

**THÈSE**  
**pour le**  
**DIPLÔME D'ÉTAT**  
**DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

par

**Camille Gros**

-----

*Présentée et soutenue publiquement le 1<sup>er</sup> Mars 2012*

**Traitement de l'infection à *Pseudomonas aeruginosa* dans la  
mucoviscidose : état actuel et perspectives**

**Président :** M. Alain REYNAUD, Professeur de Bactériologie

**Membres du jury :** Mme Christine HERRENKNECHT, Professeur de Chimie Analytique  
Mme Michèle GERMAN, Professeur d'Immunologie

# Sommaire

Sommaire .....	2
Liste des abréviations .....	5
Liste des tableaux .....	8
Liste des figures .....	9
Introduction .....	10
1 La mucoviscidose, une maladie génétique.....	12
1.1 Définition.....	12
1.2 Etiologie : les mutations <i>CFTR</i> .....	15
1.2.1 Le gène <i>CFTR</i> .....	15
1.2.2 La protéine CFTR.....	16
1.2.3 Différentes classes de mutation.....	19
1.3 Epidémiologie.....	22
1.3.1 Contexte mondial .....	22
1.3.2 Epidémiologie en France.....	22
1.4 Manifestations cliniques multi-viscérales .....	26
1.4.1 L'atteinte pulmonaire .....	26
1.4.2 L'atteinte digestive .....	29
1.4.3 Autres perturbations .....	32
1.5 Dépistage et diagnostic .....	33
1.5.1 Recherche génétique prénatale.....	33
1.5.2 Dépistage néonatal .....	33
1.5.3 Méthodes diagnostiques .....	35
1.5.4 Examens paracliniques .....	37
1.6 Prise en charge globale .....	39
1.6.1 Principes généraux .....	39
1.6.2 Pulmonaire .....	40
1.6.3 Digestive.....	44
2 Infection pulmonaire à <i>Ps. aeruginosa</i> chez le patient atteint de mucoviscidose .....	46

2.1	Contexte : physiopathologie de l'atteinte respiratoire .....	46
2.1.1	Mécanismes de défense pulmonaire chez le sujet sain .....	46
2.1.2	Conséquences de la mutation du gène <i>CFTR</i> : déshydratation du liquide de surface des voies aériennes .....	48
2.1.3	Résultante : obstruction des voies aériennes, infection, inflammation .....	49
2.2	Physiopathologie de l'infection à <i>Ps. aeruginosa</i> chez le patient atteint de mucoviscidose .....	50
2.2.1	Présentation de la bactérie.....	50
2.2.2	De la primo-colonisation à l'infection chronique .....	56
2.3	Mise en évidence de <i>Ps. aeruginosa</i> .....	62
2.3.1	Prélèvements .....	62
2.3.2	Identification .....	64
2.3.3	Un suivi régulier.....	65
2.4	Mesures de prévention.....	65
2.4.1	Mesures d'hygiène .....	66
2.4.2	Mesures de prévention épidémiques .....	67
2.4.3	Surveillance de la contamination microbienne dans les centres spécialisés .....	68
3	Antibiothérapie anti- <i>Pseudomonas</i> chez le patient atteint de mucoviscidose .....	70
3.1	Antibiothérapie : intérêt et difficultés rencontrées .....	70
3.1.1	Quel bénéfice pour les patients ?.....	70
3.1.2	Un objectif majeur : atteindre une concentration locale suffisante en antibiotique .....	70
3.1.3	Choix de l'antibiotique.....	72
3.1.4	Développement de résistances .....	74
3.2	Principaux antibiotiques recommandés dans les infections à <i>Ps. aeruginosa</i> dans la mucoviscidose .....	76
3.3	Voies d'administration .....	78
3.3.1	Voie orale .....	78
3.3.2	Voie intraveineuse.....	81
3.3.3	Voie inhalée.....	85
3.4	Primo-infection et éradication précoce.....	89
3.4.1	Eradication précoce .....	89

3.4.2	Intérêt d'une éradication précoce .....	89
3.4.3	Stratégie thérapeutique .....	89
3.5	Infection chronique .....	91
3.5.1	But d'un traitement chronique.....	91
3.5.2	Stratégie thérapeutique .....	91
3.6	Exacerbation .....	92
3.6.1	Définition .....	92
3.6.2	Stratégie thérapeutique .....	93
4	Perspectives thérapeutiques dans le traitement des infections pulmonaires à <i>Ps. aeruginosa</i> chez le patient atteint de mucoviscidose .....	95
4.1	Antibiotiques par voie inhalée .....	96
4.1.1	Solutions pour inhalation .....	96
4.1.2	Poudres pour inhalation.....	112
4.1.3	Formulations liposomales pour inhalation .....	118
4.2	Immunothérapie.....	123
4.2.1	Anticorps polyclonaux anti- <i>Pseudomonas</i> .....	123
4.2.2	Anticorps monoclonal anti-PcrV .....	126
4.3	Inhibiteur du « quorum sensing » .....	128
4.4	Perturbation de la formation du biofilm par l'oligo-G CF-5/20, fragment d'alginate oligosaccharide .....	131
	Conclusion.....	133
	Bibliographie.....	136

## Liste des abréviations

3-oxo-C12-HSL	<i>N</i> -(3-oxododecanoyl)-L-homosérine lactone
ABC	<i>ATP Binding Cassette</i>
ACMG	<i>American College of Medical Genetics</i>
ADN	Acide Désoxyribonucléique
ADN <sub>C</sub>	Acide Désoxyribonucléique cyclique
AFDPHE	Association Française pour le Dépistage et la Prévention des Handicaps de l'Enfant
AHL	Acyl Homosérine Lactone
AMEs	<i>Aminoglycoside-Modifying Enzymes</i>
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
AMP <sub>C</sub>	Adénosine Monophosphate cyclique
ANAM	Acide N-acétylmuraminique
ARN <sub>m</sub>	Acide Ribonucléique messenger
ASC	Aire Sous la Courbe
ATP	Adénosine Triphosphate
AUDC	Acide Ursodésoxycholique
C4-HSL	<i>N</i> -butyryl-L-homosérine lactone
CFQ	<i>Cystic Fibrosis Quality of Life Questionnaire</i>
CFQ-R	<i>Cystic Fibrosis Questionnaire Revised</i>
CFTR	<i>Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator</i>

CHMP	<i>Committee for Medicinal Products for Human Use</i>
C <sub>max</sub>	Concentration maximale
CMB	Concentration Minimale Bactéricide
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
COMP	<i>Committee for Orphan Medicinal Products</i>
CRCM	Centre de Ressources et de Compétence de la Mucoviscidose
DPH-1	Déhydro-Peptidase Humaine 1
EMA	<i>European Medicines Agency</i>
ENaC	<i>Epithelial Na Channel</i>
ESBL	<i>Extended Spectrum <math>\beta</math>-Lactamases</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
G-CSF	<i>Granulocyte-Colony Stimulating Factor</i>
GUR	Glucuronate
HSL	Homosérine Lactone
IgG	Immunoglobuline G
IL-1	Interleukine-1
IL-1 $\beta$	Interleukine-1 $\beta$
IL-6	Interleukine-6
IL-8	Interleukine-8
IMC	Indice de Masse Corporelle
J	Jour
LBA	Lavage Broncho-Alvéolaire
LPS	Lipopolysaccharide

MSD	<i>Membrane-Spanning Domain</i>
MUR	Mannuronate
NBD	<i>Nucleotide Binding Domain</i>
ONM	Observatoire National de la Mucoviscidose
ORCC	<i>Outwardly Rectifying Chloride Channel</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PFGE	Electrophorèse pulsée en gel
PKA	Protéine Kinase A
PLP	Protéine Liant les Pénicillines
RAPD	Amplification aléatoire d'ADN polymorphe
RCP	Résumé des Caractéristiques du Produit
RFLP	Polymorphisme de longueur des fragments de restriction
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> Résistant à la Méricilline
SASM	<i>Staphylococcus aureus</i> Sensible à la Méricilline
SOID	Syndrome d'Obstruction Intestinale Distale
TIR	Trypsine Immunoréactive
TNF- $\alpha$	<i>Tumor Necrosis Factor-<math>\alpha</math></i>
TSQM	<i>Treatment Satisfaction Questionnaire for Medication</i>
TTSS	<i>Type Three Secretion System</i>
UFC	Unité Formant Colonie
VEMS	Volume Expiratoire Maximal par Seconde

## Liste des tableaux

Tableau 1 Symptômes de la mucoviscidose d'après la <i>Cystic Fibrosis Foundation</i> (3).....	13
Tableau 2 Germes pathogènes fréquemment rencontrés dans la mucoviscidose et antibiotiques dans la prise en charge du patient atteint de mucoviscidose (36, 37) .....	42
Tableau 3 Principaux antibiotiques utilisés dans la prise en charge de l'infection à <i>Ps. aeruginosa</i> chez le patient atteint de mucoviscidose (36, 37).....	76
Tableau 4 Antibiotiques et doses recommandées par la <i>European Cystic Fibrosis Society</i> pour l'éradication précoce de <i>Ps. aeruginosa</i> dans la mucoviscidose (68) .....	90
Tableau 5 Nouveaux traitements dans la prise en charge de l'infection à <i>Ps. aeruginosa</i> chez le patient mucoviscidosique .....	95
Tableau 6 Avantages et inconvénients de CAYSTON <sup>®</sup> dans la prise en charge de l'infection à <i>Ps. aeruginosa</i> chez le patient atteint de mucoviscidose .....	106
Tableau 7 Schéma de l'étude évaluant la pharmacocinétique et la sécurité du MP-376 chez les patients atteints de mucoviscidose, d'après Geller et al (153).....	108

## Liste des figures

Figure 1 Le gène <i>CFTR</i> et la protéine CFTR (7) .....	15
Figure 2 Structure de la protéine CFTR (8) .....	16
Figure 3 Activation du canal ORCC par la protéine CFTR (9) .....	18
Figure 4 Les différentes classes de mutations du gène <i>CFTR</i> et leurs conséquences au niveau cellulaire (7) .....	20
Figure 5 Localisation des patients atteints de mucoviscidose selon le département de résidence (France métropolitaine et île de la Réunion) (14) .....	23
Figure 6 Croissance du nombre de patients atteints de mucoviscidose vus dans l'année et pourcentage d'adultes entre 1992 et 2009 (France métropolitaine île de la Réunion) (14).....	24
Figure 7 Pyramide des âges des patients atteints de mucoviscidose vus en 2009 (France métropolitaine et île de la Réunion) (14) .....	25
Figure 8 Probabilité de survie en fonction du temps des patients atteints de mucoviscidose en France métropolitaine et sur l'île de la Réunion selon la cohorte de naissance (méthode de Kaplan-Meier) (14) .....	26
Figure 9 Algorithme de dépistage de la mucoviscidose défini par l'Association Française pour le Dépistage et la Prévention des Handicaps de l'Enfant (20) .....	34
Figure 10 Mesure de la différence de potentiel nasal chez le sujet sain et chez le patient atteint de mucoviscidose selon la méthode de Knowles et al (4, 29).....	37
Figure 11 Cellule épithéliale pulmonaire et liquide de surface des voies aériennes (47) .....	46
Figure 12 Revêtement épithélial tapissant les voies respiratoires intrapulmonaires (48) .....	47
Figure 13 Chronologie des événements menant à l'infection chronique à <i>Ps aeruginosa</i> dans la mucoviscidose (73).....	61
Figure 14 ASC (0, ∞) (µg.h/ml) et C <sub>max</sub> (µg/ml) plasmatiques en fonction de la dose de tobramycine (mg) (162) .....	113

## Introduction

La mucoviscidose est la maladie génétique autosomique récessive la plus fréquente dans la population caucasienne. Elle est due à une mutation sur le gène *CFTR* (*Cystic Fibrosis Conductance Regulator*) qui a été mise en évidence en 1989. Ce gène code pour la protéine CFTR, canal chlorure à la surface des cellules épithéliales. Son dysfonctionnement perturbe les sécrétions muqueuses qui deviennent alors particulièrement visqueuses.

Bien qu'elle soit principalement connue pour son atteinte pulmonaire, c'est une pathologie multiviscérale qui touche les systèmes digestif, respiratoire et reproducteur. Son expression est polymorphe, mais dans les formes les plus sévères, les conséquences sont lourdes : insuffisance pancréatique, insuffisance respiratoire, retard de croissance staturo-pondérale, stérilité ...

Dès le plus jeune âge, les patients sont sujets à de nombreuses infections pulmonaires contribuant à la détérioration progressive de la fonction pulmonaire. La bactérie la plus fréquemment associée à la mucoviscidose est *Pseudomonas aeruginosa*. L'isolement d'une souche de *Ps. aeruginosa* chez un patient représente un tournant négatif dans la maladie : la bactérie colonise les poumons du patient de façon intermittente jusqu'à ce que l'infection devienne chronique et l'éradication impossible. L'infection est associée à une inflammation intense et conduit au décès des patients dans la majorité des cas.

*Ps. aeruginosa* possède de nombreux facteurs de virulence qui lui permettent de coloniser les poumons des patients atteints de mucoviscidose et de se développer dans cet environnement. Par ailleurs, cette bactérie est caractérisée par sa très grande résistance innée et acquise aux antibiotiques, ce qui rend complexe le choix d'un traitement optimal. En outre, compte tenu de la chronicité de l'infection dans la mucoviscidose, les patients reçoivent de nombreux traitements antibiotiques à des doses élevées tout au long de leur vie, les exposant à un risque élevé de résistance, donc de perte d'efficacité. Enfin, bien que ces traitements aient permis d'améliorer la durée de vie des patients et de ralentir la détérioration de la fonction pulmonaire, ils ne sont pas dénués d'effets indésirables, surtout s'ils sont administrés au long cours. De plus, ces soins sont lourds et compliquent le quotidien du patient. En effet, certains s'administrent par voie intraveineuse, d'autres par voie inhalée avec un nébuliseur.

Aussi, il est essentiel de développer de nouveaux médicaments qui permettront de prolonger le délai sans infection à *Ps. aeruginosa*, de pallier les problèmes de résistance dont les effets indésirables devront être légers en raison de leur administration chronique et qui amélioreront la qualité de vie du patient.

C'est pourquoi il m'a semblé intéressant de présenter les traitements actuellement disponibles dans la prise en charge de l'infection pulmonaire à *Ps. aeruginosa* chez le patient atteint de mucoviscidose et les perspectives à travers un bilan des produits actuellement en développement clinique ou récemment mis sur le marché avec, lorsque suffisamment de données sont disponibles, leurs points forts dans la prise en charge et leurs faiblesses.

Dans un premier chapitre, j'exposerai la pathologie, la mucoviscidose, avec son étiologie, son diagnostic, ses symptômes et sa prise en charge. Puis, je détaillerai la physiopathologie de l'atteinte pulmonaire et plus particulièrement de l'infection pulmonaire à *Ps. aeruginosa* dans la mucoviscidose. Ensuite, je présenterai la prise en charge spécifique de cette infection dans la mucoviscidose. Enfin, dans une dernière partie, je ferai un bilan des nouveaux traitements, accompagné d'une opinion sur leur place dans la stratégie actuelle et l'éventuelle poursuite de leur développement ou de leur commercialisation.

# 1 La mucoviscidose, une maladie génétique

## 1.1 Définition

La mucoviscidose ou fibrose kystique du pancréas, est une maladie héréditaire autosomique récessive (1).

Elle est due à une anomalie de la protéine CFTR (*Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator*) impliquée dans la régulation des flux de chlore, de sodium et d'eau au niveau transmembranaire. Le dysfonctionnement de cette protéine entraîne une perturbation des sécrétions exocrines : la sueur est anormalement salée et le mucus particulièrement visqueux.

Sur le plan clinique, elle est caractérisée par une atteinte respiratoire prédominante, un retard de croissance staturo-pondérale, une insuffisance pancréatique, des troubles digestifs, une fertilité réduite ; le foie peut également être touché à la suite de l'obstruction des canaux hépatobiliaires. L'expression clinique de la pathologie est polymorphe, les premières manifestations apparaissant généralement dès la petite enfance. Néanmoins, grâce au dépistage néonatal généralisé, le diagnostic est posé à la naissance dans plus de 95 % des cas et permet une prise en charge précoce.

La relation entre le génotype et la gravité du phénotype n'a pas été fermement établie, notamment en ce qui concerne la sévérité de la maladie pulmonaire, ce qui laisse envisager l'intervention d'autres facteurs comme l'environnement (2).

En 2008, la *Cystic Fibrosis Foundation* propose une définition de la mucoviscidose issue d'un consensus d'experts (3). Les tests diagnostiques sont réalisés chez tout enfant dépisté à la naissance, mais aussi chez tout individu présentant au moins un des symptômes cités dans le tableau 1 ou ayant un antécédent familial de mucoviscidose.

Tableau 1 Symptômes de la mucoviscidose d'après la *Cystic Fibrosis Foundation* (3)

<b>1. Maladie sino-pulmonaire chronique :</b>
a. colonisation/infection persistante par des pathogènes typiques de la mucoviscidose, notamment <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> non-typable, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> mucoïde ou non, <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> et <i>Burkholderia cepacia</i>
b. toux chronique productive
c. anomalies persistantes de la radiographie pulmonaire (bronchectasie, atélectasie, infiltrats, hyperinflation ...)
d. obstruction des voies aériennes se manifestant par un sifflement et un piégeage d'air
e. polypes nasaux, anomalies radiographiques ou tomodensitométriques des sinus paranasaux
f. hippocratisme digital
<b>2. Anomalies gastro-intestinales ou nutritionnelles, notamment :</b>
a. <i>ileus meconial</i> , syndrome d'obstruction intestinal distale, prolapsus rectal
b. insuffisance pancréatique, pancréatite aiguë récurrente, pancréatite chronique, anomalies du pancréas en imagerie
c. ictère néonatal prolongé, hépatite chronique manifestée par la mise en évidence clinique ou histologique d'une cirrhose biliaire focale ou d'une cirrhose multilobaire
d. retard de croissance staturo-pondéral, hypoprotéïnémie et œdème, complications secondaires à une carence en vitamines liposolubles
<b>3. Syndrome de déplétion sodique :</b> déplétion sodique aiguë, alcalose métabolique chronique
<b>4. Anomalies génitales masculines :</b> azoospermie obstructive

Le diagnostic est posé devant le résultat positif au test de la sueur détaillé au paragraphe 1.5.3.1 – c'est-à-dire une concentration sudorale en ions chlorure supérieure ou égale à 60 mmol/L – ou la mise en évidence de deux mutations sur le gène *CFTR* parmi les 23 mutations associées à la mucoviscidose selon l'*American College of Medical Genetics* (ACMG). En cas de résultat intermédiaire au test de la sueur – de 30 mmol/L à 59 mmol/L chez l'enfant de moins de 6 mois puis de 40 mmol/L à 59 mmol/L après 6 mois – une analyse élargie des mutations *CFTR* doit être réalisée : en présence de deux mutations, le diagnostic de la mucoviscidose peut être posé ; si une ou aucune mutation n'est mise en évidence, une maladie associée à la protéine CFTR peut être diagnostiquée. Un nouveau test de la sueur peut être pratiqué : si le résultat est de nouveau intermédiaire, des examens complémentaires sont réalisés.

En 2006, un consensus européen distingue les formes typiques ou classiques des formes atypiques ou non-classiques (4).

Ainsi, les formes typiques, qui concernent la majorité des patients, sont définies par la présence d'une ou plusieurs caractéristiques phénotypiques de la mucoviscidose et une concentration sudorale en ions chlorure supérieure à 60 mmol/L. Dans le cadre de ce consensus, les caractéristiques phénotypiques de la mucoviscidose sont :

- une maladie sino-pulmonaire chronique,
- des anomalies nutritionnelles ou gastro-intestinales spécifiques ou caractéristiques,
- un syndrome de pertes de sel,
- des anomalies génitales mâles dues à une azoospermie obstructive.

Les formes atypiques correspondent aux sujets présentant au moins une caractéristique phénotypique de la mucoviscidose mais un résultat négatif au test de la sueur – concentration en ions chlorure supérieure à 30 mmol/L – ou intermédiaire – concentration en ions chlorure comprise entre 30 mmol/L et 60 mmol/L. La confirmation du diagnostic nécessite la mise en évidence d'au moins une mutation associée à la mucoviscidose ou la quantification de l'activité de la protéine CFTR par la mesure de la différence de potentiel nasal, examen détaillé paragraphe 1.5.3.3.

## 1.2 Etiologie : les mutations *CFTR*

### 1.2.1 Le gène *CFTR*

La découverte et l'isolement du gène *CFTR* ont permis une réelle avancée dans la compréhension de la physiopathologie de la mucoviscidose. L'implication du gène *CFTR* a été confirmée par la transfection de son ADN cyclique (ADNc) dans des cellules de patients atteints de mucoviscidose (5).

Le gène responsable de la mucoviscidose a été mis en évidence sur le bras long du chromosome 7 (7q.31.2). Il a ensuite été identifié par clonage en 1989 (6).

Il est composé de 215 kb réparties sur vingt-sept exons codant pour une protéine transmembranaire de 1 480 acides aminés, la protéine CFTR (7).

La figure 1 représente le gène *CFTR*, la structure primaire et la structure tertiaire de la protéine codée.

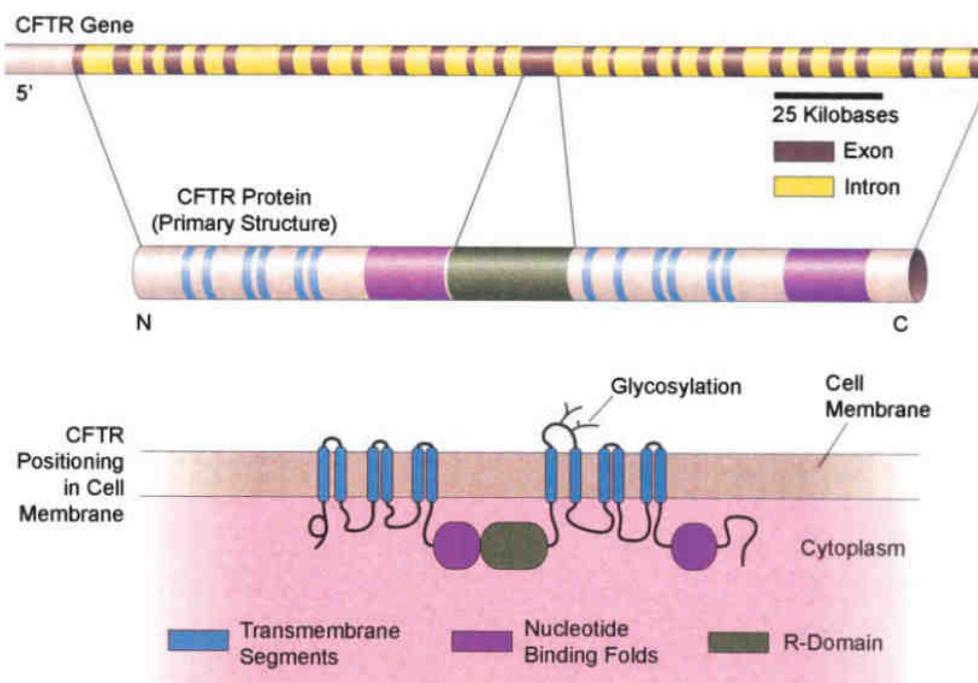


Figure 1 Le gène *CFTR* et la protéine CFTR (7)

## 1.2.2 La protéine CFTR

### 1.2.2.1 Sa structure

La structure de la protéine CFTR a été proposée en 1989 par Riordan et al (6).

Il s'agit d'un canal chlorure appartenant à la famille des transporteurs ABC (*Adénosine triphosphate-binding cassette*). Cette famille de transporteur utilise comme énergie l'hydrolyse de l'adénosine triphosphate (ATP) pour le transport actif des substrats à travers les membranes cellulaires.

Elle est composée de deux motifs, chacun constitué d'un domaine transmembranaire, MSD1 et MSD2 (*Membrane-Spanning Domain*), eux-mêmes composés de six segments transmembranaires et d'un domaine liant les nucléotides appelé NBD (*Nucleotide-Binding Domain*). Les deux motifs MSD sont reliés entre eux par un domaine R comptant plusieurs sites de phosphorylation et de nombreux acides aminés chargés (figure 2) (8).

Chaque domaine a une fonction propre. Ainsi, les domaines MSD sont responsables de la formation du pore du canal chlorure, les domaines NBD contrôlent son activité par interaction avec des nucléotides cytosoliques et le domaine R a lui aussi une fonction de régulation de l'activité : sa phosphorylation par des protéines kinases-adénosine monophosphate cyclique (AMPC) dépendante est nécessaire à l'ouverture du canal (figure 2) (8).

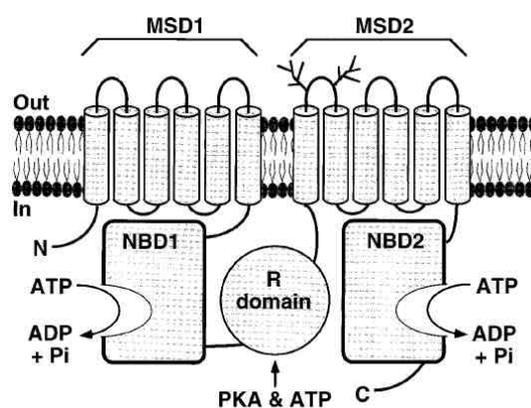


Figure 2 Structure de la protéine CFTR (8)

### 1.2.2.2 Sa localisation

La protéine CFTR est retrouvée dans la membrane apicale des cellules épithéliales (8).

L'expression de l'ARN messenger (ARNm) a été détectée au niveau du pancréas, des glandes salivaires, des poumons, du tractus gastro-intestinal, de l'utérus, des testicules et au niveau des glandes sudoripares (5, 8).

Bien que ses localisations coïncident avec les atteintes causées par la mucoviscidose au niveau organique, seuls de faibles niveaux d'expression ont été détectés au niveau des cellules bronchiques, contrairement au rein, organe non touché par la mucoviscidose (5).

### 1.2.2.3 Son rôle

- Un canal chlorure

La protéine CFTR est un canal chlorure régulant la sortie des ions chlorure hors de la membrane apicale. Cette activité a été démontrée par l'introduction de la protéine CFTR dans des cellules non épithéliales : de nouveaux courants chlorure ont alors été mis en évidence dans ces cellules. De plus, une relation linéaire entre ces courants et le voltage a été démontrée, comme c'est le cas dans les cellules épithéliales exprimant la protéine CFTR fonctionnelle. En outre, des mutations de la protéine au niveau transmembranaire ont provoqué des perturbations dans la sélectivité anionique du canal. La reconstitution de protéines CFTR purifiées en bicouches lipidiques a permis d'identifier des courants ioniques activés par l'AMPc (5). L'ensemble de ces travaux a permis de confirmer que la protéine CFTR est un canal chlorure dépendant de l'AMPc.

Son activation se déroule en plusieurs étapes. Dans un premier temps, une molécule d'ATP se fixe au niveau du premier domaine NBD, NBD1. L'hydrolyse de cette molécule d'ATP a pour conséquence la phosphorylation du domaine R au niveau de résidus sérines par des protéines kinases A activées par l'AMPc ou des protéines kinases C. Le canal change alors de conformation, ce qui permet le passage des ions chlorure. La fixation d'une deuxième

molécule d'ATP sur le site NBD prolonge l'ouverture du canal. Puis, l'hydrolyse de cette deuxième molécule d'ATP entraîne la fermeture du canal (5, 9).

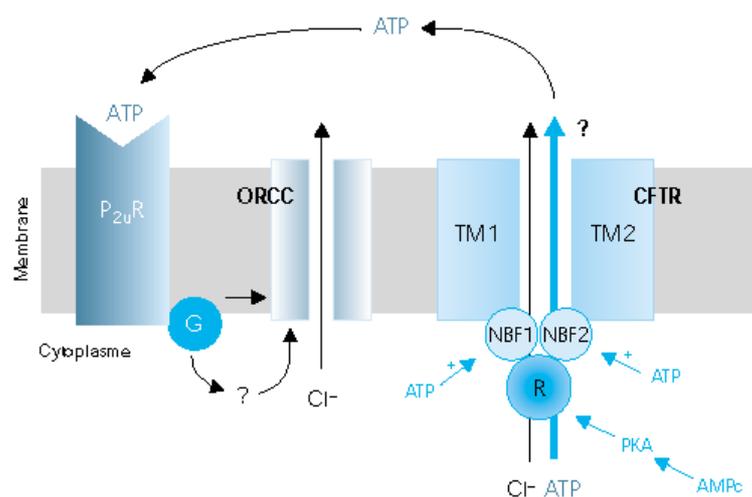
Cette activité de canal chlorure favorise la régulation des flux d'eau à travers la membrane : lorsque le canal est absent ou dysfonctionnel, la sortie d'ions chlorure par le canal est diminuée voire nulle, empêchant ainsi la sortie passive d'eau à travers les membranes apicales (9). La conséquence est une déshydratation et une viscosité accrue des sécrétions muqueuses.

En revanche, au niveau des glandes sudoripares, le flux des ions chlorure est inversé : leur sécrétion est plus abondante en cas d'atteinte de la protéine CFTR, ce qui explique la concentration excessive de chlore dans la sueur des malades atteints de mucoviscidose (9).

- La régulation de l'activité d'autres canaux

La protéine CFTR serait impliquée dans la régulation de plusieurs canaux épithéliaux.

Chez l'individu sain, l'activation de la protéine CFTR serait suivie d'une sortie d'ATP hors de la cellule. Cette molécule d'ATP activerait un récepteur membranaire purinergique permettant l'ouverture d'un « canal chlorure rectifiant sortant », appelé ORCC (*Outwardly Rectifying Chloride Channel*) par l'intermédiaire d'une protéine G. L'activation de ce canal a pour conséquence la sortie d'ions chlorure hors de la cellule (9). La figure 3 résume l'action de la protéine CFTR sur le canal ORCC.



**Figure 3 Activation du canal ORCC par la protéine CFTR (9)**

La protéine CFTR interviendrait également dans la régulation négative d'un canal sodique sensible à l'amiloride, le canal sodique épithélial appelé canal ENaC : la protéine CFTR fonctionnelle inhiberait l'absorption de sodium par la cellule épithéliale par blocage du canal

ENaC. Chez les patients atteints de mucoviscidose, cette inhibition est levée, ce qui expliquerait, en partie, la déshydratation du mucus (9).

- Autres fonctions

La protéine CFTR jouerait d'autres rôles dans le fonctionnement de la cellule épithéliale.

En effet, elle interviendrait dans le recyclage des membranes cellulaires en favorisant l'exocytose et en inhibant l'endocytose.

Elle participe à la régulation du pH cellulaire. Aussi, lorsqu'elle n'est pas fonctionnelle, une perturbation des sécrétions cellulaires avec augmentation de la viscosité du mucus peut s'observer.

La protéine CFTR régulerait aussi la sécrétion des mucines. Son défaut de fonctionnement entraînerait une hypersécrétion des mucines observable chez les patients atteints de mucoviscidose.

La protéine CFTR serait également un récepteur pour le lipopolysaccharide de *Pseudomonas aeruginosa* (9).

### 1.2.3 Différentes classes de mutation

Plus de 1000 mutations sur le gène *CFTR* ont été mises en évidence mais très peu ont pu être identifiées (7, 10). La plus fréquente est la mutation  $\Delta F508$  qui représente près de 70 % des cas (11). Dix à vingt autres mutations moins fréquentes représentent entre 10 et 15 % des mutations avec une fréquence variable selon l'origine ethnique du patient (10).

Tous les types de mutations sont représentés : délétions, insertions, mutations non-sens ... L'analyse *in vitro* de l'impact de ces mutations sur le gène *CFTR* a permis de classer les mutations en cinq classes. La figure 4 résume les conséquences de chacune des classes de mutations au niveau cellulaire.

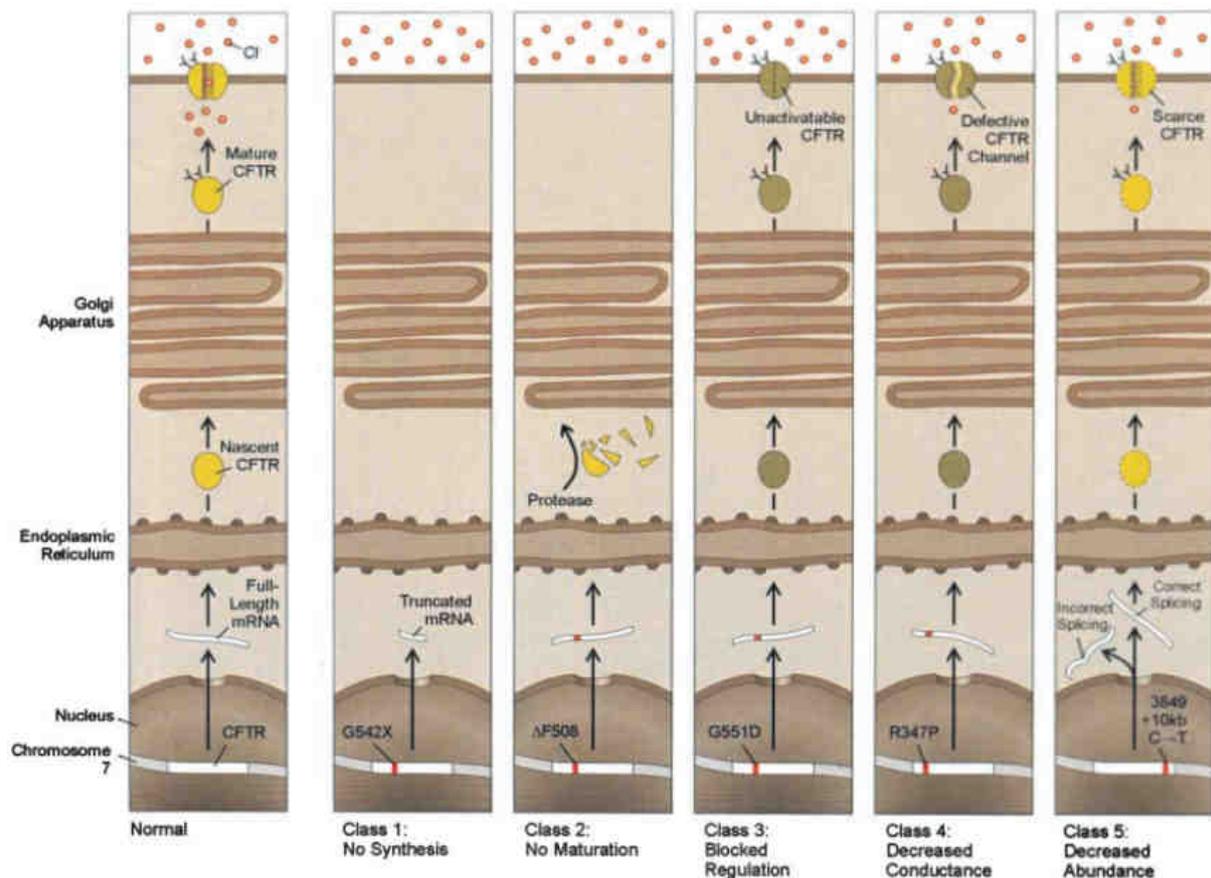


Figure 4 Les différentes classes de mutations du gène *CFTR* et leurs conséquences au niveau cellulaire (7)

Les trois premières classes sont associées à des formes sévères de la mucoviscidose avec insuffisance pancréatique, les classes IV et V n'entraînant généralement pas d'insuffisance pancréatique (2).

### 1.2.3.1 Classe I

Les mutations associées à cette classe sont responsables d'un défaut de synthèse protéique entraînant une absence de protéine CFTR au niveau de la membrane apicale (2). Il s'agit généralement de mutations non-sens ou de délétions responsables d'un défaut de synthèse ou de la biosynthèse d'une protéine anormale, souvent tronquée (10).

### 1.2.3.2 Classe II

Les mutations de classe II conduisent à la production de protéines immatures non-glycosylées, reconnues et dégradées par les mécanismes de contrôle cellulaire, ce qui résulte en l'absence de protéine au niveau de la membrane apicale (10).

La mutation  $\Delta F508$  est une mutation de classe II : il s'agit d'une délétion de trois paires de bases au niveau de l'exon 10 causant la perte d'une phénylalanine en position 508 au niveau du premier domaine liant un nucléotide.

### 1.2.3.3 Classe III

Les mutations de cette classe sont responsables d'un défaut de régulation de l'activité de la protéine CFTR. En effet, la mutation empêche la fixation de l'ATP et l'hydrolyse des domaines liant les nucléotides requise pour l'activation du canal chlorure. La protéine est complète, elle est exprimée en quantité suffisante sur la membrane apicale, mais n'est pas fonctionnelle.

La mutation G551D est une mutation non-sens de classe III entraînant une altération de la structure du premier domaine liant les nucléotides et affectant également le canal potassique ROMK2 (2).

### 1.2.3.4 Classe IV

Ces mutations affectent le domaine transmembranaire de la protéine, domaine participant à la formation du pore du canal. Les protéines mutées sont complètes, atteignent la membrane apicale, mais l'activité de conduction ionique est réduite.

Parmi ces mutations, nous pouvons citer la R117H, la R334W et la R347P (2).

#### 1.2.3.5 Classe V

La protéine est fonctionnelle et se retrouve bien au niveau de la membrane apicale mais sa synthèse est réduite. Il s'agit généralement de mutations au niveau du promoteur ou d'épissages aberrants (2).

### 1.3 Epidémiologie

#### 1.3.1 Contexte mondial

La mucoviscidose est une des maladies génétiques par transmission récessive les plus fréquentes mettant en jeu le pronostic vital, dans les populations caucasiennes. Son incidence est d'une naissance sur 2 500 (12).

Elle est principalement retrouvée en Europe, en Amérique du Nord et en Australie. Sa prévalence étant moindre dans l'est de l'Asie et en Afrique. En raison des migrations de populations, des mutations qui n'étaient alors pas retrouvées en Europe ou Amérique du Nord commencent à apparaître, rendant de plus en plus complexe leur identification (13).

Bien qu'il n'existe aucun médicament pour traiter l'étiologie de la pathologie, les traitements actuels ont permis d'améliorer le pronostic vital des patients. Un patient pris en charge dans un pays développé a aujourd'hui plus de 50 % de chances de vivre jusqu'à 40 ans alors qu'il y a 50 ans la majorité des enfants mourraient avant l'âge de 2 ans en raison d'une insuffisance pancréatique (13).

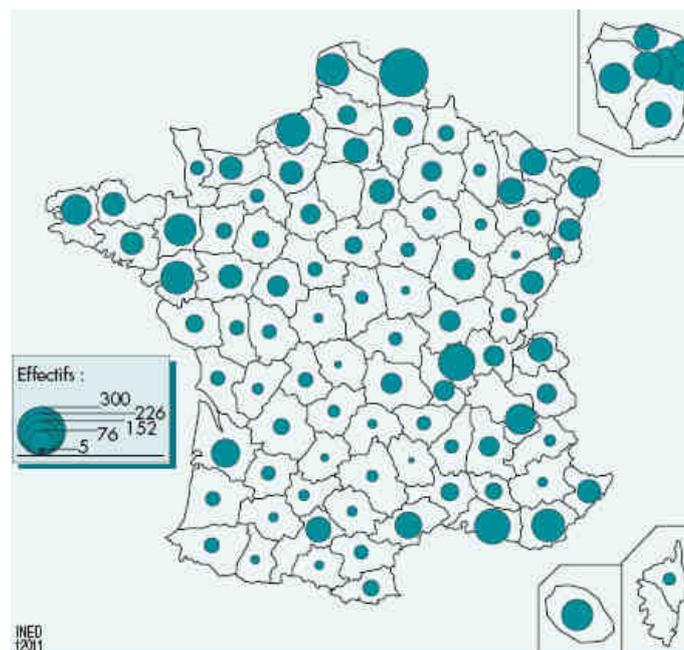
La prévalence est aujourd'hui de 0,737/10 000 en Europe et de 0,797/10 000 aux Etats-Unis (13).

#### 1.3.2 Epidémiologie en France

En France, est créé en 1992 l'Observatoire national de la mucoviscidose (ONM) avec pour objectif de mieux comprendre cette pathologie et ses impacts sur le plan économique, médical

et social. Afin d'améliorer l'exhaustivité de ces données, cet ONM s'est transformé en Registre français de la mucoviscidose. Ce registre regroupe l'ensemble des données épidémiologiques sur la mucoviscidose dans la population française – métropole et île de la Réunion – suivie dans les centres de soins participant aux registres. La majorité de ces centres sont des Centres de Ressources et de Compétences de la Mucoviscidose (CRCM) où les patients sont pris de charge de manière globale par différents spécialistes ayant une connaissance élargie de la pathologie. L'ensemble des données présentées ci-après sont issues du Registre Français de la Mucoviscidose de 2009 (14).

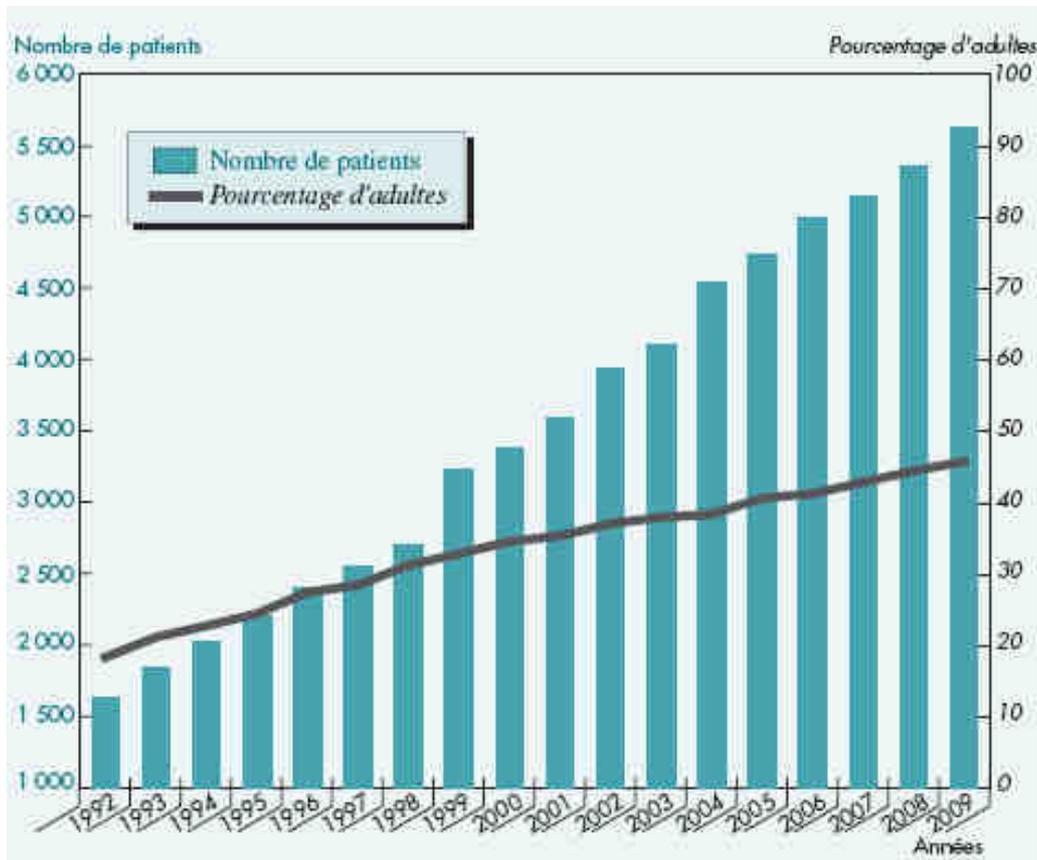
En 2009, 5 628 patients ont été enregistrés dans le Registre français de la mucoviscidose. Comme le montre la figure 5, la disparité entre les régions est forte : une forte proportion de patients étant concentrée au Nord-Ouest – Nord-Pas-de-Calais, Haute et Basse Normandie, Bretagne, Pays de la Loire – et à l'Est du pays – Lorraine, Alsace, Franche-Comté, Rhône-Alpes, Provence-Alpes-Côte d'Azur.



**Figure 5 Localisation des patients atteints de mucoviscidose selon le département de résidence (France métropolitaine et île de la Réunion) (14)**

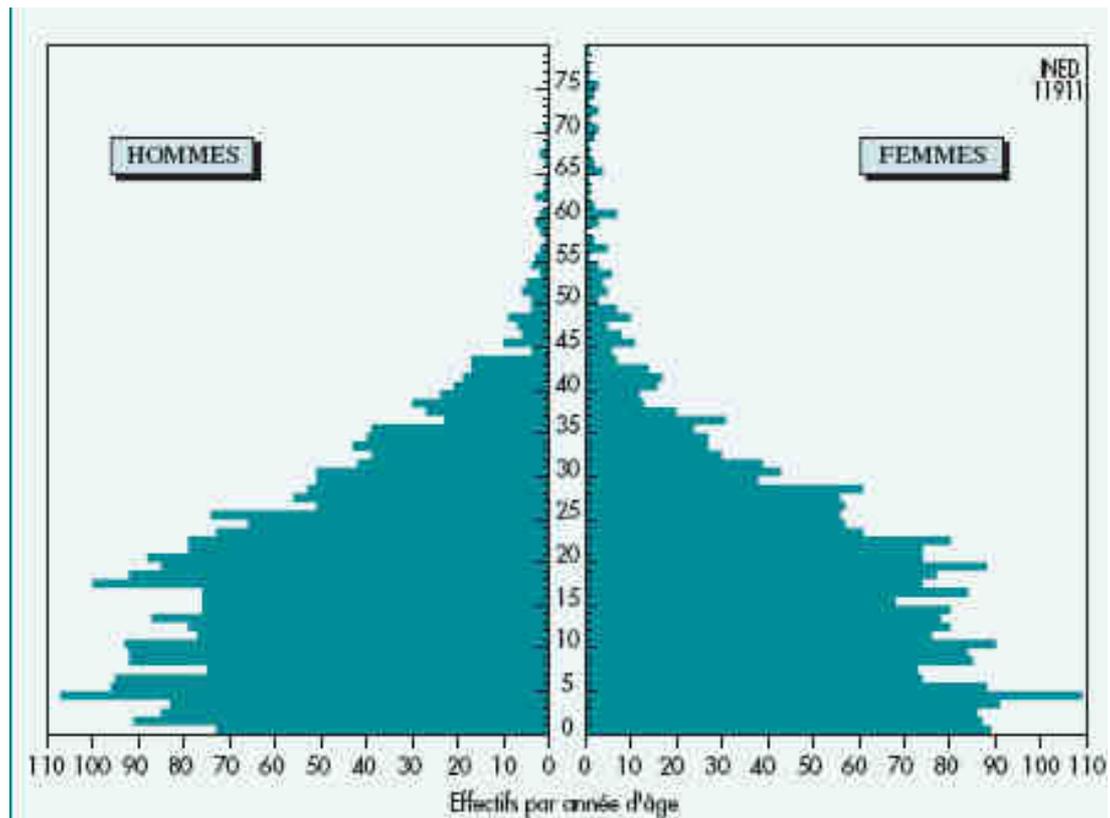
Le nombre de patients inscrits dans le registre ne cesse de croître depuis 1992 : une augmentation de 5,1 % a été observée entre 2008 et 2009. Les patients âgés de 18 ans et plus représentent 45,8 % de cette population et les plus de 40 ans, seulement 5,8 % (figure 6).

Cette augmentation peut s'expliquer par une sensibilisation plus importante à l'inscription sur le registre mais aussi par un diagnostic plus précoce grâce au dépistage généralisé à la naissance.



**Figure 6 Croissance du nombre de patients atteints de mucoviscidose vus dans l'année et pourcentage d'adultes entre 1992 et 2009 (France métropolitaine île de la Réunion) (14)**

En corrélation avec le faible taux de patients âgés de plus de 40 ans, la population inscrite dans le registre est jeune : l'âge moyen est de 17,7 ans. Nous pouvons remarquer, en toute logique que le nombre de patients suivis diminue avec l'âge, aussi bien chez les hommes que chez les femmes. Les hommes sont plus touchés que les femmes, le rapport de masculinité (nombre d'hommes pour 100 femmes) étant de 108. L'espérance de vie reste encore faible malgré son augmentation liée aux avancées thérapeutiques (figure 7).

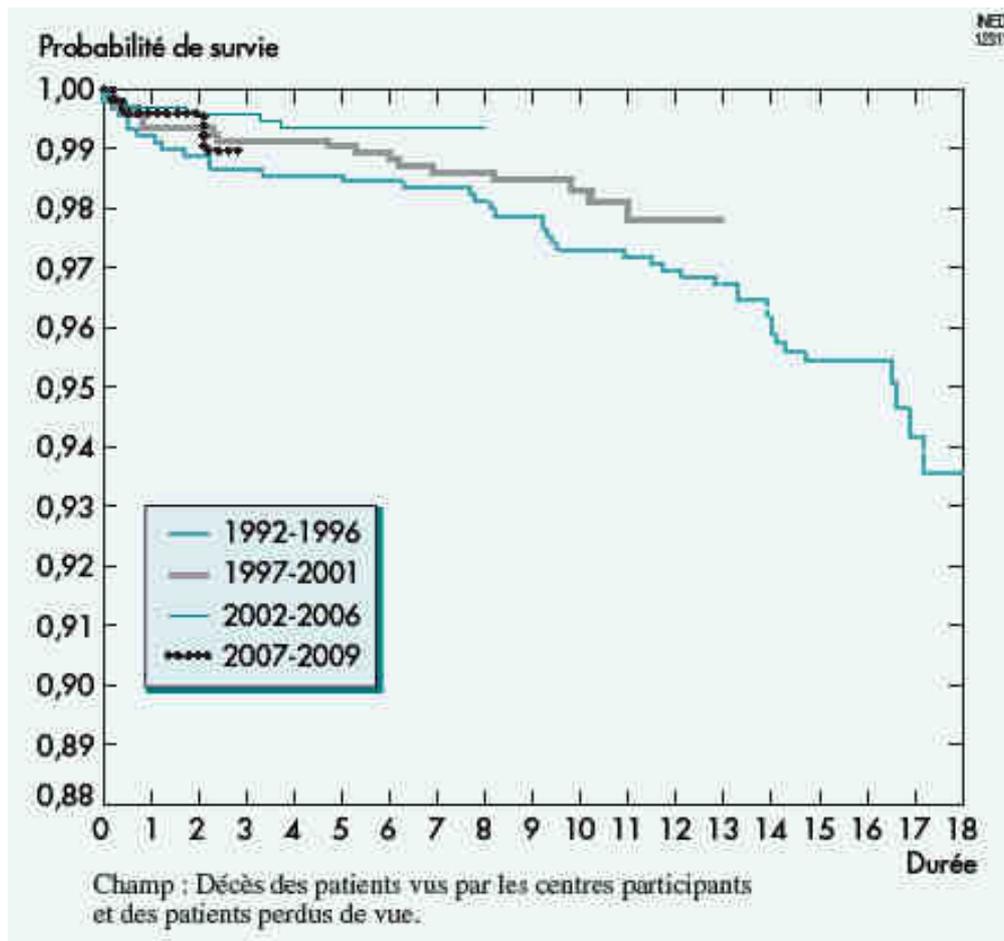


**Figure 7** Pyramide des âges des patients atteints de mucoviscidose vus en 2009 (France métropolitaine et île de la Réunion) (14)

Une analyse de survie, selon la méthode de Kaplan-Meier, a été réalisée sur quatre cohortes :

- patients nés entre 1992 et 1996,
- patients nés entre 1997 et 2001,
- patients nés entre 2002 et 2006,
- patients nés entre 2007 et 2009.

Pour une même durée de suivi, cette analyse permet de constater que la survie est supérieure pour les deux dernières cohortes (figure 8).



**Figure 8 Probabilité de survie en fonction du temps des patients atteints de mucoviscidose en France métropolitaine et sur l'île de la Réunion selon la cohorte de naissance (méthode de Kaplan-Meier) (14)**

Ces données confirment que la population de patients atteints de mucoviscidose est jeune, mais que la survie a augmenté et va continuer d'augmenter avec les années.

#### 1.4 Manifestations cliniques multi-viscérales

##### 1.4.1 L'atteinte pulmonaire

Elle conduit au décès des patients dans 90 % des cas (15). A la naissance, les poumons sont stériles, mais l'infection et l'inflammation se développent rapidement et sont associées à une obstruction des petites voies aériennes conduisant à la dégradation progressive des parois pulmonaires responsable d'une bronchectasie bilatérale d'évolution sournoise.

#### 1.4.1.1 Les symptômes de la bronchectasie

La bronchectasie est une dilatation des bronches. Ses manifestations chez le patient atteint de mucoviscidose sont variables, mais la toux est le symptôme prédominant. Elle devient de plus en plus grasse avec les années et est associée à des expectorations purulentes. Les sujets peuvent également présenter une tachypnée, des difficultés à respirer avec un essoufflement à l'effort et des signes d'hyperréactivité bronchique (sifflement, piégeage d'air).

L'évolution de la maladie pulmonaire est due à des épisodes aigus d'exacerbation généralement provoqués par des infections. Ces épisodes sont caractérisés par divers symptômes (7, 16, 17) :

- une augmentation de la toux et des expectorations ;
- une diminution de la tolérance à l'effort ;
- une perte de poids et d'appétit ;
- une asthénie.

#### 1.4.1.2 Les infections

Les infections sont très fréquentes et souvent associées aux épisodes d'exacerbation aiguë. Chez le nouveau-né, l'atteinte virale prédomine avec des infections récurrentes dues aux rhinovirus ou au virus respiratoire syncytial. Ces infections virales contribuent à la destruction pulmonaire et préparent le terrain pour des infections bactériennes récurrentes, agressives, évoluant vers la chronicité.

*Haemophilus influenzae* est généralement la première bactérie à coloniser l'arbre respiratoire : c'est le germe pathogène le plus fréquent chez l'enfant de moins de un an (7). Dans la mucoviscidose, la bactérie est non typable et l'infection ne peut donc pas être prévenue par la vaccination contre *Haemophilus influenzae* de type b. Elle est suivie de *Staphylococcus aureus*, puis de *Pseudomonas aeruginosa*.

L'infection à *Ps. aeruginosa* représente un tournant dans l'évolution de la maladie : l'infection devient chronique en raison notamment de l'évolution de la bactérie vers un phénotype mucoïde lié à la production d'alginate. La bactérie est particulièrement résistante aux antibiotiques et, dès lors que l'infection chronique est installée, l'éradication devient impossible. La bactérie colonise l'organisme avant l'âge de trois ans et plus de 80 % des patients seraient infectés (7). L'infection à *Ps. aeruginosa* sera détaillée au chapitre 2.

D'autres pathogènes peuvent être retrouvés plus tardivement. Parmi eux, *Burkholderia cepacia* est particulièrement redouté de par sa multirésistance aux antibiotiques et du risque élevé de contamination croisée entre patients. Il existe plusieurs espèces génomiques causant des infections plus ou moins sévères. Les formes les plus sévères sont responsables d'une fièvre élevée associée à une bactériémie conduisant à la nécrose pulmonaire puis au décès en quelques semaines (7, 17). *Stenotrophomonas maltophilia* et *Alcaligenes xylosoxidans* sont retrouvées de plus en plus fréquemment, mais leur rôle dans l'évolution de la pathologie n'a pas clairement été mis en évidence. Des espèces de *Mycobactéries* non tuberculeuses peuvent également être retrouvées dans les poumons des patients (7).

Au fil de ces infections, associées à une inflammation intense, la fonction pulmonaire se détériore.

#### 1.4.1.3 Evolution de la fonction pulmonaire

Les lésions s'étendent à l'ensemble des poumons, compromettant alors leur bonne oxygénation ; les vaisseaux bronchiques sont hypertrophiés, ce qui favorise l'apparition d'hypertension pulmonaire (7, 17).

L'évolution de la pathologie entraîne chez les sujets une déformation thoracique ; l'hypertrophie du lit capillaire sous-unguéal provoque une déformation des doigts, c'est l'hippocratisme digital ; le volume des expectorations augmente ; les patients sont sujets à une dyspnée. La cyanose est tardive, mal détectée, et peut nécessiter le recours à l'oxygénothérapie (18).

La majorité des patients développe une insuffisance respiratoire fatale dans 80 % des cas (7).

A cette évolution s'ajoutent des complications dont la prise en charge est indispensable.

#### 1.4.1.4 Complications

Les complications sont nombreuses. Une atélectasie lobaire ou segmentaire peut se développer et compliquer l'évolution de la pathologie. Si elle touche une partie largement détruite du poumon, elle est rarement récupérable ; une résection chirurgicale peut être envisagée si elle devient récurrente et que le reste de l'organe est intact.

L'atteinte vasculaire favorise l'apparition d'un pneumothorax, d'hémoptysies et de troubles cardiaques (18).

Les sujets peuvent présenter, à un stade avancé, une aspergillose broncho-pulmonaire chronique à *Aspergillus fumigatus*, rapportée chez 2 à 8 % des patients (7). Elle est diagnostiquée par une réaction cutanée immédiate au champignon et un taux d'éosinophiles augmenté. Bien que ce champignon ne soit pas invasif dans la population générale, chez le patient atteint de mucoviscidose il complique la pathologie, entraînant une obstruction pulmonaire récurrente avec apparition d'infiltrats, complication de la bronchectasie et développement d'une fibrose : la respiration du patient devient alors de plus en plus sifflante (7, 17).

#### 1.4.2 L'atteinte digestive

On distingue l'insuffisance pancréatique, les troubles gastro-intestinaux, les troubles hépatobiliaires et la dénutrition.

##### 1.4.2.1 Insuffisance pancréatique

En raison d'une diminution du transport anionique dans les canaux pancréatiques, les sécrétions pancréatiques sont visqueuses et obstruent les canaux excréteurs (19).

Sur le plan clinique, cela se traduit par un syndrome de malabsorption des graisses et une carence en vitamines liposolubles expliquant chez l'enfant le retard staturo-pondéral et pubertaire et, chez l'adulte, le déficit pondéral. En outre, les patients présentent des douleurs abdominales et une stéatorrhée.

Une complication de cette insuffisance pancréatique est le diabète qui se développe lorsque les îlots de Langerhans sont atteints (20).

#### 1.4.2.2 Perturbations gastro-intestinales

Les perturbations gastro-intestinales sont diverses. Reflux gastro-œsophagien, constipation, syndrome d'obstruction intestinale distale (SOID) et prolapsus rectal sont fréquemment retrouvés chez les patients.

Le reflux gastro-œsophagien se présente généralement sous la forme d'un pyrosis classique (21). Reflux gastro-œsophagien et maladie pulmonaire interagissent, le reflux étant majoré par les efforts respiratoires liés à l'atteinte pulmonaire et la symptomatologie pulmonaire pouvant être aggravée par des micro-aspirations ou des phénomènes réflexes liés au reflux et naissant dans l'œsophage (22).

La constipation est la conséquence d'une obstruction intestinale par le mucus épais et déshydraté. Elle est fréquemment associée à des troubles fonctionnels (22).

Le mucus épais et visqueux qui s'accumule au niveau de l'iléon terminal et du caecum est responsable du SOID qui est généralement lié à un phénotype sévère de la mucoviscidose. Il est caractérisé par des douleurs abdominales au niveau de la fosse iliaque droite. Il peut se compliquer en syndrome occlusif complet (21). En périodes anténatale et néonatale, on parle d'*ileus meconial* : l'obstruction ralentit le transit et contribue à la malabsorption des nutriments en post-natal (23).

Le prolapsus rectal est plus fréquent pendant la période d'apprentissage de la propreté, mais peut s'observer à tout âge. S'il s'avère récidivant, une réadaptation des mesures hygiéno-diététiques est nécessaire (22).

#### 1.4.2.3 Troubles hépatobiliaires

Les manifestations sont nombreuses et dues à une obstruction des canaux biliaires. La bile est alors épaissie et plus visqueuse que chez le sujet sain (24).

L'évolution la plus fréquente est la cirrhose biliaire focale qui peut évoluer en cirrhose macronodulaire multilobaire chez une minorité de patients (24). Elle est caractérisée par une prolifération des canaux biliaires, des bouchons de mucus et une fibrose dont l'intensité est variable. Hormis la présence d'une hépatomégalie, elle est généralement asymptomatique et n'est décelée que tardivement lorsque les complications qu'elle entraîne apparaissent : insuffisance hépatocellulaire et hypertension portale responsable de varices œsophagiennes (25). Lorsque l'atteinte est trop importante, une transplantation peut être envisagée (26).

#### 1.4.2.4 Dénutrition

La dénutrition est fréquente chez les patients atteints de mucoviscidose.

Elle est liée à une perturbation de l'équilibre entre les apports et les pertes. En effet, les apports sont diminués chez les patients atteints de mucoviscidose en raison, notamment, de l'anorexie liée aux symptômes de la maladie, des médicaments et de la dépression. Concernant les pertes, il faut citer la malabsorption des graisses, des protéines et des vitamines liposolubles (24).

Les conséquences de la dénutrition sont nombreuses : retard de croissance staturo-pondérale, retard de croissance pulmonaire, retard pubertaire, masse musculaire réduite, déminéralisation osseuse, diminution de l'espérance de vie (24)...

Les principaux critères utilisés pour mettre en évidence la dénutrition sont le poids, la taille et l'indice de masse corporelle (IMC).

### 1.4.3 Autres perturbations

#### 1.4.3.1 Déshydratation aiguë

Le gradient électrolytique étant inversé dans les glandes sudoripares, un excès en eau et en chlorure de sodium peut s'observer dans les sécrétions sudorales en cas de dysfonctionnement de la protéine CFTR. D'où, la perte importante en eau et chlorure de sodium chez le patient atteint de mucoviscidose, ce qui l'expose, à une déshydratation aiguë, parfois fatale, en particulier lors de fortes chaleurs (20).

#### 1.4.3.2 Atteinte ORL

Les complications ORL sont fréquentes chez le patient atteint de mucoviscidose. En effet, les patients présentent généralement une sinusite chronique et 20 % des enfants de plus de 5 ans ont une polypose nasale (20).

#### 1.4.3.3 Manifestations ostéo-articulaires

Elles concernent principalement les patients adultes.

L'atteinte osseuse est souvent associée à un faible IMC et une diminution de la fonction pulmonaire. Les patients présentent une faible densité osseuse, ce qui les expose à un risque important de fractures (27).

L'atteinte articulaire se manifeste sous forme d'arthrite ou d'ostéoarthropathie hypertrophiante pneumique encore appelée maladie de Pierre Marie, caractérisée par une augmentation du volume du squelette des extrémités des membres (28). Ces pathologies sont responsables d'inflammation et de douleur articulaire.

#### 1.4.3.4 Atteinte génitale

La majorité des hommes sont stériles en raison d'une obstruction du canal déférent. Les femmes peuvent présenter une fertilité diminuée en raison d'un écoulement anormal de la glaire cervicale.

### 1.5 Dépistage et diagnostic

#### 1.5.1 Recherche génétique prénatale

Elle est proposée lorsqu'un cas de mucoviscidose a été détecté dans la famille et qu'il existe donc un risque de transmission des allèles mutés, mais aussi en présence de signes évocateurs en échographie, notamment en cas d'intestin hyperéchogène ou de péritonite méconiale.

L'étude de l'ADN est réalisée après prélèvement de villosités chorales à douze semaines d'aménorrhée ou par amniocentèse à quinze semaines d'aménorrhée (20).

#### 1.5.2 Dépistage néonatal

Le dépistage néonatal permet une prise en charge précoce du nouveau-né. En France, ce dépistage est instauré depuis 2002.

Il consiste à doser la trypsine immunoréactive (TIR) dans le sang. La TIR est un ensemble de molécules apparentées à une enzyme pancréatique. En cas de mucoviscidose, sa concentration sanguine est élevée en raison d'une obstruction des canaux pancréatiques *in utero* d'où relargage dans le sang.

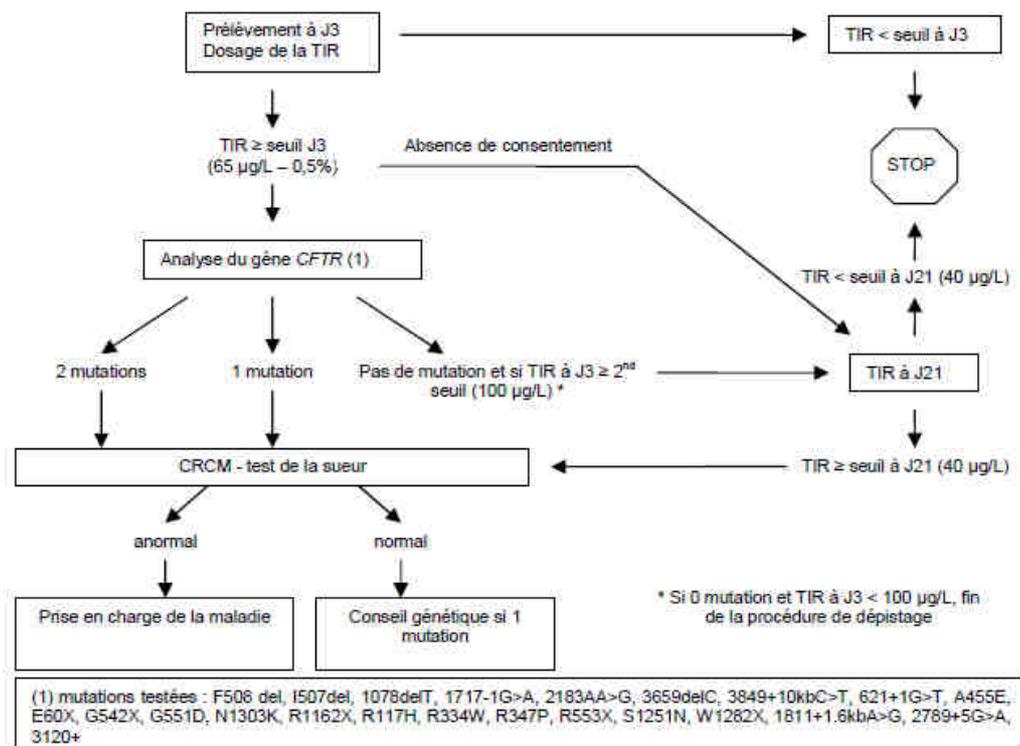
La TIR est dosée sur du sang séché sur papier buvard, prélevé au quatrième jour de vie donc à J3. En cas de concentration élevée ( $\geq 65 \mu\text{g/L}$ ), une analyse du gène *CFTR* est réalisée après obtention du consentement des parents. Un coffret de biologie moléculaire permet de détecter 30 mutations choisies en fonction des spécificités françaises.

Deux situations peuvent donc se présenter :

- une à deux mutations sont détectées chez le sujet, il est alors adressé dans un CRCM où sera réalisé un test de la sueur ;
- aucune mutation n'est détectée et la concentration sanguine en TIR était supérieure à 100 µg/L à J3, alors le dosage de la TIR est réitéré à trois semaines de vie (J21).

Dans ce dernier cas, le test est considéré comme positif pour une valeur supérieure ou égale au nouveau seuil de 40 µg/L, la concentration sanguine en TIR diminuant après la naissance. Un test de la sueur est alors réalisé pour poser le diagnostic (20).

La figure 9 résume ce protocole de dépistage mis en place par l'Association Française pour le Dépistage et la Prévention des Handicaps de l'Enfant (AFDPHE).



**Figure 9** Algorithme de dépistage de la mucoviscidose défini par l'Association Française pour le Dépistage et la Prévention des Handicaps de l'Enfant (20)

Il s'agit ici de la stratégie proposée en France pour le dépistage à la naissance. Il convient maintenant de présenter les méthodes utilisées pour poser le diagnostic de la mucoviscidose.

### 1.5.3 Méthodes diagnostiques

#### 1.5.3.1 Test de la sueur

Le test de la sueur est la méthode diagnostique de référence pour la mucoviscidose. Il consiste à doser les ions chlorure dans la sueur.

La méthode recommandée aujourd'hui est celle de Gibson et Cook. La sécrétion de sueur est stimulée par iontophorèse à la pilocarpine sur le bras ou l'avant-bras. Entre 50 ml et 100 ml de sueur sont collectées pendant trente minutes sur un papier filtre. Les ions chlorure sont ensuite dosés par titrimétrie avec une solution de nitrate mercurique (4, 22).

Pour un enfant de moins de 6 mois, le diagnostic est posé pour une valeur supérieure ou égale à 60 mmol/L ; la valeur est dite intermédiaire si elle est comprise entre 30 et 59 mmol/L ; le patient peut être considéré comme sain pour une valeur inférieure ou égale à 29 mmol/L. Pour tous les autres sujets, la valeur seuil de diagnostic est supérieure ou égale à 60 mmol/L, la valeur intermédiaire est comprise entre 40 et 59 mmol/L et la valeur en-dessous de laquelle la mucoviscidose est réputée absente est inférieure ou égale à 39 mmol/L (3).

#### 1.5.3.2 Mutation génétique

Le diagnostic de la mucoviscidose par l'étude des mutations est très complexe. En effet, de très nombreuses mutations du gène *CFTR* ont été mises en évidence, mais toutes n'ont pas été identifiées et toutes n'entraînent pas la mucoviscidose.

Les 23 mutations à rechercher selon les recommandations de l'ACMG sont retrouvées chez 85 % des patients ; pour les 15 % restants, les effets sur la protéine CFTR demeurent inconnus (3).

### 1.5.3.3 Différence de potentiel nasal

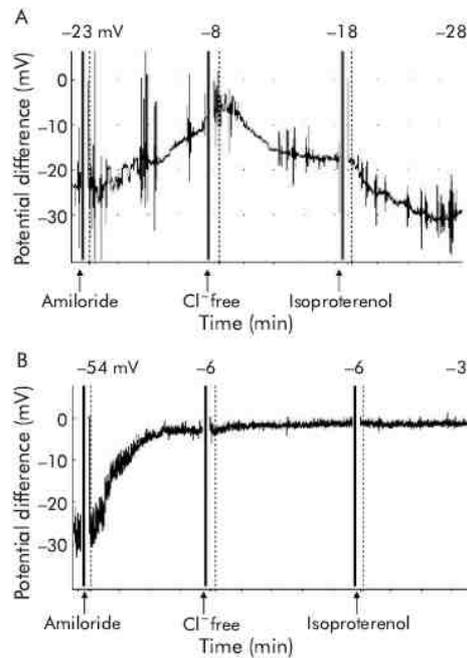
La mesure de la différence de potentiel nasal est la méthode aujourd'hui recommandée par la *Cystic Fibrosis Foundation* comme méthode annexe dans les cas particuliers (3).

A l'état basal la différence de potentiel est beaucoup plus élevée chez les patients atteints de mucoviscidose que chez les sujets sains. En effet, la réabsorption de sodium est plus importante chez le patient atteint de mucoviscidose, la protéine CFTR ne pouvant plus réguler de façon négative la réabsorption de sodium par le canal ENaC. Le principe du test repose sur cette différence de potentiel. Il se déroule comme suit :

- l'épithélium nasal est irrigué par une solution d'amiloride qui bloque le canal ENaC et est responsable d'une différence de potentiel plus importante chez le patient atteint de mucoviscidose que chez le sujet sain,
- puis, l'épithélium nasal est irrigué pendant trois minutes par une solution sans chlore provoquant un gradient de concentration qui stimule le canal chlorure,
- enfin, la même solution sans chlore, à laquelle est ajouté de l'isoprotérénol, agent pharmacologique stimulant la sécrétion de chlore, est instillée au niveau de la muqueuse nasale pendant trois minutes supplémentaires. Ces deux solutions stimulent la sécrétion d'ions chlorure, mais beaucoup moins chez le patient atteint de mucoviscidose et n'entraînent qu'une légère modification de la différence de potentiel.

La mucoviscidose est ainsi diagnostiquée par une forte différence de potentiel à l'état basal et une très faible réponse à la stimulation cumulée par la solution sans chlore et l'isoprotérénol (3, 4, 18).

La figure 10 montre la différence de potentiel (*potential difference*) en millivolt (mV) en fonction du temps chez le sujet sain (A) et chez le patient atteint de mucoviscidose (B) à l'état basal, après ajout d'une solution d'amiloride, d'une solution sans chlore (*Cl free*) puis d'une solution sans chlore contenant de l'isoprotérénol.



**Figure 10** Mesure de la différence de potentiel nasal chez le sujet sain et chez le patient atteint de mucoviscidose selon la méthode de Knowles et al (4, 29)

#### 1.5.4 Examens paracliniques

Dès le diagnostic posé, des examens doivent être pratiqués afin d'évaluer la gravité de l'atteinte. Ils seront réalisés ensuite pour le suivi régulier du patient, tout au long de sa vie, avec des fréquences déterminées en fonction de l'âge et de l'atteinte.

##### 1.5.4.1 Evaluation de l'atteinte pulmonaire

- Exploration fonctionnelle respiratoire : spirométrie

La spirométrie est un examen clé chez le patient atteint de mucoviscidose. Les tests de spirométrie doivent être réalisés le plus tôt possible à partir de l'âge de cinq ans ou six ans et à chaque visite.

Ces tests doivent mesurer :

- la capacité vitale forcée,
- le volume expiratoire maximum par seconde (VEMS),
- l'épanchement expiratoire forcé maximal,
- l'épanchement expiratoire forcé maximal entre 25 % et 75 % de la capacité vitale (30).

Le VEMS est considéré comme le meilleur signe prédictif de mortalité (31). Il est exprimé en pourcentage par rapport à la valeur attendue pour une population de référence non-fumeuse (27).

- Evaluation radiologique

Une radiographie du thorax doit être réalisée chez tout patient nouvellement diagnostiqué. Au cours du suivi du patient, elle permet de suivre la progression de la maladie et la réponse aux traitements.

- Examens microbiologiques

Un examen microbiologique des expectorations doit être réalisé dès le diagnostic puis régulièrement. En effet, les infections favorisent les exacerbations qui aggravent la maladie pulmonaire.

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques s'avère indispensable compte tenu de la diversité et de la résistance des bactéries qui colonisent les voies aériennes des patients atteints de mucoviscidose (27, 30).

Les différentes techniques de prélèvement seront détaillées au paragraphe 2.3.1.

#### 1.5.4.2 Evaluation de l'atteinte digestive

- Mesure de l'élastase fécale

Afin de poser le diagnostic de l'insuffisance pancréatique exocrine, un dosage immunologique de l'élastase-1 fécale est recommandé (27, 30, 32).

L'élastase-1 est une enzyme spécifique du pancréas ; elle n'est pas dégradée au niveau du tube digestif et sa concentration fécale est nettement supérieure à sa concentration pancréatique, ce qui explique pourquoi elle est mesurée dans les selles (33). Sa concentration est diminuée en cas d'insuffisance pancréatique.

- Débit fécal des graisses sur soixante-douze heures

Le débit fécal des graisses sur soixante-douze heures permet de diagnostiquer la présence de stéatorrhée. Sur le plan clinique cela se traduit par des diarrhées, des selles malodorantes et graisseuses, une perte de poids ou des difficultés à prendre du poids, des flatulences ou un inconfort abdominal et une carence en vitamines liposolubles (27).

Cet examen est pratiqué chez les patients nouvellement diagnostiqués puis annuellement (27, 30). Il doit être réalisé alors que le patient suit un régime contrôlé ou ingère une quantité déterminée de graisses par voie orale afin d'évaluer la quantité de graisses excrétée (en grammes) par rapport à la quantité de graisses ingérée.

- Test oral de tolérance au glucose

A partir de l'âge de 10 ans, un test de tolérance au glucose doit être réalisé annuellement afin d'évaluer le métabolisme glucidique (30).

- Echographie hépatique

En raison de l'atteinte hépatique chez le patient atteint de mucoviscidose, une échographie hépatique doit être réalisée au moment du diagnostic puis annuellement. Elle doit permettre d'évaluer l'existence d'une irrégularité parenchymateuse, d'une fibrose périportale et de nodules hépatiques (30, 34, 35).

## 1.6 Prise en charge globale

### 1.6.1 Principes généraux

Compte tenu de l'atteinte multiviscérale de la pathologie et de son impact sur la qualité de vie, un suivi par une équipe pluridisciplinaire dans un centre spécialisé dans la prise en charge des patients atteints de mucoviscidose est fortement recommandé. L'équipe du centre doit être

composée de professionnels ayant reçu une formation adaptée et expérimentés dans la prise en charge de la mucoviscidose : pédiatres, pneumologues, gastro-entérologues, médecins traitants, infirmières, kinésithérapeutes, diététiciens, microbiologistes, psychologues et assistantes sociales.

Les patients doivent se rendre au centre au moins tous les trimestres pour un bilan comprenant au minimum un examen physique, la réalisation des tests de fonction pulmonaire et l'examen des expectorations. Une coordination entre les différents intervenants est indispensable pour un bon suivi du patient (30).

L'objectif de cette prise en charge est multiple : prévenir et traiter précocement les complications, améliorer la qualité de vie du patient, assurer une prise en charge psychologique du patient et de sa famille notamment lors de moments clés comme l'annonce du diagnostic, l'entrée à l'école, le passage à l'âge adulte ou l'attente d'une transplantation pulmonaire (26).

Les professionnels de santé du CRCM ont un rôle particulier à jouer dans l'apprentissage d'une hygiène de vie adaptée et dans l'éducation thérapeutique.

En effet, les patients doivent éviter le tabac et les allergènes, apprendre à décontaminer les appareils de nébulisation et à se laver fréquemment les mains. Les professionnels doivent encourager la pratique d'une activité physique et sportive adaptée à l'état de la fonction respiratoire du patient (26, 30).

Enfin, les traitements sont généralement très lourds et occupent une place importante dans le quotidien. En cas de non-observance, les différents intervenants du CRCM doivent en rechercher la cause et analyser l'utilité de chaque thérapeutique (26, 30).

### 1.6.2 Pulmonaire

- Kinésithérapie

La kinésithérapie a une place essentielle dans la prise en charge du patient. Les techniques de kinésithérapie respiratoire permettent, par mobilisation et évacuation des sécrétions, de suppléer la fonction muco-ciliaire, diminuée en cas de mucoviscidose. En prévenant

l'encombrement, elle permet à plus long terme de limiter les effets néfastes de l'inflammation pulmonaire.

Aussi, le kinésithérapeute est particulièrement sollicité lors de l'apprentissage des méthodes de drainage bronchique, de l'aérosolthérapie, de la prévention de l'encombrement bronchique et de la reconnaissance des signes respiratoires d'alerte (27).

Les séances de kinésithérapie doivent être adaptées à l'âge du patient, à sa fonction pulmonaire et à son mode de vie (26).

- Antibiothérapie

L'utilisation d'antibiotiques chez le patient atteint de mucoviscidose s'est accompagnée d'une diminution de la morbidité et d'une augmentation de l'espérance de vie, les infections étant souvent responsables d'aggravation de l'état pulmonaire comme expliqué au paragraphe 1.4.1.2 (36).

Les antibiotiques peuvent être utilisés avec trois objectifs différents (36) :

- éradiquer une bactérie ;
- maîtriser les infections afin de préserver la fonction pulmonaire à l'aide d'antibiotiques par voie intraveineuse ou par voie inhalée ;
- lutter contre les exacerbations qui doivent être prises en charge rapidement par l'administration de deux antibiotiques présentant un mécanisme d'action différent, par voie intraveineuse, afin de diminuer les risques de résistance et de bénéficier de la synergie d'action des deux antibiotiques.

Pour certains patients, une cure intraveineuse de deux semaines tous les trois mois peut être conseillée, mais pour les patients cliniquement stables, ce schéma thérapeutique est déconseillé en raison du risque d'effets indésirables, d'hypersensibilité aux antibiotiques et de résistance (36).

Bien que la *Cystic Fibrosis Trust* recommande une antibioprofylaxie anti-staphylococique chez l'enfant, il a été démontré que cela n'apportait pas de réel bénéfice, augmentait les chances de développer une infection à *Ps. aeruginosa* et favorisait l'émergence de staphylocoques résistants à la méticilline (SARM). Pour les staphylocoques résistants à la méticilline, le traitement de choix est la vancomycine.

Une autre difficulté liée à la résistance est la possibilité pour *Ps. aeruginosa* et *S. aureus* de croître en micro-colonies, les antibiotiques, notamment les aminoglycosides et les antifolates, devenant alors moins actifs sur ces bactéries. Enfin, en raison notamment de la prolongation de l'espérance de vie, de nouvelles espèces très résistantes sont de plus en plus fréquemment isolées (7).

Dans un chapitre consacré à l'infection par *Ps. aeruginosa*, la thérapie antibiotique sera abordée plus en détail. Le tableau 2 résume les principaux antibiotiques utilisés pour traiter les infections dues aux micro-organismes les plus fréquents : *S. aureus*, *H. influenzae* et *Ps. aeruginosa*.

**Tableau 2 Germes pathogènes fréquemment rencontrés dans la mucoviscidose et antibiotiques dans la prise en charge du patient atteint de mucoviscidose (36, 37)**

<b>Germe pathogène</b>	<b>Antibiotiques utilisés</b>
<i>S. aureus</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- aminopénicilline : amoxicilline + acide clavulanique</li> <li>- céphalosporine de 1ère génération : céphalexine</li> <li>- glycopeptides : vancomycine, téicoplanine</li> <li>- lincosanide : clindamycine</li> <li>- macrolides : érythromycine, clarithromycine, azithromycine</li> <li>- oxazolidinone : linézolide</li> </ul>
<i>H. influenzae</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- aminopénicillines : amoxicilline, amoxicilline + acide clavulanique</li> <li>- céphalosporine de 2<sup>ème</sup> génération : céfuroxime axétil</li> <li>- céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération : céfixime, cefpodoxime proxétil</li> <li>- cycline : doxycycline</li> </ul>

<i>Ps. aeruginosa</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- aminosides : tobramycine, amikacine</li> <li>- carbapénèmes : imipénème, méropénème</li> <li>- carboxypénicilline : ticarcilline + acide clavulanique</li> <li>- céphalosporine de 3<sup>ème</sup> génération : ceftazidime</li> <li>- fluoroquinolone : ciprofloxacine</li> <li>- macrolide : azithromycine</li> <li>- monobactame : aztréonam</li> <li>- polymixine : colistine</li> <li>- uréidopénicilline : pipéracilline + tazobactam</li> </ul>
-----------------------	---

- Bronchodilatateurs

La plupart des patients présentent une hyperréactivité bronchique (38, 39). C'est pourquoi, des bronchodilatateurs peuvent être prescrits. Les plus utilisés sont les  $\beta_2$ -adrénergiques, généralement administrés avant les exercices de kinésithérapie respiratoire (40).

- Anti-inflammatoires

Chez les patients atteints de mucoviscidose, la réponse inflammatoire contribue à la destruction pulmonaire. C'est pourquoi des anti-inflammatoires peuvent être prescrits.

Des corticoïdes, par voie systémique ou inhalée, ainsi que des anti-inflammatoires non stéroïdiens peuvent être prescrits au cas par cas (26).

- Fluidifiants bronchiques

La viscosité des sécrétions bronchiques dans la mucoviscidose est en partie due à la présence de polynucléaires neutrophiles et de leurs produits de dégradation associés à la réaction inflammatoire.

Pulmozyme<sup>®</sup>, une désoxyribonucléase recombinante humaine (RhDNase I) utilisée par voie inhalée, permet la destruction des fragments d'ADN extracellulaires issus de la dégradation

des polynucléaires neutrophiles (15). Une administration une fois par jour permettait d'augmenter le VEMS et de diminuer les exacerbations (41). De nombreux médecins le prescrivent avec un bronchodilatateur avant les séances de kinésithérapie et il est considéré en France comme le fluidifiant bronchique de référence en cas de mucoviscidose (15, 42).

- Sérum salé hypertonique

Le sérum salé hypertonique en nébulisateur améliorerait la clairance mucociliaire. Il est généralement bien toléré à condition que les patients soient prétraités par un bronchodilatateur afin de diminuer le risque de bronchospasme, son principal effet indésirable avec la toux (43).

### 1.6.3 Digestive

#### 1.6.3.1 Insuffisance pancréatique

Afin de pallier l'insuffisance pancréatique exocrine, des médicaments contenant des enzymes pancréatiques, les extraits pancréatiques, sont prescrits. Ils se présentent généralement sous forme de gélules gastro-résistantes pour éviter la dégradation des enzymes par le suc gastrique. La posologie est généralement calculée en fonction de la richesse en graisse des repas (27, 24).

Si le patient développe un diabète, il sera traité par administration d'insuline. Une attention particulière devra être portée à l'heure de prise des repas et à la quantité de sucres ingérés.

#### 1.6.3.2 Nutrition

Le recours à un diététicien afin de définir le régime approprié est indispensable dès le diagnostic. Les apports énergétiques doivent être supérieurs aux apports journaliers recommandés, les patients devant favoriser les aliments riches en lipides qui leur apporteront suffisamment de calories afin de maintenir un IMC suffisant (27).

Par ailleurs, la malabsorption des vitamines liposolubles A, D, E et K expose donc le patient à un risque de carence. Afin d'y pallier, des suppléments vitaminiques sont administrés et une exposition au soleil recommandée.

#### 1.6.3.3 Atteinte hépatique

Le traitement de référence est l'acide ursodésoxycholique (AUDC). Il s'agit d'un acide biliaire présent naturellement en petite quantité dans la bile. Il retarde la progression vers la cirrhose ou son évolution. Son mécanisme d'action serait multiple : amélioration du flux biliaire, déplacement des acides biliaires hydrophobes accumulés dans le foie, effet cytoprotecteur, stimulation de la sécrétion de bicarbonate (44 - 46).

#### 1.6.3.4 Prise en charge des douleurs gastro-intestinales

Les mesures hygiéno-diététiques habituelles s'appliquent pour la prise en charge du reflux et de la constipation chez le patient atteint de mucoviscidose. Un inhibiteur de la pompe à protons est généralement prescrit en cures de six à huit semaines pour la prise en charge du reflux et du N-acétylcystéine par voie orale peut-être administré pour traiter la constipation (21).

Si le patient souffre de SOID, l'administration d'une solution orale de N-acétylcystéine ou de polyéthylène-glycol ou un lavement au polyéthylène glycol sont efficace (21, 26).

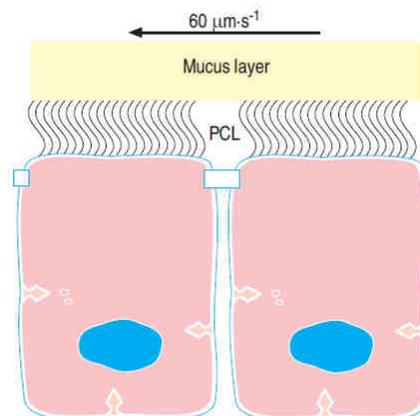
## 2 Infection pulmonaire à *Ps. aeruginosa* chez le patient atteint de mucoviscidose

### 2.1 Contexte : physiopathologie de l'atteinte respiratoire

#### 2.1.1 Mécanismes de défense pulmonaire chez le sujet sain

Le liquide de surface des voies aériennes est composé de deux couches (figure 11) :

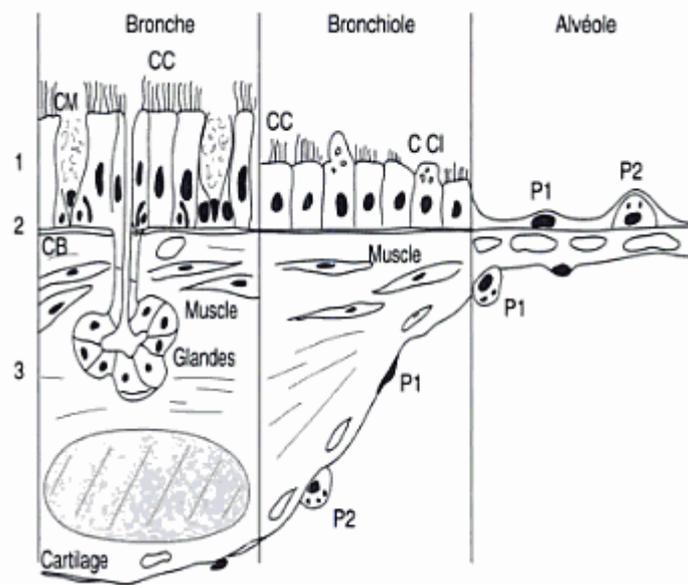
- une couche de liquide périciliaire dans laquelle baignent les cils de l'appareil muco-ciliaire,
- une couche de mucus.



**Figure 11** Cellule épithéliale pulmonaire et liquide de surface des voies aériennes : couche périciliaire (PCL) et couche de mucus (*mucus layer*) avec une vitesse de déplacement de  $60 \mu\text{m/s}$  chez le sujet sain (47)

Les cellules ciliées sont les plus nombreuses de l'épithélium pulmonaire. Leur forme est cylindrique dans les bronches puis cubiques dans les bronchioles, elles sont reliées entre elles par des jonctions serrées. Elles présentent 100 à 250 cils au pôle apical. Leur rôle principal est d'évacuer les particules inhalées par propulsion du mucus (figure 12) (48).

D'autres cellules constituent également le revêtement épithélial pulmonaire, notamment les cellules basales, responsables du renouvellement des cellules bronchiques ; les cellules de Clara, qui permettent le renouvellement des cellules bronchiolaires et alvéolaires et produisent le surfactant ainsi que les pneumocytes (figure 12) (48).



**Figure 12 Revêtement épithélial tapissant les voies respiratoires intrapulmonaires, CC : cellule ciliée, CB : cellule basale, C Cl : cellule de Clara, P1 : pneumocyte I, P2 : pneumocyte II, 1 : épithélium, 2 : membrane basale, 3 : sous-muqueuse (48)**

La couche de liquide périciliaire est constituée d'un gel polyanionique favorisant les mouvements ciliaires et évitant, grâce à ses propriétés lubrifiantes, que la couche de mucus n'adhère aux cils.

La couche de mucus est composée de mucines, des polymères glycosylés de longue taille sécrétés par les cellules caliciformes et les glandes submucosales. Leur organisation en filet facilite le piégeage de particules dans les voies aériennes (49).

Les principales molécules de défenses dans cet environnement seraient la lactoferrine et les lysozymes, les défensines étant peu représentées (50). L'absence de protéine CFTR normale pourrait perturber la composition ionique du liquide de surface dont dépendrait l'activité des molécules antimicrobiennes naturelles (51 - 54). Cependant, selon Boucher, dont nous allons suivre la théorie, cette hypothèse est peu probable dans la mesure où des études démontrent que le liquide de surface des voies aériennes est isotonique chez le sujet sain et chez le sujet atteint de mucoviscidose (47, 49, 55).

Le principal mécanisme de défense innée serait alors la clairance muco-ciliaire donnant une importance primordiale à la couche de mucus et de liquide périciliaire. La couche de mucus piégerait les particules inhalées grâce à son flux turbulent tandis que les molécules de mucine se lieraient aux particules avec suffisamment d'affinité pour les évacuer des poumons.

La couche de mucus présente la particularité de pouvoir « donner » du liquide à la couche périciliaire lorsque celle-ci en manque, mais aussi de recevoir du liquide de cette couche lorsqu'au contraire, elle en a en excès.

La régulation du transport ionique au niveau de la membrane de la cellule épithéliale jouerait alors un rôle primordial dans le fonctionnement de cet appareil muco-ciliaire. La cellule épithéliale ciliée présente un canal  $\text{Na}^+$ , le canal ENaC, et des pompes  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATP-dépendantes pour réguler les flux de sodium ainsi que deux canaux chlorure – le canal CFTR et un canal dépendant du calcium – et un co-transporteur baso-latéral  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - 2\text{Cl}^-$  sécrétant du chlore.

Le canal ENaC permettrait le maintien du volume du liquide de surface : en cas d'augmentation du volume, il serait activé afin de favoriser l'absorption de sodium, lequel subit ensuite un efflux par le co-transporteur  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - 2\text{Cl}^-$ . Il serait inhibé lorsque le volume devient adéquat. Une fois le canal ENaC inhibé, les ions chlorure sont sécrétés par le canal CFTR : le volume de la couche péri-ciliaire est ainsi maintenu par un état d'équilibre entre l'absorption de sodium et la sécrétion de chlorure.

Des études récentes ont montré que le canal CFTR serait également activé grâce à un mécanisme de signalisation incluant l'ATP produit en cas de stress, l'adénosine et son récepteur  $\text{A}_{2b}$ , une protéine G, l'adénylate cyclase et des mécanismes dépendant de l'AMPc.

### 2.1.2 Conséquences de la mutation du gène *CFTR* : déshydratation du liquide de surface des voies aériennes

En l'absence d'inhibition du canal ENaC, une hyperabsorption de sodium est observée au niveau des cellules épithéliales pulmonaires. En raison du dysfonctionnement du canal CFTR, cet excès d'absorption n'est pas contrebalancé par une sécrétion de chlore accompagnée d'eau. Le liquide de surface des voies aériennes est donc déshydraté et le volume de la couche périciliaire diminue.

La couche périciliaire devient alors visqueuse, perd en élasticité et les cils sont affaissés : la clairance muco-ciliaire est diminuée, ce qui entraîne une adhérence du mucus à la surface des cellules épithéliales (47, 49, 55).

### 2.1.3 Résultante : obstruction des voies aériennes, infection, inflammation

La diminution de la clairance muco-ciliaire et l'adhérence du mucus à la surface des cellules épithéliales ont pour conséquence une stase du mucus au niveau pulmonaire. Or, il semblerait qu'il n'existe pas de rétrocontrôle entre la sécrétion et l'élimination du mucus : en dépit de l'accumulation de mucus, les cellules caliciformes et les cellules des glandes submucosales continuent de sécréter du mucus qui vient s'ajouter au mucus stagnant à la surface cellulaire.

Il y a alors formation de plaques et de bouchons muqueux dans les voies aériennes qui entraînent une déplétion en dioxygène au niveau de la surface cellulaire. A cela s'ajoute un excès de consommation de dioxygène. En effet, afin d'extraire de la cellule l'excès de sodium lié à l'hyperabsorption, la pompe  $\text{Na}^+\text{-K}^+$  ATPase est sollicitée. Pour fonctionner, cette dernière a besoin d'ATP, d'où une activité mitochondriale accélérée et donc une consommation en dioxygène augmentée. La consommation importante de dioxygène associée à sa mauvaise diffusion en raison de la stase et de l'épaississement du mucus crée un environnement hypoxique.

Cet environnement est favorable à la croissance de certaines bactéries qui ne sont pas éliminées par l'appareil muco-ciliaire dysfonctionnel et qui échappent ainsi plus facilement aux mécanismes de défenses antibactériennes. En outre, les bactéries mobiles – ce qui est le cas de *Ps. aeruginosa* – peuvent se loger dans les plaques muqueuses et être protégées de l'action des neutrophiles et des macrophages. Les bactéries s'adaptent au milieu environnant, deviennent moins accessibles aux antibiotiques et développent des résistances. L'infection chronique commence à s'installer (47, 55).

Les infections sont accompagnées d'une réponse pulmonaire inflammatoire intense qui serait liée, notamment, à l'interaction entre les bactéries et l'épithélium. Les neutrophiles joueraient un rôle important dans la destruction pulmonaire. En effet, ils sont présents en grand nombre au niveau du site infecté et produisent une quantité importante d'élastase et d'autres protéases qui causent de nombreuses lésions au niveau du tissu pulmonaire. Les principaux médiateurs de l'inflammation responsables de l'attraction des neutrophiles dans la mucoviscidose sont l'interleukine-8 (IL-8), produite par les macrophages, les neutrophiles et les cellules épithéliales activées, le *Tumor Necrosis Factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ), l'IL-1, les fractions  $\text{C}_{3a}$  et  $\text{C}_{5a}$  du

complément et le leucotriène B<sub>4</sub>. A leur tour, le TNF- $\alpha$ , l'IL-1 $\beta$ , l'élastase des neutrophiles, le lipopolysaccharide (LPS) et les antigènes du *Ps. aeruginosa* stimulent la sécrétion d'IL-8 ; le TNF-  $\alpha$  favorise la libération des neutrophiles et, avec l'IL-1, augmentent le chimiotactisme (7).

C'est dans ce contexte que se développent la colonisation puis l'infection à *Ps. aeruginosa*.

## 2.2 Physiopathologie de l'infection à *Ps. aeruginosa* chez le patient atteint de mucoviscidose

### 2.2.1 Présentation de la bactérie

*Pseudomonas aeruginosa* est une espèce du genre *Pseudomonas*, de la famille des *Pseudomonadaceae*.

C'est une bactérie saprophyte, retrouvée dans l'eau, les sols humides, les végétaux, mais c'est aussi une bactérie commensale du tube digestif de l'Homme et des animaux. Elle est qualifiée de bactérie opportuniste, infectant principalement les sujets dont les défenses immunitaires sont diminuées (56).

C'est le micro-organisme pathogène le plus fréquemment associé à la mucoviscidose (57).

#### 2.2.1.1 Caractères culturels

*Ps. aeruginosa* est un bacille à Gram négatif à ciliature polaire, aérobic stricte, ne fermentant pas le glucose. C'est une bactérie peu exigeante.

La culture est caractérisée à la fois par son odeur de seringine liée à la production d'ortho-amino-acétophénone, intermédiaire dans le métabolisme du tryptophane, mais aussi par la production de deux pigments : la pyocyanine bleue, spécifique d'espèce et la pyoverdine jaune-vert fluorescent en lumière ultra-violette (58).

### 2.2.1.2 Anatomie fonctionnelle

Comme toutes les bactéries à Gram négatif, *Ps. aeruginosa* présente une double membrane phospholipidique constituée d'une membrane cytoplasmique interne et d'une membrane externe contenant le LPS.

De la membrane externe sortent un flagelle polaire, impliqué dans la mobilité bactérienne et des structures protéiques appelées pili ou fimbriae, impliqués dans les phénomènes de conjugaison et d'adhésion. Ces derniers sont au nombre de deux à douze par pôle et sont constitués d'une protéine, la fibrine (58).

Certaines protéines de la membrane externe jouent un rôle primordial dans la translocation des ions et petites molécules de l'extérieur vers l'intérieur de la bactérie. Parmi elles :

- la porine F : canal hydrophile peu perméable aux anions,
- la porine P : canal étroit pour le passage sélectif d'anions de petites tailles (58).

Certaines colonies produisent un exopolysaccharide mucoïde constitué presque exclusivement d'acide alginique. C'est un polymère de haut poids moléculaire composé de deux acides uroniques, le mannuronate (MUR) et le glucuronate (GUR), reliés par une liaison osidique. Lorsque les chaînes polysaccharidiques du LPS et de l'acide alginique sont très longues et très nombreuses, elles constituent un feutrage appelé glycocalyx qui sert de matrice pour la formation de micro-colonies (58).

### 2.2.1.3 Pathogénicité

- Facteurs de virulence

La bactérie possède de nombreux facteurs de virulence responsables en partie de sa grande pathogénicité. Ils interviennent à différents stades du processus infectieux.

L'adhérence de *Ps. aeruginosa* aux cellules hôtes est facilitée par le LPS, les polysaccharides de surface, le pili, qui est aussi un médiateur de l'inflammation et le flagelle qui favorise la mobilité de la cellule (57).

*Ps. aeruginosa* présente un système de sécrétion de toxines qui lui permet d'injecter ses toxines directement dans une cellule cible : le système de sécrétion de type III (*Type Three Secretion System*, TTSS). Ce système est divisé en trois parties : l'appareil sécréteur, le système de ciblage et la toxine. Les toxines reliées à ce système sont les toxines ExoT et ExoS qui sont des toxines ADP-ribosylantes ; la toxine ExoY qui est une adénylate cyclase récemment découverte et dont l'effet est encore mal connu ; la toxine ExoU qui serait probablement une cytotoxine (57). Ce système de sécrétion est un facteur de virulence essentiel retrouvé principalement dans les infections aiguës. Il ne jouerait donc pas de rôle dans la persistance de l'infection, mais dans son installation (59).

*Ps. aeruginosa* produit de nombreuses molécules qui diffusent dans l'environnement et peuvent jouer un rôle dans l'invasion bactérienne (58) :

- la cytotoxine, très toxique pour les polynucléaires et les lymphocytes, est responsable d'une inflammation et de nécroses sévères ;
- la phospholipase C, une hémolysine dont le substrat principal est un constituant majeur du surfactant pulmonaire ;
- l'exotoxine A, inhibitrice de la synthèse protéique, entraînant la mort cellulaire ;
- l'élastase, ou protéase neutre, qui permet l'invasion tissulaire par l'ouverture des jonctions serrées et le clivage du collagène et l'altération des capacités de défense de l'hôte par diminution de la clairance muco-ciliaire, dégradation des protéines du surfactant pulmonaire, clivage des IgG et du complément ;
- la protéase alcaline qui entraîne hémorragies et nécrose et tissulaire ;
- l'exoenzyme S, responsable de nécroses.

Le « quorum sensing » est un mécanisme de régulation de la transcription de gènes de virulence. Son activité est dépendante de la densité bactérienne. Deux systèmes ont été identifiés chez *Ps. aeruginosa* : le système *las* et le système *rhl* (60). Chaque système est composé de deux gènes :

- le système *las* est composé du gène *lasI*, qui code pour une enzyme, LasI, et du gène *lasR*, qui code pour une protéine régulatrice de l'expression de gènes de virulence, LasR ;

- le système *rhl* est composé du gène *rhlI*, qui code pour une enzyme, RhlI, et du gène *rhlR*, qui code pour une protéine régulatrice de l'expression de gènes de virulence, RhlR.

Les enzymes LasI et RhlI activent la synthèse de petites molécules diffusibles, les acyl homosérines lactones (AHL). LasI active la synthèse de la *N*-(3-oxododecanoyl)-L-homosérine lactone (3-oxo-C12-HSL) et RhlI active la synthèse de la *N*-butyryl-L-homosérine lactone (C4-HSL). Ces molécules diffusent de bactérie à bactérie et, lorsque la densité bactérienne est élevée et que le taux d'AHL atteint un seuil critique, elles se lient à une protéine régulatrice :

- une molécule de 3-oxo-C12-HSL se lie à deux protéines LasR, le complexe active alors la transcription de gènes impliquée dans la virulence, notamment *lasB* et *lasA* qui codent pour deux élastases, *aprA* qui code pour une protéase alcaline, *toxA* qui code pour une exotoxine ADP-ribosylante et *lasI*, ce qui permet d'augmenter la concentration environnante en 3-oxo-C12-HSL ;
- une molécule de C4-HSL se lie à deux protéines régulatrices RhlR, activant ainsi l'expression de gènes de virulence dont *rhlAB* nécessaire à la production du rhamnolipide, un surfactant qui intervient dans le maintien des canaux du biofilm, *lasB*, *lasA*, *aprA* et *rhlI*.

L'activation de ces gènes amplifie la virulence et est synchrone à l'ensemble de la population bactérienne.

Par ailleurs, la 3-oxo-C12-HSL aurait une activité immunomodulatrice. En effet, elle inhiberait la prolifération lymphocytaire par diminution de la production de TNF- $\alpha$  et stimulation de la vasodilatation et accélérerait l'apoptose des macrophages et des polynucléaires neutrophiles (60).

L'activité du « quorum sensing » chez le patient atteint de mucoviscidose a été démontrée par quantification des ARNm des gènes régulés par le « quorum sensing » (*toxA*, *lasA* et *lasB*) et des gènes du « quorum sensing » (*lasR* et *lasI*) dans les expectorations. Les niveaux des transcrits de *lasR* et *lasI* sont corrélés entre eux et avec ceux de *toxA*, *lasA* et *lasB*. De plus, les AHL auraient été détectées dans des expectorations et des biopsies transbronchiques de patients atteints de mucoviscidose (60). Néanmoins, l'activité du « quorum sensing » ne serait pas présente chez tous les patients atteints de mucoviscidose.

Le « quorum sensing » serait également impliqué dans la structuration du biofilm bactérien, réseau structuré de bactéries qui croient en communauté et recouvre la surface des muqueuses (57). Le biofilm crée un environnement favorable au développement de la bactérie dans les poumons et limite son accès aux antibiotiques. Ainsi, les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et les Concentrations Minimales Bactéricides (CMB) sont 100 à 1000 fois supérieures à celles qui agissent sur les bactéries en mode planctonique, ce qui explique pourquoi l'antibiothérapie classique échoue dans l'éradication du biofilm bactérien alors que les méthodes standards de détermination de l'activité antibactérienne démontrent une activité antibactériennes (61).

Les sidérophores comme la pyocyanine et la pyoverdine, peuvent capter le fer environnant et lui permettent de se développer dans un environnement hostile et carencé en fer. Ils seraient également responsables de l'activation d'autres facteurs de virulence (62). En outre, la pyocyanine, retrouvée en concentration élevée chez le patient atteint de mucoviscidose, favorise la destruction de l'épithélium bronchique et de la fonction ciliaire (63).

Enfin, la production d'alginate chez les souches dites « mucoïdes » joue un rôle essentiel dans le passage à la chronicité de l'infection pulmonaire chez le patient atteint de mucoviscidose. Sa production est due à la mutation d'un gène, le gène *muc* (64).

- Résistance aux antibiotiques

*Ps. aeruginosa* présente une très grande résistance aux antibiotiques. Cette résistance peut être naturelle grâce à la production d'une  $\beta$ -lactamase inductible, la faible perméabilité de sa membrane bactérienne et l'utilisation de systèmes d'efflux. Il est aussi capable de développer des résistances par mutation et acquisition de gènes (65).

- Résistance par production d'enzymes :  $\beta$ -lactamases

*Ps. aeruginosa* peut présenter de nombreuses  $\beta$ -lactamases, soit innées, soit acquises :

- AmpC céphalosporinase : c'est une enzyme inductible ; l'antibiothérapie peut ainsi être responsable d'une hyperproduction de cette enzyme, ce qui confère à la bactérie une résistance à la ticarcilline, à la pipéracilline et aux céphalosporines de troisième génération (65) ;
- PSE  $\beta$ -lactamases : ce sont des enzymes acquises qui inactivent les pénicillines (65) ;

- OXA  $\beta$ -lactamases : elles présentent un large spectre d'activité et des similarités avec les *Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamases* (ESBL) ; certaines souches produisant ces enzymes peuvent inactiver les céphalosporines de troisième génération ainsi que l'aztréonam (65) ;
- autres  $\beta$ -lactamases : certaines souches à l'origine d'infections nosocomiales ainsi que des souches multirésistantes produisent une  $\beta$ -lactamase PER-1 ayant un large spectre d'activité avec hydrolyse des benzylpénicillines, de l'amoxicilline, de la ticarcilline, de la céphalothine, de la céfopérazone, du céfuroxime, de la ceftriaxone, de la ceftazidime et de l'aztréonam. D'autres dérivent des ESBL et inactivent les céphalosporines de troisième génération, la pénicilline, l'aztréonam et l'imipénème pour l'une des  $\beta$ -lactamases (65) ;
- métallo-carbapénémases : elles sont généralement responsables de la résistance aux carbapénèmes mais aussi aux céphalosporines anti-*Pseudomonas* et aux pénicillines anti-*Pseudomonas* ; elles ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique, le tazobactam ou le sulbactam (65).

- Résistance par modification des porines membranaires

Des mutations peuvent être à l'origine de modifications des porines de la membrane externe, limitant ainsi la pénétration des antibiotiques dans la cellule.

La protéine principalement liée à ce phénomène est l'OprD. La diminution ou l'arrêt de sa production est vraisemblablement due à l'inactivation du gène *OprD*. La perte d'OprD est fréquente dans les traitements à base d'imipénème, mais elle ne confère pas de résistance aux  $\beta$ -lactamines autres que les carbapénèmes (65).

- Résistance par mutation de la cible

Dans ce type de résistance, la cible bactérienne des antibiotiques est mutée, de telle sorte que l'antibiotique ne reconnaît plus sa cible et ne peut plus exercer son activité.

Ce type de résistance se retrouve notamment chez les quinolones où les gènes *gyrA* et *parC* qui codent pour les enzymes cibles de ces antibiotiques, les topoisomérases II et IV, sont mutés (65).

- Résistance par augmentation du système d'efflux

Le système de pompe d'efflux le plus souvent observé est le système MexAB-OprM, responsable de la résistance aux quinolones, aux pénicillines anti-*Pseudomonas* et aux céphalosporines anti-*Pseudomonas* et d'une sensibilité diminuée au méropénème.

La surexpression d'un autre système, MexXY-OprM, diminue la sensibilité aux aminoglycosides (65).

- Combinaison des différents systèmes de résistance

La combinaison de différents systèmes de résistance s'observe notamment chez les aminosides : augmentation de la perméabilité des systèmes d'efflux, modification enzymatique du groupe amino ou hydroxyl des aminosides ... Les enzymes responsables de ce dernier phénomène sont appelées AME (*Aminoglycoside-Modifying Enzymes*).

La résistance aux quinolones peut associer la mutation des gènes responsables du système d'efflux et une mutation sur *gyrA* ou *parC*.

Des mutants avec surexpression en MexXY-OprN et une diminution de OprD vont être résistants à de nombreux antibiotiques dont l'imipénème et le méropénème, les quinolones, les pénicillines anti-*Pseudomonas*, l'aztréonam et les céphalosporines anti-*Pseudomonas* (65).

## 2.2.2 De la primo-colonisation à l'infection chronique

### 2.2.2.1 Définitions

Ces définitions sont extraites du consensus européen de la *European Cystic Fibrosis Society* sur la stratégie antibiotique anti-*Pseudomonas* dans la mucoviscidose (66).

- Primo-colonisation

Le terme de primo-colonisation est employé lorsque *Ps. aeruginosa* est détecté dans l'arbre bronchique mais qu'aucun signe direct (fièvre, inflammation ...) ou indirect (présence d'anticorps spécifiques de *Ps. aeruginosa*) d'infection n'est décelé et en l'absence d'atteinte tissulaire.

- Colonisation chronique

La colonisation chronique concerne les individus pour lesquels la présence de *Ps. aeruginosa* dans l'arbre bronchique est supérieure ou égale à six mois et confirmée par au moins trois cultures positives séparées chacune d'au moins un mois, sans signe direct ou indirect d'infection et en l'absence d'atteinte tissulaire.

- Infection broncho-pulmonaire

L'infection broncho-pulmonaire à *Ps. aeruginosa* est diagnostiquée lorsque *Ps. aeruginosa* est détecté dans l'arbre bronchique et associé à des signes directs ou indirects d'infection et des dommages tissulaires. L'infection peut également être diagnostiquée après détection d'anticorps anti-*Pseudomonas* confirmée par deux analyses chez les patients incapables d'expectorer et présentant des cultures bactériennes négatives.

- Infection broncho-pulmonaire chronique

L'infection broncho-pulmonaire à *Ps. aeruginosa* est déclarée chronique lorsque *Ps. aeruginosa* est présent dans l'arbre bronchique depuis au moins six mois et que cela est confirmé par au moins trois cultures positives séparées chacune d'au moins un mois, et que le sujet présente des signes directs ou indirects d'infection et une atteinte tissulaire. L'infection chronique peut également être diagnostiquée après détection d'anticorps anti-*Pseudomonas* confirmée par deux analyses, chez les patients incapables d'expectorer et présentant des cultures bactériennes négatives.

#### 2.2.2.2 Les sources de contamination

Les principaux réservoirs de *Ps. aeruginosa* sont l'environnement, les patients infectés et le matériel respiratoire contaminé, les patients infectés de façon chronique représentant un réservoir humain important (67, 68).

Les sécrétions respiratoires des patients sont à l'origine de la contamination de l'environnement hospitalier. *Ps. aeruginosa* isolé des sécrétions respiratoires des patients atteints de mucoviscidose se développe en biofilm sur les surfaces ; il résiste rarement dans l'air. Il se développe essentiellement à proximité des points d'eau comme les lavabos, les

toilettes, les équipements dentaires, les bains à remous ou les nébuliseurs. Il peut contaminer les mains du personnel soignant, ce qui est responsable d'une transmission par manuportage.

Le rôle de la transmission entre patients par rapport au rôle de l'environnement est encore mal déterminé. Il semblerait que la transmission inter-patient intervienne principalement entre membres d'une même famille ou dans des situations de grande proximité comme les camps de vacances ou les centres de prise en charge avec une forte densité de patients (67). La source initiale de contamination reste cependant inconnue pour la plupart des patients (68).

### 2.2.2.3 Caractéristiques de *Ps. aeruginosa* favorisant la persistance de l'infection

- Les adaptations phénotypiques

Les souches de *Ps. aeruginosa* isolées de patients atteints de mucoviscidose présentent de nombreuses différences phénotypiques avec les souches environnementales ou les souches isolées lors d'infections aiguës (7, 57).

Les transformations phénotypiques ont lieu lors du passage à la chronicité alors que *Ps. aeruginosa* isolé lors de la primo-colonisation est similaire à celui observé dans l'environnement ou chez les sujets qui ne sont pas atteints de mucoviscidose. Ces modifications phénotypiques lui permettent de s'adapter aux conditions environnementales et de persister dans les poumons.

La majorité des *Ps. aeruginosa* isolés de poumons touchés par la mucoviscidose croît en biofilm (69). Ce biofilm est associé à la production d'alginate. Les mutations génétiques conduisant à la production d'alginate seraient dues à la présence de radicaux libres oxygénés libérés par les polynucléaires neutrophiles, acteurs centraux de la réaction inflammatoire associée à la mucoviscidose (70).

La croissance en biofilm et la présence de *Ps. aeruginosa* mucoïde marquent le passage à la chronicité :

- la production d'alginate diminue la clairance bactérienne et augmente les atteintes pulmonaires ;
- le biofilm est associé à une croissance bactérienne ralentie, à une déficience du système immunitaire et à la résistance aux antibiotiques.

De plus, la situation est aggravée par l'hypoxie environnante qui augmente la production d'alginate et la croissance du biofilm.

Peu de temps après la colonisation, les pili et le flagelle disparaissent. La disparition du flagelle est associée à l'activation de gènes impliqués dans la croissance en biofilm.

La structure du LPS est modifiée : le polysaccharide O, déterminant antigénique, disparaît et le lipide A présente généralement une structure penta ou hexa, voire hepta-acylée. Les modifications observées dans la synthèse du lipide A sont associées à une augmentation de la réponse inflammatoire de l'hôte et de la résistance bactérienne aux antibiotiques ou aux mécanismes de défense innée (71).

*Ps. aeruginosa* devient de plus en plus autotrophe et des concentrations élevées de pyocyanine sont mesurées chez les patients atteints de mucoviscidose. La pyocyanine présente un effet pro-inflammatoire et interfère avec les antioxydants, ce qui favorise la destruction pulmonaire. De plus, elle a un effet négatif sur la fonction ciliaire.

- Caractéristiques génétiques

Le génome de *Ps. aeruginosa* est complexe, ce qui lui permet de s'adapter à son environnement.

En outre, il est capable d'acquérir de nombreux gènes, notamment chez *Ps. aeruginosa* infectant un patient atteint de mucoviscidose. Ainsi, le génome du *Ps. aeruginosa* isolé de patients atteints de mucoviscidose s'est avéré être plus grand que celui de la souche de laboratoire PAO1, première à avoir été séquencée (7).

De plus, une fréquence importante de *Ps. aeruginosa* doués d'hypermutation est détectée chez les patients atteints de mucoviscidose. Ceci peut s'expliquer par la présence de nombreux organismes dans les poumons du patient mucoviscidosique, par les infections

compartimentées, les défenses inefficaces de l'hôte et une pression de sélection liée à l'utilisation d'antibiotiques (7). Cette capacité d'hypermutation est responsable de la grande résistance de *Ps. aeruginosa* aux antibiotiques dans les maladies pulmonaires chroniques, dont la mucoviscidose, et lui permettrait de s'adapter à l'environnement pulmonaire et d'y persister (72). En outre, le développement de résistance aux antibiotiques chez les souches hypermutantes serait beaucoup plus rapide que chez les souches classiques. L'hypermutation serait liée à un dysfonctionnement du système de réparation de l'ADN. Dès lors que l'infection devient chronique et que les souches hypermutantes se développent, l'éradication devient impossible.

Différentes étapes se succèdent avant ces modifications génotypiques et phénotypiques qui accompagnent le passage à la chronicité.

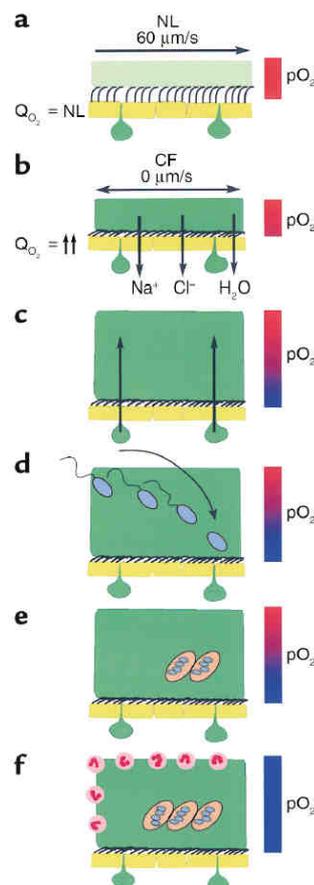
#### 2.2.2.4 Chronologie des étapes menant à l'infection chronique par *Ps. aeruginosa* dans la mucoviscidose

La figure 13 récapitule l'établissement de l'infection chronique :

- a) Chez le sujet sain, une fine couche de mucus recouvre la couche périciliaire, la clairance muco-ciliaire est efficace, la consommation en dioxygène est normale et il n'y a pas de gradient de pression de dioxygène comme représenté par la barre rouge sur la figure 13.
- b) Dans la mucoviscidose, la diminution importante de volume du liquide de surface des voies aériennes liée à une perturbation des transports ioniques a pour conséquence une diminution du volume de la couche périciliaire et une adhérence du mucus aux cellules ; en dépit de la consommation accrue de dioxygène, il n'y a pas encore de gradient de pression de dioxygène au début de la pathologie.
- c) Malgré la stase du mucus, la sécrétion par les cellules caliciformes et les glandes submucosales persiste : des plaques et des bouchons de mucus se forment, responsables d'une consommation accrue en dioxygène par les cellules épithéliales qui a pour conséquence un gradient de pression de dioxygène avec le développement de zones d'hypoxie dans le mucus. Ce gradient de pression est représenté par la barre

rouge et bleu sur la figure 13, l'hypoxie étant matérialisée par la zone bleue de la barre.

- d) A l'aide de son flagelle, le *Ps. aeruginosa* peut pénétrer dans les zones hypoxiques des plaques de mucus.
- e) Grâce à la formation d'alginate et à la croissance en micro-colonies, *Ps. aeruginosa* s'adapte à l'hypoxie environnante et persiste dans les plaques de mucus, participant au maintien de l'hypoxie et au gradient de pression en dioxygène.
- f) Les micro-colonies favorisent la résistance de *Ps. aeruginosa* aux défenses de l'hôte, notamment aux neutrophiles qui traversent difficilement les plaques de mucus. La croissance en micro-colonies et, dans une moindre mesure, la présence des neutrophiles dans les plaques de mucus sont responsables de l'hypoxie complète du milieu environnant représentée par la barre bleue sur la figure 13.



**Figure 13 Chronologie des événements menant à l'infection chronique à *Ps. aeruginosa* dans la mucoviscidose (73)**

Il faut noter qu'après la première mise en évidence de *Ps. aeruginosa*, la colonisation est intermittente et différentes souches sont détectées ; ce n'est qu'une fois que la colonisation devient chronique que des souches mucoïdes seront mises en évidence (74).

La chronicité est donc favorisée par l'environnement et les modifications phénotypiques de *Ps. aeruginosa*, notamment la croissance en biofilm et la production d'alginate, ce dernier marquant le passage aux colonies de type mucoïde, caractéristiques de la mucoviscidose.

Néanmoins, une hypothèse est également à prendre en compte dans la persistance du *Ps. aeruginosa* dans les poumons : la protéine CFTR sauvage serait un récepteur pour la bactérie et permettrait sa phagocytose. Le ligand serait le LPS bactérien (75). Aussi, en l'absence de protéine CFTR fonctionnelle, la clairance de *Ps. aeruginosa* serait réduite.

## 2.3 Mise en évidence de *Ps. aeruginosa*

### 2.3.1 Prélèvements

Les prélèvements bronchiques sont indispensables pour diagnostiquer l'infection à *Ps. aeruginosa*, compte tenu des divers micro-organismes pathogènes susceptibles de contaminer l'arbre bronchique.

#### 2.3.1.1 Le lavage broncho-alvéolaire, méthode de référence contraignante

Le lavage broncho-alvéolaire (LBA) est la méthode de référence pour les prélèvements de micro-organismes pathogènes au niveau pulmonaire (36, 74).

Elle nécessite cependant la sédation du patient et il existe un risque de décès. Elle n'est donc pas facilement réalisable dans le cadre d'un suivi rapproché.

C'est pourquoi, d'autres techniques ont été mises en place.

### 2.3.1.2 Autres méthodes

- Expectoration spontanée possible

Chez les patients pouvant cracher spontanément, l'analyse des expectorations est la meilleure technique.

L'idéal est de la réaliser après une séance de kinésithérapie respiratoire. Cependant il n'est pas toujours possible de récupérer des expectorations, notamment chez le jeune enfant pour qui l'atteinte pulmonaire n'est pas encore développée (74).

- Absence d'expectoration spontanée

D'autres techniques sont envisageables dans le cas où le patient n'expectore pas spontanément.

L'écouvillonnage oro-pharyngé est généralement utilisé chez l'enfant. Cette technique validée présente une sensibilité de 80 % et une spécificité de 90 % pour le diagnostic de l'infection à *Ps. aeruginosa* (74).

Chez le nourrisson, l'aspiration naso-pharyngée après une séance de kinésithérapie respiratoire est fréquemment réalisée. L'examen est réalisable à tous les âges, mais n'est pas validé (74).

Une technique introduite plus récemment est l'expectoration induite par la nébulisation de sérum salé hypertonique après inhalation de  $\beta_2$ -mimétiques : elle permet d'obtenir des échantillons sous-glottiques chez le patient âgé d'au moins six ans, mais elle doit être réalisée sous surveillance respiratoire (74) (38). Des études complémentaires sont nécessaires afin de déterminer la validité de cette méthode (36).

La recherche d'anticorps sériques spécifiques est aussi une méthode envisageable pour les patients incapables d'expectorer. Différentes techniques peuvent être utilisées, notamment des dosages immuno-enzymatiques et l'immunoélectrophorèse. Cette recherche des anticorps permettrait d'améliorer la détection précoce de *Ps. aeruginosa* et de distinguer colonisation et infection (36, 66, 74).

### 2.3.2 Identification

L'identification microbiologique chez un patient atteint de mucoviscidose est complexe. L'identification de *Ps. aeruginosa* présente les difficultés suivantes (30, 66) :

- non-reconnaissance de la bactérie en raison de ses variabilités phénotypiques ;
- nécessité de réaliser des tests de sensibilité à des antibiotiques utilisés peu fréquemment dans la population générale en raison de sa grande résistance aux antibiotiques ;
- réalisation de typages moléculaires et coopération avec des laboratoires de référence ;
- distinction entre colonisation et infection qui peut nécessiter un dosage des anticorps.

#### 2.3.2.1 Mise en culture

En raison de la présence de nombreux germes pathogènes dans l'arbre respiratoire des patients, il est nécessaire d'utiliser des milieux sélectifs.

#### 2.3.2.2 Techniques moléculaires

Les techniques de typage génétique sont essentiellement utilisées lors des essais cliniques ou dans des circonstances épidémiques.

La technique longtemps utilisée est la technique de polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP) : l'ADN est extrait de la bactérie puis digéré par une enzyme de restriction ; les différents fragments d'ADN sont ensuite séparés par électrophorèse et hybridés à une sonde radiomarquée (67).

Elle est aujourd'hui supplantée par deux techniques : l'électrophorèse pulsée en gel (PFGE) et l'amplification aléatoire d'ADN polymorphe (RAPD) ou « random PCR » (67).

Dans la PFGE, l'ADN génomique est extrait puis digéré par des enzymes de restriction ; les fragments obtenus sont séparés par électrophorèse en fonction de la taille. L'analyse peut ensuite être réalisée à l'aide d'un ordinateur ou non.

La RAPD repose sur la technique de polymérisation en chaîne (*Polymerase Chain Reaction*, PCR). Différents segments d'ADN du génome bactérien sont amplifiés au hasard ; les fragments obtenus sont séparés par électrophorèse et analysés de la même façon que pour la PFGE.

### 2.3.3 Un suivi régulier

Dès que le diagnostic de mucoviscidose est posé, la recherche de *Ps. aeruginosa* dans les expectorations doit être régulière tous les un à trois mois (36) :

- chez le patient asymptomatique, la première identification de *Ps. aeruginosa* permet une éradication précoce et retarde la colonisation chronique ;
- chez le patient symptomatique, mais non infecté de façon chronique, cela permet une prise en charge précoce de l'épisode infectieux et le choix d'une stratégie antibiotique appropriée ;
- chez le patient symptomatique et infecté chroniquement, le suivi offre la possibilité d'identifier toute modification de sensibilité aux antibiotiques, l'émergence de nouvelles souches et la mise en évidence de souches épidémiques.

## 2.4 Mesures de prévention

La *Cystic Fibrosis Foundation* propose des recommandations pour limiter la transmission de *Ps. aeruginosa* entre les patients (67).

## 2.4.1 Mesures d'hygiène

### 2.4.1.1 Principes généraux

D'une façon générale, l'ensemble des pratiques définies par les comités de prévention et contrôle des infections des hôpitaux doivent être appliquées.

L'hygiène des mains est un élément essentiel pour limiter la transmission entre les patients, mais aussi pour limiter la transmission du personnel soignant aux patients. L'utilisation d'un soluté hydro-alcoolique est préférée à un savon avec antiseptique, sauf dans le cas où les mains présentent de réelles traces de souillures.

Un point important est la présence de faux ongles. Effectivement, ces-derniers ont été associés à une transmission plus élevée de *Ps. aeruginosa* que les ongles naturels dans les unités de soins intensifs : c'est pourquoi la pose de faux ongles est déconseillée chez le personnel soignant (67).

Le personnel soignant doit porter des gants lors de chaque contact avec un patient ou avec un objet ayant été contact avec les sécrétions respiratoires d'un patient ainsi qu'une blouse.

Les salles d'examen doivent être régulièrement nettoyées et dès qu'elles présentent des salissures.

Les dispositifs respiratoires nécessaires à la thérapie, plus particulièrement les nébuliseurs, ainsi que les dispositifs utilisés dans l'évaluation de la fonction respiratoire représentant une source de contamination, l'hygiène de ces dispositifs est primordiale.

Il faut suivre les recommandations du fabricant pour ce qui est du stockage et du nettoyage des dispositifs d'administration par voie inhalée. Les conditionnements uni-doses doivent être favorisés et des liquides stériles utilisés pour la nébulisation. Les aérosols ne doivent pas être partagés entre les patients.

Les appareils nécessaires à l'évaluation de la fonction pulmonaire doivent être utilisés avec des embouts jetables et des filtres antibactériens. Toute partie réutilisable du dispositif doit être stérilisée ou désinfectée. En revanche, il est déconseillé de stériliser ou de désinfecter la partie interne du dispositif entre chaque patient.

#### 2.4.1.2 Pour les patients hospitalisés

Toute activité en dehors de la chambre, pour les patients ne nécessitant pas d'isolement, doit être réfléchie. Le patient doit être éduqué sur l'hygiène des mains, l'importance de limiter les contacts directs avec les autres patients atteints de mucoviscidose. Enfin, les surfaces avec lesquelles le patient pourrait être contact doivent être propres.

#### 2.4.1.3 En ambulatoire

Un élément essentiel de la consultation en ambulatoire est la salle d'attente. En effet, il est important d'y limiter les délais d'attente pour réduire la proximité entre les patients, de mettre à disposition des antiseptiques pour encourager l'hygiène des mains et de limiter la présence d'objets qui ne peuvent être nettoyés après chaque contact avec le patient (jouets, ordinateurs ...).

### 2.4.2 Mesures de prévention épidémiques

La *Cystic Fibrosis Foundation* conseille seulement d'appliquer des mesures de prévention de contamination en sus des mesures standards chez les patients mucoviscidosiques infectés par un *Ps. aeruginosa* multirésistant aux antibiotiques. Ces patients doivent être immédiatement placés en salle d'examen afin de limiter le contact avec les autres patients (67).

Néanmoins, une étude a permis de démontrer que regrouper les patients par cohorte, en milieu hospitalier, en fonction de la souche qui les contaminait permettait de limiter la propagation des épidémies (76). La séparation des patients doit avant tout reposer sur des données génotypiques compte tenu de la trop grande variabilité phénotypique des *Ps. aeruginosa* lors des infections chroniques. Mais cette étude ne cache pas le coût que peut représenter de telles opérations dans des petits centres et la stigmatisation que cela peut entraîner chez les patients.

Un consensus européen de la *European Cystic Fibrosis Society* reconnaît que la séparation des patients sur cette base n'est pas reconnue de façon universelle (68). Mais il rappelle qu'en

raison de la prévalence élevée de *Ps. aeruginosa* chez les patients, le risque de transmission croisée ne peut être ignoré, surtout lorsque les contacts entre patients infectés et patients non-infectés sont nombreux et que le nombre de patients infectés est supérieur à 20 %. Aussi, il rejoint l'étude précédente en affirmant que la séparation des patients infectés des autres patients permet de limiter la propagation des souches résistantes.

#### 2.4.3 Surveillance de la contamination microbienne dans les centres spécialisés

Dans les centres spécialisés, des programmes de surveillance des contaminations doivent être mis en place (67). Pour cela une collaboration entre les équipes de soins et les équipes de contrôle des infections est nécessaire.

L'objectif principal est la surveillance des colonisations et infections chez les patients. Ceci doit permettre de calculer des taux d'incidence et de prévalence en fonction des sujets à risque, d'analyser les tendances en fonction du temps et de mettre en place des mesures adéquates afin de diminuer infections et colonisations.

Différents facteurs sont à prendre en compte lors de la mise en place d'un programme de surveillance :

- la technique de culture choisie,
- l'incidence des contaminations,
- la durée du portage,
- le mode de transmission,
- l'impact clinique de l'infection,
- le phénotype de résistance aux antimicrobiens,
- l'impact des mesures de préventions.

Les souches de *Ps. aeruginosa* multirésistantes et les souches mucoïdes doivent faire partie des micro-organismes pathogènes cibles de ces programmes de surveillance.

Malgré l'application de ces mesures de protection, les patients n'échappent généralement pas à une infection à *Ps. aeruginosa*. C'est pourquoi une prise en charge antibiotique est indispensable.

### 3 Antibiothérapie anti-*Pseudomonas* chez le patient atteint de mucoviscidose

#### 3.1 Antibiothérapie : intérêt et difficultés rencontrées

##### 3.1.1 Quel bénéfice pour les patients ?

Bien que certains patients puissent vivre des années en étant colonisés de façon chronique par *Ps. aeruginosa*, dans la majorité des cas, la détection du pathogène et surtout le passage à la chronicité signe le déclin de la fonction pulmonaire. De plus, il a été démontré que la détection de *Ps. aeruginosa* chez le jeune enfant était associée à une morbidité et à une mortalité plus élevées (77). C'est pourquoi une prise en charge antibiotique adaptée est essentielle pour limiter le développement de *Ps. aeruginosa*.

En effet, l'utilisation d'antibiotiques est associée à un maintien de la fonction pulmonaire, une diminution de la quantité de *Ps. aeruginosa* dans les expectorations, une réduction des paramètres inflammatoires et une amélioration de la qualité de vie et du statut nutritionnel (66).

La fonction pulmonaire est considérée comme un bon marqueur de survie dans la mucoviscidose (78) ; or, il a été démontré que la fonction pulmonaire était améliorée par un traitement antibiotique dirigé contre *Ps. aeruginosa* (79).

Les antibiotiques sont aujourd'hui reconnus comme essentiels à la prise en charge de la mucoviscidose, ayant participé à l'augmentation de l'espérance de vie médiane à presque 40 ans (36).

##### 3.1.2 Un objectif majeur : atteindre une concentration locale suffisante en antibiotique

###### 3.1.2.1 Pénétration des antibiotiques dans les sécrétions bronchiques

Pour être actifs contre *Ps. aeruginosa*, les antibiotiques doivent pénétrer dans les sécrétions bronchiques.

Ils pénètrent dans les sécrétions bronchiques par diffusion passive selon un gradient de concentration, ce qui s'avère particulièrement délicat pour les aminoglycosides, d'où l'intérêt portée à la voie inhalée (66). En effet, la concentration en tobramycine dans les sécrétions bronchiques est comprise entre 20 et 67 % de la concentration dans le sérum, alors que c'est l'aminoglycoside qui pénétrerait le mieux dans les sécrétions bronchiques (80). Néanmoins, il faut préciser qu'une administration par jour de tobramycine par voie injectable permet d'atteindre une concentration dans les sécrétions bronchiques supérieure à une administration en trois fois par jour (81). En plus de cette difficulté à diffuser dans les sécrétions bronchiques, la croissance en biofilm de *Ps. aeruginosa* limiterait l'accès de l'antibiotique à sa paroi (82).

La pénétration des  $\beta$ -lactamines dans les sécrétions bronchiques est, elle aussi, très faible, avec une concentration de 5 à 10 % de la concentration plasmatique pour les céphalosporines et entre 2,5 et 14 % pour les pénicillines (80). Pour atteindre une concentration égale à la Concentration Minimale Inhibitrice 90 (CMI<sub>90</sub>), la concentration minimale en antibiotique inhibant la croissance de 90 % des bactéries, dans les sécrétions bronchiques, la concentration plasmatique de ceftazidime devrait être dix fois supérieure à la CMI<sub>90</sub>. En conséquence, les doses administrées doivent être supérieures à celles qui sont habituellement recommandées (83).

La ciprofloxacine fait figure d'exception. Une étude réalisée chez l'adulte infecté chroniquement et nécessitant une hospitalisation avec intensification du traitement antibiotique a montré une bonne corrélation entre la concentration de ciprofloxacine dans les expectorations et dans le sérum (84). En outre, ces concentrations étaient supérieures à la CMI<sub>90</sub>. La ciprofloxacine par voie orale présente donc un grand intérêt dans la prise en charge de l'infection à *Ps. aeruginosa*.

Un autre obstacle à l'efficacité des antibiotiques dans les sécrétions bronchiques est la formation de bouchons muqueux. Ces bouchons sont principalement constitués de protéines chargés négativement et d'ADN auxquels peuvent se lier les antibiotiques, notamment la tobramycine (85). Cette dernière se lierait à la fois aux mucines et aux molécules d'ADN, y compris lorsqu'elle est administrée à des concentrations élevées, et sa liaison serait dépendante des concentrations des macromolécules dans les sécrétions bronchiques. Pour limiter ce phénomène, il est recommandé de procéder à une clairance des sécrétions bronchiques avant toute administration d'aminoglycoside par voie inhalée (66).

L'association de ces phénomènes explique pourquoi il est difficile d'atteindre des concentrations au moins égales aux CMI nécessaires pour limiter la croissance bactérienne. Il en découle le développement de résistance aux antibiotiques (66).

### 3.1.2.2 Pharmacocinétique des antibiotiques chez le patient atteint de mucoviscidose

La mesure des concentrations en antibiotiques dans le sérum des patients a permis de mettre en évidence une différence de pharmacocinétique entre les sujets atteints de mucoviscidose et le reste de la population, en particulier pour ce qui est des  $\beta$ -lactamines et des aminosides. En effet, le volume de distribution par kilogramme est plus élevé chez le patient atteint de mucoviscidose que chez le sujet sain et la clairance corporelle totale est augmentée, ce qui a pour conséquence une diminution du pic plasmatique, une diminution de l'aire sous la courbe et une demi-vie d'élimination plus courte. Aussi, des doses supérieures et une administration plus fréquente est recommandée chez le patient atteint de mucoviscidose (86).

Concernant le volume de distribution, une mise en cause de l'état nutritionnel des patients est évoquée : compte tenu de la faible masse grasseuse des patients, la masse maigre par kilogramme de poids corporel est augmentée. Or, les aminosides et les  $\beta$ -lactamines se distribuent principalement dans la masse maigre, d'où une augmentation du volume de distribution (87).

Pour ce qui est de l'élimination, plusieurs mécanismes sont proposés. Il est possible qu'une augmentation du taux de filtration glomérulaire soit en partie responsable, mais il n'existe aucun consensus (87). Une diminution de la réabsorption tubulaire et une augmentation de la clairance non rénale des  $\beta$ -lactamines et des aminosides ainsi qu'une augmentation de la sécrétion tubulaire des aminoglycosides sont aussi envisagées (86).

### 3.1.3 Choix de l'antibiotique

Dans la conférence de consensus européenne sur l'antibiothérapie dirigée contre *Ps. aeruginosa*, Döring et al recommandent la réalisation d'épreuves de sensibilité par la méthode

de diffusion en plaque pour le choix de l'antibiotique plutôt que la technique des microdilutions (66).

Cependant, dans la mucoviscidose, dès lors que l'infection chronique est établie, le choix de l'antibiotique ne se fera pas principalement d'après l'antibiogramme, contrairement aux infections aiguës.

Les différents variants observables dans un même échantillon présentent généralement des sensibilités différentes aux antibiotiques, ce qui complique la réalisation de l'antibiogramme et l'analyse du résultat (36).

De plus, une fois l'infection chronique installée, l'éradication est impossible même si l'antibiotique s'avère efficace *in vitro*. En effet, il n'existe pas toujours de corrélation entre la sensibilité de la bactérie *in vitro* et la réponse clinique au traitement (36). Une analyse du VEMS avant et après le traitement d'exacerbations par la tobramycine et la ceftazidime par voie intraveineuse n'a pas montré de corrélation avec la sensibilité des isolats de *Ps. aeruginosa* à la tobramycine et à la ceftazidime (88). Par ailleurs, cette étude soulève la nécessité de réaliser des épreuves *in vitro* de sensibilité aux combinaisons d'antibiotiques ; malheureusement, il n'existe pas de méthode standard et peu de données sont disponibles concernant l'intérêt de ces épreuves (36).

Enfin, la définition de la résistance fondée sur la mesure de la CMI ne s'appliquerait pas aux traitements par voie inhalée (89).

Aussi, bien qu'elle recommande de se baser sur le profil de sensibilité de la bactérie, la conférence de consensus européenne de la *European Cystic Fibrosis Society* sur la prise en charge précoce de la maladie pulmonaire précise qu'il faut aussi prendre en compte les effets indésirables observés avec les antibiotiques précédemment administrés et que les principaux critères à prendre compte pour considérer une antibiothérapie comme efficace sont la fonction respiratoire, l'état clinique global, le poids et les marqueurs de l'inflammation (68).

Néanmoins, la *Cystic Fibrosis Trust*, association britannique, recommande, lors des exacerbations, de se baser sur la sensibilité des bactéries dans le dernier prélèvement disponible et, dès lors que les résultats des prélèvements obtenus durant l'exacerbation sont connus, de se baser sur ces résultats, la sensibilité pouvant varier entre l'état stable et l'état d'exacerbation (36).

### 3.1.4 Développement de résistances

Un des problèmes majeurs liés à la prise en charge de *Ps. aeruginosa* est l'importance des mécanismes de résistance et la progression de souches multirésistantes (90).

Il est important de noter que la définition de la multirésistance varie. La plus utilisée est celle de la *Cystic Fibrosis Foundation* qui considère trois classes thérapeutiques : les aminoglycosides, les agents agissant sur la paroi cellulaire – dont les pénicillines, céphalosporines et carbapénèmes – et les quinolones (36). La multirésistance est alors définie comme la résistance à deux de ces classes et la panrésistance, la résistance aux trois classes.

Ce problème se pose particulièrement dans la mucoviscidose compte tenu de l'antibiothérapie à long terme liée à l'infection chronique qui augmente le risque d'apparition de résistances (66).

Dans une étude, des patients ont été suivis pendant 18 ans au cours desquels ils recevaient trois à quatre fois par an un traitement intraveineux anti-*Pseudomonas*, d'une durée de deux semaines, constituée préférentiellement d'un aminoglycoside et d'une  $\beta$ -lactamine (91). Durant cette période, des souches ont été régulièrement isolées afin d'évaluer leur sensibilité à la carbénicilline, la pipéracilline, la ceftazidime, la tobramycine et la ciprofloxacine : une élévation significative de la CMI de pipéracilline et de ceftazidime a été mise en évidence, indiquant la sélection de souches résistantes.

L'étude de Taccetti et al chez des patients atteints de mucoviscidose confirme l'émergence des souches multirésistantes (92). L'activité des  $\beta$ -lactamines, des aminoglycosides et des quinolones a été étudiée sur des souches bactériennes multirésistantes dont des souches de *Ps. aeruginosa* :

- la ceftazidime a montré une activité bien que 59,9 % des souches ont été résistantes,
- 93 % des souches ont été résistantes à la tobramycine,
- 89,7 % des souches se sont montrées résistantes aux quinolones.

En outre, la croissance en mode biofilm complique le choix de l'antibiotique : car la sensibilité de la bactérie aux antibiotiques est beaucoup plus faible par rapport à la croissance

en mode planctonique (93). Cependant, dans un essai *in vitro* de l'activité de sept antibiotiques – tobramycine, ceftazidime, aztréonam, amikacine, ticarcilline, gentamicine, ciprofloxacine – sur des souches de *Ps. aeruginosa* isolées de patients atteints de mucoviscidose, les souches non-mucoïdes se sont révélées plus résistantes que les souches mucoïdes sur chacun des antibiotiques (94).

Barclay et al ont étudié le phénomène de résistance adaptative dans le traitement de l'infection chronique par la tobramycine inhalée (95). La résistance adaptative est un phénomène réversible qui se produit rapidement après l'administration de l'antibiotique. Les patients ont tous reçu 80 mg de tobramycine. Un *Ps. aeruginosa* résistant a été détecté rapidement après la première administration, mais la sensibilité était identique à celle précédant l'administration dès les 24 heures à 48 heures qui ont suivi. En revanche, les patients recevant régulièrement des aminoglycosides par voie inhalée présentaient des bactéries résistantes avant et après le traitement. Il n'a pas été noté de sélection de colonies résistantes par pression antibiotique. Ceci est donc en faveur d'une intermittence des administrations et des antibiotiques.

Des essais cliniques ont montré que les traitements chroniques par la tobramycine inhalée, administrée de façon intermittente pendant 24 semaines, augmentaient les CMI (96). Mais cette augmentation était moins importante que lors d'une administration continue (97).

Enfin, concernant le choix d'une bithérapie par rapport à une monothérapie, soutenu par un consensus européen et largement utilisé chez les patients, les données sont contradictoires (66). Un centre de prise en charge de la mucoviscidose a noté une forte augmentation des souches résistantes à la ceftazidime après une monothérapie à base de ceftazidime durant deux semaines pour le traitement des exacerbations chez l'enfant (98). En revanche, une autre étude évaluant l'association d'azlocilline et de tobramycine à l'azlocilline seule pour le traitement des exacerbations pulmonaires a montré une augmentation plus importante de l'émergence de souches résistantes à la tobramycine dans le groupe traité par bithérapie (99). Il faut cependant noter que, dans le groupe traité par la bithérapie, la clairance bactérienne a été supérieure ainsi que la durée avant ré-hospitalisation pour exacerbation.

Aussi, il est recommandé de varier les antibiotiques utilisés, de procéder à des périodes de vacance dans la prise en charge du traitement chronique et d'utiliser des combinaisons d'antibiotiques ayant des mécanismes différents plutôt qu'une monothérapie (66).

### 3.2 Principaux antibiotiques recommandés dans les infections à *Ps. aeruginosa* dans la mucoviscidose

Le tableau 3 présente les principaux antibiotiques recommandés dans la prise en charge de l'infection à *Ps. aeruginosa* chez le patient atteint de mucoviscidose, leur voie d'administration, leur mécanisme d'action et leurs principaux effets indésirables. Leur efficacité et leur place dans la stratégie thérapeutique seront détaillées aux paragraphes 3.3, 3.4, 3.5 et 3.6.

**Tableau 3 Principaux antibiotiques utilisés dans la prise en charge de l'infection à *Ps. aeruginosa* chez le patient atteint de mucoviscidose (36, 37)**

<b>Antibiotiques</b>	<b>Voie(s) d'administration</b>	<b>Mode d'action</b>	<b>Principaux effets indésirables</b>
Fluoroquinolone : ciprofloxacine	Orale	Bactéricide  Inhibition de l'ADN gyrase bactérienne	Troubles digestifs, phototoxicité, tendinopathies achilléennes, atteinte des cartilages de conjugaison
Macrolide : azithromycine	Orale	Bactériostatique  Inhibition de la translocation peptidique par liaison à la sous- unité 50S du ribosome bactérien	Troubles digestifs

<p><math>\beta</math>-lactamines :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pénicillines + inhibiteurs de <math>\beta</math>-lactamase : pipéracilline + tazobactam, ticarcilline + acide clavulanique</li> <li>- Céphalosporine de troisième génération : ceftazidime</li> <li>- Monobactame : aztréonam</li> <li>- Carbapénèmes : imipénème + cilastatine, méropénème</li> </ul>	<p>Injectable</p>	<p>Bactéricide</p> <p>Inhibition de la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne après fixation sur les protéines liant les pénicillines (PLP)</p>	<p>Réactions d'hypersensibilité, réactions cutanées, troubles digestifs</p>
<p>Aminosides : amikacine, tobramycine</p>	<p>Injectable</p> <p>Inhalée (uniquement la tobramycine)</p>	<p>Bactéricide, spectre d'action large</p> <p>Inhibition de la synthèse protéique par fixation sur le ribosome 30S</p>	<p>Toxicité rénale et cochléo-vestibulaire</p>

Polymixine : Colistine	Injectable  Inhalée	Bactéricide (spectre étroit)  Augmentation de la perméabilité de la membrane bactérienne externe par liaison aux phospholipides	Toxicité rénale et nerveuse
Fosfomycine	Injectable	Bactéricide  Inhibition de la pyruvate transférase, enzyme catalysant la première étape de la synthèse de la paroi bactérienne	Liés à sa teneur élevée en sodium en raison de sa présentation sous la forme d'un sel disodique : œdème, troubles de la vigilance

### 3.3 Voies d'administration

#### 3.3.1 Voie orale

##### 3.3.1.1 Ciprofloxacine

La ciprofloxacine a été bien étudiée dans le traitement de l'infection à *Ps. aeruginosa* chez les patients atteints de mucoviscidose tant du point de vue de l'efficacité que de la tolérance (66).

Comme toutes les fluoroquinolones, elle est caractérisée par son absorption digestive rapide et importante, les formes orales étant bioéquivalentes aux formes intraveineuses (66). Ceci en fait un intérêt particulier dans la prise en charge de la mucoviscidose, en plus de sa bonne pénétration dans les sécrétions bronchiques (84).

Hodson et al ont comparé la ciprofloxacine par voie orale à l'association azlocilline et gentamycine par voie intraveineuse, pendant 10 jours, chez des patients adultes hospitalisés pour exacerbation pulmonaire associée à *Ps. aeruginosa* isolé dans les expectorations (100). La fonction pulmonaire était améliorée dans les deux groupes au dixième jour, mais cette amélioration n'était maintenue pendant six semaines que dans le groupe de la ciprofloxacine. Aucun effet indésirable sévère n'a été mis en évidence. Le principal inconvénient de ce traitement a été l'émergence de résistances plus fréquente dans le groupe de la ciprofloxacine que dans celui de la bithérapie intraveineuse.

Dans une autre étude, des patients présentant une infection broncho-pulmonaire chronique ont été randomisés pour recevoir soit 750 mg, soit 1000 mg de ciprofloxacine par voie orale toutes les douze heures pendant deux semaines (101). Quel que soit le dosage, une amélioration clinique et une amélioration de la fonction pulmonaire ainsi qu'une diminution de la concentration de *Ps. aeruginosa* dans les expectorations ont été notées. De plus, la fréquence des effets indésirables s'est avérée faible. Cependant, les effets bénéfiques du traitement n'ont pas été maintenus dans la semaine qui a suivi l'arrêt du traitement. Dans cette étude, des résistances sont apparues, soulevant la question d'un traitement chronique par la ciprofloxacine.

Enfin, Schaad et al ont mis en évidence le bénéfice d'un traitement oral de quatre semaines de ciprofloxacine après deux semaines de bithérapie intraveineuse chez les patients présentant une exacerbation pulmonaire associée à *Ps. aeruginosa* (102). La ciprofloxacine a permis de maintenir les effets bénéfiques cliniques et bactériologiques de la thérapie intraveineuse. Enfin, elle a été bien tolérée et aucun signe de toxicité au niveau du squelette n'a été observé chez les patients prépubères.

Ainsi, la ciprofloxacine apparaît être une bonne option au traitement par voie intraveineuse de par son efficacité et sa bonne tolérance même chez les enfants chez qui la toxicité cartilagineuse est la plus à craindre (103). D'ailleurs, peu de données sont disponibles chez l'enfant et il n'existe pas de recommandation pour son utilisation chez l'enfant de moins de 5 ans (66). Mais le principal problème reste le développement rapide des résistances, ce qui limite son utilisation au long cours. Aussi, la *Cystic Fibrosis Trust* la recommande-t-elle essentiellement pour le traitement précoce d'une durée maximale de trois mois en association avec la colistine inhalée et éventuellement pendant deux semaines dans le traitement des exacerbations légères (36).

### 3.3.1.2 Azithromycine

Bien que l'azithromycine n'ait aucune activité bactéricide ou bactériostatique sur *Ps. aeruginosa*, son efficacité est reconnue chez les patients infectés chroniquement par *Ps. aeruginosa* (36).

Le mécanisme d'action de l'azithromycine ici est mal connu. Une action sur les facteurs de virulence serait évoquée, mais reste à préciser : l'azithromycine diminuerait la synthèse des molécules auto-inductrices du « quorum sensing », les homosérines lactones (104, 105).

Dans une étude observationnelle de cohorte, douze mois de traitement par de l'azithromycine à faible dose chez des patients infectés chroniquement par *Ps. aeruginosa* auraient permis de réduire le déclin de la fonction pulmonaire, d'augmenter le poids des patients et de réduire le pourcentage de souches mucoïdes dans les expectorations (106).

Une étude contrôlée contre placebo de 168 jours chez des patients âgés de plus de 6 ans et chroniquement infectés par *Ps. aeruginosa* a permis de démontrer que 250 mg – chez les patients pesant moins de 40 kg – ou 500 mg – chez les patients pesant plus de 40 kg – trois fois par semaine amélioreraient le VEMS, diminueraient les exacerbations pulmonaires et avaient permis aux patients de gagner du poids (107).

Ainsi, certains médecins la prescrivent au long cours chez les patients infectés chroniquement par *Ps. aeruginosa* et pour lesquels les résultats obtenus avec d'autres antibiotiques ne sont pas satisfaisants (36).

Enfin, la *Cystic Fibrosis Foundation* la recommande en utilisation chronique chez les patients âgés de six ans et plus, infectés chroniquement par *Ps. aeruginosa*, dans le but d'améliorer la fonction pulmonaire et de réduire les exacerbations (43). Elle reconnaît cependant que des études supplémentaires seraient nécessaires.

Son administration par voie orale en fait une option intéressante dans la prise en charge chronique.

### 3.3.2 Voie intraveineuse

#### 3.3.2.1 Contexte

Les traitements par voie intraveineuse sont généralement réservés aux exacerbations pulmonaires ou bien en cas d'échec d'un traitement par voie orale ou inhalée dans les éradications précoces. Il est également possible, selon un protocole danois développé plus loin, de les réserver à certains patients infectés chroniquement, en administration régulière tout au long de l'année (36, 66).

Comme expliqué précédemment, des doses élevées d'antibiotiques sont requises en raison de la localisation bronchique de l'infection, mais aussi de la pharmacocinétique des antibiotiques chez les patients atteints de mucoviscidose (66).

Aujourd'hui, les patients peuvent recevoir les traitements par voie intraveineuse à domicile (36, 66). En effet, il a été démontré que cela coûtait moins cher qu'un traitement à l'hôpital et restait efficace en termes d'amélioration clinique, de maintien de l'amélioration après traitement et de diminution du nombre de cultures positives à *Ps. aeruginosa* (108, 109). Le traitement à domicile interrompt moins la vie sociale du patient, lui offre plus d'autonomie et l'expose moins au risque de contamination croisée. Le patient ou un membre de la famille doit avoir reçu des instructions et une formation à ce sujet. De plus, des conditions hygiéniques sûres sont indispensables. Cependant, pour les patients trop atteints ou ne répondant plus au traitement, l'hospitalisation reste le seul recours (66).

D'une manière générale, une  $\beta$ -lactamine en association à la tobramycine ou à la colistine est prescrite en première intention (36).

#### 3.3.2.2 Antibiotiques utilisés par voie intraveineuse dans la prise en charge de l'infection à *Ps. aeruginosa* chez le patient atteint de mucoviscidose

- Les  $\beta$ -lactamines

Les  $\beta$ -lactamines sont largement utilisées dans le traitement des exacerbations pulmonaires compte tenu de leur activité sur *Ps. aeruginosa* et de la possibilité d'en associer certaines à

des inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases, ce qui restitue ainsi leur activité sur les souches résistantes par production de  $\beta$ -lactamase. C'est le cas de la piperacilline associée au tazobactam et de la ticarcilline associée à l'acide clavulanique.

Ils ont un mode d'action temps-dépendant, c'est-à-dire que plus longtemps la concentration plasmatique est supérieure à la CMI, plus l'effet bactéricide est important.

Les  $\beta$ -lactamines présentées au paragraphe 3.2 sont peu absorbées par voie orale et, comme expliqué précédemment, pénètrent mal dans les sécrétions bronchiques, ce qui limite leur utilisation à la voie parentérale et impose des doses élevées ou une administration en continu à des doses beaucoup plus faibles (66). Cependant, compte tenu de leur index thérapeutique large, un suivi des concentrations plasmatiques n'est pas nécessaire.

Leur inconvénient majeur, est le risque de réactions d'hypersensibilité, particulièrement chez les patients atteints de mucoviscidose où l'incidence est plus élevée que dans la population générale en raison des traitements fréquents, de longue durée et à doses élevées. Les réactions semblent plus importantes avec les pénicillines, notamment la piperacilline, qu'avec les céphalosporines (110).

En première ligne, sont généralement prescrites des pénicillines ou une céphalosporine de troisième génération, puis, en deuxième ligne en cas de résistance ou de réaction d'hypersensibilité, l'aztréonam ou un carbapénème (36).

La ceftazidime est l'une des plus efficaces des céphalosporines sur *Pseudomonas*. Son efficacité clinique et bactériologique dans la mucoviscidose a été démontrée y compris sur des souches de *Ps. aeruginosa* multirésistantes (111 - 113). En comparaison de la tobramycine seule ou de la tobramycine associée à la carbénicilline, elle améliore davantage la fonction pulmonaire et le bénéfice est maintenu à plus long terme (114). Il est recommandé de surveiller la fonction rénale lorsqu'elle est associée à un aminoside ou à la colistine.

L'aztréonam est une molécule intéressante compte tenu du faible risque de réactions d'hypersensibilité associé. Une étude réalisée sur sept  $\beta$ -lactamines a démontré que l'aztréonam entraînait le plus faible taux de réactions d'hypersensibilité et que ces réactions étaient limitées à un petit groupe de patients ayant une propension aux réactions allergiques aux  $\beta$ -lactamines (115). Elle a également été bien tolérée chez des patients présentant des antécédents de réactions d'hypersensibilité sévères aux  $\beta$ -lactamines (116). En effet, sa structure cyclique limite le risque d'allergie croisée avec les autres  $\beta$ -lactamines (37).

Le méropénème présente un intérêt chez les patients colonisés par des *Ps. aeruginosa* multirésistants et chez les patients allergiques aux autres  $\beta$ -lactamines (117). Associé à la tobramycine, il améliorerait l'état clinique et la fonction pulmonaire tout en réduisant la concentration bactérienne dans les expectorations (112). Néanmoins, il peut être responsable de convulsions en cas de posologie élevée chez les insuffisants rénaux, ce qui nécessite une réduction de posologie dans cette population et une attention particulière lorsqu'il est associé à la tobramycine (36).

- Les aminoglycosides

Leur efficacité dans la mucoviscidose, notamment en association avec une  $\beta$ -lactamine, a déjà été démontrée (118, 119). Ils sont largement prescrits en première intention durant les épisodes d'exacerbation.

Ils ne sont pratiquement pas absorbés par voie orale, ce qui limite leur utilisation à la voie injectable sauf pour la tobramycine qui existe aussi en forme inhalée (37).

Ce sont des antibiotiques concentration-dépendants, c'est-à-dire que leur activité bactéricide augmente avec leur concentration au niveau du site infecté. En outre, comme évoqué précédemment, ils diffusent mal dans les sécrétions bronchiques, ce qui impose des doses élevées : l'administration d'une dose élevée une fois par jour permettrait une meilleure pénétration grâce à un pic de concentration plus élevé (66).

Leur inconvénient principal est leur toxicité rénale qui est favorisée par les traitements à doses élevées et prolongés ainsi que les traitements répétés, ce qui est le cas dans la mucoviscidose. Aussi, il est recommandé de réduire la posologie en cas d'insuffisance rénale et de limiter l'administration d'autres produits néphrotoxiques. Néanmoins, il faut noter que l'administration une fois par jour, recommandée par la *Cystic Fibrosis Foundation*, réduirait ce risque de néphrotoxicité (120). En effet, une étude réalisée dans le traitement des exacerbations pulmonaires chez des enfants infectés chroniquement par *Ps. aeruginosa*, a montré une toxicité rénale bien moindre par rapport à l'administration en trois fois par jour – sur la base de la créatininémie – et une efficacité similaire quant à l'amélioration du VEMS (121). La *Cystic Fibrosis Trust* recommande une perfusion quotidienne de trente minutes (36). Une administration classique trois fois par jour toutes les huit heures est possible chez les patients supportant mal une perfusion longue. La créatinine plasmatique doit être mesurée avant la première administration de tobramycine puis avant l'administration de la huitième

dose. En fonction de la stratégie choisie – une administration par jour ou trois administrations par jour – les  $C_{\max}$  d'aminosides ou les taux résiduels doivent être surveillés. Enfin, chez les patients recevant des cycles de traitements répétés d'aminosides injectables, le taux de filtration glomérulaire doit être mesuré ou estimé annuellement ainsi que le magnésium plasmatique comme reflet de la fonction tubulaire rénale (36).

Les aminoglycosides présentent également une toxicité cochléo-vestibulaire. C'est pourquoi, la réalisation annuelle d'un audiogramme est nécessaire chez les patients et leur administration est limitée à des traitements antibiotiques alternés (36).

Il semblerait qu'il n'y ait pas de différence entre les aminoglycosides du point de vue du résultat clinique, de l'amélioration de la fonction pulmonaire ou de la diminution de la densité bactérienne en *Ps. aeruginosa* dans les sécrétions bronchiques (122). Aujourd'hui ce sont la tobramycine et l'amikacine qui sont principalement utilisées, la tobramycine étant l'aminoside de choix (36).

- Les polymyxines : la colistine

Elle est réservée aux souches résistantes aux autres antibiotiques car peu de cas de *Ps. aeruginosa* résistants ont été rapportés ou bien en cas de contre-indication aux autres traitements telle qu'une hypersensibilité aux  $\beta$ -lactamines ou une insuffisance auditive ne permettant pas la prescription de tobramycine (36).

Si elle présente une néphrotoxicité et une neurotoxicité, ces effets restent limités en clinique (123, 124). Néanmoins, le traitement par colistine apporterait une amélioration clinique chez les patients, son efficacité serait supérieure lorsqu'elle est associée à un autre antibiotique actif contre *Ps. aeruginosa in vitro* (124).

- Fosfomycine

Mirakhur et al ont étudié la fosfomycine en association à d'autres antibiotiques pendant 5 ans pour le traitement des exacerbations pulmonaires chez des patients colonisés par *Ps. aeruginosa*, dont la majorité des souches isolées étaient multirésistantes (125). Elle est particulièrement intéressante en raison de son mécanisme d'action original. Ainsi le risque de résistances croisées est limité et elle peut agir en synergie avec d'autres molécules dont les  $\beta$ -lactamines, les aminoglycosides ou les macrolides. En outre, elle présente une bonne

pénétration dans le tissu pulmonaire et confèrerait une protection contre l'ototoxicité et la néphrotoxicité des aminosides.

La même étude a montré qu'elle améliorerait le VEMS et que sa tolérance était bonne.

Elle fait partie des recommandations de la *Cystic Fibrosis Trust*, mais Mirakhur et al conseillent de la réserver aux souches multirésistantes (36, 125).

### 3.3.3 Voie inhalée

#### 3.3.3.1 Aérosolthérapie

Administrer les antibiotiques par voie inhalée permet l'administration d'une dose relativement élevée dans les poumons tout en garantissant un minimum de toxicité systémique. L'intérêt des formes inhalées est aujourd'hui largement reconnu à la fois chez les patients infectés de façon chronique, pour qui l'administration des antibiotiques par voie inhalée améliorerait la fonction pulmonaire et diminuerait l'incidence des exacerbations, et chez les patients primo-infectés (66). Cependant, les données manquent pour les recommander dans le traitement des exacerbations (126).

Différents types de dispositifs sont disponibles pour les produits par voie inhalée. Mais, dans la mucoviscidose, ce sont les nébuliseurs qui sont les plus prescrits de par leur faculté à délivrer une grande quantité de médicaments, mais aussi parce que pendant longtemps les seuls antibiotiques disponibles étaient la colistine et la tobramycine, administrés en solution (127). Les plus fréquents sont les nébuliseurs pneumatiques comme le PARI LC Sprint® (Pari, Starnberg, Allemagne). Aujourd'hui, les nébuliseurs électroniques à tamis vibrant comme l'eFlow rapid® (Pari, Starnberg, Allemagne) sont de plus en plus utilisés.

Les nébuliseurs pneumatiques sont constitués d'un compresseur d'air et d'un nébuliseur. La préparation à inhaler est déposée dans une cuve puis nébulisée sous l'effet d'un gaz comprimé produit par un piston animé d'un mouvement alternatif dans une chambre. L'air comprimé passe par un orifice appelé gicleur, qui crée une surpression localisée ; cette surpression provoque une dépression autour d'elle permettant l'aspiration du liquide dans deux canaux creusés dans le nébuliseur – c'est l'effet Venturi (128).

Les nébuliseurs électroniques à tamis vibrant fonctionnent par vibration d'un tamis au contact du liquide à nébuliser. Ce tamis est entouré d'un élément piézoélectrique circulaire. Quand le courant électrique est appliqué, l'élément circulaire se dilate et se contracte entraînant des mouvements ultra-rapides du tamis, d'avant en arrière, de quelques micromètres sur le liquide créant ainsi un effet micropompe qui projette la solution médicamenteuse à travers les trous produisant ainsi un aérosol calibré. Ces derniers présentent l'avantage d'être silencieux, rapides, légers et autonomes et de pouvoir être utilisés en association à un système informatique, comme AKITA<sup>®</sup> (Activaero, Gemünden, Allemagne) qui enregistre les constantes respiratoires du patient et indique quand inhaler et quand faire une pause (128).

L'inconvénient majeur des nébuliseurs d'une façon générale est le temps long consacré à la préparation du médicament, à son inhalation et au nettoyage du dispositif. Aussi, aujourd'hui de nouvelles formulations d'antibiotiques, sous forme sèche, sont en développement. Ils permettent l'inhalation par des inhalateurs de poudre sèche, plus rapides et plus hygiéniques (126).

L'administration d'antibiotiques par inhalation présente quelques inconvénients. L'efficacité thérapeutique dépendra de la quantité de produit déposé dans les voies aériennes, de la distribution du produit et de la concentration réelle dans les sécrétions bronchiques. Or, dans la mucoviscidose, les sécrétions bronchiques sont visqueuses et abondantes, les voies aériennes sont inflammatoires et les patients peuvent présenter une bronchoconstriction : les aérosols pénètrent alors difficilement dans les zones aériennes qui sont les plus mal ventilées et les plus atteintes (126, 127). C'est pourquoi, la part éducative a toute son importance : le patient doit apprendre à utiliser correctement l'appareil, et il lui est recommandé de réaliser une séance de kinésithérapie afin d'assurer la clairance des voies aériennes avant l'administration de l'antibiotique, pour favoriser la déposition pulmonaire maximale (36). Le patient doit aussi apprendre à nettoyer son dispositif pour éviter toute contamination. Ainsi, un traitement inhalé prend beaucoup de temps et est généralement administré plusieurs fois par jour. Tout cela s'ajoute au fardeau de la maladie. Développer des antibiotiques administrables rapidement par voie inhalée, avec une fréquence d'administration réduite et un temps plus court consacré au nettoyage du dispositif d'inhalation est donc indispensable.

Lors de l'administration d'un antibiotique par voie inhalée, il existe un risque de bronchoconstriction. Ce risque peut être prévenu par l'inhalation d'un bronchodilatateur avant

l'administration de l'antibiotique (36). Il est d'ailleurs conseillé de réaliser la première administration à l'hôpital.

Des résistances à la tobramycine par voie inhalée ont été observées à fortes doses, mais elles ne semblent pas avoir d'impact clinique (36). De plus, l'administration alternée en cycle de 28 jours suivis de 28 jours sans tobramycine inhalée limiterait ces risques comme expliqué précédemment. Il n'existe quasiment pas de preuve de résistance à la colistine par voie inhalée (66).

Enfin, les différents types de dispositifs d'inhalation présentent des caractéristiques et donnent des résultats très variables entre eux. Aussi, la FDA (*Food and Drug Administration*) a limité l'utilisation de TOBI<sup>®</sup>, tobramycine en solution pour inhalation, au dispositif qui a servi à la réalisation des essais pivots, le nébuliseur PARI LC Plus<sup>®</sup> (Pari, Starnberg, Allemagne), aujourd'hui PARI LC Sprint<sup>®</sup>. De nouvelles technologies pourraient être disponibles, mais elles n'ont pas encore été approuvées avec ces médicaments (129).

Trois molécules sont disponibles par voie inhalée : la tobramycine en solution, la colistine sous forme de colistiméthate sodique en solution à reconstituer et plus récemment le lysinate d'aztréonam et la tobramycine en poudre. Ces deux derniers médicaments seront présentés dans cette thèse dans les perspectives, compte tenu de leur autorisation récente et du faible nombre de données post-AMM disponibles.

### 3.3.3.2 Molécules disponibles

- Tobramycine

La tobramycine, administrable par voie inhalée est disponible sous forme de solution et commercialisée par NOVARTIS sous le nom de TOBI<sup>®</sup> (130). Elle est administrée à l'aide du nébuliseur PARI LC Sprint<sup>®</sup>.

Bien qu'elle n'ait l'AMM, en France, que pour le « traitement au long cours des infections pulmonaires chroniques dues à *Ps. aeruginosa* chez les patients atteints de mucoviscidose âgés de 6 ans et plus », son efficacité est également reconnue dans l'éradication précoce de *Ps. aeruginosa* (37, 36, 66). En effet, Wiesemann et al ont montré que le traitement pendant 12 mois, par tobramycine inhalée, de patients récemment colonisés par *Ps. aeruginosa*

permettait un retour plus rapide à des cultures négatives ( $p < 0,05$ ), ce qui suggère que ce traitement retarderait l'installation de l'infection pulmonaire (131).

Elle peut entraîner des enrrouements de la voix et des acouphènes (130). Bien qu'aucun signe de néphrotoxicité ou d'ototoxicité n'ait été mis en évidence il ne faut pas exclure la recherche d'une atteinte auriculaire et rénale, particulièrement lors de l'administration fréquente d'aminosides par voie intraveineuse (97, 127).

- Colistine

La colistine par voie inhalée est disponible sous forme de colistiméthate sodique en poudre. La solution pour inhalation est préparée extemporanément. Le produit est commercialisé en France par SANOFI sous le nom de COLYMICINE<sup>®</sup> (132). Il est indiqué chez le patient atteint de mucoviscidose, notamment, pour le « traitement précoce de la primo-colonisation à *Ps. aeruginosa* en relais d'une cure d'antibiotiques administrés par voie intraveineuse » et le « traitement de l'infection pulmonaire chronique due à *Ps. aeruginosa* ». Il est administré à l'aide du nébuliseur PARI LC Star<sup>®</sup> (132).

Les effets indésirables principaux sont l'enrouement de la voix et les acouphènes (36).

Les études sur la colistine inhalée sont moins nombreuses que pour la tobramycine, mais ses effets au long cours sont reconnus, notamment du point de vue clinique, fonctionnel pulmonaire et des marqueurs inflammatoires (133). Dans une étude contrôlée contre placebo, l'association de colistine par voie inhalée à la ciprofloxacine orale pendant trois semaines a permis de retarder la colonisation chronique par *Ps. aeruginosa* (134).

La colistine est préférée à la tobramycine en premier choix car l'apparition de résistances est limitée, même pour des traitements de longue durée. La tobramycine sera prescrite en cas d'intolérance ou d'absence d'amélioration. En outre, l'association de la colistine par voie inhalée à la ciprofloxacine orale durant trois mois est considérée comme un traitement de choix dans l'éradication précoce (36). Cependant, une étude réalisée chez des patients infectés chroniquement, traités deux fois par jour pendant quatre semaines, par tobramycine ou colistine, a mis en évidence une amélioration significative de la fonction pulmonaire avec la tobramycine, ce qui n'était pas le cas avec la colistine (135). En revanche, les deux traitements ont permis de diminuer la charge bactérienne.

### 3.4 Primo-infection et éradication précoce

#### 3.4.1 Eradication précoce

Le traitement est mis en place dès que *Ps. aeruginosa* est détecté dans les expectorations avant que la colonisation ou l'infection ne devienne chronique. L'éradication doit être prouvée par au moins trois cultures négatives dans les six mois qui suivent l'arrêt du traitement et en l'absence d'anticorps spécifiques. En cas de détection de *Ps. aeruginosa* dans les sécrétions respiratoires et si l'analyse génotypique met en évidence une souche différente de la souche présente avant l'instauration du traitement, l'éradication est considérée comme réussie : la souche isolée, à l'origine du traitement, a bien disparu (68).

#### 3.4.2 Intérêt d'une éradication précoce

L'administration d'antibiotiques dès la détection de *Ps. aeruginosa* dans le but d'une éradication précoce permettrait de retarder l'installation d'une infection chronique ; d'améliorer la fonction pulmonaire et donc la survie et d'éviter l'apparition de souches résistantes. Les coûts de prise en charge de l'infection à *Ps. aeruginosa* seraient alors diminués. De plus, l'émergence d'autres pathogènes ne serait pas favorisée (136).

Le traitement de 146 patients colonisés de façon intermittente par *Ps. aeruginosa*, pendant 15 ans par une association de colistine inhalée et de ciprofloxacine par voie orale, a montré que plus de 80 % des patients n'ont pas développé d'infection chronique sur les quinze années de l'étude (137). La même étude a également mis en évidence l'importance d'une éradication précoce : l'échec du traitement s'est avéré être un facteur de risque important de développer une infection chronique dans les trois à quatre années qui suivent.

#### 3.4.3 Stratégie thérapeutique

La prise en charge idéale est difficile à définir.

La durée du traitement a toute son importance puisqu'il a été démontré qu'une antibiothérapie associant ciprofloxacine par voie orale et colistine par voie inhalée pendant trois mois allongeait le délai avant une réinfection par *Ps. aeruginosa* par rapport à un traitement de trois semaines. Cependant, aucune durée standard n'est proposée (68).

Concernant la voie d'administration et la molécule, plusieurs stratégies sont possibles (68) :

- la colistine ou la tobramycine seules, par voie inhalée,
- l'association ciprofloxacine par voie orale et colistine ou tobramycine par voie inhalée,
- une seule molécule par voie intraveineuse,
- une molécule par voie intraveineuse associée à la colistine ou à la tobramycine par voie inhalée.

Le consensus européen sur l'antibiothérapie dirigée contre *Ps. aeruginosa* recommande préférentiellement une association de ciprofloxacine et de tobramycine ou de colistine par voie inhalée, le recours à la thérapie intraveineuse n'étant conseillé qu'en cas d'échec (66).

Le consensus européen concernant la prise en charge précoce de la maladie pulmonaire émet des recommandations concernant la posologie et la voie d'administration de certaines molécules (tableau 4) (68).

**Tableau 4 Antibiotiques et doses recommandées par la *European Cystic Fibrosis Society* pour l'éradication précoce de *Ps. aeruginosa* dans la mucoviscidose (68)**

<b>Antibiotique</b>	<b>Voie d'administration</b>	<b>Dose</b>	<b>Nombre d'administrations par jour</b>
<b>Ciprofloxacine</b>	orale	20 à 30 mg/kg	2
<b>Colistine</b>	inhalée	2 à 3 millions d'unités	2 à 3
<b>Tobramycine</b>	inhalée	80 à 300 mg	2

Pour certains patients, éradiquer le pathogène s'avère impossible, particulièrement chez les patients se rendant de façon irrégulière au centre de prise en charge et ne pouvant pas bénéficier d'un suivi adéquat : lorsque le *Ps. aeruginosa* est détecté il croît déjà en biofilm.

### 3.5 Infection chronique

#### 3.5.1 But d'un traitement chronique

La prise en charge au long cours est aujourd'hui recommandée dès que le patient est infecté de façon chronique (66).

Deux études de 24 semaines ont notamment mis en évidence que l'administration de tobramycine inhalée dans cette population de patients apportait un bénéfice sur la fonction pulmonaire, réduisait le taux de *Ps. aeruginosa* dans les expectorations et diminuait le risque d'hospitalisation (96).

Une prise en charge chronique permet également de diminuer les épisodes d'exacerbations et les hospitalisations (66).

#### 3.5.2 Stratégie thérapeutique

La colistine et la tobramycine par voie inhalée sont généralement recommandées puisque cette voie d'administration permet d'atteindre des concentrations élevées dans les sécrétions bronchiques (68). Un traitement quotidien par l'un de ces deux antibiotiques diminue le déclin de la fonction pulmonaire (66).

Pour des questions de résistance aux antibiotiques, la tobramycine inhalée doit être administrée de façon intermittente, deux fois par jour pendant un mois avec une fenêtre thérapeutique d'un mois, ce protocole étant bien toléré, améliorant la fonction pulmonaire, diminuant la densité de *Ps. aeruginosa* dans les expectorations et le risque d'hospitalisation (36, 66, 96).

La *Cystic Fibrosis Trust* est en faveur d'un traitement par la colistine inhalée deux fois par jour ou par la tobramycine inhalée deux fois par jour plutôt que d'un traitement par voie intraveineuse sur le modèle danois qui consiste à administrer un traitement antibiotique par voie intraveineuse pendant deux semaines tous les trois mois pour contrôler l'infection chronique (36). En effet, une étude danoise a démontré que l'administration de tobramycine associée à une  $\beta$ -lactamine, en traitement d'entretien tous les trois mois, améliorerait la survie, la fonction pulmonaire et la qualité de vie des patients (138). Ce protocole, bien qu'efficace, est réservé aux patients qui le requièrent pour maintenir un état clinique stable. Effectivement, il présenterait trop de risques d'effets indésirables pour les autres patients, notamment sur les fonctions rénale, vestibulaire et auditive, ce qui inverse le rapport bénéfice / risque du traitement. De plus, les patients vivant aujourd'hui plus longtemps, ils sont davantage exposés aux effets indésirables liés à un traitement chronique, aux réactions d'hypersensibilité et aux résistances bactériennes (36).

### 3.6 Exacerbation

#### 3.6.1 Définition

La maladie pulmonaire est marquée par des épisodes récurrents d'exacerbations (16). Ces épisodes ont un impact négatif sur la qualité de vie, la mortalité et les coûts de prise en charge. Ils sont caractérisés par une aggravation des symptômes pulmonaires. Le diagnostic est essentiellement clinique. Les principaux symptômes sont une augmentation de la fréquence des épisodes de toux, des expectorations plus abondantes, une diminution de la tolérance à l'effort, une perte de poids et d'appétit, des hémoptysies et la détection de nouveaux sons à l'auscultation.

La physiopathologie exacte des exacerbations est mal connue. Compte tenu du résultat d'une antibiothérapie agressive lors de ces épisodes – diminution des marqueurs de l'inflammation et du nombre de bactéries détectées – les infections joueraient un rôle important dans l'apparition des exacerbations.

Chez les patients infectés de façon chronique, une prolifération clonale des souches initialement présentes est mise en cause, plutôt que l'acquisition de nouvelles souches.

C'est pourquoi, le choix d'une antibiothérapie anti-*Pseudomonas* s'avère essentielle dans le traitement des exacerbations.

### 3.6.2 Stratégie thérapeutique

Compte tenu de l'importance du *Ps. aeruginosa* dans la mucoviscidose, les antibiotiques recommandés sont un  $\beta$ -lactamine associée à un aminoside, cette stratégie ayant fait preuve d'une efficacité supérieure par rapport à un traitement par un  $\beta$ -lactamine seule (16, 99).

La *Cystic Fibrosis Foundation* recommande d'ailleurs l'utilisation d'une combinaison d'antibiotiques, il s'agit de la stratégie standard et largement utilisée mais elle reconnaît que les essais cliniques comparant la monothérapie à la bithérapie manquent (120). En effet, ils seraient trop compliqués à réaliser, les résultats microbiologiques seraient difficiles à interpréter et les différences observées dans les résultats cliniques seraient trop petites pour être appréciées ou demanderaient des essais plus longs. La *Cystic Fibrosis Trust* rejoint également le choix d'une association et conseille une association de deux antibiotiques administrés par voie intraveineuse et présentant un mécanisme d'action différent (36).

C'est la voie intraveineuse qui est privilégiée, bien que la ciprofloxacine puisse être administrée par voie orale dans certains cas (120).

Actuellement, aucune étude n'a déterminé la durée optimale de traitement, de telle sorte que la *Cystic Fibrosis Foundation* ne propose aucune recommandation. Cependant, un traitement standard dure en moyenne deux à trois semaines jusqu'à ce qu'un plateau s'observe après l'amélioration de la fonction pulmonaire (16). Le consensus européen sur la thérapie anti-*Pseudomonas* dans la mucoviscidose reconnaît que la décision est empirique et repose sur l'âge, la sévérité de la maladie et l'expérience (66). Le choix d'arrêter le traitement est généralement pris en fonction de l'amélioration de la fonction pulmonaire et de l'état clinique du patient. Un traitement de deux semaines avec éventuellement une prolongation à la troisième semaine en l'absence d'amélioration rejoint ainsi la pratique. La *Cystic Fibrosis Trust* recommande un traitement de deux semaines (36).

Les traitements antibiotiques et les différentes stratégies thérapeutiques associées retardent la dégradation de la fonction pulmonaire et par conséquent allongent la durée de vie des

patients. Néanmoins, ces traitements sont souvent lourds pour le malade. Ils ne permettent pas d'éviter la colonisation et l'infection par *Ps. aeruginosa* ni son éradication définitive dès lors qu'il s'est installé de façon chronique. En outre, les résistances et la perte d'efficacité des antibiotiques mènent parfois à une réelle impasse thérapeutique. Aussi, de nouveaux traitements qui complèteraient l'éventail des antibiotiques disponibles sont indispensables.

#### 4 Perspectives thérapeutiques dans le traitement des infections pulmonaires à *Ps. aeruginosa* chez le patient atteint de mucoviscidose

Ce chapitre est consacré aux nouveaux traitements actuellement en développement clinique ou dont le développement clinique est achevé, mais pour lesquels peu de données post-AMM sont actuellement disponibles pour considérer leur utilisation comme bien établie dans la prise en charge. Cependant, ces traitements ne sont pas exhaustifs et certaines données peuvent être incomplètes en raison de l'impossibilité d'accès à certaines sources de documents.

Le tableau 5 présente les différentes molécules étudiées.

**Tableau 5 Nouveaux traitements dans la prise en charge de l'infection à *Ps. aeruginosa* chez le patient mucoviscidosique**

<b>Molécule</b>	<b>Mode d'action</b>	<b>Forme et voie d'administration</b>	<b>Stade de développement</b>
Lysinate d'aztréonam	Antibiotique	Solution pour inhalation	AMM obtenue le 5 septembre 2011 en Europe
Lévofloxacine	Antibiotique	Solution pour inhalation	Phase III
Association fosfomycine / tobramycine	Antibiotique	Solution pour inhalation	Phase II
Tobramycine	Antibiotique	Poudre pour inhalation	AMM obtenue le 20 juillet 2011 en Europe
Colistiméthate sodique	Antibiotique	Poudre pour inhalation	En cours d'évaluation
Ciprofloxacine	Antibiotique	Poudre pour inhalation	Phase II

Ciprofloxacine	Antibiotique	Liposomes pour inhalation	Phase II
Amikacine	Antibiotique	Liposomes pour inhalation	Phase III
Tobramycine	Antibiotique	Liposomes pour inhalation	Indéterminée
IgY	Anticorps polyclonaux dirigés contre <i>Ps. aeruginosa</i>	Solution orale	Phase III
KB001	Anticorps monoclonal anti-PcrV	Solution pour perfusion intraveineuse	Phase II
Extrait d'ail	Inhibition du « quorum sensing »	Gélule pour voie orale	Phase pilote
Oligo-G CF-5/20	Perturbation du biofilm bactérien	Solution pour inhalation	Phase II

#### 4.1 Antibiotiques par voie inhalée

##### 4.1.1 Solutions pour inhalation

###### 4.1.1.1 Le lysinate d'aztréonam en solution pour inhalation

Le produit est commercialisé en France sous le nom de CAYSTON<sup>®</sup> par GILEAD (139). Il a obtenu une AMM conditionnelle en procédure centralisée en Europe en septembre 2009 : l'AMM était conditionnée par la preuve de données de sécurité et d'efficacité à long terme (140).

Le 5 septembre 2011, CAYSTON<sup>®</sup> a obtenu l'AMM sans le statut conditionnel (140). Il est indiqué dans le « traitement des infections pulmonaires chroniques dues à *Ps. aeruginosa*

chez les patients atteints de mucoviscidose âgés de 18 ans et plus » (139). Il avait reçu la désignation de médicament orphelin en Europe le 21 juin 2004 dans le traitement des infections pulmonaires à bactéries à Gram négatif dans la mucoviscidose (141). L'AMM a également été délivrée aux Etats-Unis par la FDA en février 2010, mais dans une indication différente : l'amélioration des symptômes respiratoires des patients âgés de sept ans et plus et atteints de mucoviscidose avec infection à *Ps. aeruginosa* (142).

L'aztréonam administrable par voie intraveineuse est disponible sous la forme de sel d'arginine. Or, l'arginine sert de substrat pour la production d'oxyde nitrique dans les poumons et d'autres tissus, ce qui provoque une inflammation des voies aériennes et une aggravation des symptômes chez les patients atteints de mucoviscidose. C'est pourquoi CAYSTON<sup>®</sup> a été développé sous la forme de sel de lysine (142, 143). Le produit se présente sous la forme de poudre lyophilisée stérile à reconstituer à l'aide d'un solvant stérile. Poudre et solvant doivent être conservés au réfrigérateur. Une fois reconstituée, la solution doit être administrée très rapidement (139).

Le produit est administré avec le nébuliseur Altera<sup>®</sup> (PARI Pharma, Midlothian, VA, Etats-Unis) et le tamis générateur d'aérosols Altera<sup>®</sup> raccordés à une unité de commande Altera<sup>®</sup> ou à unité de commande e-Flow rapid<sup>®</sup>. En effet, c'est avec ce nébuliseur qu'ont été réalisés les essais de phase III de CAYSTON<sup>®</sup>. Chaque prise est précédée de l'administration d'un bronchodilatateur, les essais cliniques ayant démontré une efficacité accrue de CAYSTON<sup>®</sup> dans ce cas (143). La posologie est de 75 mg trois fois par jour pendant 28 jours avec un intervalle d'au moins 4 heures entre chaque prise. En fonction de la réponse au traitement et de l'état de santé du patient, le médecin peut décider de prescrire des cycles supplémentaires de 28 jours. Une période de 28 jours entre chaque traitement est recommandée (139).

Un essai *in vitro* a permis de démontrer que la nébulisation et la formulation sous forme de sel de lysine n'affectaient pas l'efficacité de l'aztréonam sur des souches de *Ps. aeruginosa* isolées de patients atteints de mucoviscidose (144). De plus, son activité n'est pas inhibée par les composants du mucus des patients atteints de mucoviscidose, contrairement à la tobramycine.

L'efficacité, la sécurité et la tolérance de CAYSTON<sup>®</sup> ont été évaluées par plusieurs essais cliniques.

- Essai de phase Ib

Un essai de phase Ib en double aveugle contre placebo, en escalade de doses a permis de déterminer la pharmacocinétique et la tolérance de CAYSTON<sup>®</sup> chez des adolescents et des adultes atteints de mucoviscidose (144). Les patients étaient randomisés pour recevoir soit du lysinate d'aztréonam, administré à l'aide du nébuliseur électronique eFlow<sup>®</sup>, soit un placebo pendant trois jours de suite :

- 1 ml de placebo ou 1 ml d'aztréonam équivalent à 75 mg à J1,
- 2 ml de placebo ou 2 ml d'aztréonam équivalents à 150 mg à J2,
- 3 ml de placebo équivalents à 225 mg à J3.

Le produit a bien été toléré jusqu'à la dose de 225 mg. En effet, l'incidence des effets indésirables a été faible. Les effets les plus fréquents considérés comme reliés au traitement ont été une augmentation des expectorations, une toux aggravée, une congestion nasale et une gêne respiratoire. Mais dans l'ensemble, les effets indésirables ont été légers à modérés et attendus pour des patients atteints de mucoviscidose.

Immédiatement après l'administration, la concentration en aztréonam dans le mucus a été supérieure à la CMI<sub>90</sub> pour des isolats de *Ps. aeruginosa* issus de patients atteints de mucoviscidose. De plus, jusqu'à 4 heures après l'administration :

- une concentration supérieure à la CMI<sub>90</sub> a été maintenue chez les patients adultes recevant 150 mg et 225 mg ;
- une concentration supérieure à la CMI<sub>50</sub> a été maintenue chez les adolescents et les adultes aux trois dosages.

Mais ces données laissent penser qu'une administration deux fois par jour serait plus appropriée. Comme attendu pour un aérosol, l'exposition systémique s'est avérée faible : le pic de concentration plasmatique a été bien inférieur à celui qui est observé après une administration intraveineuse et bien inférieur à celui qui est associé à une toxicité systémique. L'ensemble de ces données a encouragé la poursuite des essais chez les patients.

- Essai de phase II

La tolérance et l'efficacité de 75 mg et de 225 mg de lysinate d'aztréonam deux fois par jour pendant 14 jours ont été évaluées dans une étude de phase II en double aveugle randomisée contre placebo (145). Les patients étaient stratifiés en fonction du centre et de la sévérité de la pathologie pulmonaire – VEMS compris entre 40 % et 60 % du VEMS théorique ou VEMS supérieure ou égal à 60 % du VEMS théorique. Le produit était administré par le nébuliseur électronique eFlow<sup>®</sup>.

Les patients recevant des bronchodilatateurs étaient autorisés à les utiliser comme prescrits. Néanmoins, les patients traités par bronchodilatateurs à courte durée d'action deux fois par jour ou plus, ne devaient pas prendre ce bronchodilatateur dans les 6 heures précédant les visites de suivi mais une administration devait être faite 15 minutes avant une analyse spirométrique et dans l'heure précédant l'administration du produit à l'étude.

Tout au long de l'étude ont été suivis :

- l'apparition des effets indésirables,
- la concentration sanguine en aztréonam,
- l'apparition de nouveaux germes pathogènes,
- la modification de la sensibilité de *Ps. aeruginosa* à l'aztréonam,
- la modification de la densité en *Ps. aeruginosa* en UFC (Unité Formant Colonies) dans les expectorations.

Une relation dose-concentration dans les expectorations, sans accumulation de dose sur une semaine, a été observée avec une concentration supérieure à la CMI<sub>50</sub> et à la CMI<sub>90</sub>. Dans le plasma, la relation s'est avérée également dose-dépendante avec un pic de concentration 79 fois inférieur à celui qui est observé après l'administration de 500 mg par voie intraveineuse pour 75 mg de lysinate d'aztréonam et un pic 33 fois inférieur pour 225 mg de lysinate d'aztréonam. Ces résultats sont en accord avec ceux de l'étude de phase Ib.

Les données de sécurité ont également été cohérentes avec l'étude de phase Ib : les deux dosages ont été bien tolérés, aucune différence significative entre les deux groupes n'a été notée en pourcentage d'effets indésirables et la plupart des effets indésirables ont été légers à modérés, la toux ayant été l'effet indésirable le plus fréquemment rapporté.

Quant à la microbiologie, aucune différence significative dans l'apparition de germes pathogènes n'a été notée entre les deux groupes, ni de différence par rapport aux valeurs de base pour la CMI<sub>50</sub> et la CMI<sub>90</sub> à J14 et J28. En revanche, pour les deux dosages, la densité en *Ps. aeruginosa* était inférieure aux valeurs de base avec une différence significative entre les deux groupes ( $p > 0,001$ ).

Les données issues de la stratification n'étaient pas utiles compte tenu de la proportion importante de patients présentant une pathologie pulmonaire légère. Aussi, une analyse post-hoc a été réalisée avec le choix d'une nouvelle valeur seuil : 75 % du VEMS théorique. A J7, dans le groupe présentant un VEMS inférieur à 75 % du VEMS théorique, seuls les patients recevant 225 mg de lysinate d'aztréonam ont montré une augmentation du VEMS significative par rapport au placebo ( $p = 0,014$ ). Les résultats suivants ont été obtenus :

- à J14, l'augmentation du VEMS n'a été maintenue que pour le groupe à 75 mg ;
- à J28 une diminution du VEMS inférieure aux valeurs de base a été notée pour tous les groupes.

Une autre analyse exploratoire, a mis en évidence l'efficacité de l'association aux bronchodilatateurs : dans le groupe recevant 225 mg de lysinate d'aztréonam, l'utilisation de bronchodilatateur a été associée à une amélioration plus importante du VEMS à J14. De plus, les patients utilisant un bronchodilatateur ont présenté une diminution plus grande de la densité en *Ps. aeruginosa* et une concentration plasmatique en aztréonam plus importante. Ces données expliquent les recommandations de l'AMM quant à l'utilisation d'un bronchodilatateur avant l'administration de CAYSTON<sup>®</sup>.

Les résultats de cette étude prouvent la sécurité de CAYSTON<sup>®</sup> et son efficacité sur les souches de *Ps. aeruginosa* et ont mis en évidence l'intérêt de la pré-administration d'un bronchodilatateur. En outre, cette étude a confirmé que l'administration avec ce type de nébuliseur est rapide :

- pour les patients recevant 1 ml de produit, la durée d'administration a été de 2,7 minutes pour les 75 mg d'aztréonam et de 2,5 minutes pour le placebo ;
- pour les patients recevant 3 ml de produit, la durée d'administration a été de 6,5 minutes pour les 225 mg d'aztréonam et de 6,3 minutes pour les patients recevant le placebo.

Malgré son bénéfice, la dose de 255 mg a été éliminée du développement à la suite de cet essai, en raison d'une fréquence trop élevée de toux. Compte tenu du mode d'action des  $\beta$ -lactamines, l'étude de l'administration fractionnée en trois prises par jour a été envisagée afin d'augmenter la durée pendant laquelle la concentration du produit dans les expectorations est supérieure à la CMI.

- Essais de phase III

Deux études de phase III ont été réalisées avec CAYSTON<sup>®</sup> pour le dépôt du dossier d'AMM. Ces deux études ont été suivies d'une extension pour les patients inclus dans l'une d'elle afin d'évaluer la sécurité et l'efficacité de CAYSTON<sup>®</sup> à long terme.

- Etude AIR-CF1

La première étude, AIR-CF1, était une étude randomisée en double aveugle contre placebo chez des patients atteints de mucoviscidose et présentant une infection à *Ps. aeruginosa* (146). La sensibilité des souches de *Ps. aeruginosa* à l'égard de l'aztréonam n'était pas recherchée. L'aztréonam était administré par le nébuliseur électronique eFlow<sup>®</sup> à la dose de 75 mg trois fois par jour. Les patients recevaient le traitement à l'étude pendant 28 jours et étaient suivis pendant 14 jours après la dernière administration. Le premier critère d'efficacité était l'amélioration des symptômes respiratoires mesurée grâce au « *Cystic Fibrosis Questionnaire Revised (CFQ-R) Respiratory Scale* », une différence de cinq points étant considérée comme la différence clinique minimale détectable. Les critères secondaires étaient :

- le VEMS ;
- la densité en *Ps. aeruginosa* dans les sécrétions bronchiques ;
- la CMI de l'aztréonam pour *Ps. aeruginosa* ;
- la prévalence d'autres germes pathogènes ;
- la proportion de patients présentant des isolats avec des CMI supérieures à 8  $\mu\text{g/ml}$  – valeur seuil au-dessus de laquelle les isolats sont considérés comme résistants à l'aztréonam ;
- les autres symptômes non respiratoires du « *CFQ-R Scale* ».

A l'issue du traitement, le score moyen ajusté « *CFQ-R-Respiratory* » était amélioré avec le lysinate d'aztréonam mais diminué avec le placebo ( $p < 0,001$ ). A J28, le VEMS moyen ajusté pour les patients traités a augmenté et a diminué pour les patients recevant le placebo ( $p > 0,001$ ). A la fin du traitement la corrélation entre le VEMS et le score « *CFQ-R-Respiratory* » était donc nette.

La densité moyenne ajustée en *Ps. aeruginosa* dans le mucus a diminué avec l'aztréonam et est restée proche de la valeur de base pour les patients sous placebo ( $p < 0,001$ ). La CMI<sub>50</sub> et la CMI<sub>90</sub> sont restées inchangées avec le placebo ou ont diminué, alors que la CMI<sub>90</sub> a augmenté de façon transitoire pour les patients sous placebo. Le nombre d'isolats pour lesquels l'aztréonam a présenté une CMI  $> 8 \mu\text{g/ml}$  et la proportion de patients présentant ces isolats n'ont pas augmenté au cours du traitement par lysinate d'aztréonam. L'incidence d'autres germes pathogènes n'a pas augmenté et la sensibilité des souches à d'autres antibiotiques anti-*Pseudomonas* est restée inchangée sauf pour l'association ticarcilline / acide clavulanique avec laquelle la CMI<sub>90</sub> a augmenté.

La réponse à l'aztréonam a été supérieure à la réponse au placebo pour six des onze échelles non respiratoires du « *CFQ-R Scale* » : l'appétit, le fonctionnement émotionnel, la perception de la santé, le fonctionnement physique, la performance scolaire et la vitalité.

L'incidence des effets indésirables a été similaire pour les deux groupes sauf la toux productive qui a été rapportée plus souvent avec le placebo ( $p = 0,047$ ). Aucun changement significatif n'a été observé dans les signes vitaux ou les valeurs biologiques.

Deux semaines après la fin du traitement :

- le score « *CFQ-R-Respiratory* » avait diminué, mais était toujours supérieur aux données de base pour l'aztréonam, alors qu'il a continué à diminuer avec le placebo ( $p = 0,015$ ),
- le VEMS moyen a diminué mais est resté supérieur à la valeur de base pour les patients traités par le lysinate d'aztréonam alors qu'il a continué à diminuer avec le placebo ( $p = 0,002$ ),
- la densité moyenne ajustée en *Ps. aeruginosa* était proche de la valeur de base pour les deux groupes.

Cette étude confirme donc l'efficacité du traitement par le lysinate d'aztréonam et le choix d'une période de traitement de 28 jours avec des effets bénéfiques sur la fonction pulmonaire et les symptômes respiratoires observables jusqu'à deux semaines après traitement, une diminution de la densité en *Ps. aeruginosa* grâce au traitement et une amélioration des symptômes autres que respiratoires mais reliés à la pathologie. En outre, les résultats de sécurité sont cohérents avec ceux des précédentes études, le lysinate d'aztréonam ayant même fait diminuer la toux productive par rapport au placebo.

○ Etude AIR-CF2

La deuxième étude de phase III, AIR-CF2, a été mise en place pour évaluer l'efficacité et la sécurité du traitement chez les patients faisant un usage fréquent des antibiotiques dans le cadre de la prise en charge des infections à *Ps. aeruginosa* et suivant les recommandations à l'égard de leur thérapie antibiotique (147). Il s'agissait d'une étude randomisée, en double aveugle, contre placebo. Les patients étaient inclus dans le groupe lysinate d'aztréonam – 75 mg deux ou trois fois par jour – ou le groupe placebo et recevaient au préalable un traitement par de la tobramycine en solution pour inhalation pendant 28 jours puis le traitement à l'étude pendant les 28 jours suivants avec une période de suivi de 56 jours après l'administration de la dernière dose. Le critère primaire était le délai avant le recours à d'autres antibiotiques anti-*Pseudomonas* – par voie intraveineuse ou inhalée – pour le traitement des symptômes d'exacerbation pulmonaire. Les critères secondaires étaient :

- la modification des symptômes cliniques évalués à l'aide de la « *CFQ-R Respiratory Scales* »,
- la fonction pulmonaire,
- la densité en *Ps. aeruginosa* dans les expectorations,
- le recours à l'hospitalisation,
- la durée d'hospitalisation,
- le poids du patient.

Le temps médian de recours aux antibiotiques a été de 21 jours de plus dans le groupe aztréonam que dans le groupe placebo ( $p = 0,007$ ), soit une diminution de 45 % du risque de recours à d'autres antibiotiques par voie inhalée ou intraveineuse.

L'amélioration des symptômes respiratoires a été supérieure avec l'aztréonam ( $p = 0,020$ ) ; les résultats ont été comparables entre les patients ayant reçu le traitement trois fois par jour et les patients ayant reçu le traitement deux fois par jour. En revanche, les scores ont diminué durant la phase de suivi dans les deux groupes.

Le VEMS moyen ajusté relatif a augmenté de façon significative chez les patients avec aztréonam en comparaison du groupe placebo ( $p < 0,001$ ).

La densité ajustée en *Ps. aeruginosa* dans les expectorations a diminué de  $0,66 \log_{10}$  dans le groupe traité par le lysinate d'aztréonam ( $p = 0,006$ ) ; cette diminution significative a été observée pour les deux rythmes d'administration de l'aztréonam. Cependant, la densité bactérienne a augmenté pour tous les groupes pendant la période de suivi. La CMI<sub>50</sub> et la CMI<sub>90</sub> entre J0 et J56 sont restées inchangées sauf à J14 dans le groupe recevant le lysinate d'aztréonam trois fois par jour où les valeurs ont quadruplé de façon transitoire sans explication particulière. La proportion de patients présentant des isolats avec des CMI supérieures à  $8 \mu\text{g/ml}$  a augmenté pendant le traitement par le lysinate d'aztréonam. Mais l'incidence d'autres germes pathogènes fréquemment isolés dans la mucoviscidose n'a pas augmenté.

Le poids des patients traités par lysinate d'aztréonam a augmenté en comparaison aux patients sous placebo ( $p = 0,051$ ).

L'incidence des événements indésirables a été comparable pour tous les groupes.

Cette étude confirme donc l'intérêt de CAYSTON<sup>®</sup> qui peut être utilisé en alternance avec la tobramycine inhalée.

- Etude d'extension en ouvert

Les patients inclus dans les études AIR-CF1 et AIR-CF2 ont pu participer à une étude de 18 mois en ouvert, évaluant la sécurité et l'efficacité de CAYSTON<sup>®</sup> sur neuf cycles de traitement, un cycle étant composé de 28 jours de traitement et de 28 jours sans traitement (148). Les patients recevaient 75 mg de produit trois fois par jour, sauf pour les patients de l'étude AIR-CF2 ayant reçu le traitement deux fois par jour à qui 75 mg de produit deux fois par jour ont été administrés pour cette étude en ouvert. Au cours de ces neuf cycles de traitement, les patients continuaient de recevoir leur traitement habituel dans la prise en charge de la mucoviscidose. Les effets indésirables les plus fréquemment rapportés ont été

une toux (89,4 %) et une toux productive (80,3 %). Les symptômes respiratoires ont été la première cause d'effets indésirables graves, rapportés chez 44,7 % des patients recevant le produit deux fois par jour et 52,4 % des patients recevant le produit trois fois par jour. Les effets indésirables non respiratoires rapportés avec une fréquence de plus de 30 % ont été : fièvre, fatigue, diminution de l'appétit, maux de tête. Aucun changement significatif n'a été observé dans les signes vitaux ou les valeurs biologiques.

Pour les deux dosages, le VEMS absolu a été amélioré à la fin de chaque cycle ainsi que le VEMS en pourcentage du VEMS théorique, la densité en *Ps. aeruginosa* dans les expectorations et les symptômes respiratoires avec un bénéfice dose-réponse apparent. Les traitements répétés par lysinate d'aztréonam ont permis une prise de poids soutenue sur les 18 mois.

Tout au long de l'étude, la CMI<sub>50</sub> de l'aztréonam pour *Ps. aeruginosa* et la CMI de base la plus élevée sont restées inchangées. Aucun autre germe pathogène typique de la mucoviscidose n'a été isolé hormis *Burkholderia spp* qui a été isolé chez cinq patients dans le groupe recevant le lysinate d'aztréonam trois fois par jour. Néanmoins, aucun d'entre eux n'a présenté le syndrome de *B. cepacia*.

Cette étude a donc confirmé l'innocuité et l'efficacité sur neuf cycles de traitement de CAYSTON<sup>®</sup> utilisé en association avec les traitements de routine prescrits aux patients atteints de mucoviscidose. Aucun fait nouveau de sécurité n'a été identifié et l'amélioration du VEMS ainsi que des symptômes respiratoires a été maintenue tout au long de l'étude. La cause la plus fréquente d'hospitalisation a été le développement de symptômes d'exacerbation pulmonaire, mais le délai médian avant la première hospitalisation a été de 449 jours. Ce délai est relativement long dans cette population et laisse penser que CAYSTON<sup>®</sup> permet de diminuer les coûts d'hospitalisation. En outre, l'adhésion au traitement a été importante tout au long de l'étude : 92 % dans le groupe recevant le traitement deux fois par jour et 88 % dans le groupe recevant le traitement trois fois par jour, ce qui peut s'expliquer par l'amélioration des symptômes respiratoires et de la fonction pulmonaire pendant la prise de traitement et la rapidité d'administration du produit – 2 à 3 minutes par dose. Et enfin, le lysinate d'aztréonam ne modifie pas la flore microbiologique des patients atteints de mucoviscidose.

En conclusion, CAYSTON<sup>®</sup> est efficace au long cours sur les principaux éléments de la prise en charge de la mucoviscidose :

- l'activité antimicrobienne ;
- l'amélioration de la fonction pulmonaire ;
- l'amélioration de symptômes de la mucoviscidose ;
- la diminution de la fréquence des exacerbations et donc du recours à l'hospitalisation et à d'autres antibiotiques.

Le tableau 6 résume les avantages et les inconvénients de CAYSTON<sup>®</sup>.

**Tableau 6 Avantages et inconvénients de CAYSTON<sup>®</sup> dans la prise en charge de l'infection à *Ps. aeruginosa* chez le patient atteint de mucoviscidose**

<b>Avantages</b>	<b>Inconvénients</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- effets indésirables légers à modérés : alternative pour les patients qui ne tolèrent pas la tobramycine ou la colistine par voie inhalée</li> <li>- absence d'émergence de résistances ou de nouveaux pathogènes</li> <li>- administration rapide</li> <li>- alternance avec TOBI<sup>®</sup> chez les patients qui supportent mal les 28 jours sans tobramycine inhalée</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- administration trois fois par jour</li> <li>- nettoyage minutieux du nébuliseur</li> <li>- conservation au réfrigérateur</li> <li>- préparation de la solution</li> </ul>

Une étude d'efficacité et de sécurité en ouvert a permis de montrer la non-infériorité de CAYSTON<sup>®</sup> par rapport à TOBI<sup>®</sup> (149).

Au 8 octobre 2011 une étude est en cours de recrutement pour évaluer l'utilisation de CAYSTON<sup>®</sup> dans l'éradication précoce de *Ps. aeruginosa* (150).

#### 4.1.1.2 Lévoﬂoxacine en solution pour inhalation

Le produit est développé par MPEX PHARMACEUTICALS INC sous le nom de code MP-376. AEROQUIN<sup>®</sup> est le futur nom de commercialisation. Le produit sera administré avec le nébuliseur PARI e-Flow<sup>®</sup> qui favorise une administration rapide. Il a reçu la désignation de médicament orphelin en Europe par le *Committee for Orphan Medicinal Products* (COMP) le 23 septembre 2008 dans le traitement de la mucoviscidose (151).

La lévoﬂoxacine est un antibiotique de la famille des fluoroquinolones qui possède une activité puissante contre les bactéries à Gram négatif, dont *Ps. aeruginosa*. Comme, les aminoglycosides, sa relation pharmacocinétique-pharmacodynamie est de type concentration-dépendant, ce qui permet de limiter la fréquence des administrations. En outre, elle présente l'avantage de ne pas être inhibée par les composants du mucus pulmonaire des patients atteints de mucoviscidose, contrairement à la tobramycine (152).

Une étude réalisée chez la souris a permis de déterminer son efficacité dans les infections pulmonaires aiguës et chroniques à *Ps. aeruginosa* (152). Dans le modèle d'infection aiguë, elle a été plus efficace que la lévoﬂoxacine par voie systémique ( $p < 0,05$ ) et que l'aztréonam ( $p < 0,05$ ) par voie inhalée. La diminution de la charge bactérienne a été plus importante ce qui s'est traduit par une amélioration de la survie à neuf jours notamment par rapport à l'aztréonam ( $p < 0,05$ ). Dans le modèle d'infection chronique, la tobramycine et le MP-376 ont permis de diminuer la charge bactérienne de façon plus importante que l'aztréonam par voie inhalée ( $p < 0,05$ ).

- Essai de phase I

Un essai de phase I multicentrique, randomisé, en simple aveugle et en croisée a permis d'évaluer la pharmacocinétique et la tolérance du MP-376 chez les patients atteints de mucoviscidose (153). Les patients recevaient une dose unique de 180 mg d'une formulation de MP-376 à 50 mg/ml (groupe A) ou à 100 mg/ml (groupe B). Sept jours plus tard, ils recevaient une dose unique de 180 mg de la formulation qu'ils n'avaient pas reçu en première période – 50 mg/ml ou 100 mg/ml. Sept jours après, ils recevaient 240 mg de la formulation dosée à 100 mg/ml, une fois par jour, pendant sept jours. Le tableau 7 figure le schéma de cette étude.

**Tableau 7 Schéma de l'étude évaluant la pharmacocinétique et la sécurité du MP-376 chez les patients atteints de mucoviscidose, d'après Geller et al (153)**

<b>Groupe</b>	<b>Période 1 : dose unique de 180 mg</b>	<b>7 jours</b>	<b>Période 2 : dose unique de 180 mg</b>	<b>7 jours</b>	<b>Période 3 : dose unique de 240 mg</b>
A	50 mg/ml		100 mg/ml		100 mg/ml
B	100 mg/ml		50 mg/ml		100 mg/ml

Au cours de cette étude, le produit a été bien toléré, les effets indésirables les plus fréquents étant des dysgueusies et des hémoptysies.

La nébulisation s'est effectuée rapidement – entre 3,0 minutes à 5,5 minutes selon la formulation et le dosage – l'administration de la formulation à 100 mg/ml s'avérant plus rapide.

Les deux formulations ont permis une forte concentration dans les expectorations avec une faible exposition systémique. Les expositions élevées dans les expectorations, évaluées par l'ASC et la  $C_{max}$ , maximiseraient l'effet bactéricide et diminueraient le risque de résistance.

Compte tenu du niveau d'exposition comparable pour les deux formulations, mais avec un temps d'administration plus court pour la formulation à 100 mg/ml, c'est cette dernière qui a été considérée comme la plus appropriée dans la prise en charge.

- Essai de phase II

Dans un essai de phase II randomisé, multicentrique, en double aveugle, contre placebo chez des patients atteints de mucoviscidose et présentant une infection chronique à *Ps. aeruginosa*, trois doses de MP-376 à 100 mg/ml ont été étudiées afin de déterminer leur efficacité et leur sécurité : 120 mg une fois par jour, 240 mg une fois par jour, 240 mg deux fois par jour (154). Les patients ont reçu le traitement pendant 28 jours puis ont été suivis jusqu'au J28 après l'administration de la dernière dose. Le critère primaire d'efficacité de l'étude était la modification de la charge en *Ps. aeruginosa* à J28 exprimée en UFC/g d'expectorations. Les critères secondaires étaient :

- la modification de la fonction pulmonaire évaluée par le VEMS à J28 par rapport à la valeur de base,
- le délai avant l'administration d'un nouvel antibiotique anti-pyocyanique,
- la modification des symptômes cliniques respiratoires évaluée par le questionnaire « *CFQ-R Respiratory* ».

Le temps moyen de nébulisation pour la dose de 240 mg était compris entre 4 et 6 minutes.

A J28, pour le critère primaire, le meilleur effet a été observé avec le groupe recevant 240 mg deux fois par jour ( $p = 0,001$ ). Cependant, à J56 la charge bactérienne était revenue au niveau initial pour tous les groupes. L'administration du MP-376 n'a pas favorisé le développement d'autres organismes fréquemment isolés dans la mucoviscidose. Aucune modification de la CMI<sub>50</sub> ni de la CMI<sub>90</sub> de *Ps. aeruginosa* vis-à-vis de la lévofloxacine n'a été observée, ce qui indique que le traitement ne favorise pas l'émergence de résistances.

Le traitement a réduit la nécessité de recourir aux antibiotiques anti-pyocyaniques par rapport au placebo – avec une réduction de 79 % pour la dose la plus élevée ( $p < 0,001$ ) –, a permis une amélioration de la fonction pulmonaire ( $p = 0,003$  pour la comparaison entre le placebo et le MP-376 à 240 mg deux fois par jour à J28) et une amélioration du score respiratoire, mais qui n'a été statistiquement significative qu'à J14 pour le groupe recevant le produit deux fois par jour.

Du point de vue de la tolérance, le produit a été bien toléré, la majorité des effets indésirables étant légers et modérés. Leur fréquence ou leur sévérité n'a pas augmenté avec la dose.

Dans cette étude, les patients avaient déjà reçu plusieurs traitements anti-infectieux, ce qui suggère que le MP-376 est efficace dans cette population qui constitue la majorité des patients atteints de mucoviscidose. Compte tenu des meilleurs résultats obtenus avec l'administration de 240 mg deux fois par jour et de la bonne tolérance du produit, c'est cette dose et ce protocole qui ont été choisis pour poursuivre le développement.

- Essais de phase III

Deux essais de phase III sont en cours de recrutement au 30 septembre 2011 :

- un essai randomisé multicentrique, en double aveugle, contre placebo évaluant l'efficacité et la sécurité du MP-376 à la dose de 240 mg deux fois par jour pendant 28 jours, le critère principal étant le délai avant l'apparition d'une exacerbation (155) ;
- un essai randomisé en ouvert contre TOBI® chez des patients présentant une infection chronique à *Ps. aeruginosa*, les critères primaires étant la tolérance évaluée sur 168 jours et la modification du VEMS (156).

Le MP-376 présente donc de nombreux avantages :

- il s'administre en peu de temps comparé à TOBI® ;
- sa fréquence d'administration est inférieure à celle du lysinate d'aztréonam ;
- son activité n'est pas réduite par le biofilm de *Ps. aeruginosa* ni par les composants du mucus des patients atteints de mucoviscidose ;
- les conditions anaérobiques ne modifient pas son efficacité contrairement à la tobramycine, l'aztréonam et l'amikacine (154).

Enfin, une étude a permis de démontrer qu'une concentration pulmonaire élevée, obtenue avec l'administration de MP-376, permettait de réduire la production des cytokines IL-6 et IL-8 qui jouent un grand rôle dans la régulation de la réponse inflammatoire des patients atteints de mucoviscidose (157). Cette propriété serait indépendante de l'effet antibactérien du MP-376, mais pourrait contribuer au maintien de la fonction pulmonaire.

#### 4.1.1.3 Combinaison fosfomycine / tobramycine pour inhalation

Cette association est actuellement en développement par GILEAD sous le nom de GS 9310/11 (158).

L'intérêt de la tobramycine par voie inhalée est reconnu et celui de la fosfomycine a été évoqué récemment dans les stratégies thérapeutiques disponibles. L'avantage de cette

association est une meilleure tolérance puisqu'elle contient plus de fosfomycine que de tobramycine et moins de tobramycine que dans la solution commercialisée (159, 160). Par ailleurs, la fosfomycine inhiberait les effets toxiques des aminosides.

Une étude réalisée *in vitro* et chez le rat a démontré l'intérêt de cette combinaison par rapport à la fosfomycine ou à la tobramycine seule sur différents germes pathogènes, dont des isolats de *Ps. aeruginosa* prélevés chez des patients atteints de mucoviscidose (159). La combinaison s'est avérée active *in vitro* sur les souches de *Ps. aeruginosa* mais pas autant que la tobramycine seule. Pour la majorité des souches, aucune interaction n'a été démontrée entre les deux produits. D'après les cinétiques de bactéricidie, l'association agit selon un schéma concentration-dépendant et présente une activité bactéricide rapide avec un retour à la croissance bactérienne plus lent qu'avec la tobramycine ou la fosfomycine seule. En effet, l'effet post-antibiotique est plus prolongé que pour les deux antibiotiques seuls. Cette étude a également mis en évidence un autre point fort de cette association : l'apparition de mutants résistants s'est avérée bien moindre, ce qui est particulièrement intéressant dans la mucoviscidose. Sur un modèle *in vivo* de pneumonie chez le rat, l'association a été plus active que la fosfomycine, mais moins active que la tobramycine. Cependant, le modèle ne présentait pas une infection associée à la mucoviscidose alors que la réponse clinique aux traitements est modifiée chez les sujets atteints.

Peu de données cliniques sont disponibles. La phase II a été terminée au début de l'année 2010 (160). Il s'agissait d'un essai en double aveugle sur deux doses de l'association administrée avec le nébuliseur e-Flow<sup>®</sup> – fosfomycine / tobramycine 80 mg/20 mg et fosfomycine / tobramycine 160 mg/40 mg – deux fois par jour pendant 28 jours contre placebo après un traitement de 28 jours par du lysinate d'aztréonam inhalé. L'objectif principal était d'étudier la sécurité et l'efficacité de ces deux doses chez les patients colonisés par *Ps. aeruginosa* dans la mucoviscidose avec, pour critère principal, la fonction pulmonaire à 28 jours. Les premiers résultats de tolérance chez 135 patients âgés de 18 ans et plus ont démontré que l'association était bien tolérée. Les patients inclus dans le groupe 80 mg/20 mg ont développé moins d'effets indésirables pulmonaires et se sont montrés plus compliants que ceux du groupe 160 mg/40 mg (161).

#### 4.1.2 Poudres pour inhalation

Les antibiotiques inhalés disponibles sur le marché et pour lesquels suffisamment de données acquises après la commercialisation sont disponibles, se présentent sous la forme de solution ou de poudre pour solution à reconstituer. Ils ne sont administrables que par des nébuliseurs associés à un compresseur et l'administration de chaque dose peut prendre une vingtaine de minutes auxquelles s'ajoutent le temps nécessaire au nettoyage et à la désinfection de l'appareil (162). Par ailleurs, ces antibiotiques sont administrés plusieurs fois par jour et associés à d'autres traitements inhalés. Malgré l'avantage de la voie inhalée – administration d'une grande quantité de produit dans les poumons et toxicité systémique limitée – cette administration n'est pas en faveur d'une bonne observance par le patient et peut être associée à de moins bons résultats cliniques.

Ainsi, les produits administrables par inhalateur de poudre sèche peuvent apporter de nombreux avantages pour les traitements au long cours : diminution de la durée d'administration, pas de nécessité d'assembler différents composants pour l'administration ni de stériliser l'appareil, pas de conservation au réfrigérateur et plus d'autonomie. L'ensemble de ces facteurs est en faveur d'une meilleure observance.

##### 4.1.2.1 Tobramycine en poudre pour inhalation

Une des raisons pour lesquelles peu d'antibiotiques sont disponibles sous forme sèche est que les inhalateurs de poudre sèche ne permettent la délivrance que d'une faible quantité de produit, de l'ordre du microgramme, alors que des doses de l'ordre du milligramme sont requises. Afin de pallier ce problème, la tobramycine en poudre sèche présentée ici est produite au moyen de la technologie PulmoSphere<sup>®</sup> : cette technologie permet l'obtention de particules poreuses sèches, de faible densité, ne s'agrégeant pas entre elles et donc rapidement dispersibles, mais aussi délivrables en grande quantité dans les poumons (163).

Le produit a été développé par NOVARTIS sous le nom de TOBI Podhaler<sup>®</sup>. Il a reçu la désignation de médicament orphelin le 17 avril 2003 dans le traitement de l'infection pulmonaire à *Ps. aeruginosa* dans la mucoviscidose et a obtenu l'AMM en Europe, en procédure centralisée, le 20 juillet 2011 dans le « traitement des infections pulmonaires

chroniques à *Ps. aeruginosa* chez les adultes et enfants âgés de 6 ans et plus, atteints de mucoviscidose » (164, 165). Le produit doit être administré en cycles alternés de 28 jours de traitement suivis de 28 jours sans traitement. Le traitement peut être poursuivi de manière cyclique aussi longtemps que le médecin considère qu'il existe un bénéfice clinique pour le patient (166).

Dans les études cliniques, le produit a été essayé avec l'inhalateur de poudre sèche T-326 Inhaler (Novartis, Bâle, Suisse). Il est aujourd'hui précisé dans le Résumé des Caractéristiques du Produit (RCP) que TOBI Podhaler® doit être administré exclusivement avec l'inhalateur Podhaler (Novartis, Bâle, Suisse) (166).

- Essai de phase I

Une étude de phase I (162) en ouvert, en dose unique avec escalade de doses, chez des sujets atteints de mucoviscidose et âgés de plus de 6 ans, a permis de déterminer la dose à administrer. La tobramycine en poudre était comparée à la tobramycine en solution à la dose standard de 300 mg deux fois par jour. Parmi les doses de tobramycine en poudre essayées (28 mg, 56 mg, 84 mg, 112 mg), l'administration de quatre capsules de 28 mg par jour, soit 112 mg, a permis d'obtenir une exposition systémique similaire à la tobramycine en solution avec une durée d'administration trois fois plus courte que pour l'administration de 300 mg de tobramycine en solution (figure 14).

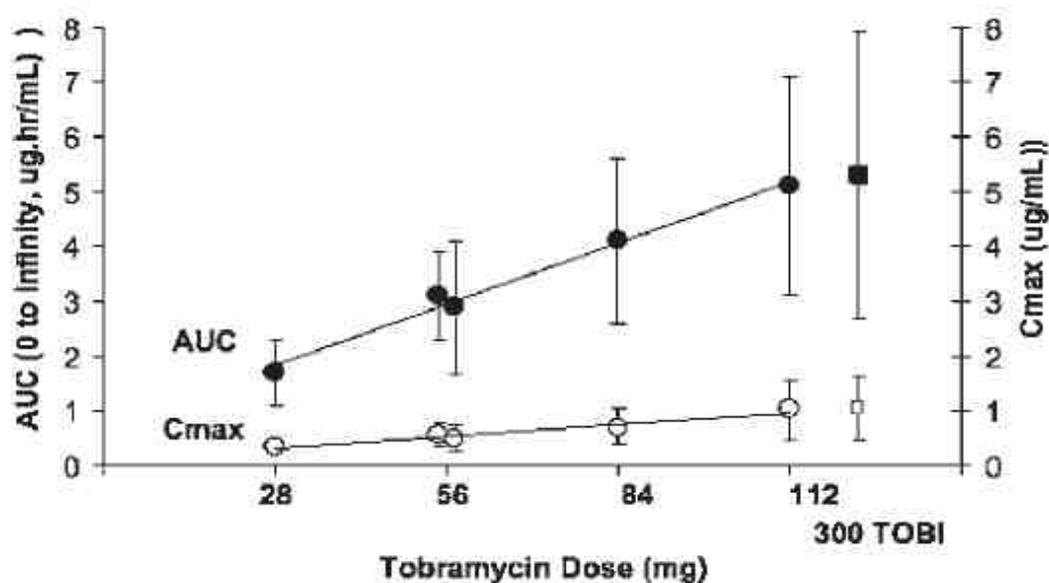


Figure 14 ASC (0, ∞) (µg.h/ml) et C<sub>max</sub> (µg/ml) plasmatiques en fonction de la dose de tobramycine (mg).  
Ronds : C<sub>max</sub> et ASC (0, ∞) pour la tobramycine en poudre. Carrés : C<sub>max</sub> et ASC (0, ∞) pour la tobramycine en solution (162)

Plus de sujets ont présenté au moins un effet indésirable pendant ou après l'administration d'une dose unique de tobramycine en poudre (60,6 %) qu'avec la tobramycine en solution (30,0 %). Cependant, la significativité statistique de cette donnée n'est pas communiquée. Les effets indésirables les plus fréquents observés avec la tobramycine en poudre ont été une toux ou une toux aggravée (20 %) et une dysgueusie (17 %) : ces effets n'ont pas été observés avec la solution, mais 85 % d'entre eux y avaient déjà été exposés avant l'étude.

Cette étude a donc démontré que 112 mg – soit quatre capsule de 28 mg – de tobramycine en poudre par jour présentaient les mêmes caractéristiques pharmacocinétiques que 300 mg de tobramycine en solution mais étaient délivrés beaucoup plus rapidement – 4,9 minutes contre 15,8 minutes – avec un bon profil de tolérance chez la majorité des sujets. C'est cette dose qui a été utilisée par la suite dans les essais de phase III et qui est autorisée dans l'AMM.

- Essais de phase III

Deux essais de phase III ont été menés pour démontrer l'efficacité et la tolérance de TOBI Podhaler<sup>®</sup> : l'étude EVOLVE contre placebo et l'étude EAGER contre TOBI<sup>®</sup> (167, 168).

- Etude EVOLVE

L'étude EVOLVE se déroulait sur trois cycles de 56 jours chacun, un cycle étant composé de 28 jours de traitement et d'une fenêtre thérapeutique de 28 jours (167). Le premier cycle était en double aveugle, les patients étant randomisés dans le groupe de la tobramycine en poudre – deux administrations par jour de 112 mg – ou dans le groupe du placebo – deux administrations par jour d'un volume équivalent. Les deux cycles suivants étaient en ouvert pour tous les patients qui recevaient la tobramycine.

Le VEMS en pourcentage de la valeur théorique à J28 du cycle 1, critère principal de l'étude, a augmenté de façon significative ( $p = 0,0016$ ). Cette amélioration a été maintenue tout au long de l'étude et a été observée également aux cycles 2 et 3 chez le patient ayant reçu initialement le placebo, ce qui confirme l'efficacité du traitement sur plusieurs cycles répétés. Concernant les autres critères d'évaluation de l'efficacité :

- la quantité de *Ps. aeruginosa* – en UFC/gramme d’expectoration – à J28 du cycle 1 a diminué et ces résultats ont été retrouvés aux cycles 2 et 3 chez les patients passant du placebo au produit à l’étude,
- le taux d’hospitalisations liées à des troubles respiratoires était nul au cycle 1 pour les patients recevant le traitement,
- 13 % des patients ont eu recours aux antibiotiques anti-*Pseudomonas* contre 18,4 % dans le groupe recevant le placebo, mais nous ne savons pas si cette différence a été statistiquement significative.

En revanche, une augmentation de la CMI a été notée aux cycles 2 et 3.

Quant aux effets indésirables, ils ont été typiques de ceux qui sont attendus pour ce traitement et ont été plus fréquents chez les patients traités par le placebo : toux, troubles pulmonaires, douleurs laryngées et pharyngées. Ces effets indésirables sont donc dus au mode d’administration et non pas au produit en lui-même. Le traitement n’a eu aucun impact sur la fonction rénale, mais des troubles auditifs transitoires ont été observés. Il faut noter que les concentrations plasmatiques résiduelles et au pic étaient six fois inférieures aux concentrations recommandées pour éviter une toxicité lors de l’administration de tobramycine par voie intraveineuse.

Le traitement s’est donc avéré efficace et bien toléré avec des résultats comparables à TOBI<sup>®</sup>, mais un temps d’administration bien moindre – de l’ordre de quatre à six minutes.

#### o Etude EAGER

L’essai EAGER comparait l’administration de 112 mg de tobramycine en poudre deux fois par jour à 300 mg de TOBI<sup>®</sup> deux fois par jour pendant 24 semaines (168). Les deux produits étaient administrés sur des cycles de 56 jours composés de 28 jours de traitement et de 28 jours sans traitement.

En plus des critères d’efficacité étudiés dans l’étude EVOLVE, la satisfaction du patient était évaluée à l’aide d’un questionnaire validé, le « *Treatment Satisfaction Questionnaire for Medication* » (TSQM), dans lequel plus le score est élevé, plus la satisfaction est importante.

TOBI Podhaler<sup>®</sup> a montré une efficacité non-inférieure à TOBI<sup>®</sup> avec une augmentation des CMI comparable entre les deux groupes à la fin de l'étude, ce qui laisse penser au développement de résistances.

En revanche, la satisfaction du patient a été supérieure avec la formulation en poudre, notamment grâce à une durée d'administration significativement inférieure ( $p < 0,0001$ ) – 5,6 minutes contre 19,7 minutes, ce qui représente une économie de temps d'environ 28 minutes par jour.

Pour ce qui est des effets indésirables, le profil de sécurité a été comparable entre les deux produits avec néanmoins une fréquence plus élevée de toux, dysphonie et dysgueusie pour la forme poudre. Mais l'ensemble des effets indésirables se sont exprimés de façon légère à modérée. Très peu de troubles rénaux ont été mis en évidence et, comme pour l'étude précédente, des troubles auditifs transitoires et intermittents ont été notés pour les deux produits.

Les concentrations plasmatiques ont été proches pour ces deux formulations, mais généralement supérieures dans les expectorations pour la forme poudre. Cependant, compte tenu d'une trop grande variabilité inter-sujet, cette dernière donnée ne permet pas de conclure que l'exposition pulmonaire est supérieure avec la forme poudre.

Ces études confirment donc qu'une forme en poudre de la tobramycine inhalée représente une option intéressante : le traitement s'administre beaucoup plus rapidement que TOBI<sup>®</sup>, avec une efficacité comparable, et apporte une réelle satisfaction au patient par rapport à TOBI<sup>®</sup>. Ce dernier point peut laisser penser que le patient observera mieux son traitement et que de meilleurs résultats cliniques pourront ainsi être observés. Du point de vue de la sécurité, ses effets indésirables sont légers à modérés, mais le RCP rappelle que la prudence est requise chez les patients présentant des troubles auditifs, vestibulaires et rénaux (166). De plus, les concentrations sériques de tobramycine doivent être surveillées dans cette population de patients.

Cependant, aucune donnée de sécurité ni d'efficacité au long cours n'est disponible et, comme pour tous les antibiotiques, se pose la question du développement des résistances au cours du temps.

Une étude de phase III évaluant la sécurité, l'efficacité et la pharmacocinétique de la tobramycine en poudre par voie inhalée produite par un nouveau procédé de fabrication a été

réalisée et deux études d'extension de cet essai sont en cours de recrutement au 24 août 2011 (169 -171).

#### 4.1.2.2 Colistiméthate sodique en poudre pour inhalation

Il s'agit de la formulation en poudre de la colistine inhalée. Une demande d'autorisation de mise sur le marché en procédure centralisée est en cours à l'EMA (*European Medicines Agency*) (172). Le produit sera mis sur le marché sous le nom de COLOBREATHE<sup>®</sup> par FOREST LABORATORIES UK LTD. Il a reçu la désignation de médicament orphelin en Europe, le 19 février 2002, pour le traitement des infections pulmonaires (incluant la colonisation) à *Ps. aeruginosa* chez le patient atteint de mucoviscidose (173).

Comme nous l'avons expliqué pour TOBI Podhaler<sup>®</sup>, la forme poudre apporterait un réel avantage pour la qualité de vie du patient, les études ayant démontré qu'une dose de COLOBREATHE<sup>®</sup> s'administrait en quelques secondes (174).

COLOBREATHE<sup>®</sup> sera disponible en gélules de 125 mg à administrer deux fois par jour aussi longtemps que le médecin le jugera nécessaire. Il s'administrera à l'aide de l'inhalateur de poudre sèche Turbospin<sup>®</sup> (PH&T S.p.A., Milan, Italie) (175).

Ce traitement pourrait représenter une bonne amélioration du colistiméthate sodique administrable en solution pour inhalation grâce à une administration beaucoup plus rapide, à l'absence de reconstitution du produit avant administration et à la diminution du risque de contamination du dispositif d'administration. Enfin, compte tenu du mode d'action des polymyxines, le risque d'apparition de résistances est bien moindre qu'avec d'autres antibiotiques. Néanmoins, trop peu de données accessibles sont disponibles pour discuter de son efficacité et de sa sécurité chez le patient mucoviscidosique.

#### 4.1.2.3 Ciprofloxacine en poudre pour inhalation

Le produit est développé par BAYER SCHERING PHARMA et porte le nom de code BAYQ3939. Le produit a reçu la désignation de médicament orphelin en Europe le 3 août

2007 dans le traitement de la mucoviscidose (176). Un essai multicentrique de phase II s'est achevé au début de l'année 2011 (158).

Comme pour la tobramycine en poudre inhalée, la ciprofloxacine est produite grâce à la technologie PulmoSphere® qui permet l'administration d'une quantité suffisante de produit tout en évitant les agrégats de poudre. Par rapport à la voie orale, la quantité administrée est bien moindre ce qui peut limiter le développement des résistances et les effets indésirables.

Peu de données cliniques sont actuellement disponibles sur ce produit.

- Essai de phase I

Un essai réalisé chez les enfants de 6 à 12 ans, colonisés depuis au moins un an par *Ps. aeruginosa*, en ouvert, en dose unique, a évalué la sécurité et la pharmacocinétique dans le plasma et les sécrétions bronchiques de 25 mg de ciprofloxacine en poudre pour inhalation (177).

- Essai de phase II

Un essai de phase II randomisé, en double aveugle, réalisé chez des patients âgés d'au moins 12 ans, atteints de mucoviscidose et colonisés chroniquement par *Ps. aeruginosa* a évalué l'efficacité et la sécurité de 50 mg ou de 75 mg deux fois par jour de ciprofloxacine en poudre pour inhalation contre placebo sur une durée de traitement de 28 jours. Le critère principal était l'évolution du VEMS à J28-J30 par rapport au niveau de base. Les objectifs secondaires étaient notamment l'évaluation du développement de *Ps. aeruginosa* résistants à la ciprofloxacine et de la quantité de *Ps. aeruginosa* dans les sécrétions bronchiques (178). Les résultats ne sont pas disponibles au 8 septembre 2011.

Ce produit présente donc un intérêt du point de vue de l'observance mais il faudrait disposer de plus de données d'efficacité et de sécurité pour juger de sa valeur ajoutée dans la prise en charge de l'infection à *Ps. aeruginosa*.

#### 4.1.3 Formulations liposomales pour inhalation

Des formulations liposomales d'antibiotiques administrables par voie inhalée sont en développement. L'intérêt recherché par la mise au point de telles formulations est une

meilleure pénétration de l'antibiotique dans le biofilm bactérien et une présence prolongée du médicament dans les poumons (126).

#### 4.1.3.1 Ciprofloxacine liposomale pour inhalation

Le produit est développé sous le nom de ARD-3100 par ARADIGM (179).

Il a reçu la désignation de médicament orphelin en Europe le 24 juillet 2009 dans le traitement de la mucoviscidose. Il serait notamment utilisé chez les patients ne répondant pas aux autres traitements ou pendant les périodes sans traitement. Il est administrable par un nébuliseur (180).

La formulation liposomale permet le maintien d'une concentration thérapeutique dans les poumons grâce à la libération lente de la ciprofloxacine au contact du liquide alvéolaire, détectable jusqu'à 12 heures après inhalation, ce qui permet ainsi une administration une fois par jour, ce qui réduirait le temps accordé au traitement dans la journée (179). En outre, la présentation liposomale diminuerait l'amertume associée à l'inhalation de ciprofloxacine (180).

- Essai de phase I

Une étude de phase I en escalade de doses a été réalisée chez 20 volontaires sains en Australie afin d'évaluer la sécurité et la pharmacocinétique du produit (179). Le produit a été bien toléré, aucun effet indésirable sévère n'a été mis en évidence. De plus, les concentrations sanguines se sont avérées bien inférieures à celles qui sont observées lors d'une administration systémique, rappelant l'intérêt de l'administration par voie inhalée.

- Essai de phase IIa

Dans une étude de phase IIa réalisée en Australie et en Nouvelle Zélande chez 21 patients atteints de mucoviscidose, l'efficacité de 14 jours de traitement a été évaluée (179). Le critère principal était la réduction de la densité de *Ps. aeruginosa* en UFC dans les expectorations. Une diminution de 1,43 log ( $p < 0,0001$ ) sur la période de 14 jours a été mise en évidence. Une seconde évaluation a été réalisée une semaine après l'arrêt du traitement et a montré que la densité en *Ps. aeruginosa* diminuait toujours. A J14, une augmentation du VEMS de 6,86

% ( $p = 0,04$ ) a été notée. Le produit a été bien toléré, aucun effet indésirable grave n'a été mis en évidence.

Ce produit présente donc un grand intérêt et apporterait une innovation par rapport aux traitements déjà existants. Cependant, ces bons résultats doivent être confirmés par des essais de phase III à grande échelle. De plus, la ciprofloxacine étant un antibiotique concentration-dépendant, le développement de résistances à long terme lié à la présence prolongée de concentrations sub-inhibitrices est envisageable (126).

#### 4.1.3.2 Amikacine liposomale pour inhalation

Le produit est développé sous le nom d'ARIKACE<sup>®</sup> par INSMED INCORPORATED. Il a reçu la désignation de médicament orphelin en Europe par le COMP le 25 juillet 2006 (181).

L'antibiotique serait administré par le nébuliseur e-Flow<sup>®</sup>.

Le produit présente l'avantage d'une forme inhalée, ce qui limite les effets indésirables systémiques bien connus de l'amikacine qui sont la néphrotoxicité et l'ototoxicité. En outre, il pourrait être administré une fois par jour, ce qui réduirait le temps consacré au traitement et faciliterait la compliance comme expliqué précédemment.

Des études réalisées *in vitro* et *in vivo* ont démontré que ces liposomes étaient stables et résidaient suffisamment longtemps dans les poumons après administration (182). Des liposomes vides, mais de même composition que ARIKACE<sup>®</sup>, ont présenté une bonne pénétration dans le biofilm de *Ps. aeruginosa* et le mucus pulmonaire. En outre, la libération d'amikacine serait facilitée par des facteurs de virulence de *Ps. aeruginosa*, notamment le rhamnolipide. Cela permettrait la libération de l'amikacine à proximité du site bactérien.

- Essais de phase II

Dans deux essais de phase II, l'un mené en Europe et l'autre aux Etats-Unis, chez des patients atteints de mucoviscidose et infectés par *Ps. aeruginosa*, l'efficacité, la tolérance, la pharmacocinétique et la sécurité de différentes doses d'ARIKACE<sup>®</sup> inhalé une fois par jour (70 mg, 140 mg, 280 mg – uniquement en Europe – et 560 mg) ont été évaluées.

Les résultats combinés de ces deux études réalisées sur 105 patients ont montré que la dose de 560 mg apportait une nette amélioration de la fonction pulmonaire par rapport au placebo. En outre, les patients recevant ARIKACE<sup>®</sup> ont montré une amélioration des symptômes respiratoires, une diminution de la densité bactérienne en *Ps. aeruginosa* dans les poumons et un délai prolongé avant l'apparition d'une nouvelle exacerbation. Pour ce qui est de la sécurité, le traitement est bien toléré avec des résultats similaires entre les différents dosages, les effets indésirables étant liés au traitement dans cette population (183). Néanmoins les sources ne fournissaient pas de données statistiques pour confirmer la significativité de ces affirmations.

- Essais de phase III

Au 20 septembre 2011, trois études de phase III sont prévues :

- une en double aveugle contre placebo pour évaluer l'effet de l'administration de 560 mg de produit une fois par jour pendant 28 jours avec une période de suivi de 56 jours post-traitement chez le patient atteint de mucoviscidose infecté chroniquement ; le critère principal prévu est le délai avant l'apparition de la première exacerbation (184) ;
- une en double aveugle, dans la même population de patients, contre TOBI<sup>®</sup>, pour évaluer l'administration de 560 mg de produit une fois par jour sur trois cycles de traitement, un cycle comprenant une période de traitement de 28 jours et une période sans traitement de 28 jours ; le critère principal prévu est le changement relatif du VEMS de la randomisation au dernier jour du dernier cycle de traitement (185) ;
- la troisième étude est une étude d'extension en ouvert incluant les patients ayant participé à l'une des deux précédentes études pour évaluer la sécurité et la tolérance à long terme d'ARIKACE<sup>®</sup> sur une période de deux fois six cycles de traitement ; les critères principaux sont l'incidence des effets indésirables, les changements relatifs du VEMS et du VEMS en pourcentage par rapport au VEMS théorique et la tolérance à court terme évaluée par les modifications de la fonction pulmonaire avant et après administration (186).

Néanmoins, le recrutement des patients pour ces études est retardé en raison d'un arrêt mis en place par la FDA : les résultats intermédiaires d'une étude de carcinogénicité sur deux ans chez le rat ont alerté les autorités de santé américaines qui sont en attente de résultats

complémentaires d'INSMED INCORPORATED pour évaluer la possibilité de démarrer ces deux études (187).

En conclusion, cet antibiotique présente plusieurs avantages :

- son efficacité peut être améliorée par sa présence plus longue dans les poumons que l'amikacine libre, une bonne pénétration dans le biofilm et la libération de l'antibiotique à proximité de la bactérie ;
- une diminution des effets indésirables et une amélioration de la tolérance par rapport à l'amikacine injectable ;
- une diminution de la fréquence d'administration par rapport aux autres antibiotiques administrés par voie inhalée ;
- une diminution de la durée d'administration grâce au nébuliseur e-Flow<sup>®</sup>.

ARIKACE<sup>®</sup> pourrait donc être un réel apport pour les patients tant du point de vue de l'efficacité que de la compliance. Cependant, s'il s'avère que le produit est cancérigène pour l'Homme, son développement n'ira pas plus loin.

#### 4.1.3.3 Tobramycine liposomale pour inhalation

Très peu de données sont actuellement accessibles pour ce produit.

Il est développé par AXENTIS PHARMA LIMITED et a reçu la désignation de médicament orphelin en Europe le 11 avril 2006 dans le traitement de l'infection pulmonaire à *Ps. aeruginosa* chez le patient atteint de mucoviscidose (188).

L'intérêt principal du produit réside bien sûr dans le fait qu'il s'agit d'une forme inhalée qui limite les effets indésirables systémiques des aminosides et assure une concentration importante de tobramycine dans les poumons. De plus, la forme liposomale, par la libération prolongée du produit, diminuerait le nombre d'administrations par rapport aux formulations en poudre et en solution aujourd'hui autorisées.

Comme pour tous les antibiotiques sous forme liposomale à inhaler, le développement de résistances à long terme est envisageable, compte tenu surtout du mode d'action temps-dépendant de la tobramycine.

## 4.2 Immunothérapie

### 4.2.1 Anticorps polyclonaux anti-*Pseudomonas*

Il s'agit d'anticorps polyclonaux aviaires appelés IgY dirigés spécifiquement contre *Ps. aeruginosa* et développés par IMMUNSYSTEM I.M.S. AB (189).

Ces anticorps sont produits à partir du jaune d'œufs de poule immunisée préalablement contre différentes souches de *Ps. aeruginosa*. Les anticorps sont alors purifiés puis préparés en une solution destinée à être gargarisée.

Ils se lieraient aux *Ps. aeruginosa* présents dans l'oropharynx, les empêchant ainsi de se fixer aux cellules épithéliales et donc d'atteindre les voies respiratoires basses (190).

Le traitement est à visée prophylactique et destiné à être pris quotidiennement afin de retarder l'apparition de l'infection chronique. L'avantage est qu'il présente un nouveau mode d'action, permet de limiter l'utilisation des antibiotiques et donc le développement des résistances, mais aussi les effets indésirables liés à l'utilisation des antibiotiques au long cours. Le risque d'effets indésirables est limité, compte tenu qu'il s'agit d'un produit issu des œufs, composant essentiel de notre alimentation. En outre, l'organisme ne produirait pas d'anticorps dirigés contre les anticorps IgY administrés par voie orale (190). Ce produit a reçu la désignation de médicament orphelin dans le traitement de la mucoviscidose en Europe le 23 septembre 2008 (189).

Une étude *in vitro* a permis de déterminer le mécanisme d'action de ces anticorps (191). Les anticorps se lieraient à la flagelline, composant majeur du flagelle. Le flagelle est un facteur de virulence de *Ps. aeruginosa* qui intervient non seulement dans l'invasion bactérienne et l'installation de l'infection, mais aussi dans la réponse inflammatoire. Or, l'inflammation des poumons des patients en raison de la récurrence des infections bactériennes contribue à la destruction pulmonaire. L'étude a démontré que les anticorps se liaient aux deux types de

flagellines de *Ps. aeruginosa* : la flagelline a et la flagelline b. En outre, les anticorps ont été actifs sur toutes les souches de *Ps. aeruginosa* étudiées. Cependant, le flagelle disparaît lorsque l'infection devient chronique et que les souches mucoïdes se développent : le traitement ne présente donc plus d'intérêt dès que l'infection chronique est installée.

Une étude de faisabilité de phase I a évalué l'efficacité à long terme d'une prise quotidienne d'anticorps IgY (190). L'objectif premier de l'étude était de déterminer si l'administration quotidienne d'anticorps IgY pouvait prolonger le délai entre la première et la seconde colonisation de *Ps. aeruginosa*. Cette étude s'est prolongée dans un second temps dans l'objectif d'évaluer si le traitement pouvait diminuer le taux de colonisations intermittentes et retarder l'apparition de l'infection chronique. A l'inclusion, un échantillon d'expectorations des patients devait être positif pour *Ps. aeruginosa*, mais les patients ne devaient pas présenter de signes de colonisation chronique.

Dix-sept patients ont été inclus dans l'étude initiale, 13 d'entre eux ont participé à la prolongation de l'étude. Le groupe comparateur était constitué de 21 patients qui eux, ne recevaient ni le produit à l'étude, ni le placebo. Tous les patients de l'étude ont reçu une antibiothérapie intensive pour éradiquer *Ps. aeruginosa* présent à l'inclusion ; le groupe traité a démarré les gargarismes le dernier jour de l'antibiothérapie. Puis, tout au long de l'étude, ils ont dû décongeler, chaque jour, une bouteille de 70 ml contenant la préparation d'anticorps IgY et dirigés contre les souches O1 et O5 et qu'ils devaient utiliser pour se rincer la bouche, le soir, après le brossage des dents. Les gargarismes devaient durer environ deux minutes, puis les patients avalaient la solution. Ils recevaient ainsi 50 mg d'anticorps IgY par jour, ce qui correspond à la quantité d'IgY contenu dans un demi-œuf. Cette quantité a été déterminée par la technique de dosage ELISA. Des cultures ont été réalisées tous les mois à partir des expectorations et le titre en anticorps anti-*Ps. aeruginosa* a été mesuré une fois par jour sur des prélèvements sanguins.

Pour l'étude initiale, l'intervalle entre la première et la deuxième colonisation a été significativement plus long dans le groupe traité ( $p = 0,015$ ).

Pour les patients qui ont participé à l'étude prolongée, la durée totale de l'étude a été de 571 mois. Aucun patient du groupe traité n'a développé d'infection chronique à *Ps. aeruginosa*, mais cinq dans le groupe témoin. Cependant, aucune différence significative n'a été mise en évidence quant au nombre de cultures positives et au recours aux antibiotiques.

Aucun effet indésirable n'a été détecté. Seul un patient a présenté une allergie qui s'est arrêtée par le développement d'une tolérance aux œufs.

Les résultats de cette étude sont donc prometteurs bien que le nombre de patients soit faible. Cependant, il est difficile de recruter des patients atteints de mucoviscidose qui ne sont pas infectés chroniquement. Par ailleurs, l'étude n'a pas été réalisée en double aveugle.

A la suite des résultats de cette étude, une deuxième étude a été réalisée chez des patients présentant des infections intermittentes (192). Dix-sept patients traités dans l'étude précédente ont été inclus dans le groupe traité et 23 patients – dont 19 de l'étude précédente – ont été inclus dans le groupe contrôle. Les patients traités auront reçu pendant plus de 12 ans le traitement prophylactique par IgY. Le principal objectif de cette étude était de déterminer l'efficacité et l'absence d'effets indésirables d'une nouvelle formulation d'anticorps IgY dirigés contre quatre souches supplémentaires – O3, O6, O9 et O11. Les objectifs secondaires étaient d'évaluer si l'état pulmonaire et nutritionnel et la flore microbienne étaient modifiés par le traitement.

Comme dans l'étude précédente, aucun effet indésirable n'a été détecté.

Le nombre de cultures positives pour *Ps. aeruginosa* a été bien inférieur dans le groupe traité par rapport au groupe contrôle ( $p = 0,028$ ). Le temps médian entre chaque colonisation était de 25 mois pour le groupe traité et 19 mois pour le groupe contrôle, mais la significativité statistique de ce résultat n'était pas fournie. Une analyse de survie a mis en évidence un délai plus long avant isolement d'un *Ps. aeruginosa* chez les patients traités ( $p = 0,012$ ). Seuls deux patients (12 %) du groupe traité mais sept (30 %) du groupe contrôle ont développé une infection chronique à *Ps. aeruginosa*. Les deux patients du groupe traité étaient de la même famille mais ils n'ont présenté des souches mucoïdes que 28 mois pour l'un et 56 mois pour l'autre après la mise en évidence de la chronicité, ce qui indique que les IgY retarderaient la transformation en souche mucoïde.

Pour ce qui est du suivi de la flore bactérienne, les mycobactéries atypiques, *S. maltophilia*, *A. xylosoxidans* et *A. fumigatus* n'ont été détectées que sporadiquement et aucune culture ne s'est avérée positive pour *B. cepacia*.

Le VEMS a diminué légèrement chaque année sans différence significative entre les deux groupes ( $p = 0,260$ ).

Les résultats de cette étude corroborent donc ceux de la première étude et confirment l'efficacité et la sécurité des gargarismes d'IgY au long cours.

Les anticorps IgY présentent donc de nombreux avantages : ils prolongent le délai entre la première et la deuxième colonisation, retardent le développement de l'infection chronique responsable de l'aggravation de la maladie pulmonaire et réduisent le taux de colonisations intermittentes et par conséquent l'utilisation d'antibiotiques, ce qui permet de limiter le développement des résistances. De plus, leur administration est simple et ne nécessite pas d'hospitalisation (192).

Il n'y a pas de risque de résistance contrairement aux antibiotiques ; ils sont bien tolérés, ne réagissent pas avec le récepteur humain Fc et n'activent pas le système du complément ce qui évite de provoquer une réaction inflammatoire (192).

Cependant, ces deux études n'ont été réalisées que sur des très faible nombre de sujets, en ouvert, le groupe contrôle ne recevant aucun placebo. Il est donc indispensable de réaliser des études à plus grande échelle et avec une méthodologie plus rigoureuse. Néanmoins, au vu de ces premiers résultats et de l'innovation apportée par ces anticorps, la Commission Européenne a accordé 5 millions d'euros à IMMUNSYSTEM I.M.S. AB pour la réalisation des études de phase III (193).

#### 4.2.2 Anticorps monoclonal anti-PcrV

Il s'agit du fragment Fab pégylé d'un anticorps humain dirigé spécifiquement contre la protéine PcrV de *Ps. aeruginosa*, composant essentiel du TTSS, lui-même étant l'un des facteurs de virulence de *Ps. aeruginosa*. Ce fragment est obtenu grâce à un système d'expression dans *E. coli* (194). Le produit est développé sous le code KB001 par KALOBIO PHARMACEUTICALS.

Comme nous l'avons vu au paragraphe 2.2.1.3, le TTSS est responsable de l'injection de toxines – ExoS, ExoT, ExoU et ExoY – directement dans le cytoplasme des cellules eucaryotes et de graves lésions pulmonaires. Mais il est également responsable d'une perturbation des mécanismes de défense immunitaire. En effet, il a un effet cytotoxique sur les macrophages et les polynucléaires neutrophiles par l'intermédiaire d'un mécanisme appelé

« oncosis », qui permet la perforation directe des cellules membranaires (195). Cet effet ne serait pas dû aux toxines, mais à la protéine PcrV (196).

Bloquer ce mécanisme permettrait donc de protéger l'épithélium pulmonaire des toxines, de favoriser la clairance bactérienne en renforçant l'action du système immunitaire dans les poumons et de diminuer l'inflammation liée à l'infection bactérienne.

Dans un modèle d'infection pulmonaire aiguë à *Ps. aeruginosa* – souche PA103 – chez la souris, l'efficacité d'un fragment humain Fab dirigé spécifiquement contre le PcrV de *Ps. aeruginosa* a été démontré (194). Dix microgrammes de produit ont été instillés en même temps qu'une dose létale de *Ps. aeruginosa* et ont conduit à un taux de survie de 100 % à 48 heures. Chez 80 % des souris traitées, aucune bactérie viable n'était détectable dans les poumons. En outre, la diminution de la température a été significativement inférieure dans le groupe traité ( $p < 0,05$ ), l'exposant à un moindre risque de sepsis. Enfin, *in vivo*, la neutralisation du fragment TTSS par le fragment humain Fab anti-PcrV a permis de protéger les cellules des toxines et les macrophages de l'oncosis.

Dans une étude clinique de phase I/II, le fragment pégylé, KB001 a été administré à des patients atteints de mucoviscidose (197).

Il s'agissait d'une étude randomisée, multicentrique, en double aveugle contre placebo, réalisée chez des patients atteints de mucoviscidose et présentant une infection à *Ps. aeruginosa* (198). Les patients étaient randomisés pour recevoir une perfusion intraveineuse soit de placebo soit de KB001 à 3,0 mg/kg ou à 10,0 mg/kg. La période de suivi était de huit semaines. Le critère primaire était l'évaluation de la sécurité et de la tolérance. Les critères secondaires comprenaient la pharmacocinétique dans le sérum et les expectorations et le potentiel immunogène. D'autres critères exploratoires ont également été mesurés : la quantité de *Ps. aeruginosa* dans les expectorations, la densité bactérienne dans les expectorations, la diversité et l'expression de la protéine PcrV par analyse génomique, les marqueurs de l'inflammation dans le sérum et les expectorations, la fonction pulmonaire, les symptômes pulmonaires et la qualité de vie grâce au CFQ (*Cystic Fibrosis Quality of Life Questionnaire*).

Cent pour cent des patients inclus présentaient des souches de *Ps. aeruginosa* exprimant la protéine PcrV. Les effets indésirables ont été d'intensité légère à modérée, aucun décès ni effet indésirable mettant en jeu le pronostic vital n'a été mis en évidence. Deux patients ont présenté un effet indésirable grave mais non relié au traitement à l'étude : une sinusite dans le

groupe placebo et une bronchite dans le groupe traité par KB001 à 3 mg/kg. Aucun patient n'a développé d'anticorps dirigé contre KB001. Une diminution dose-dépendante des marqueurs de l'inflammation a été notée dans les expectorations, portant sur le nombre de polynucléaires neutrophiles, l'élastase, l'IL-8, le nombre de macrophages et l'IL-1. KB001 pourrait donc présenter un effet anti-inflammatoire. En revanche, pour ce qui est de la microbiologie, l'étude conclue sur une diminution potentielle des souches mucoïdes de *Ps. aeruginosa* à J28. La significativité statistique de ces résultats n'est pas communiquée.

Ces résultats nécessitent d'être confirmés, notamment l'effet anti-inflammatoire. Compte tenu de son mécanisme d'action et de l'absence d'activité bactéricide ou bactériostatique directe, KB001 est développé en tant qu'anti-inflammatoire et non pas en tant qu'antibiotique (158).

Ce traitement est très innovant et n'exposerait pas au risque de résistance. En outre, son action est double. Il favorise la clairance de *Ps. aeruginosa* en renforçant le système immunitaire et diminue l'inflammation, préservant ainsi la fonction pulmonaire. Enfin, il est bien toléré en dose unique.

Il est possible d'envisager ce traitement en clinique en association à un antibiotique. Cependant, les résultats obtenus doivent être confirmés. La diminution de la quantité de *Ps. aeruginosa* dans les expectorations semble être un effet mineur. Il faut s'interroger également sur les effets au long cours d'une administration chronique d'anticorps et aussi sur le coût de ce traitement à base de produits issus de la biotechnologie.

#### 4.3 Inhibiteur du « quorum sensing »

Le « quorum sensing » est une cible intéressante dans la prise en charge des infections à *Ps. aeruginosa*.

En effet, c'est un facteur de virulence de *Ps. aeruginosa* dont le rôle est essentiel dans le développement normal du biofilm. Or, le biofilm est en partie responsable du développement et du maintien de la bactérie chez le patient atteint de mucoviscidose (199). De plus, des études *in vitro* ont montré que le « quorum sensing » bloquait l'activation des polynucléaires neutrophiles (199). *In vivo*, le degré d'inflammation a été plus important chez des souris

infectées par des souches mutantes au niveau des gènes *lasR* et *rhlR* (200). Bloquer le « quorum sensing » augmenterait ainsi la clairance bactérienne.

Plusieurs molécules et composés naturels dont l'acide pénicillique, la patuline et des dérivés synthétiques des furanones hydrogénées ont une action inhibitrice sur le « quorum sensing » sans avoir d'activité antibactérienne (199). Ces produits semblent particulièrement intéressants face au développement des résistances aux antibiotiques, puisqu'ils ne seraient pas concernés par ce phénomène qui est responsable de la perte d'efficacité à long terme.

Parmi ces composés naturels, l'ail a été essayé chez des patients atteints de mucoviscidose.

Le mécanisme par lequel les molécules contenues dans l'ail agissent sur le « quorum sensing » est encore inconnu, mais serait post-transcriptionnel ; elles agiraient par interaction directe avec les récepteurs du « quorum sensing » (201).

Dans un modèle d'infection pulmonaire chronique à *Pseudomonas aeruginosa* chez la souris, les souris ont été traitées pendant sept jours – dont deux jours de traitement prophylactique – par une injection sous-cutanée d'extrait d'ail ou un placebo (201). Dix souris sur 31 (33,3 %) dans le groupe traité sont décédées contre 23 sur 32 (71,9 %) dans le groupe placebo ( $p < 0,0003$ ) à la suite de l'épreuve bactérienne. A J5, neuf souris sur dix du groupe des souris traitées présentaient des poumons stériles alors que les poumons des souris traitées par le placebo contenaient au moins  $1 \times 10^5$  UFC par poumon. La réponse inflammatoire a été plus importante dans le groupe traité que dans le groupe placebo : le nombre de polynucléaires neutrophiles et de monocytes détectés dans les poumons a été supérieur chez la souris traitée ( $p < 0,0008$ ), ce qui indique une réponse immunitaire plus forte en présence d'un inhibiteur du « quorum sensing » et donc une clairance bactérienne plus efficace. Quant aux cytokines pro-inflammatoires mesurées dans les homogénats pulmonaires après sacrifice, le G-CSF (*Granulocyte-Colony Stimulating Factor*) et le MIP-2 étaient en concentration moins importante dans le groupe traité que dans le groupe placebo. Le MIP-2 est l'équivalent chez la souris de l'IL-8. Dans la mucoviscidose, en raison de la production importante d'IL-8, le recrutement des polynucléaires neutrophiles est permanent. Mais ces cellules ne s'accumulent pas au niveau du site de l'infection. L'IL-8 est stimulée par la 3-oxo-C12 HSL. Aussi, quand le « quorum sensing » est bloqué, la réponse immunitaire est efficace, le recrutement des polynucléaires neutrophiles par les cytokines est diminué et l'éradication de la bactérie est facilitée. La démonstration s'applique également au G-CSF qui, lui aussi, mobilise les polynucléaires neutrophiles, ce qui contribue au dysfonctionnement pulmonaire.

L'extrait d'ail favoriserait donc la clairance bactérienne grâce à l'inhibition du « quorum sensing », régulant les mécanismes de la réponse inflammatoire, favorisant ainsi la clairance bactérienne. D'où son intérêt pour la prise en charge des infections à *Ps. aeruginosa* chez le patient atteint de mucoviscidose. Une étude pilote a été mise en place pour évaluer son efficacité et sa tolérance chez l'Homme.

La tolérance à des extraits d'ail macérés a été évaluée pendant huit semaines de traitement chez des patients atteints de mucoviscidose, infectés chroniquement par *Ps. aeruginosa* (202). L'étude devait également permettre de déterminer le nombre de patients nécessaires pour mettre en place un essai définitif. Les patients étaient randomisés pour recevoir des gélules contenant soit 656 mg d'huile d'ail macéré, soit de l'huile d'olive comme placebo. Dans chacune des formulations était ajoutée de l'huile de cardamome pour masquer le goût. Le choix de la dose de 656 mg a été déterminé en fonction de la sécurité et de la dose d'ail recommandée comme complément alimentaire. L'analyse a été réalisée *per protocol*. Vingt-six patients ont poursuivi l'étude jusqu'au bout.

Le critère principal était la mesure du VEMS mais aucune différence significative n'a été mise en évidence entre le placebo et l'extrait d'ail ( $p = 0,8$ ).

Pour les critères secondaires :

- l'augmentation du poids n'a pas été supérieure chez les patients traités par l'extrait d'ail ;
- l'amélioration du score clinique n'a été plus importante avec l'extrait d'ail ;
- seuls 7 patients sur 13 ont eu recours à des traitements antibiotiques par voie intraveineuse au cours des huit semaines de traitement pour 5 sur 12 dans le groupe placebo, mais aucune donnée statistique n'était fournie pour ce résultat.

A la fin de l'essai, cinq patients de chaque groupe ont présenté des résultats biochimiques sanguins anormaux pour le bilan hépatique et les triglycérides. Cinq patients du groupe traité ont présenté des effets indésirables légers : diarrhée, douleurs abdominales, dysurie, hémoptysie mineure, mauvaise haleine. Mais un patient du groupe placebo a présenté une hémoptysie mineure.

Ces résultats sont encourageants mais non significatifs quant à l'efficacité de l'extrait d'ail. Pour ce qui est de la tolérance, si les patients ont présenté plus d'effets indésirables avec l'ail,

ces derniers étaient légers et soit attendus (mauvaise haleine) soit intrinsèques à la mucoviscidose (diarrhée, douleurs abdominales, hémoptysie).

Un essai à plus large échelle est nécessaire pour mettre en évidence une différence significative et déterminer le composant actif de l'extrait pour une meilleure optimisation de la dose et de l'intervalle de doses. L'extrait d'ail peut donc être un complément envisageable pour la prise en charge des patients, mais des études avec une puissance plus importante sont indispensables après avoir identifié le composant actif.

#### 4.4 Perturbation de la formation du biofilm par l'oligo-G CF-5/20, fragment d'alginate oligosaccharide

L'oligo-G CF-5/20 est un oligomère dérivé de l'alginate développé par ALGIPHARMA. Le produit se présente sous la forme d'une solution stérile isotonique à inhaler par un nébuliseur (203).

Le produit a reçu la désignation de médicament orphelin en Europe le 14 septembre 2007 dans le traitement de la mucoviscidose (204).

Son mécanisme d'action est nouveau : il rompt les liaisons du polymère du biofilm de *Ps. aeruginosa*, ce qui favorise la clairance du mucus pulmonaire et améliore la diffusion des agents antibactériens. En effet, une étude *in vitro* a démontré que l'exposition de bactéries à l'oligo-G CF-5/20 provoquait des ruptures du biofilm bactérien et la mort des cellules bactériennes, évoquant un effet antibiotique intrinsèque (205). Par ailleurs, cette étude a montré que l'addition d'oligo-G CF-5/20 à des antibiotiques classiquement utilisés dans le traitement de l'infection à *Ps. aeruginosa* – méropénème, ceftazidime, aztréonam, azithromycine, ciprofloxacine – diminuait la CMI de ces antibiotiques sur différentes souches de *Ps. aeruginosa*, dont des souches mucoïdes ; cet effet est concentration-dépendant.

Un essai de phase I randomisé, en double aveugle contre placebo a permis d'évaluer la sécurité et la tolérance de l'oligo-G CF-5/20 chez 28 volontaires sains (206). Les critères principaux étaient la sécurité et la tolérance locale sur la fonction pulmonaire et le suivi des effets indésirables pulmonaires. Les sujets recevaient une solution de sérum physiologique ou

de la solution d'oligo-G CF-5/20 à 6 % par inhalation. Ils étaient divisés en quatre groupes recevant respectivement :

- groupe 0 : une dose unique de 90 mg ;
- groupe 1 : 90 mg par jour pendant trois jours ;
- groupe 2 : 270 mg par jour pendant trois jours ;
- groupe 3 : 270 mg deux fois par jour pendant trois jours.

L'ensemble des effets indésirables ont été considérés comme légers et transitoires et avec une fréquence identique à celle du groupe placebo. Pour ce qui est de la pharmacocinétique, les concentrations plasmatiques d'oligo-G CF-5/20 ont été inférieures à la limite de quantification indiquant un faible passage systémique avec donc peu de risque d'effets indésirables généraux.

Vu ces bons résultats, la phase II a démarré en juin 2011 (207). C'est une étude en double aveugle, randomisée contre placebo croisée qui doit évaluer la sécurité, la tolérance et l'efficacité de l'oligo-G CF-5/20 administré pendant 28 jours à des patients atteints de mucoviscidose et infectés chroniquement par *Ps. aeruginosa*.

L'oligo-G CF-5/20 est donc un traitement tout à fait novateur. Son mode d'action laisse penser qu'il n'induit pas de résistance. Cependant, il semble agir en synergie avec les antibiotiques, ce qui ne supprime donc pas leur utilisation. Aussi, s'ajouterait-il à la liste déjà longue des traitements quotidiens par inhalation. En outre, aucune donnée n'est fournie sur la durée d'administration. Si cette dernière est longue, elle ne favorisera pas une bonne observance des patients. Enfin, il faut attendre les résultats de la phase II à la fois pour s'assurer de son efficacité et pour évaluer sa pharmacocinétique qui peut être très différente entre les patients atteints de mucoviscidose et les volontaires sains.

## Conclusion

La prise en charge de l'infection à *Ps. aeruginosa* dans la mucoviscidose bénéficie aujourd'hui d'une stratégie thérapeutique appropriée depuis la primo-éradication jusqu'à l'infection chronique. Néanmoins cette prise en charge est complexe. Elle impose l'administration de doses élevées d'antibiotiques et peut nécessiter le recours à la voie intraveineuse. Les traitements par voie inhalée demandent du temps pour la préparation du produit, son administration et le nettoyage de l'appareil. Les effets indésirables des antibiotiques imposent un suivi régulier, les patients étant particulièrement exposés à un risque d'allergie aux  $\beta$ -lactamines, à une néphrotoxicité et à une ototoxicité des aminoglycosides.

En outre, les praticiens sont confrontés au développement particulier de souches bactériennes multirésistantes. En effet, non seulement *Ps. aeruginosa* est naturellement peu sensible à de nombreux antibiotiques, mais les transformations phénotypiques et génotypiques observables sur les souches qui colonisent les poumons des patients atteints de mucoviscidose sont responsables d'une résistance accrue. Par ailleurs, la prise d'antibiotiques au long cours favorise le développement des résistances. L'association de ces phénomènes est responsable d'une perte d'efficacité des antibiotiques chez les patients.

Pour pallier ces problèmes, de nouveaux traitements ont été mis au point ou sont en développement. Parmi ceux-ci, de nombreux antibiotiques pour une administration par voie inhalée correspondent à des molécules reconnues pour leur efficacité dans la prise en charge de l'infection à *Ps. aeruginosa* mais dont cette nouvelle forme permettra une prise en charge plus adaptée. En effet, des poudres à inhaler sont développées pour permettre une administration plus rapide et réduire le temps consacré au nettoyage de l'inhalateur, l'objectif étant une meilleure observance du patient et donc une probabilité de succès plus élevée. Parmi ces poudres, TOBI Podhaler<sup>®</sup>, qui a obtenu l'AMM présente une efficacité non inférieure à la solution, une bonne tolérance et une durée d'administration nettement plus courte appréciée par les patients. Ce produit peut donc remplacer TOBI<sup>®</sup> dans la prise en charge thérapeutique et améliorer la qualité de vie des patients mais l'apparition de résistances n'est pas modifiée. Des formulations liposomales sont également en développement : afin de favoriser la libération prolongée de l'antibiotique et de réduire la fréquence d'administration. Cependant, hormis l'amikacine dont le développement clinique est temporairement arrêté pour cause de

carcinogénicité possible, peu de données cliniques sont actuellement disponibles. Avec le développement de nébuliseurs à tamis vibrant, l'administration de solutions par voie inhalée est aujourd'hui plus rapide comme c'est le cas pour CAYSTON<sup>®</sup>, solution de lysinate d'aztréonam dont l'AMM a été octroyée le 5 septembre 2011 en Europe. Ce produit est efficace et bien toléré. Son administration en alternance avec la tobramycine permettrait aux patients de bénéficier d'une antibiothérapie continue. Cependant, CAYSTON<sup>®</sup> n'est pas autorisé en Europe chez le patient de moins de dix-huit ans alors que l'infection à *Ps. aeruginosa* se manifeste très tôt dans la vie du patient. Son administration trois fois par jour et la nécessité de reconstitution avant administration alourdissent le traitement du patient.

Ces antibiotiques peuvent améliorer la qualité de vie du patient, mais ne révolutionnent pas l'arsenal thérapeutique, ces molécules existent déjà sous une autre forme. Le risque de développement de résistances reste élevé et enfin aucun d'entre eux ne permet l'éradication du germe pathogène dès lors que l'infection chronique est installée. D'autres molécules innovantes, qui pallieraient les résistances, sont en développement, mais leur efficacité doit être confirmée. Deux d'entre elles ont particulièrement retenu mon attention. L'anticorps monoclonal KB001 représenterait une stratégie tout à fait innovante dans la prise en charge de l'infection, mais il semble être plus efficace comme anti-inflammatoire que comme antibiotique et le coût associé à sa fabrication doit être pris en considération. Les anticorps polyclonaux IgY représenteraient également une réelle avancée dans la stratégie thérapeutique en prophylaxie du développement de l'infection ; de plus, ils sont très bien tolérés, sont administrés uniquement le soir et de façon non invasive et perturbent donc moins le quotidien du patient que les traitements actuellement disponibles.

Les traitements les plus près d'être disponibles sont les formes inhalées d'antibiotiques déjà connus qui permettront certes de favoriser une alternance avec les produits déjà disponibles par voie inhalée et qui pourront améliorer la qualité de vie grâce à une administration plus rapide, mais ils ne sont pas innovants et laissent entier le problème des multirésistances. Les nouvelles approches laissent espérer une réelle amélioration dans la prise en charge mais si les étapes du développement confirment leur intérêt, ces nouveaux traitements ne seront pas mis sur le marché avant plusieurs années.

Ce sujet est donc particulièrement étudié, de nouvelles données sont régulièrement mises à disposition, une preuve en étant l'information de l'EMA quant à l'opinion positive du CHMP (*Committee for Medicinal Products for Human Use*) sur COLOBREATHE<sup>®</sup> mais aussi le

retrait de sa désignation en tant que médicament orphelin depuis la rédaction de mon paragraphe sur ce produit.

## Bibliographie

- 1 Orphanet. Mucoviscidose, résumé. [en ligne]. Disponible sur : [www.orpha.net](http://www.orpha.net) (consulté le 14 mars 2011).
- 2 Zielenski J. Genotype and phenotype in cystic fibrosis. *Respiration*. 2000;67(2):117-133
- 3 Farrell PM, Rosenstein BJ, White TB, Accurso FJ, Castellani C, Cutting GR et al. Guidelines for diagnosis of cystic fibrosis in newborns through older adults: cystic fibrosis foundation consensus report. *J Pediatr*. 2008;153(2):S4-S14
- 4 De Boeck K, Wilschanski M, Castellani C, Taylor C, Cuppens H, Dodge J et al. Cystic fibrosis: terminology and diagnostic algorithms. *Thorax*. 2006;61(7):627-635
- 5 McIntosh I, Cutting GR. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator and the etiology of pathogenesis of cystic fibrosis. *FASEB J*. 1992;6(10):2775-2782
- 6 Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, Alon N, Rozmahel R, Grzelczak Z et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science*. 1989;245(4922):1066-1073
- 7 Gibson RL, Burns JL, Ramsey BW. Pathophysiology and management of pulmonary infections in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;168(8):918-951
- 8 Sheppard DN, Welsh MJ. Structure and function of the CFTR chloride channel. *Physiol Rev*. 1999;79(1 Suppl):S23-S45
- 9 Girondon-Boulandet E, Costa C. Génétique de la mucoviscidose. 2005;8(3):126-134
- 10 Proesmans M, Vermeulen F, De Boeck K. What's new in cystic fibrosis? From treating symptoms to correction of the basic defect. *Eur J Pediatr*. 2008;167(8):839-849
- 11 Davidson DJ, Porteous DJ. Genetics and pulmonary medicine. 1. The genetics of cystic fibrosis lung disease. *Thorax*. 1998;53(5):389-397
- 12 UK Cystic Fibrosis Trust Clinical Standards and Accreditation Group. Standards for the clinical care of children and adults with cystic fibrosis in the UK. [en ligne]. Disponible sur : [www.cftrust.org.uk/about cf/publications/consensusdoc/C\\_3000Standards\\_of\\_Care.pdf](http://www.cftrust.org.uk/about%20cf/publications/consensusdoc/C_3000Standards_of_Care.pdf) (consulté le 10 juillet 2001).

- 13 Mehta G, Macke M Jr, Mehta A; European registry Working Group. Cystic fibrosis across Europe: EuroCareCF analysis of demographic data from 35 countries. *J Cyst Fibros.* 2010;9(Suppl 2):S5-S21
- 14 Vaincre la mucoviscidose et Ined. Registre français de la mucoviscidose, bilan des données 2009. [en ligne]. Disponible sur : [www.vaincrelamuco.org/e\\_upload/pdf/rapport\\_registre\\_2008.pdf](http://www.vaincrelamuco.org/e_upload/pdf/rapport_registre_2008.pdf) (consulté le 22 novembre 2011).
- 15 Ramsey BW. Management of pulmonary disease in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med.* 1996;335(3):179-188
- 16 Ferkol T, Rosenfield M, Milla CE. Cystic fibrosis pulmonary exacerbations. *J Pediatr.* 2006;148(2):259-264
- 17 Dinwiddie R. Pathogenesis of lung disease in cystic fibrosis. *Respiration.* 2000;67(1):3-8
- 18 Baran D, Lebecque P. Mucoviscidose ; la maladie, le traitement, les perspectives. 2002, Bruylant-Academia, Louvain-la-Neuve. 224 p.
- 19 Durie PR. Inherited causes of exocrine pancreatic dysfunction. *Can J Gastroenterol.* 1997;11(2):145-152
- 20 Haute Autorité de Santé. Le dépistage néonatal systématique de la mucoviscidose en France : état des lieux et perspectives après 5 ans de fonctionnement. [en ligne]. Disponible sur : [www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2009-04/rapport\\_depistage\\_neonatal\\_systematique\\_de\\_la\\_mucoviscidose\\_en\\_france.pdf](http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2009-04/rapport_depistage_neonatal_systematique_de_la_mucoviscidose_en_france.pdf) (consulté le 14 mars 2011).
- 21 Dray X, Hubert D, Munck A, Moreau J, Marteau P. Manifestations digestives de la mucoviscidose de l'adulte. *Gastroenterol Clin Biol.* 2005;29(12):1279-1285
- 22 Association Française pour le Dépistage et la Prévention des Handicaps de l'Enfant. Protocole de prise en charge des enfants atteints de mucoviscidose dépistés à la naissance. [en ligne]. Disponible sur : [www.muco5962.fr/document/DocProfessionnels/DocProRecommandations/Protocole%20de%20prise%20en%20charge%20des%20enfants%20atteints%20de%20muco.pdf](http://www.muco5962.fr/document/DocProfessionnels/DocProRecommandations/Protocole%20de%20prise%20en%20charge%20des%20enfants%20atteints%20de%20muco.pdf) (consulté le 18 mars 2011).

- 23 Vaincre la mucoviscidose. Glossaire, Ileus meconial. [en ligne]. Disponible sur : [www.vaincrelamuco.fr](http://www.vaincrelamuco.fr) (consulté le 11 juillet 2011).
- 24 Société Française de Pédiatrie et Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé. Conférence de consensus. Prise en charge du patient atteint de mucoviscidose : observance, gastro-entérologie et métabolisme. [en ligne]. Disponible sur : [www.has-sante.fr/portail/uplaod/docs/application/pdf/mucovisc\\_nutrition\\_gastro\\_court.pdf](http://www.has-sante.fr/portail/uplaod/docs/application/pdf/mucovisc_nutrition_gastro_court.pdf) (consulté le 10 juillet 2011).
- 25 Labrune P. Atteinte hépathobiliaire de la mucoviscidose. *Médecine thérapeutique*. 1997;3(6):459-464
- 26 Haute Autorité de Santé. Mucoviscidose, protocole national de diagnostic et de soins pour une maladie rare. [en ligne]. Disponible sur : [www.has-sante.fr/portail/uplaod/docs/application/pdf/07-25-mucoviscidose-guide\\_sans\\_lap.pdf](http://www.has-sante.fr/portail/uplaod/docs/application/pdf/07-25-mucoviscidose-guide_sans_lap.pdf) (consulté le 16 mars 2011).
- 27 Yankaskas JR, Marshall BC, Sufian B, Simon RH, Rodman D. Cystic fibrosis adult care: consensus conference report. *Chest*. 2004;125(Suppl 1):S1-S39
- 28 Delamare G. Dictionnaire illustré des termes de médecine, 29<sup>ème</sup> édition. 2006, Maloine, Paris. p. 630
- 29 Knowles MR, Paradiso AM, Boucher RC. In vivo nasal potential difference: techniques and protocols for assessing efficacy of the transfer in cystic fibrosis. *Hum Gene Ther*. 1995;6(4):445-455
- 30 Kerem E, Conway S, Elbron S, Heijerman H; Consensus Committee. Standards of care for patients with cystic fibrosis: a European consensus. *J Cyst Fibros*. 2005;4(1):7-26
- 31 Kerem E, Reisman J, Corey M, Canny GJ, Levison H. Prediction of mortality in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med*. 1992;326(18):1187-1191
- 32 Beharry S, Ellis L, Corey M, Marcon M, Durie P. How useful is fecal pancreatic elastase 1 as a marker of exocrine pancreatic disease? *J Pediatr*. 2002;141(1):84-90
- 33 Levy P. Diagnostic de l'insuffisance pancréatique exocrine. *Hépatho-Gastro*. 2002;9(2):123-128

- 34 Williams SG, Evanson JE, Barrett N, Hodson ME, Boulton JE, Westaby D. An ultrasound scoring system for the diagnosis of liver disease in cystic fibrosis. *J Hepatol.* 1995;22(5):513-521
- 35 Williams SM, Goodman R, Thomson A, McHugh K, Lindsell DR. Ultrasound evaluation of liver disease as part of an annual assessment clinic: a 9 year review. *Clin Radiol.* 2002;57(5):365-370
- 36 UK Cystic Fibrosis Trust Antibiotic Working Group. Antibiotic treatment for cystic fibrosis. [en ligne]. Disponible sur : [www.cftrust.org.uk/aboutcf/publications/consensusdoc/Antibiotic\\_treatment\\_for\\_Cystic\\_Fibrosis.pdf](http://www.cftrust.org.uk/aboutcf/publications/consensusdoc/Antibiotic_treatment_for_Cystic_Fibrosis.pdf) (consulté le 19 mars 2011).
- 37 Vidal. VIDAL 2011, le dictionnaire. 87<sup>ème</sup> édition. 2011, Editions du Vidal, Issy les Moulineaux. 3104 p.
- 38 Mellis CM, Levison H. Bronchial reactivity in cystic fibrosis. *Pediatrics.* 1978;61(3):446-450
- 39 Hordvik NL, König P, Morris D, Kreutz C, Bardero GJ. A longitudinal study of bronchodilator responsiveness in cystic fibrosis. *Am Rev Respir Dis.* 1985;131(6):889-893
- 40 Hordvik NL, Sammut PH, Judy CG, Colombo JL. Effects of standard and high doses of salmeterol on lung function of hospitalized patients with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol.* 1999;27(1):43-53
- 41 Fuchs HJ, Borowitz DS, Christiansen DH, Morris EM, Nash ML, Ramsey BW et al. The Pulmozyme Study Group: effect of aerosolized recombinant human DNase on exacerbations of respiratory symptoms and on pulmonary function in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med.* 1994;331(10):637-642
- 42 Haute Autorité de Santé. Synthèse d'avis de la commission nationale d'évaluation des dispositifs médicaux et des technologies de santé. [en ligne]. [www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2011-03\\_novembre\\_2010\\_2747\\_synthese\\_davis.pdf](http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2011-03_novembre_2010_2747_synthese_davis.pdf) (consulté le 31 août 2011).

- 43 Flume PA, O'Sullivan BP, Robinson KA, Goss CH, Mogayzel PJ Jr, Willey-Courand DB et al. Cystic fibrosis pulmonary guidelines. Chronic Medications for maintenance of lung health. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007;176(10):957-969
- 44 Colombo C, Crosignani A, Assaisso M, Battezzati PM, Podda M, Giunta A et al. Ursodesoxycholic acid therapy in cystic fibrosis-associated liver disease: a dose response study. *Hepatology.* 1992;16(4):924-930
- 45 Heuman DM. Hepatoprotective properties of ursodesoxycholic acid. *Gastroenterology.* 1993;104(6):1865-1870
- 46 Botla R, Spivey JR, Aquilar H, Bronk SF, Gores GJ. Ursodeoxycholate (UDCA) inhibits the mitochondrial membrane permeability transition induced by glycochenodeoxycholate: a mechanism of UDCA cytoprotection. *J Pharmacol Exp Ther.* 1995;272(2):930-938
- 47 Boucher RC. New concepts of the pathogenesis of cystic fibrosis lung disease. *Eur Respir J.* 2004;23(1):146-158
- 48 Huchon G. *Pneumologie.* 2001, Elsevier Masson, Paris. p 5-6
- 49 Boucher RC. Cystic fibrosis: a disease of vulnerability to airway surface dehydration. *Trends Mol Med.* 2007;13(6):231-240
- 50 Cole AM, Dewan P, Ganz T. Innate antimicrobial activity of nasal secretions. *Infect Immun.* 1999;67(7):3267-3275
- 51 Goldman MJ, Anderson GM, Stolzenberg ED, Kari UP, Zasloff M, Wilson JM. Human beta-defensin-1 is a salt sensitive antibiotic that is inactivated in cystic fibrosis. *Cell.* 1997;88(4):553-560
- 52 Joris L, Dab I, Quinton PM. Elemental composition of human airway surface fluid in healthy and diseased airways. *Am Rev Respir Dis.* 1993;148(6 Pt 1):1633-1637
- 53 Smith JJ, Travis SM, Greenberg EP, Welsh MJ. Cystic fibrosis airway epithelia fail to kill bacteria because of abnormal airway surface fluid. *Cell.* 1996;85(2):229-236
- 54 Zabner J, Smith JJ, Karp PH, Widdicombe JH, Welsh MJ. Loss of CFTR chloride channels alters salt absorption by cystic fibrosis airway epithelia in vitro. *Mol Cell.* 1998;2(3):397-403

- 55 Boucher RC. An overview of the pathogenesis of cystic fibrosis lung disease. *Adv Drug Deliv Rev.* 2002;54(11):1359-1371
- 56 Pilly E. *Maladies infectieuses et tropicales 2010.* 2009, CMIT Vivactis, Paris. p. 273-275
- 57 Sadikot RT, Blackwell TS, Christam J, Prince AS. Pathogen-host interaction in *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;171(11):1209-1223
- 58 Le Minor L. *Bactériologie médicale.* 1990, Flammarion, Paris. p. 567-573
- 59 Roy-Burman A, Savel RH, Racine S, Swanson BL, Revadigar NS, Fujimoto J et al. Type III secretion is associated with death in lower respiratory and systemic *Pseudomonas aeruginosa* infections. *J Infect Dis.* 2001;183(12):1767-1774
- 60 Ruimy R, Andremont A. Quorum sensing chez *Pseudomonas aeruginosa* : mécanisme moléculaire, impact clinique, et inhibition. *Réanimation.* 2004;13:176-184
- 61 Høiby N. New antimicrobials in the management of cystic fibrosis. *J Antimicrob Chemother.* 2002;49(2):235-238
- 62 Lamont IL, Beare PA, Ochsner U, Vasil AI, Vasil ML. Siderophore-mediated signaling regulates virulence factor production in *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002;99(10):7072-7077
- 63 O'Malley YQ, Reszka KJ, Rasmussen GT, Abdalla MY, Denning GM, Britigan BE. The *Pseudomonas* secretory product pyocyanin inhibits catalase activity in human lung epithelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2003;285(5):L1077-1086
- 64 Boucher JC, Yu H, Mudd MH, Deretic V. Mucoid *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis : characterization of muc mutations in clinical isolates and analysis of clearance in a mouse model of respiratory infection. *Infect Immun.* 1997;65(9):3838-3846
- 65 Bonomo RA, Szabo D. Mechanisms of multidrug resistance in *Acinetobacter* species and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis.* 2006;43(Suppl 2):S49-S56
- 66 Döring G, Conway SP, Heijerman HG, Hodson ME, Høiby N, Smyth A et al. Antibiotic therapy against *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis: a European consensus. *Eur Respir J.* 2000;16(4):749-767

- 67 Saiman L, Siegel J, Cystic Fibrosis Foundation. Infection control recommendations for patients with cystic fibrosis: microbiology, important pathogens, and infection control practices to prevent patient-to-patient transmission. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2003;24(Suppl 5):S6-S52
- 68 Döring G, Høiby N, Consensus Study Group. Early intervention and prevention of lung disease in cystic fibrosis: a European consensus. *J Cyst Fibros*. 2004;3(2):67-91
- 69 VanDevanter DR, Van Dalfsen JM. How much do *Pseudomonas* biofilm contribute to symptoms of pulmonary exacerbations in cystic fibrosis ? *Pediatr Pulmonol*. 2005;39(6):504-506
- 70 Mathee K, Ciofu O, Sternberg C, Lindum PW, Campbell JI, Jensen P et al. Mucoïd conversion of *Pseudomonas aeruginosa* by hydrogen peroxide: a mechanism for virulence activation in the cystic fibrosis lung. *Microbiology*. 1999;145(6):1349-1357
- 71 Moskowitz SM, Ernts RK. The role of *Pseudomonas* lipopolysaccharide in cystic fibrosis airway infection. *Subcell Biochem*. 2010;53:241-253
- 72 Macia MD, Blanguer D, Togores B, Sauleda J, Pérez JL, Oliver A. Hypermutation is a key factor in development of multiple-antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* strains causing chronic lung infections. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49(8):3382-3386
- 73 Worlitzsch D, Tarram R, Ulrich M, Schwab U, Cekivi A, Meyer KC et al. Effects of reduced mucus oxygen concentration in airway *Pseudomonas infections* of cystic fibrosis patients. *J Clin Invest*. 2002;109(3):317-325
- 74 Société Française de Pédiatrie et Agence National d'Accréditation et d'Evaluation en Santé. Conférence de consensus. Prise en charge du patient atteint de mucoviscidose : pneumologie et infectiologie. [en ligne]. Disponible sur : [www.has-sante.fr/portail/upload/application/pdf/Mucovisc\\_pneumo\\_infectio\\_long.pdf](http://www.has-sante.fr/portail/upload/application/pdf/Mucovisc_pneumo_infectio_long.pdf) (consulté le 19 mars 2011).
- 75 Pier GB, Grout M, Zaidi TS, Olsen JC, Johnson LG, Yankaskas JR et al. Role of mutant CFTR in hypersusceptibility of cystic fibrosis patients to lung infection. *Science*. 1996;271(5245):64-67

- 76 Griffiths AL, Jansen K, Carlin JB, Grimwood K, Carzino R, Robinson PJ et al. Effects of segregation on an epidemic *Pseudomonas aeruginosa* strain in a cystic fibrosis clinic. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;171(9):1020-1025
- 77 Emerson J, Rosenfeld M, McNamara S, Ramsey B, Gibson RL. *Pseudomonas aeruginosa* and other predictors of mortality and morbidity in young children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*. 2002;34(2):91-100
- 78 Corey M, Farewell V. Determinants of mortality from cystic fibrosis in Canada, 1970-1989. *Am J Epidemiol*. 1996;143(10):1007-1017
- 79 Regelmann WE, Elliot GR, Warwick WJ, Clawson CC. Reduction of sputum *Pseudomonas aeruginosa* density by antibiotics improves lung function in cystic fibrosis more than do bronchodilators and chest physiotherapy alone. *Am Rev Respir Dis*. 1990;141(4 Pt 1):914-921
- 80 Fick RB Jr, Stillwell PC. Controversies in the management of pulmonary disease due to cystic fibrosis. *Chest*. 1989;95(6):1319-1327
- 81 Vic P, Ategbo S, Turck D, Husson MO, Launay V, Loeuille GA et al. Efficacy, tolerance, and pharmacokinetics of once daily tobramycin for *Pseudomonas* exacerbations in cystic fibrosis. *Arch Dis Child*. 1998;78(6):536-539
- 82 Nickel JC, Ruseska I, Wright JB, Costerton JW. Tobramycin resistance of *Pseudomonas aeruginosa* cells growing as a biofilm on urinary catheter material. *Antimicrob Agents Chemother*. 1985;27(4):619-624
- 83 Lietman PS. Pharmacokinetics of antimicrobial drugs in cystic fibrosis.  $\beta$ -lactam antibiotics. *Chest*. 1988;94(Suppl 2):S115-S120
- 84 Smith MJ, White LO, Bowyer H, Willis J, Hodson ME, Batten JC. Pharmacokinetics and sputum penetration of ciprofloxacin in patients with cystic fibrosis. *Antimicrob Agents Chemother*. 1986;30(4):614-616
- 85 Ramphal R, Lhermitte M, Filliat M, Roussel P. The binding of anti-pseudomonal antibiotics to macromolecules from cystic fibrosis sputum. *J Antimicrob Chemother*. 1988;22(4):483-490

- 86 de Groot AR, Smith AL. Antibiotic pharmacokinetics in cystic fibrosis. Differences and clinical significance. Clin Pharmacokinet. 1987;13(4):228-253
- 87 Touw DJ. Clinical pharmacokinetics of antimicrobial drugs in cystic fibrosis. Pharm World Sci. 1998;20(4):149-160
- 88 Smith AL, Fiel SB, Mayer-Hamblett N, Ramsey B, Burns JL. Susceptibility testing of *Pseudomonas aeruginosa* isolates and clinical response to parenteral antibiotic administration: lack of association in cystic fibrosis. Chest. 2003;123(5):1495-1502
- 89 Burns JL, Van Dalfsen JM, Shawar RM, Otto KL, Garber RL, Quan JM et al. Effect of chronic intermittent administration of inhaled tobramycin on respiratory microbial flora in patients with cystic fibrosis. J Infect Dis. 1999;179(5):1190-1196
- 90 Barbier F, Wolff M. Multi chez *Pseudomonas aeruginosa*. Vers l'impasse thérapeutique ? Med Sci. 2010;26(11):960-968
- 91 Ciofu O, Giwercman B, Pedersen SS, Høiby N. Development of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* during two decades of antipseudomonal treatment at the Danish CF Center. APMIS. 1194;102(9):674-680
- 92 Taccetti G, Campana S, Marianelli L. Multiresistant non-fermentative Gram-negative bacteria in cystic fibrosis patients: the results of an Italian multicenter study. Italian Group for Cystic Fibrosis microbiology. Eur J Epidemiol. 1999;15(1):85-88
- 93 Ceri H, Olson ME, Stremick C, Read RR, Morck D, Buret A. The Calgary Biofilm Device: new technology for rapid determination of antibiotic susceptibilities of bacterial biofilms. J Clin Microbiol. 1999;37(6):1771-1776
- 94 Shawar RM, MacLeod DL, Garber RL, Burns JL, Stapp JR, Clausen CR et al. Activities of tobramycin and six other antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients with cystic fibrosis. Antimicrob Agents Chemother. 1999;43(12):2877-2880
- 95 Barclay ML, Begg EJ, Chambers ST, Thornley PE, Pattermore PK, Grimwood K. Adaptive resistance to tobramycin in *Pseudomonas aeruginosa* lung infection in cystic fibrosis. J Antimicrob Chemother. 1996;37(6):1155-1164

- 96 Ramsey BW, Pepe MS, Quan JM, Otto KL, Montgomery AB, Williams-Warren J et al. Intermittent administration of inhaled tobramycin in patients with cystic fibrosis. Cystic Fibrosis Inhaled Tobramycin Study Group. *N Engl J Med.* 1999;340(1):23-30
- 97 Smith AL, Ramsey BW, Hedges DL, Hack B, Williams-Warren J, Webber A et al. Safety of aerosol tobramycin administration for 3 months to patients with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol.* 1989;7(4):265-271
- 98 Cheng K, Smyth RL, Govan JR, Doherty C, Winstanley C, Denning N et al. Spread of  $\beta$ -lactam-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in a cystic fibrosis clinic. *Lancet.* 1996;348(9028):639-642
- 99 Smith AL, Doershuk C, Goldmann D, Gore E, Hilman B, Marks M et al. Comparison of a  $\beta$ -lactam alone versus  $\beta$ -lactam and aminoglycoside for pulmonary exacerbation in cystic fibrosis. *J Pediatr.* 1999;134(4):413-421
- 100 Hodson ME, Roberts CM, Butland RJ, Smith MJ, Batten JC. Oral ciprofloxacin compared with conventional intravenous treatment for *Pseudomonas aeruginosa* infection in adults with cystic fibrosis. *Lancet.* 1987;1(8527):235-237
- 101 Shalit I, Stutman HR, Marks MI, Chartrand SA, Hilman BC. Randomized study of two dosage regimens of ciprofloxacin for treating chronic bronchopulmonary infection in patients with cystic fibrosis. *Am J Med.* 1987;82(4A):189-195
- 102 Schaad UB, Wedgwood-Krucko J, Guenin K, Buehlmann U, Kraemer R. Antipseudomonal therapy in cystic fibrosis: aztreonam and amikacin versus ceftazidime and amikacine administered intravenously followed by oral ciprofloxacin. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1989;8(10):858-865
- 103 Richard DA, Nousia-Arvanitakis S, Sollich V, Hampel BJ, Sommerauer B, Schaad UB. Oral ciprofloxacin vs. intravenous ceftazidime plus tobramycin in pediatric cystic fibrosis patients: comparison of antipseudomonas efficacy and assessment of safety with ultrasonography and magnetic resonance imaging. Cystic Fibrosis Study Group. *Pediatr Infect Dis J.* 1997;16(6):572-578
- 104 Nguyen D, Emond MJ, Mayer-Hamblett N, Saiman L, Marshall BC, Burns JL. Clinical response to azithromycin in cystic fibrosis correlates with *in vitro* effects on *Pseudomonas aeruginosa* phenotypes. *Pediatr Pulmonol.* 2007;42(6):533-541

- 105 Tateda K, Comte R, Pechere JC, Köhler T, Yamauchi K, Van Delden C. Azithromycin inhibits quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001;45(6):1930-1933
- 106 Hansen CR, Pressler T, Koch C, Høiby N. Long-term azithromycin treatment of cystic fibrosis patients with chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection; an observational cohort study. *J Cyst Fibros*. 2005;4(1):35-40
- 107 Saiman L, Marshall BC, Mayer-Hamblett N, Burns JL, Quittner AL, Cibene DA et al. Azithromycin in patients with cystic fibrosis chronically infected with *Pseudomonas aeruginosa*: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2003;290(13):1749-1756
- 108 Elliott RA, Thornton J, Webb AK, Dodd M, Tully MP. Comparing costs of home- versus hospital-based treatment of infections in adults in a specialist cystic fibrosis center. *Int J Technol Assess Health Care*. 2005;21(4):506-510
- 109 Vinks AA, Brimicombe RW, Heijerman HG, Bakker W. Continuous infusion of ceftazidime in cystic fibrosis patients during home treatment: clinical outcome, microbiology and pharmacokinetics. *J Antimicrob Chemother*. 1997;40(1):125-133
- 110 Pleasants RA, Wlaker TR, Samuelson WM. Allergic reactions to parenteral  $\beta$ -lactam antibiotics in patients with cystic fibrosis. *Chest*. 1994;106(4):1124-1128
- 111 Reed MD, Stern RC, O'Brien CA, Crenshaw DA, Blumer JL. Randomized double-blind evaluation of ceftazidime dose ranging in hospitalized patients with cystic fibrosis. *Antimicrob Agents Chemother*. 1987;31(5):698-702
- 112 Blumer JL, Saiman L, Konstan MW, Melnick D. The efficacy and safety of meropenem and tobramycin vs ceftazidime and tobramycin in the treatment of acute pulmonary exacerbations in patients with cystic fibrosis. *Chest*. 2005;128(4):2336-2346
- 113 Blumer JL, Stern RC, Klinger JD, Yamashita TS, Meyers CM, Blum A et al. Ceftazidime therapy in patients with cystic fibrosis and multiply-drug resistant *Pseudomonas*. *Am J Med*. 1985;79(2A):37-46
- 114 Permin H, Koch C, Høiby N, Christensen HO, Møller AF, Møller S. Ceftazidime treatment of chronic *Pseudomonas aeruginosa* respiratory tract infection in cystic fibrosis. *J Antimicrob Chemother*. 1983;12(Suppl A):S313-S323

- 115 Koch C, Hjelt K, Pedersen SS, Jensen ET, Jensen T, Lanng S et al. Retrospective clinical study of hypersensitivity reactions to aztreonam and six other  $\beta$ -lactam antibiotics in cystic fibrosis patients receiving multiple treatment courses. *Rev Infect Dis.* 1991;13(Suppl 7):S608-S611
- 116 Jensen T, Pedersen SS, Høiby N, Koch C. Safety of aztreonam in patients with cystic fibrosis and allergy to  $\beta$ -lactam antibiotics. *Rev Infect Dis.* 1991;13(Suppl 7):S594-S597
- 117 Ciofu N, Jensen T, Pressler T, Johansen HK, Koch C, Høiby N. Meropenem in cystic fibrosis patients infected with resistant *Pseudomonas aeruginosa* or *Burkholderia cepacia* and with hypersensitivity to  $\beta$ -lactam antibiotics. *Clin Microbiol Infect.* 1996;2(2):91-98
- 118 Mendelman PM, Smith AL, Levy J, Weber A, Ramsey B, Davis RL. Aminoglycoside penetration, inactivation, and efficacy in cystic fibrosis sputum. *Am Rev Respir Dis.* 1985;132(4):761-765
- 119 Wientzen R, Prestidge CB, Kramer RI, McCracken GH, Nelson JD. Acute pulmonary exacerbations in cystic fibrosis. A double-blind trial of tobramycin and placebo therapy. *Am J Dis Child.* 1980;134(12):1134-1138
- 120 Flume PA, Mogayzel PJ Jr, Robinson KA, Goss CH, Rosenblatt RL, Kuhn RJ et al. Cystic fibrosis pulmonary guidelines: treatment of pulmonary exacerbations. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009;180(9):802-808
- 121 Smyth A, Tan KH, Hyman-Taylor P, Mulheran M, Lewis S, Stableforth D et al. Once versus three times daily regimens of tobramycin treatment for pulmonary exacerbations of cystic fibrosis - the TOPIC study: a randomized controlled trial. *Lancet.* 2005;3065(9459):573-578
- 122 Michel BC. Antibacterial therapy in cystic fibrosis: a review of the literature published between 1980 and February 1987. *Chest.* 1988;94(Suppl 2):S129-S140
- 123 Ledson MJ, Gallagher MJ, Cowperthwaite C, Convery RP, Walshaw MJ. Four years' experience of intravenous colomycin in adult cystic fibrosis unit. *Eur Respir J.* 1998;12(3):592-594

- 124 Conway SP, Pond MN, Watson A, Etherington C, Robey HL, Goldman MH. Intravenous colistin sulphomethate in acute respiratory exacerbations in adult patients with cystic fibrosis. *Thorax*. 1997;52(11):987-993
- 125 Mirakhur A, Gallagher MJ, Ledson MJ, Hart CA, Walshaw MJ. Fosfomycin therapy for multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*. 2003;2(1):19-24
- 126 Geller DE. Aerosol antibiotics in cystic fibrosis. *Respir Care*. 2009;54(5):658-670
- 127 Dubus JC, Ravilly S. Aérosolthérapie dans la mucoviscidose. *Rev Mal Respir*. 2008 ;25(8):989-998
- 128 Vaincre la mucoviscidose. Les aérosols. [en ligne]. Disponible sur : [www.vaincrelamuco.org](http://www.vaincrelamuco.org) (consulté le 8 août 2011).
- 129 Kesser KC, Geller DE. New aerosol delivery devices for cystic fibrosis. *Respir Care*. 2009;54(6):754-767
- 130 NOVARTIS. Résumé des caractéristiques du produit. TOBI 300 mg/5 ml, solution pour inhalation par nébuliseur. [en ligne]. Disponible sur : <http://afssaps-prd.afssaps.fr> (consulté le 8 août 2011).
- 131 Wiesemann HG, Steinkamp G, Ratjen F, Bauernfeind A, Przyklenk B, Döring G et al. Placebo-controlled, double-blind, randomized study of aerosolized tobramycin for early treatment of *Pseudomonas aeruginosa* colonization in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*. 1998;25(2):88-92
- 132 SANOFI. Résumé des caractéristiques du produit. COLIMYCINE 1 MUI, poudre et solvant pour inhalation pour nébuliseur. [en ligne]. Disponible sur : <http://afssaps-prd.afssaps.fr> (consulté le 8 août 2011).
- 133 Jensen T, Pedersen SS, Garbe S, Heilmann C, Høiby N, Koch C. Colistin inhalation therapy in cystic fibrosis patients with *Pseudomonas aeruginosa* lung infection. *J Antimicrob Chemother*. 1987;19(6):831-838
- 134 Valerius NH, Koch C, Høiby N. Prevention of chronic *Pseudomonas aeruginosa* colonisation in cystic fibrosis by early treatment. *Lancet*. 1991;338(8769):725-726

- 135 Hodson ME, Gallagher CG, Govan JR. A randomised clinical trial of nebulised tobramycin or colistin in cystic fibrosis. *Eur Respir J*. 2002;20(3):658-664
- 136 Taccetti G, Campana S, Festini F, Mascherini M, Döring G. Early eradication therapy against *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis patients. *Eur Respir J*. 2005;26(3):458-461
- 137 Hansen CR, Pressler T, Høiby N. Early aggressive eradication therapy for intermittent *Pseudomonas aeruginosa* airway colonization in cystic fibrosis patients: 15 years experience. *J Cyst Fibros*. 2008;7(6):523-530
- 138 Szaff M, Høiby N, Flensburg EW. Frequent antibiotic therapy improves survival of cystic fibrosis patients with chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Acta Paediatr Scand*. 1983;72(5):651-657
- 139 GILEAD. Résumé des caractéristiques du produit. CAYSTON 75 mg, poudre et solvant pour inhalation par nébuliseur. [en ligne]. Disponible sur : <http://afssaps-prd.afssaps.fr> (consulté le 17 octobre 2011).
- 140 European Commission. Community register for medicinal products for human use. CAYSTON. [en ligne]. Disponible sur : <http://ec.europa.eu> (consulté le 17 octobre 2011).
- 141 Committee for Orphan Medicinal Products. Public summary of positive opinion for orphan designation of aztreonam lysine (inhalation use) for the treatment of gram negative bacterial lung infection in cystic fibrosis. [en ligne]. Disponible sur : [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Orphan\\_designation/2009/10/WC500005856.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Orphan_designation/2009/10/WC500005856.pdf) (consulté le 17 mai 2011).
- 142 Plosker GL. Aztreonam lysine for inhalation solution in cystic fibrosis. *Drugs*. 2010;70(14):1843-1855
- 143 Daddario MK, Hagerman JK, Klepser ME. Clinical perspective on aztreonam lysine for inhalation in patients with cystic fibrosis. *Infect Drug Resist*. 2010;3:123-132
- 144 Gibson RL, Retsch-Bogart GZ, Oermann C, Milla C, Pilewski J, Daines C et al. Microbiology, safety, and pharmacokinetics of aztreonam lysinate for inhalation in patients with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*. 2006;41(7):656-665

- 145 Retsch-Bogart GZ, Burns JL, Otto KL, Liou TG, McCoy K, Oermann C et al. A phase 2 study of aztreonam lysine for inhalation to treat patients with cystic fibrosis and *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Pediatr Pulmonol*. 2008;43(1):47-58
- 146 Retsch-Bogart GZ, Quittner AL, Gibson RL, Oermann CM, McKoy KS, Montgomery AB et al. Efficacy and safety of inhaled aztreonam lysine for airway *Pseudomonas* in cystic fibrosis. *Chest*. 2009;135(5):1223-1232
- 147 McKoy KS, Quittner AL, Oermann CM, Gibson RL, Retsch-Bogart GZ, Montgomery AB. Inhaled aztreonam lysine for chronic airway *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008;178(9):921-928
- 148 Oermann CM, Retsch-Bogart GZ, Quittner AL, Gibson RL, McKoy RS, Montgomery AB et al. An 18-month study of the safety and efficacy of repeated courses of inhaled aztreonam lysine in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*. 2010;45(11):1121-1134
- 149 Vaincre la mucoviscidose. Les premiers échos de la conférence européenne sur la mucoviscidose : résultats positifs pour l'étude de phase III de Cayston. [en ligne]. Disponible sur : <http://vaincrelamuco.org> (consulté le 19 août 2011).
- 150 ClinicalTrials.gov. Aztreonam lysine for *Pseudomonas* infection eradication study. [en ligne]. Disponible sur : <http://clinicaltrials.gov> (consulté le 8 octobre 2011).
- 151 Committee for Orphan Medicinal Products. Public summary of positive opinion on orphan designation. Levofloxacin hemihydrate for the treatment for the treatment of cystic fibrosis. [en ligne]. Disponible sur : [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Orphan\\_designation/2009/10/WC500006496.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Orphan_designation/2009/10/WC500006496.pdf) (consulté le 18 août 2011).
- 152 Sabet M, Miller CE, Nolan TG, Senekeo-Effenberger K, Dudley MN, Griffith DC. Efficacy of aerosol MP-376, a levofloxacin inhalation solution, in models of mouse lung infection due to *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53(9):3923-3928
- 153 Geller DE, Flume PA, Griffith DC, Morgan E, White D, Loutit JS et al. Pharmacokinetics and safety of MP-376 (levofloxacin inhalation solution) in cystic fibrosis subjects. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55(6):2636-2640

154 Geller DE, Flume PA, Staab D, Fisher R, Loutit JS, Conrad DJ. Levofloxacin inhalation solution (MP-376) in patients with cystic fibrosis with *Pseudomonas aeruginosa*. Am J Respir Crit Care Med. 2011;183(11):1510-1516

155 ClinicalTrials.gov. MP-376 (Aeroquin™, Levofloxacin for inhalation) in patients with cystic fibrosis. [en ligne]. Disponible sur : <http://clinicaltrials.gov> (consulté le 30 septembre 2011)

156 ClinicalTrials.gov. Trial of Aeroquin versus Tobramycin Inhalation Solution (TIS) in Cystic Fibrosis (CF) patients. [en ligne]. Disponible sur : <http://clinicaltrials.gov> (consulté le 30 septembre 2011)

157 Tsvikovskii R, Sabet M, Tarazi Z, Griffith DC, Lomovskaya O, Dudley MN. Levofloxacin reduces inflammatory cytokine levels in human bronchial epithelia cells: implications for aerosol MP-376 (levofloxacin solution for inhalation) treatment of chronic pulmonary infections. FEMS Immunol Med Microbiol. 2011;61(2):141-146

158 Cystic Fibrosis Foundation. Drug development pipeline. [en ligne]. Disponible sur : [www.cff.org](http://www.cff.org) (consulté le 5 septembre 2011).

159 MacLeod DL, Barker LM, Sutherland JL, Moss SC, Guergel JL, Kenney TF et al. Antibacterial activities of fosfomycin/tobramycin combination: a novel inhaled antibiotic for bronchiectasis. J Antimicrob Chemother. 2009;64(4):829-836

160 ClinicalTrials.gov. Study evaluating fosfomycin/tobramycin for inhalation in cystic fibrosis patients with *Pseudomonas aeruginosa* lung infection. [en ligne]. Disponible sur : <http://clinicaltrials.gov> (consulté le 23 août 2011).

161 Cystic Fibrosis Foundation. Clinical research information sheet. Inhaled fosfomycin/tobramycin for people with CF and *P. aeruginosa*. [en ligne]. Disponible sur : [www.cff.org](http://www.cff.org) (consulté le 23 août 2011).

162 Geller DE, Konstan MW, Smith J, Noonberg SB, Conrad C. Novel tobramycin inhalation powder in cystic fibrosis subjects: pharmacokinetics and safety. Pediatr Pulmonol. 2007;42(4):307-313

163 Geller DE, Weers J, Heuerding S. Development of an inhaled dry-powder formulation of tobramycin using PulmoSphere technology. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv.* 2011;24(4):175-182

164 Committee for Orphan Medicinal Products. Public summary of positive opinion for orphan drug designation of tobramycin (inhalation powder) for the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* lung infection in cystic fibrosis. [en ligne]. Disponible sur : [www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Orphan\\_designation/2009/10/WC500005641.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Orphan_designation/2009/10/WC500005641.pdf) (consulté le 27 mai 2011).

165 Committee for Medicinal Products for Human Use. Summary of opinion (initial authorisation) : TOBI Podhaler tobramycin. [en ligne]. Disponible sur : [www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Summary\\_of\\_positive\\_opinion\\_-\\_Initial\\_authorisation/human/002155/WC5000097022.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Summary_of_positive_opinion_-_Initial_authorisation/human/002155/WC5000097022.pdf) (consulté le 22 août 2011).

166 NOVARTIS. Résumé des caractéristiques du produit. TOBI Podhaler 28 mg, poudre pour inhalation en gélules. [en ligne]. Disponible sur : [http://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2011/20110824108108/anx\\_108108\\_fr.pdf](http://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2011/20110824108108/anx_108108_fr.pdf) (consulté le 25 août 2011).

167 Konstan MW, Geller DE, Minić P, Brockhaus F, Zhang J, Angyalosi G. Tobramycin inhalation powder for *P. aeruginosa* infection in cystic fibrosis: the EVOLVE trial. *Pediatr Pulmonol.* 2011;46:230-238

168 Konstan MW, Flume PA, Kappler M, Chiron R, Higgins M, Brockhaus F et al. Safety, efficacy and convenience of tobramycin inhalation powder in cystic fibrosis patients: the EAGER trial. *J Cyst Fibros.* 2011;10(1):54-61

169 ClinicalTrials.gov. A study of tobramycin inhalation powder from a modified manufacturing process versus placebo. [en ligne]. Disponible sur : <http://clinicaltrials.gov> (consulté le 24 août 2011).

170 ClinicalTrials.gov. Open label extension to bridging study CTBM100C2303. [en ligne]. Disponible sur : <http://clinicaltrials.gov> (consulté le 24 août 2011).

171 ClinicalTrials.gov. Second open label extension study to bridging study CTBM100C2303. [en ligne]. Disponible sur : <http://clinicaltrials.gov> (consulté le 24 août 2011).

172 Forest Laboratories Inc. Forest and Gruenthal announce Forest's acquisition of Gruenthal's cystic fibrosis franchise in Europe. [en ligne]. Disponible sur : [www.frx.com](http://www.frx.com) (consulté le 28 mai 2011).

173 Committee for Orphan Medicinal Products. Public summary of positive opinion for orphan designation of colistimethate sodium for the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* lung infection (including colonisation) in cystic fibrosis. [en ligne]. Disponible sur : [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Orphan\\_designation/2009/10/WC50006087.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Orphan_designation/2009/10/WC50006087.pdf) (consulté le 30 mai 2011).

174 Cystic Fibrosis Trust. CF today. [en ligne]. Disponible sur : [www.cftrust.org.uk/aboutcf/publications/cftoday/CFToday\\_Autumn06.pdf](http://www.cftrust.org.uk/aboutcf/publications/cftoday/CFToday_Autumn06.pdf) (consulté le 29 août 2011).

175 University of Birmingham, National Institute of Health Research. Colistimethate sodium powder for inhalation (Colobreathe) for *Pseudomonas aeruginosa* lung infection in cystic fibrosis. [en ligne]. Disponible sur : [www.nhsc-healthhorizons.org.uk](http://www.nhsc-healthhorizons.org.uk) (consulté le 28 mai 2011).

176 Committee for Orphan Medicinal Products. Public summary of positive opinion for orphan designation of ciprofloxacin (inhalation use) for the treatment of cystic fibrosis. [en ligne]. Disponible sur : [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Orphan\\_designation/2009/10/WC50006090.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Orphan_designation/2009/10/WC50006090.pdf) (consulté le 17 mai 2011).

177 ClinicalTrials.gov. Cipro Inhaler for cystic fibrosis children ages 6-12. [en ligne]. Disponible sur: <http://clinicaltrials.gov> (consulté le 5 septembre 2011).

178 ClinicalTrials.gov. Study to evaluate the safety and efficacy of ciprofloxacin (inhaled) in patients with cystic fibrosis. [en ligne]. Disponible sur: <http://clinicaltrials.gov> (consulté le 5 septembre 2011).

179 ARADIGM. ARD-3100 and 3150. [en ligne]. Disponible sur : [www.aradigm.com](http://www.aradigm.com) (consulté le 14 mai 2011).

180 Committee for Orphan Medicinal Products. Public summary of positive opinion for orphan designation of ciprofloxacin (liposomal) for the treatment of cystic fibrosis. [en ligne]. Disponible sur : [www.ema-](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Orphan_designation/2009/10/WC50006090.pdf)

europa.eu/docs/en\_GB/document\_library/Orphan\_designation/2009/10/WC500006091.pdf (consulté le 6 septembre 2011).

181 Committee for Orphan Medicinal Products. Public summary of positive opinion for orphan designation of amikacin sulfate (liposomal) for the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* lung infection in cystic fibrosis. [en ligne]. Disponible sur : [www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Orphan\\_designation/2009/10/WC500005716.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Orphan_designation/2009/10/WC500005716.pdf) (consulté le 10 septembre 2011).

182 Meers P, Neville M, Malinin V, Scotto AW, Sardaryan G, Kurumunda R et al. Biofilm penetration, triggered release and *in vivo* activity of inhaled liposomal amikacin in chronic *Pseudomonas aeruginosa* lung infections. *J Antimicrob Chemother.* 2008;61(4):859-868

183 Cystic Fibrosis Foundation. Clinical research information sheet. Amikacin for inhalation (Transave). [en ligne]. Disponible sur : <http://www.cff.org> (consulté le 20 septembre 2011).

184 ClinicalTrials.gov. Study to evaluate Arikace in cystic fibrosis patients with chronic infection due to *Pseudomonas aeruginosa*. [en ligne]. Disponible sur : <http://clinicaltrials.gov> (consulté le 20 septembre 2011).

185 ClinicalTrials.gov. Study to evaluate Arikace in cystic fibrosis patients with chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection. [en ligne]. Disponible sur : <http://clinicaltrials.gov> (consulté le 20 septembre 2011).

186 ClinicalTrials.gov. Extension study of Arikace in cystic fibrosis patients with chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection. [en ligne]. Disponible sur : <http://clinicaltrials.gov>. (consulté le 20 septembre 2011).

187 PRNewswire. INSMED INCORPORATED announces clinical hold on ARIKACE® phase 3 clinical trials. [en ligne]. Disponible sur: [www.prnewswire.com](http://www.prnewswire.com). (consulté le 10 septembre 2011).

188 Committee for Orphan Medicinal Products. Public summary of positive opinion for orphan designation of tobramycin (liposomal) for the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* lung infection in cystic fibrosis. [en ligne]. Disponible sur : [www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Orphan\\_designation/2009/10/WC500005637.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Orphan_designation/2009/10/WC500005637.pdf) (consulté le 16 septembre 2011).

- 189 Committee for Orphan Medicinal Products. Public summary of positive opinion for orphan designation of avian polyclonal IgY antibody against *Pseudomonas aeruginosa* for the treatment of cystic fibrosis. [en ligne]. Disponible sur : [www.ema.europa.eu/doc/en\\_GB/document\\_library/Orphan\\_designation/2009/10/WC500005839.pdf](http://www.ema.europa.eu/doc/en_GB/document_library/Orphan_designation/2009/10/WC500005839.pdf) (consulté le 24 septembre 2011).
- 190 Kollberg H, Carlander D, Olesen H, Wejåker PE, Johannesson M, Larsson A. Oral administration of specific Yolk antibodies (IgY) may prevent *Pseudomonas aeruginosa* infections in patients with cystic fibrosis : a phase I feasibility study. *Peditar Pulmonol.* 2003;35(6):433-440
- 191 Nilsson E, Amini A, Wretlind B, Larsson A. *Pseudomonas aeruginosa* infections are prevented in cystic fibrosis patients by avian antibodies binding *Pseudomonas aeruginosa* flagellin. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2007;856(1-2):75-80
- 192 Nilsson E, Larsson A, Olesen HV, Wejåker PE, Kollberg H. Good effects of IgY against *Pseudomonas aeruginosa* infections in cystic fibrosis patients. 2008;43:892-899
- 193 IMMUNSYSTEM I.M.S. AB. Drug candidate from hen's eggs can replace antibiotics. [en ligne]. Disponible sur : [www.immunsystem.com/CF/Pressrelease110511.pdf](http://www.immunsystem.com/CF/Pressrelease110511.pdf) (consulté le 17 mai 2011).
- 194 Baer M, Sawa T, Flynn P, Luehrsen K, Martinez D, Wiener-Kronish JP et al. An engineered human antibody Fab fragment specific for *Pseudomonas aeruginosa* PcrV antigen has potent antibacterial activity. *Infect Immun.* 2009;77(3):1083-1090
- 195 Dacheux D, Toussaint B, Richard M, Brochier G, Croize J, Attree I. *Pseudomonas aeruginosa* cystic fibrosis isolates induce rapid, type III secretion-dependant, but ExoU-independent, oncosis of macrophages et polymorphonuclear neutrophils. *Infect Immun.* 2000;68(5):2916-2924
- 196 Dacheux D, Goure J, Chabert J, Usson Y, Attree I. Pore-forming activity of type III system-secreted proteins leads to oncosis of *Pseudomonas aeruginosa*-infected macrophages. *Mol Microbiol.* 2001;40(1):76-85
- 197 KALOBIOUS PHARMACEUTICALS. Anti-PcrV program fact sheet (KB001). [en ligne]. Disponible sur : [www.kalobios.com/wordpress/wp-content/uploads/2011/09/Anti-PcrV-\\_KB001\\_Fact-Sheet\\_09311.pdf](http://www.kalobios.com/wordpress/wp-content/uploads/2011/09/Anti-PcrV-_KB001_Fact-Sheet_09311.pdf) (consulté le 30 mai 2011).

- 198 Milla CE, Accurso FJ, Chmiel JF, McCoy KS, Billings JL, Atkinson JJ et al. A phase I/II randomized, double-blind, placebo-controlled, single-dose, dose escalation study of KB001 in cystic fibrosis patients infected with *Pseudomonas aeruginosa*. American Thoracic Society's International Conference, May 2010. [en ligne]. Disponible sur: [www.kalobios.com/pibs/ATS\\_2010\\_14May2010.pdf](http://www.kalobios.com/pibs/ATS_2010_14May2010.pdf) (consulté le 30 mai 2011).
- 199 Bjarnsholt T, Givskov M. Quorum-sensing as a strategy for enhancing host defences against bacterial pathogens. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2007;362(1483):1213-1222
- 200 Bjarnsholt T, Jensen PØ, Burmolle M, Hentzer M, Haagensen JA, Hongen HP et al. *Pseudomonas aeruginosa* tolerance to tobramycin, hydrogen peroxide and polymorphonuclear leukocytes is quorum sensing dependant. *Microbiology.* 2005;15(12):373-383
- 201 Bjarnsholt T, Jensen PØ, Rasmussen TB, Christophersen L, Calum H, Hentzer M et al. Garlic blocks quorum sensing and promotes rapid clearing of pulmonary *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Microbiology.* 2005;151(Pt 12):3873-3880
- 202 Smyth AR, Cifelli PM, Ortori CA, Righetti K, Lewis S, Erskine P et al. Garlic as an inhibitor of *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing in cystic fibrosis - a pilot randomized controlled trial. *Pediatr Pulmonol.* 2010;45(4):356-362
- 203 ALGIPHARMA. OligoG for the treatment of cystic fibrosis. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.algipharma.com> (consulté le 17 mai 2011).
- 204 Committee for Orphan Medicinal Products. Public summary of positive opinion for orphan designation of alginate oligosaccharide (G-block) fragment for the treatment of cystic fibrosis. [en ligne]. Disponible sur : [www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Orphan\\_designation/2009/10/WC500005674.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Orphan_designation/2009/10/WC500005674.pdf) (consulté le 25 septembre 2011).
- 205 Hill KE, Khan S, Onsøyen E, Myrvold R, Dessen A, Walsh TR. Effect of alginate oligomers on biofilm disruption. North American Cystic Fibrosis Conference, October 2009. [en ligne]. Disponible sur : [www.algipharma.com/images/PublicRelations/Docs/Poster%20256%20for%20NACFC%202009-FINAL.pdf](http://www.algipharma.com/images/PublicRelations/Docs/Poster%20256%20for%20NACFC%202009-FINAL.pdf) (consulté le 17 mai 2011).

206 Myrvald R, Febbraro S, Smerud KT, Meland N, Knox SJ. Phase I clinical trial to evaluate the inhaled safety and tolerability of the unique antimicrobial OligoG administered to healthy subjects. ICAAC, 50<sup>th</sup> meeting, September 2010. [en ligne]. Disponible sur : [www.algipharma.com/images/Marketing/ICAAC%202010\\_F1-1971.pdf](http://www.algipharma.com/images/Marketing/ICAAC%202010_F1-1971.pdf) (consulté le 24 septembre 2011).

207 ALGIPHARMA. News. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.algipharma.com> (consulté le 1 octobre 2011).

**Nom – Prénom :** Gros Camille

**Titre de la thèse :** Traitement de l'infection à *Pseudomonas aeruginosa* dans la mucoviscidose : état actuel et perspectives

---

**Résumé de la thèse :**

La mucoviscidose est une maladie génétique mortelle due à une viscosité anormale des sécrétions muqueuses par suite d'une mutation sur le gène *CFTR* qui code pour la protéine CFTR, canal chlorure exprimé à la surface des cellules épithéliales. L'atteinte est multiviscérale avec une prédominance respiratoire. *Pseudomonas aeruginosa*, bactérie opportuniste, est responsable d'une infection respiratoire chez la grande majorité des patients. Cette infection évolue vers la chronicité et conduit généralement au décès. Les antibiotiques par voie orale, intraveineuse ou inhalée ont permis d'augmenter la durée de vie des patients. Néanmoins, dès lors que l'infection chronique est installée, l'éradication de la bactérie est impossible et les médecins sont de plus en plus confrontés aux résistances bactériennes. De nouveaux traitements antibactériens sont indispensables pour améliorer la prise en charge. Les traitements actuellement en développement sont essentiellement des formes inhalées d'antibiotiques largement utilisés qui amélioreront la qualité de vie des patients, mais ne permettront pas d'éliminer la bactérie. D'autres traitements plus innovants, comme une solution d'anticorps polyclonaux dirigés contre *Pseudomonas aeruginosa*, n'en sont qu'aux premiers stades de développement mais pourraient apporter un réel progrès thérapeutique en raison de leurs mécanismes d'action nouveaux.

---

**MOTS CLES**

MUCOVISCIDOSE – *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* – ERADICATION – INFECTION CHRONIQUE – ANTIBIOTIQUE

---

**JURY**

**PRESIDENT :** M. Alain REYNAUD, Professeur de Bactériologie  
Faculté de Pharmacie de Nantes

**ASSESEURS :** Mme Christine HERRENKNECHT, Professeur de Chimie Analytique  
Faculté de Pharmacie de Nantes  
Mme Michèle GERMAN, Professeur d'Immunologie  
Faculté de Pharmacie de Paris-Sud 11  
5, rue Jean-Baptiste Clément – 92296 Châtenay-Malabry

---