

Pseudomonas aeruginosa
et antibiotiques

Jean-Didier CAVALLO
HIA Bégin - Saint-Mandé

Pseudomonas aeruginosa

bactérie rustique

pathogène opportuniste

infections graves

résistance aux antibiotiques

P. aeruginosa : bactérie rustique

- Ubiquitaire
- Saprophyte
 - environnement humide : eau et sol
 - sources de contamination multiples

P. aeruginosa

- Pathogène opportuniste
 - infections nosocomiales
 - infections communautaires

P. aeruginosa dans les infections nosocomiales
(données enquête prévalence nationale 2001)

Site anatomique	Fréquence	Place n°
infection pulmonaire	21,7 %	2
inf peau, tissus mous	15,5 %	2
inf site opératoire	9,7 %	2
infection urinaire	9,6%	2
tous sites confondus	11,1%	3

P. aeruginosa : infections communautaires

- Infections oculaires
 - kératites, abcès de cornée, endophtalmies
- Infections cutanées bénignes ou graves
- Infections respiratoires (mucoviscidose)
- Otites
 - externes aiguës ou malignes
 - moyennes chroniques

P. aeruginosa : colonisation

- Origine endogène ++
 - muqueuses pharyngées et intestinales colonisées
 - adhésion et multiplication
- Transmission
 - croisée manuportée
 - solution aqueuse ou équipement contaminé

P. aeruginosa : infection

- Facteurs de virulence
- Terrain
 - barrières cutanéomuqueuses
 - immunité non spécifique et spécifique
- Rupture iatrogène des barrières cutanéomuqueuses
 - manoeuvres invasives
 - chimiothérapie

P. aeruginosa
services à risque très élevé d'IN

- Unités de soins intensifs
- Unités de brûlés
- Services de mucoviscidose

P.aeruginosa : mortalité des IN

- Très élevée
 - jusqu'à 50-70 % au cours des pneumopathies
 - jusqu'à 30-50 % au cours des septicémies

Epidémies hospitalières

Méthodes de typage

Pouvoir discriminant

- phénotypiques

+/- à +

- génotypiques

ribotypie

+ à ++

PCR

++ (rapide, peu cher)

pulsotypie

+++ (long, cher)

MLVA

+++ (variable)

Confronter aux données épidémiologiques et cliniques

P. aeruginosa et mucoviscidose

- Colonisation respiratoire
 - quasi inéluctable
 - après contamination aérienne
- Infection respiratoire

Stade

aspect colonies

antibiogramme

primo-infection

non mucoïde

souche sauvage

infection chronique

mucoïde

multirésistances

Mucoviscidose
Critères de passage à la chronicité
infections à *P. aeruginosa*

- Examens cyto bactériologiques des crachats
 - 3 examens successifs avec $> 10^6$ cfu/ml

et/ou

- Sérologie spécifique
 - présence d'au moins 2 arcs de précipitines antipyocyaniques

***P. aeruginosa* - résistances naturelles**

- Pénicillines G, A et M
- C1G, C2G et certaines C3G
- Cotrimoxazole
- Macrolides, cyclines, chloramphénicol
- Quinolones de première génération
- Kanamycine
- Rifampicine, glycopeptides, ac. fusidique

Antibiogramme de *P. aeruginosa*

- Pénicillines - ticarcilline, pipéracilline, ticarcilline + ac clavulanique, pipéracilline + tazobactam
- Céphalosporines - ceftazidime, cefsulodine, céfépime, cefpirome
- Monobactames - aztréonam
- Carbapénèmes - imipénème, méropénème
- Aminosides - gentamicine, tobramycine, amikacine, nétilmicine, isépanicine
- Fluoroquinolones - ciprofloxacine
- Autres - colimycine, fosfomycine

Méthodes d'étude au laboratoire en routine

Etude de la sensibilité aux antibiotiques

/ méthode de diffusion en gélose

/ mesure directe de la CMI

– dilution en gélose

– dilution en milieu liquide

– E-Test

+ lecture interprétative

----> Conclusion S, I, R

Pseudomonas aeruginosa

Sensibilité aux antibiotiques en France dans les CHU (%)

Antibiotiques	1995 (n = 1149)	1999 (n = 738)	2004 (n = 450)
Ticarcilline	58	58	62
Pipéracilline	72	73	78
Ceftazidime	80	76	78
Céfépime	55	53	64
Imipénème	86	81	83
Tobramycine	-	71	80
Amikacine	67	62	86
Ciprofloxacine	66	60	68

GERPB 1995-1999 et GERPA 2004

Variations des résistances acquises

avec

- La localisation géographique
- L'origine
 - communautaire
 - nosocomiale
- Dans l'hôpital :
 - le service,
 - le type de prélèvement
 - le temps

P. aeruginosa: - sensibilité aux antibiotiques (%) en fonction des sites de prélèvement

Sites	n souches	% de sensibilité					
		TIC	PIP	CAZ	IMI	AMK	CIP
Urines	587	50	68	74	85	66	48
Pulmonaires hors mucoviscidose	419	57	69	72	81	67	65
Pulmonaires mucoviscidose	147	58	62	62	66	29	61
Total souches	2097	57	72	75	85	69	62

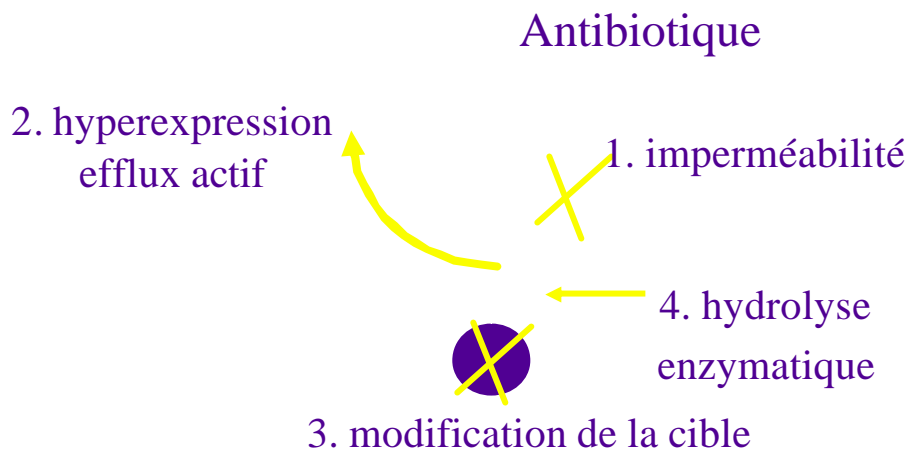
GERPB 1997-1998

P. aeruginosa: - sensibilité aux antibiotiques (%) en fonction des principaux sérotypes

Sérotypes	n souches	% de sensibilité						
		TIC	PIP	CAZ	IMI	AMK	CIP	FOS
O : 6	366	67	82	80	87	68	72	37
O : 11	282	49	61	63	80	75	53	23
O : 1	220	73	85	86	86	71	76	36
O : 12	183	9	19	59	75	23	10	63
non typables	517	58	74	73	82	67	66	34

GERPB 1997-1998

Mécanismes de résistance de *P. aeruginosa*



P. aeruginosa résistance acquise aux β -lactamines

Hydrolyse enzymatique

- pénicillinases
- céphalosporinase
- imipénémase

Résistance non enzymatique

- impermeabilité
- oprF, oprD2 (carbapénèmes)
- efflux membranaire
- PLP

P. aeruginosa

Mécanismes de résistance aux β -lactamines dans 15 CHU (%)

Mécanisme	1998 (n = 1362)	2004 (n = 450)
absence	58	62
pénicillinase seule	11	6,4
β LSE	0	0,9
céphalosporinase	10	14,5
carbapénémase	0	0,4
résistance non enzymatique	20	15,4
mécanismes indéterminé	1	1,3
résistance à l'imipénème	14	16,6

GERPB 1998 et GERPA 2004

P. aeruginosa

Mécanismes de résistance aux β -lactamines (%)

Mécanisme	12 CHU (1994-95) 1162 souches	15 CHG (1994) 305 souches
absence	58,2	51,2
pénicillinase seule	12,1*	11,1
céphalosporinase	11,1	13,4
résistance non enzymatique	14,4	20,6
mécanismes associés	3,7	3,7
résistance à l'imipénème	13,9	11,2

* dont 87% de PSE-1

CMI de 7 β -lactamines en fonction du mécanisme de résistance moyenne géométrique (mg/l)

phénotypes (n)	S (228)	Case (129)	Pase (141)	RNE (167)	Case+RNE (14)	Pase+Case (28)
Ticarcilline	13	97	910	59	134	840
Tic-ac clavu	11	104	444	53	148	609
Pipéracilline	5	136	319	14	475	64
Pip-tazo	3	38	36	10	67	78
Ceftazidime	2	24	3	4	29	39
Céfépime	6	18	16	9	24	34
Imipénème	1,6	1,7	3	1,4	4	7

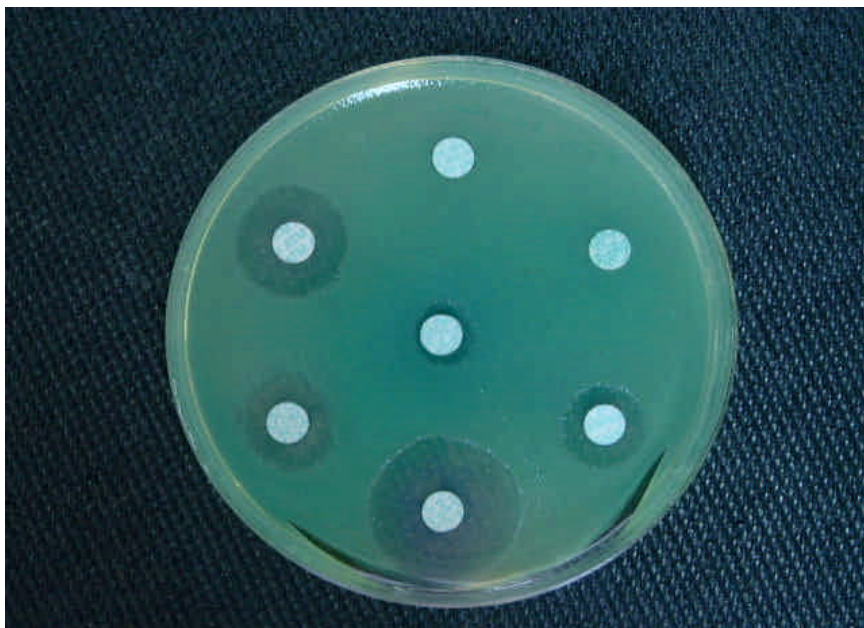
β -lactamines
Souche sauvage



β -lactamines
Pénicillinase PSE-1



β -lactamines
Céphalosporinase AmpC hyperproduite



β -lactamines
Efflux MexAB OprM



β -lactamines
Altération porine D2

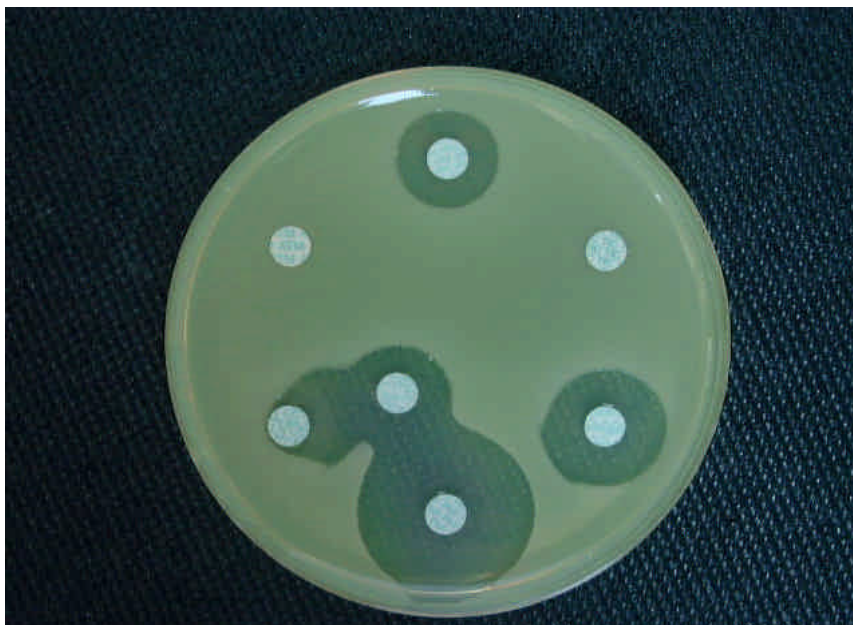
P. aeruginosa

β -lactamases à spectre étendu et imipénémases

Enzymes	TIC	PIP	CAZ	ATM	IPM	AC	TZ
PER-1	R	I	R	R	S	++	+/-
TEM _{4, 42}	R	R	R	R	S	++	++
SHV _{2a}	R	I	R	S	S	-	-
OXA _{11,14, 15,16,18,19,28}	R	I	R	I	S	+/-	+/-
IMP _{1, 7}	R	I	R	S	I/R	-	-
VIM _{1, 2, 3}	R	R	R	S	I/R	-	-

β -lactamines

β -lactamase à spectre étendu PER-1



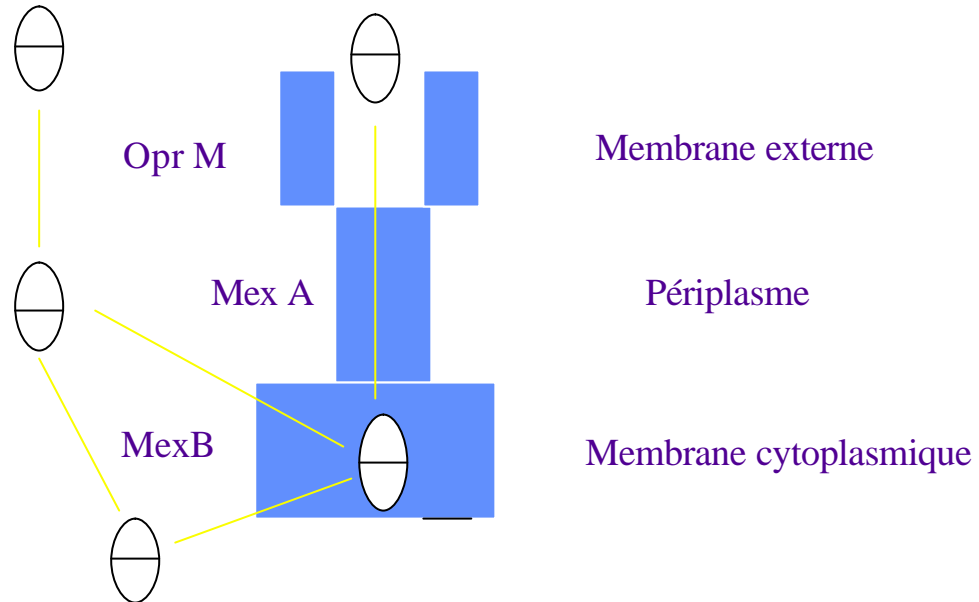
β -lactamines Carbapénémase VIM-2



Résistance non enzymatique

- Barrière de perméabilité + efflux actif
- Concentrations intra-cellulaires des antibiotiques
 - équilibre entre influx et efflux
- Expression de l'efflux variable
 - mutation de répresseurs (*mexR*, *mexT*, *mexZ*...)
 - > hyperexpression du système d'efflux

Résistance par efflux membranaire



Hyperexpression des systèmes d'efflux résistances croisées

Système d'efflux	Génotype muté	Antibiotiques touchés
Mex AB-Opr M	<i>nalB</i> (<i>mexR</i>) <i>nalC</i> (autre)	β -lactamines, Fq, Tmp, Cm, Tet
Mex CD-Opr J	<i>nfxB</i>	Fep, Cfp, Fq, Tmp, Ery, Cm, Tet
Mex EF-Opr N	<i>nfxC</i> (<i>mexT</i>)	Fq, Tmp, Cm, Tet, (Ipm, Mpm)
Mex XY-Opr M	(<i>mexZ</i>)	Fep, aminoglycosides, Ery, Tet, (Fq)

P.aeruginosa

associations β -lactamines-inhibiteurs de β -lase

- Pénicillinases
 - restauration modeste et TEM > PSE > OXA > VIM, IMP
- Céphalosporinase
 - ac clavulanique et sulbactam inactifs
 - tazobactam: activité très modérée
 - effet inducteur de l'acide clavulanique
- Résistance non enzymatique
 - absence de restauration

Sensibilité de *P. aeruginosa* à la ciprofloxacine, aux aminoglycosides et à la fosfomycine

	% de sensibilité (critères CA-SFM)		
	1991 n=578	1999 n=738	2004 n=450
Ciprofloxacine	71,6	60	68
Tobramycine	-	71	80
Amikacine	80,9	69	86
Fosfomycine	44,4	34	-

P. aeruginosa et aminoglycosides

- Activité bactéricide rapide et intense
- Synergie avec β -lactamines
- Mode d'action
 - transport actif au niveau de la membrane cytoplasmique
 - cible: ribosome 30S --> inhibition synthèse protéines

Aminoside	CMI modales(mg/l)	S	R
gentamicine	2	≤ 4	> 8
tobramycine	1	≤ 4	> 8
amikacine	4	≤ 8	> 16

P. aeruginosa résistances acquises aux aminoglycosides

	fréquence
• Inhibition du transport actif	++
• Efflux (Mex XY-OprM)	+++
• Mutation ribosomale	+
• Hydrolyse enzymatique	+++

Associations fréquentes

Fréquence des différents mécanismes parmi les souches résistantes aux aminoglycosides

Mécanismes	Aminoglycosides touchés	Fréquence %
Non enzymatique (NE)	Gm,Tm,Net,Amk,Isp	26,2
AAC(6')II	Gm,Tm,Net	18,4
NE + AAC (6')II	Gm,Tm,Net,(Amk,Isp)	13,5
ANT(2'')I	Gm,Tm	11,9%
NE + ANT(2'')I	Gm,Tm,(Net,Amk,Isp)	5%
Autres enzymes	variables	< 2% chaque

P.aeruginosa et fluoroquinolones

- Mode d'action

- cible : sous unité A de la DNA gyrase (topoisomérase II)

- > replication de l'ADN, adéquation spatiale du chromosome dans la bactérie

fluoroquinolone	CMI modales	S	R
péfloxacine	1	≤ 1	> 4
ofloxacine	1	≤ 1	> 4
ciprofloxacine	0,25 - 0,5	≤ 1	> 2

P. aeruginosa

Résistances acquises aux fluoroquinolones

- Diminution d'affinité de la cible
 - DNA gyrase- topoisomérase II, sous-unités A (*gyrA*)
 - topo-isomérase IV (*parC*)
- Imperméabilité
 - porines (*oprF*) , LPS
- Hyperexpression de divers systèmes d'efflux

Associations fréquentes

P. aeruginosa et fosfomycine

- Inhibition 1ère étape synthèse peptidoglycane (paroi)
- Fréquence résistance acquise
 - mutations chromosomiques à fréquence élevée
 - moins fréquente pour sérotype O:12
- Traitement uniquement en association - pas de monothérapie

P. aeruginosa et colistine

- Altération membrane cytoplasmique
 - combinaison aux phospholipides ---> lyse cytoplasmique
- Résistances acquises
 - patients mucoviscidosiques (aérosols colistine)
 - probables modifications de l'architecture membranaire
 - dissociation activité *in vitro* - *in vivo*
 - mauvaise diffusion tissulaire et inactivation *in vivo*
 - néphrotoxicité
 - 15 à 30 % des patients

Associations de résistances chez *P. aeruginosa*

Tic	Pip	Caz	mécanisme (fréquence)	% de souches I+R			
				Imp	Tm	An	Cip
S	S	S	aucun (62 %)	5	5	3	14
I/R	S	S/I	RNE (16 %)	27	22	15	46
I	I/R	S	Case BN (6 %)	25	50	29	68
R	R	R	Case HN (4 %)	75	69	62	75
R	I	I	Case BN + RNE (2 %)	36	36	14	64
R	R	S	Pase (2 %)	30	100	80	80
R	R	I	Pase + Case (5 %)	59	77	50	77

Effet bactéricide des antibiotiques selon le phénotype de résistance aux β -lactamines

Effet bactéricide (3Log₁₀) selon le phénotype de résistance

	3 S	5 Pase	3 Case	3 RNE	2 BLSE
Ticarcilline	1	1	0	0	0
Pipéracilline	3	2	0	1	1
Pip-tazo	3	2	0	2	1
Céfépime	3	4	2	2	2
Ceftazidime	3	2	0	1	1
Imipénème	3	5	3	3	2
Amikacine	3	5	2	3	2
Ciprofloxacine	3	5	2	3	1

Effet bactéricide des associations d'antibiotiques selon le phénotype de résistance aux β -lactamines

Effet bactéricide (3Log₁₀) selon le phénotype

	3 S	5 Pase	3 Case	3 RNE	2 BLSE
Tzp + An	3	5	2	3	2
Tzp + Cip	3	4	3	3	1
Caz + An	3	5	2	3	2
Caz + Cip	3	5	3	3	1
Imp + An	3	5	3	3	2
Imp + Cip	3	5	3	3	2
An + Cip	3	5	3	3	1

Activité bactéricide sur les bactéries quiescentes

Amikacine	+++
Fluoroquinolones	++
Imipénème	++
Autres β -lactamines	-

Apparition de résistance *in vivo* pendant une monothérapie

(Milatovic et al, 1987)

Traitement des infections à *P. aeruginosa*

Antibiotiques	nb traitements	% R acquise	% échecs thérapeutiques
Ticarcilline	19	36,8 %	15,7 %
Pipéracilline	24	16,6 %	8,3 %
Ceftazidime	71	15,5 %	4,2 %
Imipénème	53	24,5 %	13,2 %
Ciprofloxacine	221	16,7 %	5,6 %
Aminosides	57	21,1 %	15,8 %

Sélection des résistances aux antibiotiques *in vivo* dans les infections à *P. aeruginosa*

Mécanisme	Antibiotiques sélectionnants
Case hyperproduite	β -lactamines inappropriées sur <i>P.aeruginosa</i> (CTX, CRO, AMC)
R par efflux actif	quinolones, ticarcilline, aztréonam érythromycine, chloramphénicol, cyclines
Imperméabilité OprD2	imipénème
R aux fluoroquinolones	fluoroquinolones, β -lactamines (efflux)
R aux aminoglycosides	aminoglycosides

Facteurs de risque de sélection des souches de *P. aeruginosa* multirésistantes aux antibiotiques

- Longue durée d'hospitalisation (3 semaines)
- Antécédents de traitement par antibiotiques
 - activité antipseudomonas > autres antibiotiques
 - traitement long > traitement court
 - CIP - TIC - PIP - IPM > CAZ - PTZ - AMG

Associations d'antibiotiques *in vitro* sur *P. aeruginosa*

Synergie ou addition

β -lactamines - aminoglycosides
 β -lactamines - fluoroquinolones
aminoglycosides - fluoroquinolones
fluoroquinolones - fosfomycine
colistine - aminoglycosides
colistine - rifampicine

Antagonisme

β -lactamines- β -lactamines
aminoglycosides-fosfomycine

Discordances

β -lactamines-fosfomycine

EPA des antibiotiques sur *P. aeruginosa* ATCC 27853

Antibiotique	EPA (heures)
β -lactamines (sauf Ipm)	0 à 0,3
Imipénème	1,5
Amikacine	2
Ciprofloxacine	2,4

Choix d'un antibiotique

Multifactoriel - cliniques
 Arguments - bactériologiques
 - pharmacologiques et toxicologiques
 - épidémiologiques

Associations d'antibiotiques = la règle

Synergie bactéricide

Prévention de l'émergence des résistances

Choix de la β -lactamine antipseudomonas (critères écologiques et bactériologiques)

Phénotype			mécanisme probable	traitement 1 ^{ère} intention (en association)
TIC	PIP	CAZ		
S	S	S	aucun	pipéracilline + tazobactam (ticarcilline)
I/R	S	S	RNE	pipéracilline + tazobactam (ceftazidime)
R	I/R	S	Pase	ceftazidime
I/R	I/R	I/R	Case -BLSE	imipénème
Imipénème I/R			D2 imipénémase	autre β -lactamine anti pseudomonas
R toutes β -lactamines			complexe	selon les CMI, β -lactamine + autre famille

Souches multirésistantes

- Résistance aux uréidopénicillines ou ceftazidime
 - meilleurs marqueurs de multirésistance chez *P. aeruginosa* (≥ 3 familles d'antibiotiques antipseudomonas)
- Isolement géographique et technique
 - limiter la transmission interhumaine
- Peser l'indication thérapeutique
 - traitement porte d'entrée (lorsque possible)
 - traitements locaux, chirurgie
 - association d'antibiotiques

Antibiothérapie sur les souches multirésistantes

- S'orienter avec les CMI ++
- Associations antibiotiques
 - β -lactamine la moins touchée
 - céfépime, ceftazidime, imipénème, aztréonam...
 - à fortes doses en perfusion continue
 - + antibiotiques parmi les suivants
 - aminoglycosides (amikacine), ciprofloxacine, fosfomycine (O:12) ou rifampicine
 - +/- traitements locaux : colistine, tobramycine
 - Alternatives à l'étude : colistine + rifampicine ou amikacine

Discordances *in vivo* / *in vitro*

- Pharmacocinétique
- Effet inoculum
- Inactivation (aminoglycosides)
 - polynucléaires, pH acide, anaérobiose locale
 - slime (trappe le calcium)
- Bactéries quiescentes
 - diminution de la bactéricidie
 - β -lactamines hors imipénème

P. aeruginosa

- Un opportuniste à l'avenir assuré
qui possède
 - Des facteurs de virulence multiples
 - Des résistances élevées aux antibiotiques
 - Une grande plasticité et adaptabilité

P. aeruginosa

- Infections graves
 - antibiothérapie précoce, efficace et bactéricide
 - association d'antibiotiques = la règle
- Prévention
 - limiter la sélection
 - politique d'utilisation des antibiotiques
 - limiter la transmission
 - mesures d'hygiène hospitalière
 - limitation et asepticité des actes invasifs