAIRE

### 1. ETUDE DES PERFORMANCES DE LA PCR MULTIPLEX THEFILMARRAY® PRELEVEMENT PAR PRELEVEMENT.

Concernant l’étude prélèvement par prélèvement sur les 143 tests analysés, 80 sont des vrais négatifs, 19 de vrais positifs, 15 des faux négatifs, 29 des faux positifs.

34 patients ont présenté un antibiogramme positif, soit 23%.

La sensibilité de la PCR multiplex TheFilmArray® sur cette échantillon est de 0.559, sa spécificité de 0.734. Le coefficient kappa est de 0.256.

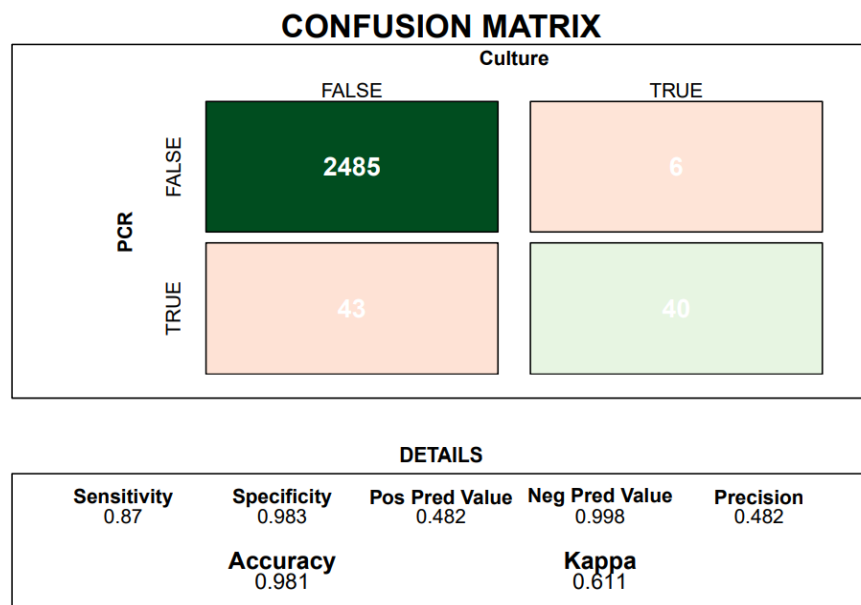


8. Performances de la PCR multiplex test par test

## 2. ANALYSE THEORIQUE DE LA PERFORMANCE DE LA PCR MULTIPLEX THEFILMARRAY®:

On exclut de cette analyse les 7 espèces bactériennes qui ne sont pas détectables par PCR multiplex TheFilmArray®, et qui ont été détectées dans les cultures pour la population de l'étude. Il ne s'agit donc pas des performances de la technique diagnostique en vie réelle avec l'écologie bactérienne des services étudiés, mais des performances théoriques de détection pour les espèces incluses dans le panel de la PCR syndromique étudiée.

a) PAR GERME



9. Performances théoriques de la PCR multiplex germe par germe

b) PAR TEST

**CONFUSION MATRIX**

		Culture	
		FALSE	TRUE
PCR	FALSE	84	5
	TRUE	32	22

**DETAILS**

<b>Sensitivity</b> 0.815	<b>Specificity</b> 0.724	<b>Pos Prod Value</b> 0.407	<b>Neg Pred Value</b> 0.944	<b>Precision</b> 0.407
	<b>Accuracy</b> 0.741		<b>Kappa</b> 0.39	

10. *Performances théoriques de la PCR multiplex test par test*

Concernant l'évaluation des performances théorique de la PCR multiplex TheFilmArray® en analyse germe par germe, la sensibilité sur cet échantillon est de 0.87, la spécificité de 0.983 et le coefficient Kappa de 0.611.

En analyse prélèvement par prélèvement la sensibilité est de 0.81, la spécificité de 0.724 et le coefficient kappa de 0.39.

3. ANALYSE MULTIVARIEE

a) ANALYSE DE LA PERFORMANCE DE LA PCR MULTIPLEX SOUS ANTIBIOTIQUE VS HORS ANTIBIOTIQUE AU MOMENT DU PRELEVEMENT

(1) ANALYSE DE LA PERFORMANCE DE LA PCR MULTIPLEX HORS ANTIBIOTIQUE AU MOMENT DU PRELEVEMENT RESPIRATOIRE.

(a) ANALYSE GERME PAR GERME

Concernant l'évaluation des performances de la PCR multiplex TheFilmArray® hors antibiotique en analyse germe par germe, la sensibilité sur cet échantillon est de 0.79, la spécificité de 0.99, le coefficient Kappa de 0.70 et la Valeur prédictive positive 0.65.

CONFUSION MATRIX					
		Culture			
		FALSE	TRUE		
PCR	FALSE	1310	6		
	TRUE	12	22		
DETAILS					
<b>Sensitivity</b>	<b>Specificity</b>	<b>Pos Pred Value</b>	<b>Neg Pred Value</b>	<b>Precision</b>	
0.786	0.991	0.647	0.995	0.647	
	<b>Accuracy</b>		<b>Kappa</b>		
	0.987		0.703		

10. Performances PCR multiplex hors antibiotique germe par germe

**(b) ANALYSE TEST PAR TEST**

Concernant l'évaluation des performances de la PCR multiplex TheFilmArray® hors antibiotique en analyse prélèvement par prélèvement, la sensibilité sur cet échantillon est de 0.72, la spécificité de 0.78, le coefficient Kappa de 0.48 et la Valeur prédictive positive 0.62.

CONFUSION MATRIX					
		Culture			
		FALSE	TRUE		
PCR	FALSE	28	5		
	TRUE	8	13		
DETAILS					
<b>Sensitivity</b>	<b>Specificity</b>	<b>Pos Pred Value</b>	<b>Neg Pred Value</b>	<b>Precision</b>	
0.722	0.778	0.619	0.848	0.619	
	<b>Accuracy</b>		<b>Kappa</b>		
	0.759		0.48		

11. Performances PCR multiplex hors antibiotique test par test

**(2)**

**ANALYSE DE LA PERFORMANCE DE LA PCR MULTIPLEX SOUS ANTIBIOTIQUE AU MOMENT DU PRELEVEMENT RESPIRATOIRE.**

**(a) ANALYSE GERME PAR GERME**

Concernant l'évaluation des performances de la PCR multiplex TheFilmArray® sous antibiotique en analyse germe par germe, la sensibilité sur cet échantillon est de 0.68, la spécificité de 0.98, le coefficient Kappa de 0.48 et la Valeur prédictive positive 0.35.

CONFUSION MATRIX				
		Culture		
		FALSE	TRUE	
PCR	FALSE	2044	8	
	TRUE	31	17	
DETAILS				
<b>Sensitivity</b>	<b>Specificity</b>	<b>Pos Pred Value</b>	<b>Neg Pred Value</b>	<b>Precision</b>
0.68	0.985	0.354	0.996	0.354
	<b>Accuracy</b>		<b>Kappa</b>	
	0.981		0.457	

12. Performances PCR multiplex sous antibiotique germe par germe

**(b) ANALYSE TEST PAR TEST**

Concernant l'évaluation des performances de la PCR multiplex TheFilmArray® sous antibiotique en analyse prélèvement par prélèvement, la sensibilité sur cet échantillon est de 0.38, la spécificité de 0.70, le coefficient Kappa de 0.06 et la Valeur prédictive positive 0.19.

CONFUSION MATRIX				
		Culture		
		FALSE	TRUE	
PCR	FALSE	50	8	
	TRUE	21	5	
DETAILS				
<b>Sensitivity</b>	<b>Specificity</b>	<b>Pos Pred Value</b>	<b>Neg Pred Value</b>	<b>Precision</b>
0.385	0.704	0.192	0.862	0.192
	<b>Accuracy</b>		<b>Kappa</b>	
	0.655		0.063	

13. Performances PCR multiplex sous antibiotique test par test

**b) ANALYSE DE LA PERFORMANCE DE LA PCR MULTIPLEX PAR POPULATION : CRITERES FRANCS DE SURINFECTIONS BACTERIENNES.**

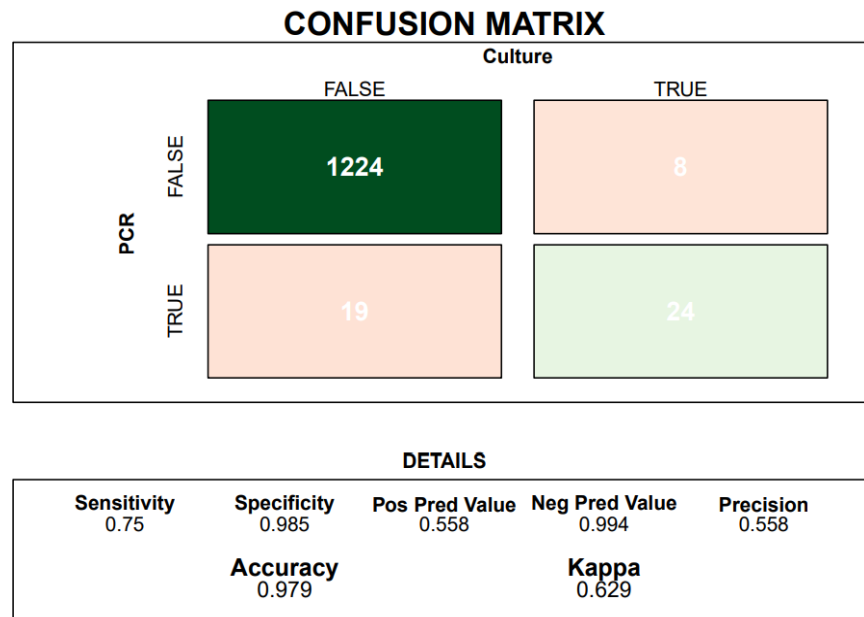
49 patients ont présenté au moins 3 critères de surinfections bactériennes, dont 18 avec une infection documentée microbiologiquement par la culture soit 35%.

**(a) PAR GERME**

Concernant l'évaluation des performances de la PCR multiplex TheFilmArray® chez un échantillon présentant au moins 3 critères de surinfection bactériennes en analyse germe par



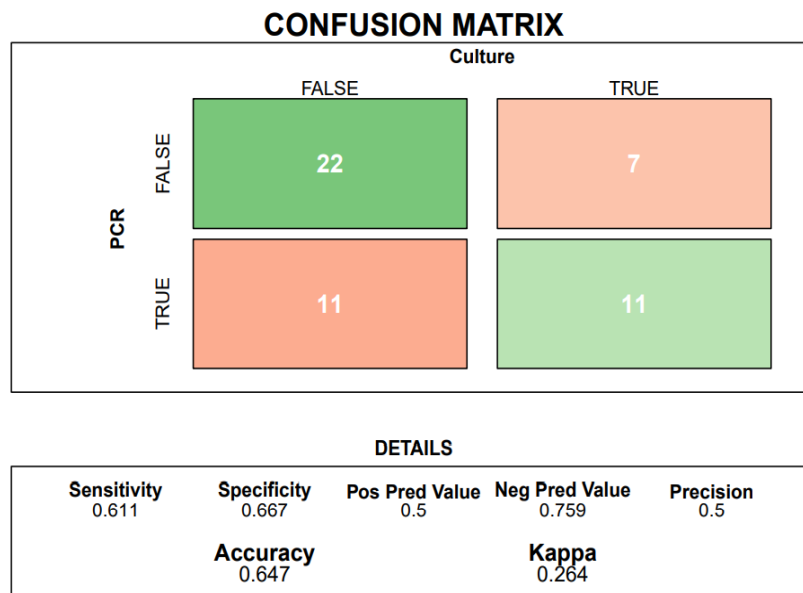
germe, la sensibilité sur cet échantillon est de 0.75, la spécificité de 0.98, le coefficient Kappa de 0.63.



14. Performances PCR multiplex quand l'indication est une suspicion de surinfection bactérienne germe par germe

**(b) PAR TEST**

Concernant l'évaluation des performances de la PCR multiplex TheFilmArray® chez un échantillon présentant au moins 3 critères de surinfection bactériennes en analyse prélèvement par prélèvement, la sensibilité sur cet échantillon est de 0.61, la spécificité de 0.67, le coefficient Kappa de 0.26.



15. Performances PCR multiplex quand l'indication est une suspicion de surinfection bactérienne test par test

	sensibilité	spécificité	kappa
globale	71	99	0,57
théorique	87	98	0,61
hors antibiotique	79	99	0,7
sous antibiotique	68	98	0,46
>2 critères de surinfections	75	98	0,62

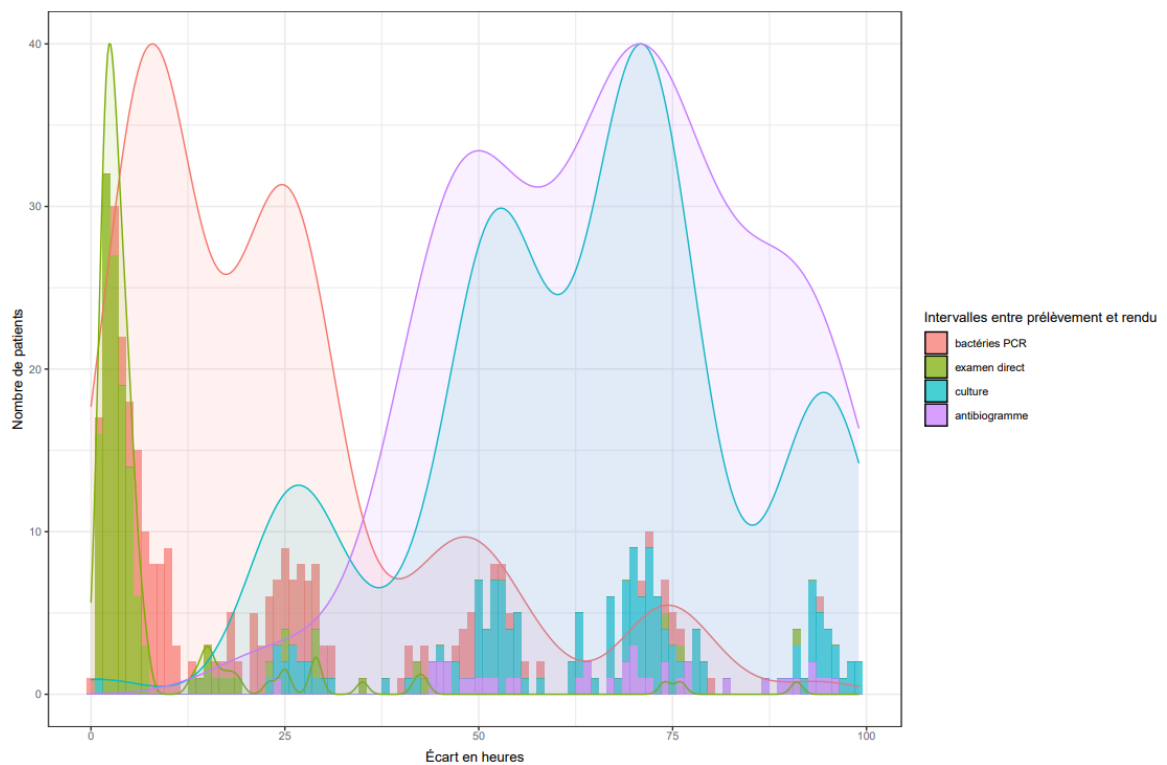
16. Récapitulatif des performances de la PCR multiplex TheFilmArray en analyse germe par germe.

	Sensibilité	Spécificité	kappa
globale	56	73	0,26
théorique	81	72	0,39
hors antibiotique	72	78	0,48
sous antibiotique	38	70	0,06
>2 critères de surinfections	61	67	0,26

17. Récapitulatif des performances de la PCR multiplex TheFilmArray en analyse prélèvement par prélèvement.

#### 4. COMPARER LES DELAIS DE RENDU DE RESULTAT DE LA PCR SYNDROMIQUE VS CULTURE ET ANTIBIOGRAMME.

##### a) DISTRIBUTION



16. Distribution des délais

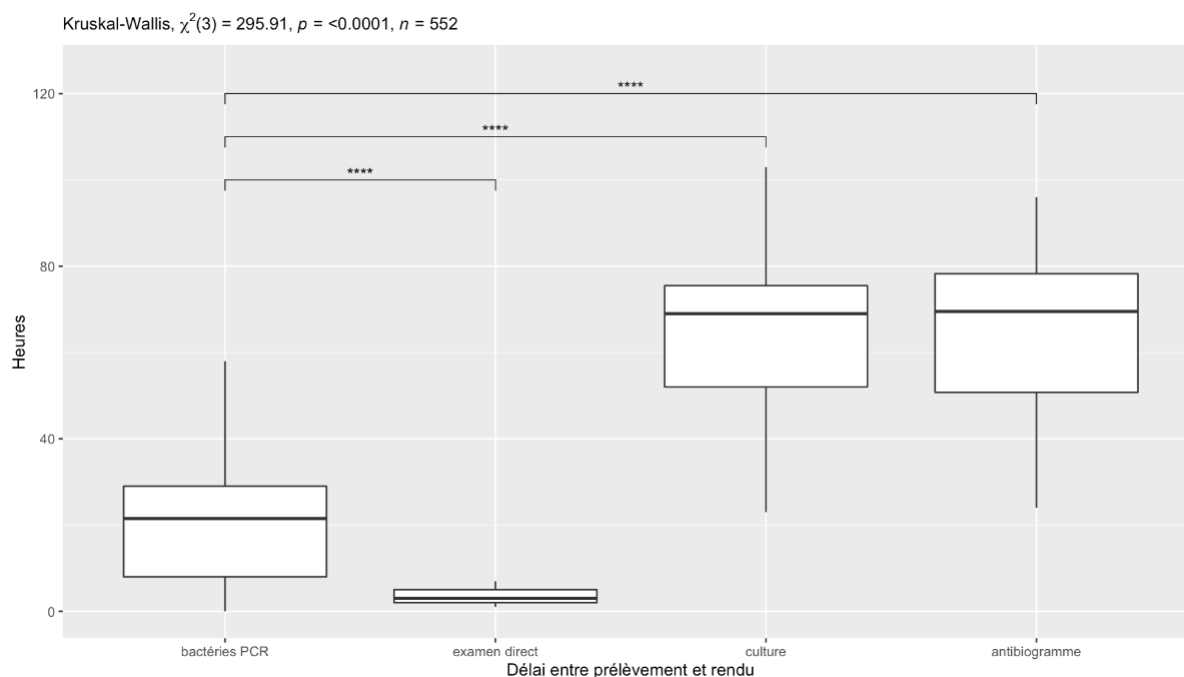
La médiane de rendu de la PCR multiplex TheFilmArray® était de 21,5H (Q1=3H ; Q3=29H), contre 3H pour l'examen direct (Q1=2 ; Q3=5), 69H pour la culture (Q1=52 ; Q3=78) et 70H pour l'antibiogramme (Q1=51,8 ; Q3=89,2)).

La différence entre la PCR multiplex TheFilmArray® et l'examen direct était de 18.5H en faveur de l'examen direct, de 47.5h entre la PCR et la culture en faveur de la PCR et de 48.5h heures entre la PCR et l'antibiogramme.

## b) COMPARAISON DES DELAIS DE RENDU

La distribution des délais de rendu étant non-normale (distribution d'allure multinomiale), nous avons utilisé un test non paramétrique de Kruskal-Wallis pour comparer les différents délais de rendu.

Ce test a montré que tous les délais étaient significativement différents.



17. Comparaison des délais de rendu, Kruskal-wallis

En pratique, nous recevons donc les résultats de la PCR multiplex TheFilmArray® en une journée et 2 jours avant les résultats de l'antibiogramme.

## 5. REGRESSION LOGISTIQUE SUR LA DETECTION DE GERME MULTIRESISTANT EN LIEN AVEC LES FACTEURS DE RISQUE DE RESISTANCES

Dans cette analyse nous cherchons à déterminer si les facteurs de risque de résistance bactérienne chez les patients de notre cohorte étaient associés significativement à plus de détection de bactéries multirésistantes.

En analyse multivariée sur les facteurs de risque connus d'infection à BMR, les deux facteurs de risques associés significativement à la présence de BMR sur l'antibiogramme dans notre population sont une hospitalisation de plus de 5 jours ( $p < 10^{-2}$ ) et une hospitalisation récente ( $p < 0,1$ ). Après sélection de variable, seule la durée d'hospitalisation de plus de 5j restait significativement associée à la présence de BMR sur l'antibiogramme ( $p = 0,0007$ ).

## 6. ANALYSES DES MODIFICATION D'ANTIBIOTHERAPIE SUITE AUX RESULTATS DE LA PCR MULTIPLEX THEFILMARRAY®

En analysant les différentes données recueillies dans cette étude nous avons réalisé l'arbre décisionnel suivant (*figure 18*), basé sur

- La connaissance des différents spectres de résistance des phénotypes sauvages des bactéries détectées;
- l'écologie locale de notre hôpital et en particulier de nos réanimations, où les principales résistances détectées sont des céphalosporinases dérégulées (12 dans cette étude), des *Pseudomonas aeruginosa* mutés sur la porine D2 (8 dans cette étude), des *Enterococcus faecium* résistants à l'ampicilline, et une incidence de SARM peu élevée (aucun dans cette étude).
- Une bonne connaissance des points forts et des points faibles de la PCR multiplex notamment des germes et résistances absents du panel.
- Des données préliminaires de notre étude montrant que l'examen direct présenté très peu de faux positifs à BGN lorsque la culture était négative mais de nombreux faux positifs à Cocci plus.

L'utilisation de cet arbre décisionnel associée à l'interprétation des différentes données cliniques (gravité), contextuelles (FDR BMR), paracliniques (microbiologiques, biologiques, radiologiques) décrites dans la partie matériel et méthode, nous a permis de déterminer une "antibiothérapie théorique" que l'on aurait pu introduire suite aux résultats de la PCR multiplex (*18*).



a) **MODIFICATIONS REALISEES EN PRATIQUE :**

En pratique, l'utilisation de la PCR multiplex en réanimation a entraîné 83/143 (58%) actions adaptées (modifications ou non modifications) contre 42% (60/143) inadaptées.

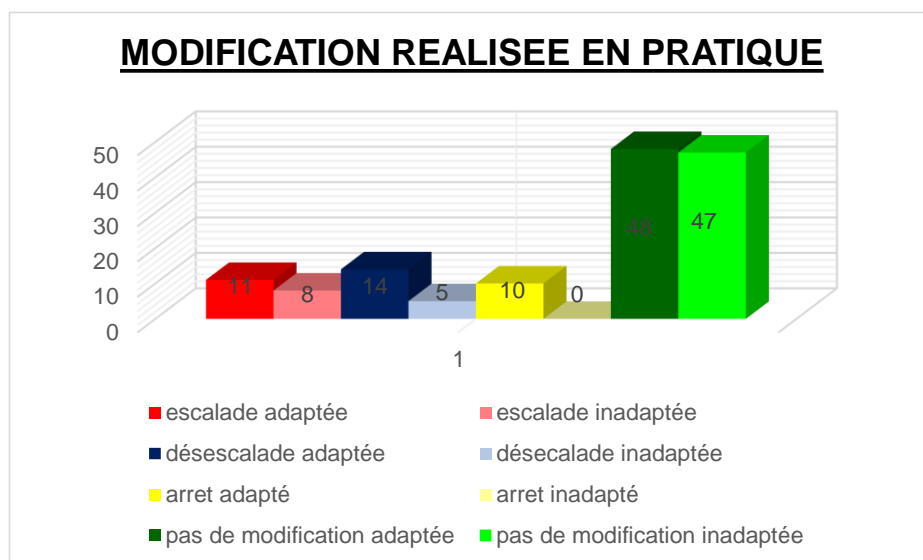
Parmi ces actions inadaptées, on dénombre 47 patients chez qui il n'y a pas eu de modification d'antibiothérapie après la PCR alors que celle-ci aurait dû conduire à une désescalade ou à un arrêt de l'antibiothérapie.

Il y a eu 19 escalades d'antibiothérapie après obtention des résultats de la PCR multiplex, dont 11 adaptées (parfois liées cependant plutôt à une dégradation clinique qu'aux résultats de la PCR), et 8 injustifiées.

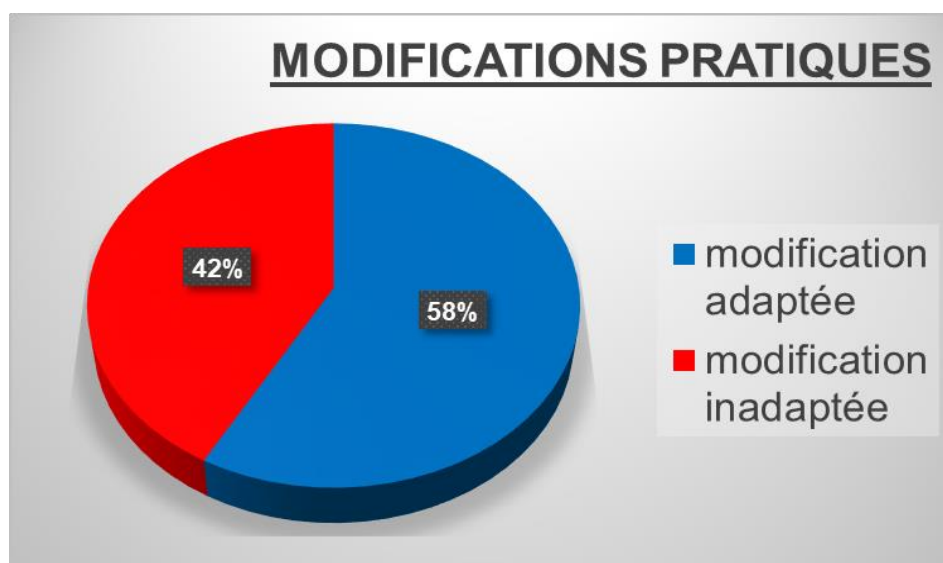
19 désescalades dont 14 adaptées et 5 injustifiées.

10 arrêts d'antibiothérapies qui étaient tous adaptés.

Enfin, 48 patients n'ont pas eu de modification d'antibiothérapie de façon adaptée suite aux résultats de la PCR multiplex.



18. *Distribution des modifications d'antibiothérapie réellement réalisées*



19. *Pourcentage de modifications adaptées et inadaptées réalisées en pratique*

**b) MODIFICATIONS QUI AURAIENT PU ETRE REALISEES EN SUIVANT L'ARBRE DIAGNOSTIQUE**

En suivant l'arbre décisionnel ci-dessus, nous avons constaté que la PCR multiplex aurait pu permettre des modifications d'antibiothérapie adaptées à l'antibiogramme final dans 85.3% des cas (122/143) et inadaptées dans 14.6% des cas (21/143)

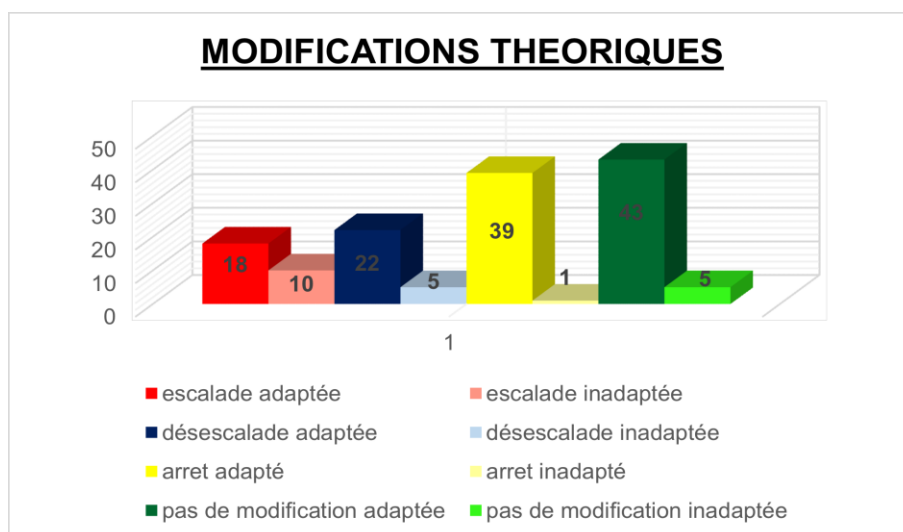
-Parmi ces modifications, 28 escalades auraient pu être réalisées dont 18 adaptées et 10 inadaptées, notamment du fait de la détection importante de faux positifs dans notre cohorte (29), entraînant une surconsommation d'antibiotique chez ces 10 patients.

-Concernant les 27 désescalades envisageables, 22 auraient été adaptées et 5 inadaptées.

Parmis ces 5 désescalades inadaptées, 2 auraient entraînées une inefficacité de l'antibiothérapie, les 3 autres auraient été réalisées devant un faux positif de la PCR multiplex à un germe communautaire permettant une désescalade de l'antibiothérapie probabiliste initiale mais la culture étant négative au final un arrêt théorique de l'antibiothérapie aurait du être réalisé en l'absence de ces faux positifs .

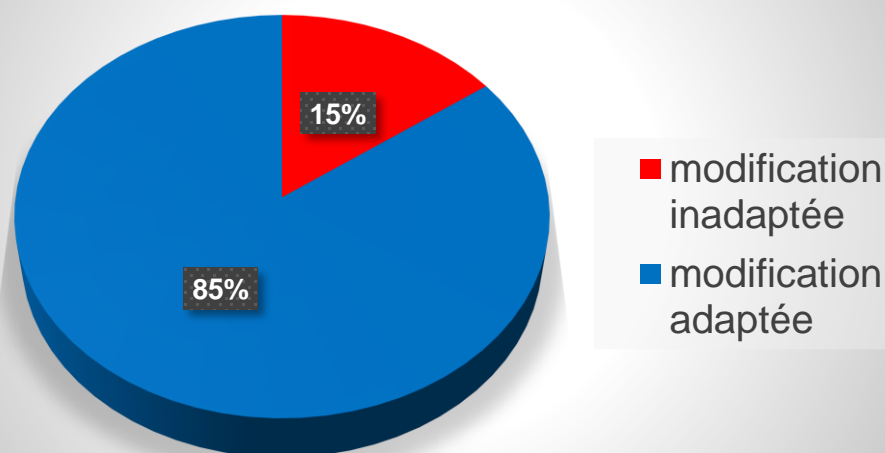
48 patients n'auraient pas eu de modification de leur antibiothérapie dont 43 de façon adaptées, et 5 de façon inadaptées en lien avec la détection de faux positifs par la PCR entraînant une surconsommation car empêchant l'arrêt de l'antibiothérapie.

40 arrêts d'antibiothérapie dont 39 adaptés et un inadapté entraînant une inefficacité.



20. *Modifications d'antibiothérapies qui auraient pu être réalisées en suivant l'arbre décisionnel*

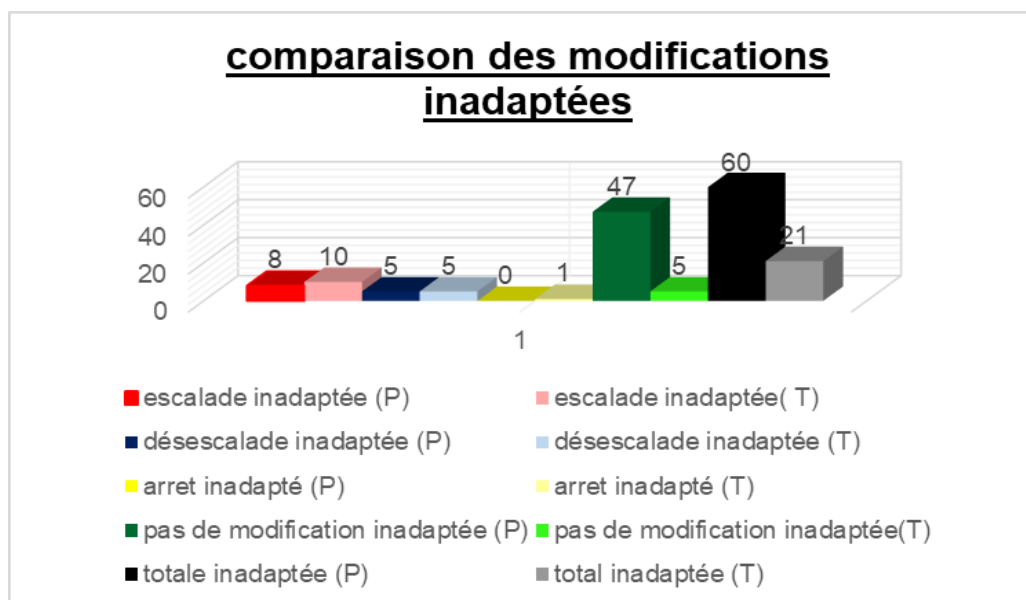
## MODIFICATIONS THEORIQUES



21. Pourcentage de modification adaptée et inadaptée théorique

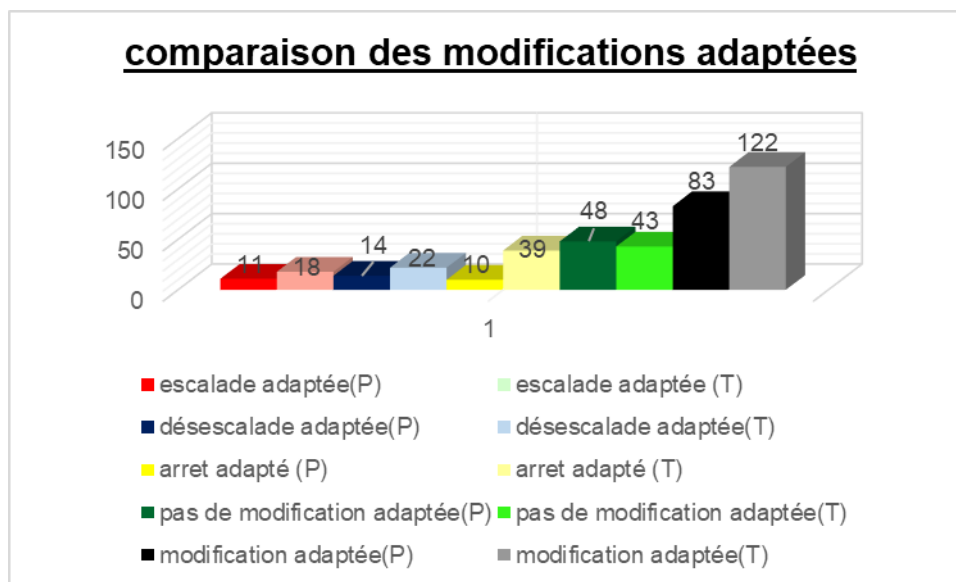
### c) COMPARAISON DES DEUX STRATEGIES DE CHOIX D'ANTIBIOTHERAPIE

Quand on compare les deux prises en charge on constate qu'il y a 3 fois plus de modifications inadaptées dans le groupe « pratique » que dans le groupe « théorique » (60 vs 21), qui sont principalement liées à des situations où l'antibiothérapie n'a pas été modifiée après obtention des résultats alors qu'elle aurait pu l'être (47 vs 5 PMI) ; notre algorithme aurait pu permettre 29 arrêts adaptés d'antibiothérapie, 8 désescalades et 7 escalades adaptées supplémentaires. Elle aurait cependant entraîné 1 arrêt inadapté supplémentaire et 2 escalades inadaptées supplémentaires.



22. Comparaison des modifications inadaptées entre les deux stratégies





23. Comparaison des modifications adaptées entre les deux stratégies

**d) CONSEQUENCES CLINIQUES D'UNE UTILISATION OPTIMALE DE LA PCR MULTIPLEX :**

Dans cette partie nous allons comparer l'antibiothérapie théorique post résultat de la PCR à l'antibiothérapie probabiliste en s'affranchissant de l'antibiothérapie choisie par le praticien hospitalier après l'obtention des résultats de la PCR. Le but étant de comparer l'apport de la PCR multiplex par rapport à une prise en charge dans laquelle aucune PCR multiplex n'aurait été réalisée.

En comparaison avec l'antibiothérapie probabiliste initiale, l'utilisation de la PCR multiplex TheFilmArray® associée à l'algorithme présenté aurait pu permettre 44.7% d'épargne d'antibiotique (64 = 39 arrêts adaptés + 22 désescalades adaptées + 3 désescalades inadaptées où l'antibiothérapie aurait pu être arrêtée (culture négative) mais la PCR multiplex était positive à un germe peu résistant (FP à SAMS, *Haemophilus influenza* ou pneumocoque sans facteur de risque de BMR).

La PCR aurait aussi permis un rattrapage d'antibiothérapie inefficace chez 12.7% (18) des patients, cependant cela aurait entraîné une surconsommation d'antibiothérapie à large spectre chez 10.5% des patients (15 = 10 EI + 5 PMI) et une inefficacité de l'antibiothérapie chez 2% des patients (3 = 1 AI + 2 DI, désescalades inadaptées car FN rendant inefficace le traitement initial).

Elle n'aurait pas entraîné de modification chez 30% des patients (43).

En considérant les 15 patients avec une PCR multiplex TheFilmArray® susceptible d'induire une surconsommation d'antibiotique :

- Chez 10 d'entre eux, le prélèvement respiratoire a été réalisé sous antibiothérapie, or dans ce cas la culture standard peut-être prise en défaut. Ainsi la PCR peut conduire

au traitement d'un germe réellement présent, mais non détecté par la culture, il ne s'agit alors pas d'une surconsommation.

- Parmi les 5 restants, 1 a été réalisé sur une CBT (or nous proposons de ne pas réaliser de PCR multiplex sur ce genre de prélèvement pour ne pas sur-détecter de flore endogène).
- Les 4 restants ont été réalisés sur des LBA, hors antibiothérapie, et ont retrouvé 2 *Staphylococcus aureus*, un *Haemophilus influenza* et un *Acinetobacter ursingii*. Parmi ces 4 germes seuls l'*Acinetobacter ursingii* aurait entraîné la surconsommation d'un antibiotique à large spectre.

# IV. DISCUSSION

## (1) CRITERE DE JUGEMENT PRINCIPAL

Concernant le critère de jugement principal, dans cette étude les performances germe par germe de la PCR multiplex TheFilmArray® semblent intéressantes pour la détection des bactéries responsables des PAVM en réanimation. En effet, nos résultats démontrent une sensibilité de la PCR de 72% et une spécificité de 99%. Cette sensibilité peut être améliorée jusque 87%, après exclusion des germes non présents dans le panel de la PCR multiplex TheFilmArray®.

Ces résultats sont concordants avec ceux de 3 études bien menées sur le sujet, retrouvant des sensibilités entre 70.5% et 88%, pour des spécificités entre 95.2% et 99% (**57, 61, 63**).

Cependant, nos valeurs prédictives positives diffèrent fortement de celle de l'étude de *Peiffer-smadja* (**57**). En effet dans notre étude la VPP était de 48%, contre 87% dans l'étude de *Peiffer-smadja*. Cette différence est expliquée par des probabilités pré-test opposées, en effet dans l'études de *Peiffer-smadja* la probabilités pré test est très forte puisque les patients inclus avaient tous des examens directs positifs. Alors que dans notre étude la PCR était réalisée dans 40% des cas devant une dégradation d'un patient atteint d'un SDRA Covid sans franc argument pour une surinfection bactérienne (généralement à l'admission en réanimation) et 62% des patients avaient un test Covid positif. Or une méta-analyse a rapporté une incidence de seulement 7 % de patients COVID-19 hospitalisés avec une coinfection bactérienne; cette proportion passait à 14 % dans les études qui n'incluaient que des patients de soins intensifs (**66**). Les patients hospitalisé pour un SDRA Covid ont une symptomatologie riche et fluctuante faisant fréquemment suspecter une surinfection pulmonaire bactérienne au cours de lors hospitalisation en soin intensif mais ils ont finalement une incidence de surinfection assez faible rapportée aux nombres de jours passés sous ventilation mécanique.

Dans notre étude seulement 23% des patients avaient finalement une infection microbiologiquement documentée. Cette faible prévalence peut en partie expliquer nos faibles valeurs prédictives positives. Cette hypothèse est appuyée par une étude colombienne de 2022, réalisée chez des patient en SDRA covid hors antibiotique, où la faible probabilité pré test de surinfection bactérienne (17% de culture positif) était associée à une VPP de 66%, donc similaire à la VPP de notre analyse en sous-groupe chez les patients hors antibiotique (65%) (**67**). De plus dans notre analyse en sous-groupe chez les patients présentant au moins

3 critères de surinfection bactérienne et qui ont donc une probabilité pré test plus importante (36%), la VPP passe de 48% à 56%.

La PCR multiplex TheFilmArray® étant plus coûteuse (200 euros) que les méthodes conventionnelles, il convient de cibler l'utilisation de la PCR multiplex chez des patients fortement suspects de présenter une surinfection bactérienne. L'intérêt est d'éviter des dépenses de santé en tests non nécessaires chez des patients ayant déjà dès le départ une faible probabilité pré-test de surinfection. Des études de rentabilités seront probablement nécessaires.

L'analyse des résultats de la PCR multiplex doit se faire en association aux résultats de l'examen direct de la méthode de bactériologie standard, afin de se rapprocher des performances théoriques de la PCR multiplex, puisque la détection par l'examen direct de bacilles gram négatif lorsque la PCR est négative, fait suspecter un faux négatif lié à une bactérie absente du panel.

Il paraît nécessaire d'intégrer de nouvelles amorces permettant de détecter des bactéries actuellement absentes du panel afin d'améliorer les performances de la PCR mutliplex.

En ce qui concerne notre test de concordance, le coefficient Kappa était de 0,57 contre 0,72 dans l'étude colombienne (67), qui se rapproche par contre davantage de celui de notre analyse en sous-groupe, chez les patients hors antibiothérapie, qui était à 0.70.

## (2) ANALYSE TEST PAR TEST

Cependant lorsque l'analyse a été réalisée test par test, les performances étaient bien moins bonnes, avec une sensibilité de 55.9% et une spécificité de 73.4%, une VPP de 40% et une VPN de 84%. Cela correspond, d'après le coefficient kappa, à un accord faible entre les deux tests (coefficient kappa = 0.256). Ces résultats sont confirmés par ceux d'une étude suisse récente, prospective, randomisée et multicentrique, qui retrouve en analyse test par test une sensibilité de 55.6%, une spécificité de 86.6 % pour la détection des bactéries Gram-négatif, une valeur prédictive négative de 92.8 %, et une valeur prédictive positive de 38,5 % (68).

Dans l'étude de *Luyt* (58) réalisé en analyse test par test la sensibilité était de 77.4% et la spécificité de 14.3% (faible spécificité expliquée par une prévalence très forte de la documentation microbiologique dans cette étude (58) un seul vrai négatif, et 6 faux positifs sur les 93 tests analysés).

Cette faible performance peut être expliquée par plusieurs éléments. Premièrement l'analyse du tableau de contingence a été faite selon une hypothèse du biais maximum. S'il existait plusieurs valeurs possibles pour un test, le choix de la valeur était défini par l'ordre de priorité suivant  $VN < VP < FP < FN$ , et cela même si le germe détecté (VP) était plus résistant que le germe non détecté (FN). Ce choix a donc fortement augmenté le nombre de FP et FN et a contribué à diminuer la performance du test. En effet tous les tests avaient au moins un vrai négatif, et parmi les 15 faux négatifs, 3 avaient au moins un vrai positif associé qui était plus résistant que le faux négatif (*illustration 25*).

Ensuite, 60.9% des prélèvements ont été réalisés sous antibiothérapie, or une antibiothérapie préalable peut mettre en défaut la culture en décapitant la pousse d'une éventuelle bactérie, qui serait en revanche détectée par la PCR multiplex, car celle-ci détecte l'ADN et ne nécessite pas que la bactérie soit viable. La prise d'antibiotique au moment du prélèvement pourrait donc générer de "faux faux positif", il y a en effet 1.7 fois plus de faux positifs dans le sous-groupe « sous antibiotique » (12 (0.0089%) vs 31 (0.015%)). Les valeurs les plus affectées sont donc la valeur prédictive positive (VP/(VP+FP)) qui est presque deux fois meilleure dans le groupe « hors antibiotique » que dans le groupe « sous antibiotique » (65% VS 35%), elle est même multipliée par 3 dans l'analyse test par test (62% contre 19%). La spécificité quant à elle passe de 78% dans le groupe hors antibiotique (test/test) à 70% dans le groupe sous antibiotique.

On peut extrapoler ce résultat en supposant que la PCR multiplex TheFilmArray® pourrait aider à la détection des microorganismes responsables de surinfection pulmonaire chez des patients déjà sous antibiothérapie au moment du prélèvement. Certaines études ont montré que la majeure partie des patients hospitalisés en réanimation pour un SDRA Covid reçoit une dose d'antibiothérapie avant, ou dans les 24h suivant leur admission, comme l'a montré une étude allemande (80.4%) (69).

Même en l'absence d'antibiothérapie, la culture conventionnelle est loin d'être un gold standard idéal en raison de ses performances diagnostiques limitées. Dans une étude comparant la PCR multiplex à la culture conventionnelle en utilisant comme gold standard l'association clinique et imagerie, la PCR (de type *Unyvero*® et non TheFilmArray®) avait une meilleure sensibilité (31,9%) que les méthodes de bactériologies conventionnelles (22,2 %) pour des spécificités proches (respectivement 91,7% et 97,9 %) (70).

Enfin, 15% des PCR multiplex ont été réalisées sur des prélèvements non profonds (CBT). Cette technique de prélèvement, certes moins invasive, est plus à risque de faux positifs par contamination par de la flore oropharyngée, comme le *Staphylococcus aureus*, germe qui colonise fréquemment la muqueuse nasopharyngée et le plus fréquemment à l'origine de faux positifs dans notre étude (9/41). La limitation de la réalisation de la PCR multiplex aux lavages broncho-alvéolaires paraît raisonnable dans ce contexte, pour limiter les coûts et le risque de surconsommation d'antibiotiques à large spectre, liée à la détection de germes commensaux non pathogènes (65, 71).

### (3) ANALYSE DES DELAIS

Notre analyse sur les délais de rendu de la PCR multiplex TheFilmArray® a montré qu'elle pourrait permettre 48.5 heures d'épargne d'antibiotique, en permettant une désescalade adaptée précoce, et ainsi un gain important dans la lutte contre l'émergence de résistances. Ce résultat est confirmé par une étude récente prospective multicentrique et randomisée (68) qui a montré qu'un traitement antibiotique inapproprié durait significativement moins longtemps dans le groupe PCR que dans le groupe témoin basé uniquement sur la culture conventionnelle (47.1 h, IC95% [34.7–59.5] contre 85.7 h, IC95% [78.8–95.6] ;  $p < 0.0001$ ), ce qui s'était traduit par une diminution de la durée d'antibiothérapie inappropriée de 45.0 %

(37·9–52·1). Dans cette étude le caractère inapproprié de l'antibiothérapie était principalement liée à une antibiothérapie large spectre non nécessaire, la désescalade permise grâce à la PCR n'avait pas entraîné de différence significative dans la proportion de patients atteignant la stabilité clinique ou la sortie de l'hôpital.

#### **(4) ANTIBIOTHERAPIE**

Cette étude suggère que la PCR multiplex pourrait aider à améliorer l'antibiothérapie probabiliste chez 55.3% des patients en permettant 15.4 % de désescalades, 27.3% d'arrêts et 12.6% d'escalades de l'antibiothérapie initiale. Ce constat se rapproche des résultats de l'étude (57) dans laquelle la PCR multiplex aurait pu permettre d'améliorer l'antibiothérapie probabiliste chez 63% (60/95) des patients grâce à l'initiation plus précoce d'un antibiotique efficace pour 20/95 patients (21 %) et à une désescalade précoce chez 37 patients (39 %).

5 autres études confirment ce résultat (59, 72, 73, 74), dont l'étude de Novy qui a montré qu'avec l'utilisation d'un algorithme (cf annexe 1) chez des patients COVID-19 ventilés en réanimation, la PCR multiplex aurait pu permettre 65,6% d'épargne d'antibiotique pour les coinfections bactériennes (75).

Dans notre étude une utilisation optimale de la PCR multiplex par rapport à une stratégie sans PCR aurait pu permettre 44.7% d'épargne d'antibiotique, 12.6% de rattrapage d'une antibiothérapie initialement inefficace, mais aurait été responsable de 10.5% de surconsommation et de 2% d'inefficacité d'antibiotique (1% dans 57).

L'interprétation et l'intégration des résultats de la PCR syndromique respiratoire dans la pratique clinique requièrent une expertise microbiologique et antimicrobienne, une bonne connaissance des performances et des limites du système utilisé, ainsi qu'une discussion approfondie entre microbiologistes et cliniciens intégré à l'écologie locale du service. Il est essentiel de connaître le panel de la PCR utilisée pour éviter de manquer, ou continuer de suspecter même après un résultat négatif, une bactérie non incluse dans le panel.

#### **(5) ETUDE DES GERMES**

La majorité des bactéries non détectée par la PCR multiplex TheFilmArray® étaient des BGN (dans 13 cas sur 16). La plupart de ces BGN étaient des germes potentiellement résistants avec 6 entérobactéries du groupe 3, un *Pseudomonas aeruginosa*, 2 *Stenotrophomonas maltophilia*, 2 *Achromobacter xylosoxidans* et un *Acinetobacter ursingii*. Dans 9 des 13 faux négatifs le direct était positif à BGN. De plus, sur les 143 tests analysés le direct était positif à BGN alors que la culture et la PCR étaient négatives dans 2 cas uniquement ; sur 2 CBT, en quantité « rares » et « quelques ». On rappelle que plusieurs entérobactéries du groupe 3 ne font pas partie du panel de détection de la PCR multiplex TheFilmArray® (*Hafnia alvei*, *Citrobacter* etc.), une PCR négative avec un direct positif à BGN pourrait être un argument pour une infection à un de ces germes absent du panel.

Enfin, le principal mécanisme de résistance détecté dans notre étude était un mécanisme enzymatique via la production d'une céphalosporinase dérégulée, puisque 12 des 13 BMR détectées possédaient ce mécanisme de résistances (parmi d'autres).

Au vu de ces constatations, nous proposons dans nos réanimations de traiter par Cefepime un patient dont la PCR multiplex est négative mais l'examen direct positif à BGN afin de ne pas sélectionner une éventuelle céphalosporinase dérégulée.

10 des 16 faux négatifs détectés concernaient des germes non détectés par la PCR multiplex : comme *Hafnia alvei*(3) Dans son étude *Peiffer-smadja* avait fait les mêmes constatations (*Hafnia alvei* (n = 5), *Citrobacter koseri* (n =2) et *Serratia rubidaea* (n = 1)). Il est donc important de noter que ces outils, du fait de leur manque d'exhaustivité, doivent être utilisés en complément des techniques de culture mais ne peuvent pas les remplacer. Il faut également souligner l'intérêt voire la nécessité d'inclure à terme une gamme plus large de bactéries dans le panel de détection de ces PCR syndromiques.

Sur les 16 germes non détectés, 6 étaient liés à un prélèvement poly microbien comme dans l'étude **57**, où la sensibilité de la PCR (Unyvero (Curetis GmbH)) pour les échantillons poly microbiens était inférieure à la sensibilité globale (73 % vs 80 %).

Dans notre étude nous avons pu analyser un grand nombre de couple PCR/culture (143), de nombreuses études (**57, 59, 61, 63, 66, 68, 72, 73, 74, 75**) confirment nos résultats renforçant la validité externe de cette étude.

La réalisation supplémentaire d'une analyse prélèvement par prélèvement plus proche de la réalité clinique que l'analyse germe par germe, permet de nuancer les résultats encourageant du critère de jugement principal, rappelant que la PCR multiplex complète mais ne remplace pas la culture conventionnelle.

Cette étude est à notre connaissance une des premières ayant réalisée une analyse en sous-groupe chez des patients sous antibiotique, permettant d'envisager une éventuelle indication de la PCR multiplex chez ces patients chez qui la culture standard peut être mise en défaut.

Une autre force de cette étude est l'analyse des modifications d'antibiothérapies réalisées suite à l'obtention de la PCR multiplex montrant qu'une formation des praticiens est nécessaire pour l'utilisation optimale de ce nouveau test.

L'algorithme créé, et vérifié grâce au recueil de très nombreuses données cliniques, contextuelles et paracliniques ayant permis une revue de dossier rétrospective, pourrait être une piste pour optimiser l'utilisation de la PCR multiplex en réanimation.

Cependant une des premières limites de cette étude est que cet algorithme a été créé en parti avec certaines données préliminaires de l'étude, par conséquent il devra être vérifié sur une cohorte externe.

De plus le design de l'étude limite son extrapolation à d'autres populations puisqu'il s'agit d'une étude rétrospective et mono centrique.

Une autre des limites de cette étude est l'absence de détection de gène de résistance par la PCR multiplex, probablement en lien avec un manque de puissance - puisque seulement une BLSE et 2 carbapénèmes ont été détectés par la culture standard - du fait de notre

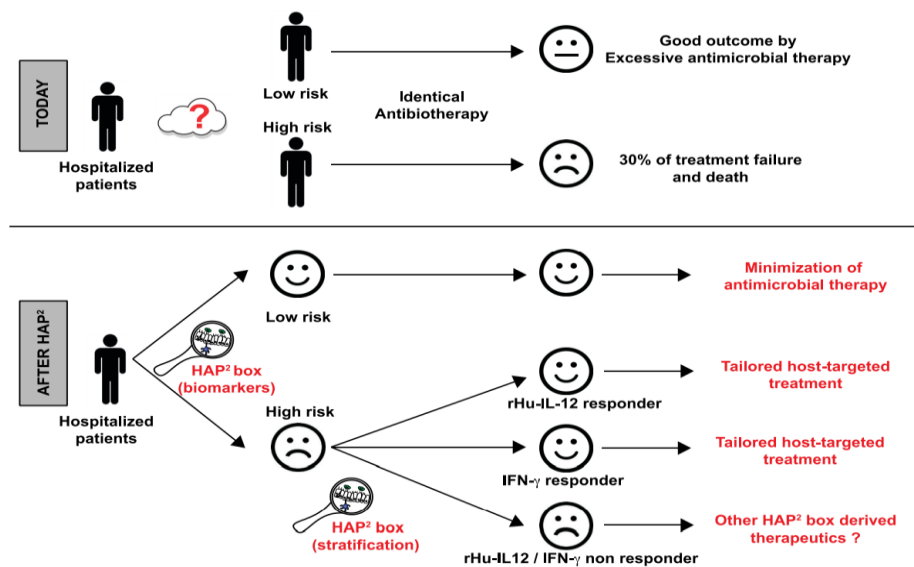
écologie bactérienne locale différentes de celle des hôpitaux parisiens étudiés dans **57** avec notamment une incidence plus faible de carbapénémase et de BLSE.

En effet dans l'étude **57**, plusieurs gènes de résistance avaient été détectés, dont 5 des 8 bêta-lactamases à spectre étendu (gène CTX-M) et 4 des 4 gènes carbapénémases (3 NDM, un oxa-48) détectés par la culture dans cette étude.

Il est important de noter que sans test spécifique il est impossible d'assurer avec certitude la présence d'une carbapénémase, la distinction entre les différentes classes de carbapénémase n'étant également pas possible.

Les résultats préliminaires de cette étude observationnelle mériteraient d'être confirmés par une étude prospective randomisée dans laquelle on comparerait les durées d'antibiothérapies inadaptées selon l'utilisation ou non de la PCR chez des patients suspects de PAVM, le choix de l'antibiothérapie dans le groupe PCR pouvant être basé sur notre algorithme (en association avec microbiologiste et infectiologue).

Avec la découverte de nouveaux concepts, la PCR pourrait devenir moins centrale avant même d'être largement utilisée. Par exemple le concept de microbiome pulmonaire et la nouvelle vision de l'infection pulmonaire depuis que des techniques indépendantes de la culture ont montré que des poumons sains abritent un écosystème diversifié et dynamique de bactéries, modifiant notre compréhension de la physiopathologie respiratoire. Comprendre la dysbiose du microbiome respiratoire et l'altération de l'immunité muqueuse chez les patients atteints d'une maladie grave pourrait permettre de développer des immunothérapie ciblée dirigée vers l'hôte afin de réduire les traitements inefficaces, d'améliorer les résultats pour les patients et de lutter contre la menace mondiale de bactéries résistantes à l'origine de ces infections (**76, 77**).



25. Une nouvelle approche thérapeutique dans l'infection respiratoire : l'utilisation d'immunomodulateurs pour rétablir la symbiose hôte microbiome (**77**).



La PCR multiplex est donc un nouvel outil novateur dont le coût devrait diminuer dans les prochaines années et les performances s'améliorer notamment avec l'intégration de nouvelles amorces permettant de détecter des bactéries actuellement absentes du panel ou l'adjonction d'un système de quantification témoin de la qualité du prélèvement. La maîtrise de cet outil par les cliniciens sera primordiale pour que l'avancée technologique se traduise par une avancée dans la qualité des soins délivrés au patient.

### Références :

69. *Rothe K, Feihl S, Schneider J, Wallnöfer F, Wurst M, Lukas M, et al. Rates of bacterial co-infections and antimicrobial use in COVID-19 patients: a retrospective cohort study in light of antibiotic stewardship. Eur J Clin Microbiol Infect Dis Of Publ Eur Soc Clin Microbiol. 2021;40:859–69*
70. *Affolter K, Schumann DM, Tamm M, Jahn K, Siebeneichler A, Junker L, Wagner K, Keller PM, Frei R, Stolz D. Multiplex PCR on the Bronchoalveolar Lavage Fluid of Immunocompromised Patients. Chest [En ligne]. Sep 2018 [cité le 4 oct 2022];154(3):722-5. Disponible : <https://doi.org/10.1016/j.chest.2018.06.018>*
71. *Murphy CN, Fowler R, Balada-Llasat JM, Carroll A, Stone H, Akerele O, et al. Multicenter evaluation of the Biofre Filmarray Pneumonia/Pneumonia Plus Panel for detection and quantification of agents of lower respiratory tract infection. J Clin Microbiol. 2020;58:e00128–20*
72. *Poritz MA, Blaschke AJ, Byington CL, Meyers L, Nilsson K, Jones DE, Thatcher SA, Robbins T, Lingenfelter B, Amriott E, Herbener A, Daly J, Dobrowolski SF, Teng DH, Ririe KM. FilmArray, an Automated Nested Multiplex PCR System for Multi-Pathogen Detection : Development and Application to Respiratory Tract Infection. PLoS ONE [En ligne]. 19 oct 2011 [cité le 4 oct 2022];6(10):e26047. Disponible : <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0026047>*
73. *Monard C, Pehlivan J, Auger G, et al. Multicenter evaluation of a syndromic rapid multiplex PCR test for early adaptation of antimicrobial therapy in adult patients with pneumonia. Crit Care 2020; 24: 434.*
74. *Sircar M, Ranjan P, Gupta R, et al. Impact of bronchoalveolar lavage multiplex polymerase chain reaction on microbiological yield and therapeutic decisions in severe pneumonia in intensive care unit. J Crit Care 2016; 31: 227–32.*
75. *Novy E, Goury A, Thivilier C, Guillard T, Alauzet C. Algorithm for rational use of Film Array Pneumonia Panel in bacterial coinfections of critically ill ventilated COVID-19 patients. Diagn Microbiol Infect Dis. 2021;101:115507*
76. *Charlson ES, Bittinger K, Haas AR, Fitzgerald AS, Frank I, Yadav A, Bushman FD, Collman RG. Topographical continuity of bacterial populations in the healthy human respiratory tract. Am J Respir Crit Care Med 2011;184:957–963.*
77. *Roquilly A, Torres A, Villadangos JA, Netea MG, Dickson R, Becher B, Asehnoune K. Pathophysiological role of respiratory dysbiosis in hospital-acquired pneumonia. The Lancet Respiratory Medicine [En ligne]. Août 2019 [cité le 4 oct 2022];7(8):710-20. Disponible : [https://doi.org/10.1016/s2213-2600\(19\)30140-7](https://doi.org/10.1016/s2213-2600(19)30140-7)*

78. Mahul, P., Auboyer, C., Jospe, R., Ros, A., Guerin, C., El Khouri, Z., Galliez, M., Dumont, A., & Gaudin, O. (1992). Prevention of nosocomial pneumonia in intubated patients : Respective role of mechanical subglottic secretions drainage and stress ulcer prophylaxis. *Intensive Care Medicine*, 18(1), 20–25. <https://doi.org/10.1007/bf01706421>

## **V. CONCLUSION**

En conclusion, la PCR multiplex par son délai de rendu court et par les informations microbiologiques qu'elle apporte est un nouvel outil intéressant pour la gestion de l'antibiothérapie des patients atteints de PAVM en réanimation, que ce soit à titre individuel ou à titre collectif dans la lutte contre l'émergence des résistances bactériennes.

Ce nouvel outil est à manier en complément de la culture et ne doit pas la remplacer. Il est important de définir et d'en préciser les indications afin de limiter un surcoût pour notre système de santé et garantir ses performances en termes de sensibilité et spécificité. De plus, la connaissance des forces et des faiblesses de la PCR est indispensable afin d'éviter de générer des surconsommations ou des inefficacités de l'antibiothérapie, la formation des praticiens est donc indispensable. Son interprétation et l'intégration de ses résultats dans la pratique clinique devront être faites en collaboration avec nos collègues microbiologistes et infectiologues.

Pour cela nous proposons de réaliser une PCR multiplex syndromique uniquement sur un prélèvement profond de type LBA, chez des patients présentant des critères francs de surinfection bactérienne, et de procéder à l'analyse des résultats de la PCR en association avec les résultats de l'examen direct, le contexte clinique, les facteurs de risque de résistances de chaque patient et ceci toujours en fonction l'écologie du service.

THÈSE SOUTENUE PAR : Benjamin GALLET

TITRE :

PEPPER : Performance de la PCR multiplex en réanimation pour la détection des PAVM

CONCLUSION :

**INTRODUCTION:** The quick detection and identification of the infectious agents responsible for Ventilator Acquired Pneumopathies, the main site of infection in intensive care, is a major challenge both individually to optimize the antibiotic treatment of each patient, and collectively to fight against the emergence of multi-resistant bacteria. The FilmArray multiplex PCR, thanks to the detection of 19 bacteria and 7 resistance genes, could make it possible to adapt antibiotic therapy early in patients with VAP and thus limit the use of broad-spectrum antibiotic therapy in the intensive care. **METHOD:** In this retrospective study, carried out at the Grenoble University Hospital/CHU Grenoble Alpes in surgical and cardiovascular and thoracic intensive care units between February 2020 and June 2022, we have evaluated the performance and potential impact on antibiotics prescription of the multiplex PCR. The patients included were adults who underwent syndromic multiplex PCR analysis, combined with a standard bacteriological method on the same respiratory sample in the face of suspected pulmonary superinfection. **RESULTS:** 143 PCR/standard bacteriology pairs have been analyzed, the sensitivity was 71.1% and the specificity 99%, the majority of the undetected germs were those absent from the detection panel with a theoretical sensitivity by excluding these germs of 87%. In this study, the use of PCR could have allowed 45.4% antibiotic savings (65), 7.7% (11) of spectrum catch-up. However, this would have led to overconsumption of broad-spectrum antibiotic therapy in 12.6% of patients (18) and ineffectiveness of antibiotic therapy in 2% of patients (3). On average, the results of the multiplex PCR were returned in 25.9 hours, i.e. 47 hours before the antibiogram. **CONCLUSION:** Multiplex PCR could be a valuable tool for adapting antibiotic therapies for patients with VAP as long as the processes are precisely defined and there is a good knowledge of its strengths and weaknesses.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Grenoble, le : 26/09/2022

LE DOYEN DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

Pour le Président  
et par délégation  
Pour le doyen  
La Directrice Adjointe  
Caroline V...

Pr. Patrice MORAND

Pour le Président  
et par délégation  
Le Doyen de Médecine  
Pr. Patrice MORAND

LE PRÉSIDENT / LA PRÉSIDENTE DU JURY

Pr. Jean Francois PAYEN

# Le serment d'Hippocrate

## *L*e serment d'Hippocrate

Texte revu par l'Ordre des médecins en 2012

“ Au moment d'être admis(e) à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels 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 leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des 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 les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis(e) dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu(e) 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. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui 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 déshonoré(e) et méprisé(e) si j'y manque. ”

# **VI. REMERCIEMENTS**

## **Au président du jury :**

-Monsieur le professeur Jean François Payen,

Merci d'avoir accepté de présider cette thèse et de juger ce travail, merci pour la formation que vous m'avez apporté pendant mon internat. C'est une fierté de vous avoir comme président.

## **Aux membres du jury :**

-Madame le Docteur Patricia Arcangela PAVESE,

Merci d'avoir accepté de juger mon travail, c'est un honneur de vous compter dans mon jury, merci pour tous les précieux avis et la formation continue que vous apportez à nos réanimations.

-Monsieur le Docteur Yvan CASPAR,

Merci d'avoir accepté de faire partie de ce jury, merci pour votre aide lors mon recueil de donnée, et merci pour votre expertise et votre réactivité dans la prise en charge des patients porteurs de bactéries multi-résistantes en réanimation.

-Monsieur le Docteur Remi Wolf,

Merci Remi pour m'avoir accompagné dans ce projet de recherche, merci pour ta confiance ton soutien et tes précieux conseils.

Merci pour ta patience devant ma dysorthographe et mon niveau zéro en statistique. J'admire ton parcours, ton perfectionnisme, ton implication, et ta bienveillance envers tes patients (comme envers tes internes). Merci pour ton accompagnement en stage ou j'ai beaucoup appris à tes coté tant humainement que médicalement. Tu as toute ma gratitude et mon respect.

## **Aux soignants :**

Merci à tous les soignants que j'ai pu rencontrer lors de mon parcours, merci de m'avoir accueilli dans vos équipes et de m'avoir partagé votre savoir.

Merci aux équipes du bloc de chirurgie digestive et d'orthopédie Sud pour m'avoir initié à l'anesthésie.

Merci à toute l'équipe paramédicale et médicale de la réanimation d'Annecy, merci de m'avoir encadré avec patience et humour lors de mes débuts en réanimation.

Votre passion pour la réanimation et la manière dont vous faite ce travail au quotidien n'a fait que renforcer mon envie de faire ce métier.

Merci à Michel et Albrice pour votre humilité malgré vos compétences exceptionnelles, c'était un véritable plaisir de travailler et d'apprendre à vos côtés.

Merci à toute l'équipe paramédicale et médicale de la réanimation cardiovasculaire et thoracique pour m'avoir appris les bases de la réanimation et les différences de raisonnement en fonction de chaque population.

Merci à Romain d'avoir fait passer Thibault sous le baby.

Merci à l'équipe de chirurgie cardiaque d'Annecy médecin IADE et IBODE pour votre apprentissage, votre patience et votre bonne humeur.

Mention spécial à Arnaud aussi drôle que bon pédagogue.

Merci à Fonfon pour ton enthousiasme si contagieux.

Merci à toute l'équipe de la RPC pour tous ce que vous m'avez apporté pendant ce stage et ces nombreuses nuits blanches.

Merci aux médecins , merci à Marie Christine et Phillippe pour m'avoir partagé une petite partie de votre grande expérience , merci à Thibault et Julia pour tous ce que vous m'avez enseigné sur l'hépatologie , merci à Gille pour ta vision de la réanimation et tes concepts , merci à Remi pour m'avoir permis de progresser en l'infectiologie et sur tant d'autres points, merci à Dominique pour m'avoir transmis ta passion pour ce métier dès mon externat .

Merci à toute l'équipe paramédicale de m'avoir accueilli dans votre équipe

Merci à Renaud pour toutes ces pauses et discussions passé minuit.

Merci à J-B pour tes vanes sans limites.

Merci à Claire pour ta bienveillance.

Merci à Thierry pour tes compétences et ton humour quel que soit l'heure de la nuit

Merci aux deux Flo, à David et Niki, à Fabien à Sylvain à Manon à Louison à Lisa aux Fred pour votre sens clinique si précieux et votre efficacité sous la pression.

Merci aux kinés d'élites Clem, Julie et Fatima pour vos astuces et votre savoir-faire qui m'ont sauvé tant de fois sur les gardes.

Merci à Virginie, euh non Véro, d'essayer de briser ma réputation auprès de chaque personne que tu croises, je ne rentrerai pas dans ta guerre contre les pharmaciens ce n'est pas mon combat.

Merci à tous ce que je n'ai pas cité pour tous ce que vous m'avez apporté.

Merci à toute l'équipe de la maternité du chu de Grenoble

Merci à toute l'équipe du bloc d'orthopédie pour ce stage merci à Manu et Yves de m'avoir transmis votre savoir-faire et votre connaissance en matière d'anesthésie locorégionale.

Merci à Clément pour ton enseignement et ta sympathie, merci de m'avoir communiqué ta conception de l'anesthésie.

Merci à toute l'équipe du bloc opératoire de pédiatrie.

Merci aux médecins, Isa, Guiseppe, Thibault, Marion, Sarah, Marielle, Noémie pour tous ce que vous m'avez appris en commençant par comment on porte un enfant (et oui il y avait du boulot), merci d'avoir cette science occulte qu'es l'anesthésie pédiatrique, c'était un plaisir de travailler avec vous.

Merci à toute l'équipe d'IADE pour tous ce que vous m'avez apporté, merci à Jeanne de m'avoir pris son ton aile.

Merci aux IBODES, merci à Lucas Tiffaine et Noémie pour votre joie de vivre au travail, toujours en musique.

J'ai beaucoup d'admiration pour votre investissement auprès des enfants et de leurs proches aux 4 coins du globe.

Merci à toute l'équipe médicale et paramédicale de la réanimation neurochirurgicale pour ce stage fort en apprentissage, en rigolade, en piratage de mail, en café, en scanner, en brancardage. Merci pour tous ce que vous m'avez apporté vous êtes une équipe incroyable  
Merci aux médecins les cracks, Clotilde, Marie-Cécile, Perrine, Mariette, Eli, Olivier, Pierre, Bart, Sam, Kevin, Felix, J-B et son fils caché Simon pour toutes l'expertise que vous m'avez transmise et toute l'autonomie que vous m'avez permise d'acquérir au cours de ce stage.  
Merci aux infirmiers aides-soignants et ASH pour votre bienveillance votre bonne humeur et votre efficacité peu importe l'heure.

Merci aux Attachés de recherche clinique, et surtout merci à Anaïs sans qui ce projet n'aurait sans doute jamais aboutit, merci pour ton aide et tes précieux conseils, merci d'avoir supporté mes nombreux retards toujours avec le sourire !!

### **A MES AMIS DE L'EXTERNAT :**

Merci les copains pour ces années d'externats inoubliables et pour tous ces moments passés à vos côtés dans ces pré-soirée, ces trajet jusqu'au CHAM toujours en musique « Donde donde esta RE... », ces WEI, ces vacances dans le sud et à Orcières.

A Remi pour ces années où tu as été présent dans les bon moment comme dans les mauvais, merci pour tous ces fou rire, toutes ces caricatures, toutes ces chansons, toutes ces cuite à grand coup de chouffe, de rouge ou de Ricard, merci pour toutes les fois où j'ai dormie sur ton canap (« impossible »), pour tous ces tacos post garde ou post soirée.  
Merci pour tout gamin.

A Jordan la force tranquille du groupe, merci pour toutes ces bastilles, ces city et toutes ces roustes a Fifa que tu m'as mise avec ton équipe cheeté à 10 attaquants.

A Hugo merci pour tous nos délires partagés et nos barres de rires, en stage en soirée en vacance ou sur la Play.

Merci d'avoir été ma muse pour les caricatures des FIHU (su-go, télétub-go, escar-go...)  
Stay the same.

A John, merci de m'avoir conseillé pour mon siège du bureau on sent les années d'études par contre je comprends toujours pas pourquoi j'ai dû pisser dans ce pot.  
J'aurai juste une question « on est où ici ? A GIERES ? »

A Selim, merci d'arrêter de vouloir pisser sur tout le monde !

Adri merci pour ces blue-lagunes, mais même à 8 grammes je te battrais toujours à Mario striker !!

### **A MES AMIS DE L'INTERNAT**

Merci à ma promo A Steph pour ces 2 flèches lourdes et pour avoir gardé le secret pour la gemme, à tété et toine pour ces séances de fractionnés des enfers, à Charles et Victor pour la découverte du vieux manoir en apéro d'anesth ped, à PB7 fine fleur du fleurball merci d'être présente malgré la gloire les femmes et l'argent, à Marjo et flo pour votre gentillesse (ou es que tu as mis le corps), à Mariano pour ton sérieux, à Diana pour ton humour presque aussi lourd que tes biceps.

Merci aux promos d'en dessus et d'au-dessus.

-Merci à mes Co-internes d'Annecy Amaury Thibault sabine, Madeline, Héloïse, Bérangère pour ce semestre incroyable  
-Merci à Amaury, pomme, pour ces heures sur la terrasse à raconter tes histoires venues d'ailleurs, pour ces heures de babyfoot même si on était encore plus mauvais à la fin qu'au début.  
-Merci à Thibault de la Reyniette pour ce semestre pour ta bonne humeur et ton humilité, merci pour ces soirées dans tes déguisements incroyables, même si ces images de toi sans la fraise me hanteront à jamais.

-Merci A Malik, pour m'avoir appris qu'on porte un t-shirt avec un ti-short et pas l'inverse, merci pour nous avoir sauvés des hordes de zombie malgré ton strabisme. Merci pour ces stages en RCVT et RPC c'est un plaisir de travailler avec toi !

-Merci à kekille dao bella, égérie des foulards hermès, merci pour ces semestres en réa cœur et en RPC ou tu n'as jamais pris la grosse tête malgré ta renommée internationale et tes centaines de publications sur le lambeau pédiculé.

Merci à mes Co-interne de réa neuro pour tous ces scanners, ces IRM et ces piratages de mails.

-Merci Alex, petit mais puissant, pour toutes tes connaissances sur les différentes variétés de quinoa, merci de nous avoir guidé pendant ces 6 mois on n'aurait pas pu rêver meilleur soclard. Mais bon prend pas trop la grosse tête tu restes en dessous de pioupiou dans la hiérarchie de l'hôpital.

-Merci à GuiGui pour m'avoir appris, brutalement, que la noradrénaline c'était de l'homéopathie. Merci pour ton calme légendaire digne des plus grands réanimateurs, « tout se passait bien le patient était en arrêt, y avait pas de blème ».

-Merci à Julien pour ton grain de folie qui nous a régalié pendant 3 mois !

-Merci aux externes et merci à Léonard pour ta connaissance infinie ....sur « I love PDF ».

-Ah Medhi, merci de pas toucher au quad elfique du ptit Billy (vroom vroom) ou la calotte elle va partir et tu risques de moucher rouge. Merci d'avoir rendu ces stages de RPC et RNC aussi fun. Merci pour ta motivation ton humour et ta case en moins qui font de toi le co-interne idéal. Reste le même malgré la grande ville et son électricité du démon.

Merci à Beubeu la saumure, notre maître, pour l'initiation à l'alpinisme et à DetD et merci pour les 10 émeraudes et 15 opales en cadeau de thèse.

Merci à Thomas pour ta gentillesse et ton humilité malgré ton parcours hors norme, merci d'avoir accepté d'amener un manchot comme moi en canyon !

Merci à Fanny pour ton professionnalisme ta joie de vivre et surtout pour les p'tits poulets et les pintes de génépi !

A Louitos, crack parmi les cracks, merci pour avoir ramassé tous ces ballons au fond des filets sans broncher, pour toutes ces couches remplies en montagne sur des skis ou des crampons, pour l'air que tu m'as partagée à 20 mètres de profondeurs quand ma bouteille était à sec mais compte pas sur moi pour te rendre l'appareil en Nouvelle Calédonie, pas touche à mon air, à la limite tu pourras respirer un autre gaz. Merci pour ta vision si optimiste du monde. Je te laisse prendre soin du petit Réda, il est trop fougueux.

Ps les mercuriales Vapor sont à toi, tu les mérites, prend soin de ta petite famille.

Merci à Réda pour ces magnifiques tirs (cloches) en pleines loutches, merci pour cette semaine en Egypte ou tu m'as appris que les paliers n'existent pas et n'étaient qu'un complot des



écoles de plongée pour nous faire perdre du temps, je te confie à louis, prendre soin de toi c'est trop de responsabilités.

A Antoine, le créateur de la chaine Arte, merci de m'accepter malgré mon prénom « benja-noix », merci pour toutes ces capsules de bières cachées, et toutes les piquettes que tu nous as mis au jeu de société car tu es le plus intelligent.

Merci à Floxiball, « my Friends », pour tous ces trolls, pour abaisser le niveau des games par ton ratio négatif et pour notre check légendaire. Merci d'être absent à ma thèse.

A Pauline merci pour ces centaines de capsules dans ma boîte aux lettres avec lesquels je pourrai m'acheter un petit quelque chose.....ou plutôt le futur locataire.

Merci à Bast pour se semestre à Annecy et toutes ces histoires autour d'une bière sur mon balcon, merci de me laisser entrevoir ma première victoire à chacun de nos match de tennis avant de me briser mentalement.

A Nils, le palet humain, merci pour tous ces délires en réa cœur, toutes ces games de warzone malgré ton absence de shoot et pour m'avoir appris le chifou dir même si tu l'as payé par la suite.

Merci pour ce surnom que j'aime tant.

#### **AUX AMIS DU LYCEE**

Maelys, rousse, d'avoir supporté ma lourdeur et mon humour débile pendant toutes ces années. Tu es une personne et une amie incroyable.

Merci à Max et Tristan, de rendre chaque moment que l'on passe ensemble mémorable, malgré qu'ils se fassent de plus en plus rares.

#### **AUX COPAINS DU FOOTS**

Merci à vous d'avoir été mon échappatoire pendant ces longues années études, c'est en parti grâce à vous que j'ai pu réussir ces concours, j'ai autant aimé être votre coéquipier sur le terrain qu'en dehors, merci d'être une équipe incroyable.

Merci Alex, d'être à mes cotés depuis les U13, merci d'avoir brisé les genoux de tous les joueurs adverses qui ont essayé de me découper.

Je suis fier de toi et de la magnifique famille que tu as fondée.

Merci à Raph, notre capitaine pour tous ces coups de casques gagnant, et merci pour ton but du milieu du terrain après ma boulette en demi-finale de coupe d'Isère, je t'en dois une.

Merci à Zam, le portier emblématique du club, merci pour tous les points que tu as sauvé grâce à tes parades et pour ta bonne ambiance en soirée.

Merci à Cisou, pour ta joie de vivre et ton autodérision, merci de m'avoir fait réfléchir sur l'anatomie du tibia.

Merci à guillaume, meneur d'homme sur et en dehors du terrain, merci de m'avoir montré dès mon plus jeune âge comment fonctionne un défibrillateur quand Simon avait des palpitations.

Merci aux jumeaux Guitoune et Tomi (ou l'inverse ?) pour votre bonnes humeurs qui a permis d'être le liant entre saint Just et saint roman.

Merci à Arthur pour l'ambiance que tu mets sur et au bord du terrain.  
Ne lâche rien un jour tu feras un top 1 sur warzone.

Merci à JC, el gato, notre président pour l'engagement que tu as mis dans ce club et surtout pour ton but de la ligne du corner contre chatte.

A Simon, merci à toi et ton hydrocéphalie (cf. Google) qui t'a permis de prendre tous les ballons de la tête.

Merci à Jordan d'avoir tenue le milieu de terrain à grand coup de râpe et pour tous les buts gagnants à la dernière seconde que tu as pu mettre.

### **A MA FAMILLE :**

A mes parents, merci pour toutes cette délicieuse huile d'olive, mon unique source de nourriture pendant mes 8 premières années enfermés dans le placard.

Merci pour l'enfance que vous m'avez offerte, merci pour votre votre éducation pour votre confiance, pour votre soutien tout au long de ces longues études.

Merci à mon père, d'être un véritable modèle tant professionnellement que familialement, j'admire ton intelligence, ta polyvalence, ton caractère, et ton courage.

A ma mère, merci d'avoir été la maman parfaite, merci de nous avoir fait passer avant ta propre personne merci d'avoir toujours été présente c'est grâce à toi si nous sommes tous les 3 arrivés là où nous sommes. J'admire ton sens du sacrifice et ta bienveillance même si je ne comprends toujours pas comment Didier a pu avoir une femme aussi belle.

A ma sœur, merci d'avoir été l'exemple à suivre durant toutes ces années.

J'admire ta force de caractère, tes convictions, ton professionnalisme et ta capacité de travail

Je suis fier d'être le petit frère de Salomé GALLET.

A coco, merci pour tous nos moments de partage durant notre enfance et aujourd'hui.

Paix aux âmes des malheureuses personnes qu'on a décidées de trôler en soirée.

Merci pour la brasse que je me suis prise quand tu t'étais frappé tout seul avec la canne de billard.

Merci à marine d'être aux côtés de mon frère et de le rendre heureux.

Je suis heureux que tu fasses partie de la famille.

A mes grands-parents pour votre amour et pour toutes vos attentions, j'admire votre parcours et vos histoires.

Merci à papi Jackie pour m'avoir appris à faire du vélo et pour ces tours en tracteur quand j'étais petit.

Merci à mamie Geneviève pour tout l'amour que tu nous as donnée et pour ta sauce ketchup crème.

Merci à mamie Maryse, merci pour ton amour, pour être toujours là pour nous, j'admire ta force et ta bienveillance, et je comprends que tu ne veuille pas dire aux autres que je suis ton petit fils préféré (jojo ne le supportera pas).

Merci à papi Vivi, j'aurai tant aimé avoir plus de temps pour te connaître toi à qui je ressemble tant.

Merci à oups de m'avoir remplacé dans le cœur de ma propre mère.

**A Ophé :**

Merci pour m'avoir permis d'être à tes côtés pendant ces 2 ans.

Merci de supporter ma mauvaise foi et mes absences, merci de m'aider chaque jour à m'améliorer.

Merci pour ta joie de vivre, ton humour, tes convictions et ta communication.

Merci de jouer avec mes nerfs à chacun de tes retards.

Merci d'être ma moitié au fond des mers, au sommet des montagnes ou sur le canapé.

J'ai hâte de découvrir le monde avec toi.

Je t'aime.

