



BU bibliothèque Lyon 1

<http://portaildoc.univ-lyon1.fr>

Creative commons : Paternité - Pas d'Utilisation Commerciale -
Pas de Modification 2.0 France (CC BY-NC-ND 2.0)



<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.0/fr>

THESE

pour le DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement le 6 janvier 2015

par

M. CHHUY Stéphane

Né le 31 octobre 1989
À Lyon

Mycoses et infections bactériennes chez les patients atteints de mucoviscidose

JURY

M. BOIRON Patrick, Professeur des Universités

Mme RODRIGUEZ-NAVA Veronica, Maître de Conférences des Universités

M. BLAHA Didier, Maître de Conférences des Universités

M. TORNER Paul, Docteur en Pharmacie

Mme FIASSON Maryne, Docteur en Pharmacie

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

- Président de l'Université M. François-Noël GILLY
- Vice-Président du Conseil d'Administration M. Hamda BEN HADID
- Vice-Président du Conseil Scientifique M. Germain GILLET
- Vice-Président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire M. Philippe LALLE

Composantes de l'Université Claude Bernard Lyon 1

SANTE

- UFR de Médecine Lyon Est Directeur : M. Jérôme ETIENNE
- UFR de Médecine Lyon Sud Charles Mérieux Directeur : Mme Carole BURILLON
- Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques Directrice : Mme Christine VINCIGUERRA
- UFR d'Odontologie Directeur : M. Denis BOURGEOIS
- Institut des Techniques de Réadaptation Directeur : M. Yves MATILLON
- Département de formation et centre de recherche en Biologie Humaine Directeur : Anne-Marie SCHOTT

SCIENCES ET TECHNOLOGIES

- Faculté des Sciences et Technologies Directeur : M. Fabien DE MARCHI
- UFR de Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives (STAPS) Directeur : M. Yannick VANPOULLE
- Ecole Polytechnique Universitaire de Lyon (ex ISTIL) Directeur : M. Pascal FOURNIER
- I.U.T. LYON 1 Directeur : M. Christophe VITON
- Institut des Sciences Financières et d'Assurance (ISFA) Directeur : M. Nicolas LEBOISNE
- ESPE Directeur : M. Alain MOUGNIOTTE

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1
ISPB -Faculté de Pharmacie Lyon

LISTE DES DEPARTEMENTS PEDAGOGIQUES

**DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DE SCIENCES PHYSICO-CHIMIQUE ET PHARMACIE
GALENIQUE**

• **CHIMIE ANALYTIQUE, GENERALE, PHYSIQUE ET MINERALE**

Monsieur Raphaël TERREUX (Pr)
Monsieur Pierre TOULHOAT (Pr - PAST)
Madame Julie-Anne CHEMELLE (MCU)
Monsieur Lars-Petter JORDHEIM (MCU)
Madame Christelle MACHON (AHU)

• **PHARMACIE GALENIQUE -COSMETOLOGIE**

Madame Marie-Alexandrine BOLZINGER (Pr)
Madame Stéphanie BRIANCON (Pr)
Madame Françoise FALSON (Pr)
Monsieur Hatem FESSI (Pr)
Monsieur Fabrice PIROT (PU - PH)
Monsieur Eyad AL MOUAZEN (MCU)
Madame Sandrine BOURGEOIS (MCU)
Madame Ghania HAMDY-DEGOBERT (MCU-HDR)
Monsieur Plamen KIRILOV (MCU)
Monsieur Damien SALMON (AHU)

• **BIOPHYSIQUE**

Monsieur Richard COHEN (PU – PH)
Madame Laurence HEINRICH (MCU)
Monsieur David KRYZA (MCU – PH)
Madame Sophie LANCELOT (MCU - PH)
Monsieur Cyril PAILLER-MATTEI (MCU-HDR)
Madame Elise LEVIGOUREUX (AHU)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE PHARMACEUTIQUE DE SANTE PUBLIQUE

• **DROIT DE LA SANTE**

Monsieur François LOCHER (PU – PH)
Madame Valérie SIRANYAN (MCU - HDR)

• **ECONOMIE DE LA SANTE**

Madame Nora FERDJAOUI MOUMJID (MCU - HDR)
Madame Carole SIANI (MCU – HDR)
Monsieur Hans-Martin SPÄTH (MCU)

• **INFORMATION ET DOCUMENTATION**

Monsieur Pascal BADOR (MCU - HDR)

• **HYGIENE, NUTRITION, HYDROLOGIE ET ENVIRONNEMENT**

Madame Joëlle GOUDABLE (PU – PH)

- **DISPOSITIFS MEDICAUX**

Monsieur Gilles AULAGNER (PU – PH)
Monsieur Daniel HARTMANN (Pr)

- **QUALITOLOGIE – MANAGEMENT DE LA QUALITE**

Madame Alexandra CLAYER-MONTEMBAULT (MCU)
Monsieur Vincent GROS (MCU-PAST)
Madame Audrey JANOLY-DUMENIL (MCU-PH)
Madame Pascale PREYNAT (MCU PAST)

- **MATHEMATIQUES – STATISTIQUES**

Madame Claire BARDEL-DANJEAN (MCU)
Madame Marie-Aimée DRONNE (MCU)
Madame Marie-Paule PAULTRE (MCU - HDR)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE SCIENCES DU MEDICAMENT

- **CHIMIE ORGANIQUE**

Monsieur Pascal NEBOIS (Pr)
Madame Nadia WALCHSHOFER (Pr)
Monsieur Zouhair BOUAZIZ (MCU - HDR)
Madame Christelle MARMINON (MCU)
Madame Sylvie RADIX (MCU -HDR)
Monsieur Luc ROCHEBLAVE (MCU - HDR)

- **CHIMIE THERAPEUTIQUE**

Monsieur Roland BARRET (Pr)
Monsieur Marc LEBORGNE (Pr)
Monsieur Laurent ETTOUATI (MCU - HDR)
Monsieur Thierry LOMBERGET (MCU - HDR)
Madame Marie-Emmanuelle MILLION (MCU)

- **BOTANIQUE ET PHARMACOGNOSIE**

Madame Marie-Genève DIJOUX-FRANCA (Pr)
Madame Marie-Emmanuelle HAY DE BETTIGNIES (MCU)
Madame Isabelle KERZAON (MCU)
Monsieur Serge MICHALET (MCU)

- **PHARMACIE CLINIQUE, PHARMACOCINETIQUE ET EVALUATION DU MEDICAMENT**

Madame Roselyne BOULIEU (PU – PH)
Madame Magali BOLON-LARGER (MCU - PH)
Madame Christelle CHAUDRAY-MOUCHOUX (MCU-PH)
Madame Céline PRUNET-SPANNO (MCU)
Madame Catherine RIOUFOL (MCU- PH-HDR)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DE PHARMACOLOGIE, PHYSIOLOGIE ET TOXICOLOGIE

- **TOXICOLOGIE**

Monsieur Jérôme GUITTON (PU – PH)
Madame Léa PAYEN (PU-PH)
Monsieur Bruno FOUILLET (MCU)
Monsieur Sylvain GOUTELLE (MCU-PH)

• **PHYSIOLOGIE**

Monsieur Christian BARRES (Pr)
Monsieur Daniel BENZONI (Pr)
Madame Kiao Ling LIU (MCU)
Monsieur Ming LO (MCU - HDR)

• **PHARMACOLOGIE**

Monsieur Michel TOD (PU – PH)
Monsieur Luc ZIMMER (PU – PH)
Monsieur Roger BESANCON (MCU)
Madame Evelyne CHANUT (MCU)
Monsieur Nicola KUCZEWSKI (MCU)
Monsieur Olivier CATALA (Pr-PAST)
Madame Corinne FEUTRIER (MCU-PAST)
Madame Mélanie THUDEROZ (MCU-PAST)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DES SCIENCES BIOMEDICALES A

• **IMMUNOLOGIE**

Monsieur Jacques BIENVENU (PU – PH)
Monsieur Guillaume MONNERET (PU-PH)
Madame Cécile BALTER-VEYSSEYRE (MCU - HDR)
Monsieur Sébastien VIEL (AHU)

• **HEMATOLOGIE ET CYTOLOGIE**

Madame Christine TROUILLOT-VINCIGUERRA (PU - PH)
Madame Brigitte DURAND (MCU - PH)
Monsieur Olivier ROUALDES (AHU)

• **MICROBIOLOGIE ET MYCOLOGIE FONDAMENTALE ET APPLIQUEE AUX BIOTECHNOLOGIE INDUSTRIELLES**

Monsieur Patrick BOIRON (Pr)
Monsieur Jean FRENEY (PU – PH)
Madame Florence MORFIN (PU – PH)
Monsieur Didier BLAHA (MCU)
Madame Ghislaine DESCOURS (MCU-PH)
Madame Anne DOLEANS JORDHEIM (MCU-PH)
Madame Emilie FROBERT (MCU - PH)
Madame Véronica RODRIGUEZ-NAVA (MCU-HDR)

• **PARASITOLOGIE, MYCOLOGIE MEDICALE**

Monsieur Philippe LAWTON (Pr)
Madame Nathalie ALLIOLI (MCU)
Madame Samira AZZOUZ-MAACHE (MCU - HDR)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DES SCIENCES BIOMEDICALES B

• **BIOCHIMIE – BIOLOGIE MOLECULAIRE - BIOTECHNOLOGIE**

Madame Pascale COHEN (Pr)
Monsieur Alain PUISIEUX (PU - PH)
Monsieur Karim CHIKH (MCU - PH)
Madame Carole FERRARO-PEYRET (MCU - PH-HDR)
Monsieur Boyan GRIGOROV (MCU)
Monsieur Olivier MEURETTE (MCU)
Madame Caroline MOYRET-LALLE (MCU – HDR)
Madame Angélique MULARONI (MCU)
Madame Stéphanie SENTIS (MCU)
Monsieur Anthony FOURIER (AHU)

- **BIOLOGIE CELLULAIRE**

Madame Bénédicte COUPAT-GOUTALAND (MCU)
Monsieur Michel PELANDAKIS (MCU - HDR)

- **INSTITUT DE PHARMACIE INDUSTRIELLE DE LYON**

Madame Marie-Alexandrine BOLZINGER (Pr)
Monsieur Daniel HARTMANN (Pr)
Monsieur Philippe LAWTON (Pr)
Madame Sandrine BOURGEOIS (MCU)
Madame Marie-Emmanuelle MILLION (MCU)
Madame Alexandra MONTEMBault (MCU)
Madame Angélique MULARONI (MCU)
Madame Valérie VOIRON (MCU - PAST)

- **Assistants hospitalo-universitaires sur plusieurs départements pédagogiques**

Madame Emilie BLOND
Madame Florence RANCHON

- **Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)**

Madame Sophie ASSANT 85^{ème} section
Monsieur Benoit BESTGEN 85^{ème} section
Madame Marine CROZE 86^{ème} section
Madame Mylène HONORAT MEYER 85^{ème} section

Pr : Professeur

PU-PH : Professeur des Universités, Praticien Hospitalier

MCU : Maître de Conférences des Universités

MCU-PH : Maître de Conférences des Universités, Praticien Hospitalier

HDR : Habilitation à Diriger des Recherches

AHU : Assistant Hospitalier Universitaire

PAST : Personnel Associé Temps Partiel

ISPB - FACULTE DE PHARMACIE

CONCLUSIONS

THESE SOUTENUE PAR: M. CHHUY Stéphane

Avec 6196 sujets recensés en 2012, le nombre de patients atteints de mucoviscidose en France est en constante augmentation. Malgré un taux brut de mortalité passé de 20 à 8,9 pour 1 000 entre 1993 et 2012, les traitements sont toujours symptomatiques et la maladie reste incurable, affectant aussi bien les voies respiratoires que digestives et sexuelles.

Les bactéries les plus fréquemment rencontrées sont *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae* et *Pseudomonas aeruginosa*. *S. aureus* favoriserait la colonisation plus précoce du sujet par *P. aeruginosa* en renforçant la détection de récepteurs épithéliaux. *P. aeruginosa* est à l'origine du plus grand nombre d'infections respiratoires et concerne 95 % des patients en phase terminale. Dès l'identification et l'antibiogramme des bactéries connus, une antibiothérapie adaptée permet d'éviter le plus souvent la colonisation chronique des agents pathogènes ainsi que l'apparition de résistances innées (*Burkholderia cepacia*, mycobactéries, etc.) ou acquises (sécrétion d'un bio-film entre *P. aeruginosa* et son site d'infection, etc.).

Aspergillus fumigatus est l'espèce fongique la plus dangereuse avec une présence de 46 % chez les sujets atteints. Elle provoque des réactions d'hypersensibilité de type I, III ou IV responsables d'aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA), d'aspergillose pulmonaire invasive et semi-invasive et de bronchite aspergillaire. La plus courante est l'ABPA caractérisée par de la fièvre, des céphalées, une anorexie et à plus long terme, l'hyperactivité des voies aériennes pouvant aboutir à des bronchectasies tubulaires et même à des cas de fibroses pulmonaires.

De part une biodisponibilité pulmonaire insuffisante, l'éradication totale des bactéries est impossible. A l'heure actuelle, l'utilisation d'aérosols présente une meilleure biodisponibilité mais elle exclut malheureusement de nombreux principes actifs. De nouvelles voies thérapeutiques se développent actuellement avec l'utilisation de la squalamine qui posséderait une activité antibactérienne et antifongique, du lysinate d'aztréonam et de l'amikacine par inhalation et enfin de la tobramycine en poudre pour inhalation qui permettraient une meilleure destruction des bactéries.

Le Président de la thèse,

Nom :

Signature :

Vu et permis d'imprimer, Lyon, le

Vu, la Directrice de l'Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Faculté de Pharmacie

Pour le Président de l'Université Claude Bernard Lyon 1,

Professeure C. VINCIGUERRA

MYCOSES ET INFECTIONS
BACTERIENNES CHEZ LES
PATIENTS ATTEINTS DE
MUCOVISCIDOSE

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier M. Patrick Boiron, Professeur des universités pour m'avoir proposé ce sujet alliant mycologie et bactériologie chez les patients atteints de mucoviscidose. Je le remercie pour son accompagnement, son soutien, ses conseils et le temps qu'il m'a consacré.

Je remercie également mon directeur de thèse Mme. Rodríguez-Nava Veronica, Maître de Conférences des Universités d'avoir accepté de juger mon travail.

Merci à M. Blaha Didier, Maître de Conférences des Universités pour votre présence en tant que membre du jury. Merci pour votre amabilité et votre sens inné de l'enseignement tout au long de mes années universitaires.

Je remercie M. Torner Paul pour sa relecture et sa présence en tant que membre du jury. Je le remercie pour sa gentillesse et sa spontanéité.

Je remercie Mme. Fiasson Maryne pour sa relecture, son accompagnement, son soutien et sa bonne humeur.

*.... Je dédie cette thèse à
tous les patients atteints de
mucoviscidose et à
Princess V et son Doudou
pour m'avoir suscité cette
curiosité et cet intérêt pour
cette maladie ...*

Enfin je remercie mes parents, mes frères et sœurs, et toute ma famille, tous mes amis de Lyon I, (Merci K'U'ZAC pour ton amitié et ton soutien ses trois dernières années, Merci John pour ton amitié depuis LA toute première heure de cours, une pensée à toi Cin pour cette folle année de P1, merci à toi Col's, binôme de TP pour ton humeur délirante).

Merci à Jean-Louis B de m'épauler au quotidien dans cette affaire particulière en espérant que 2015 soit synonyme de victoire.

Merci à mes amis de LaMartin (YouYou, Julien, Emma, Antoine, Clément, Franck et tous les autres, 2015 va signer nos retrouvailles, Merci Emeline pour ta relecture et tes corrections d'orthographe).

Merci à tous mes collègues de KCLyon8 (Samy pour ces années très sportives, ton soutien et tous tes conseils, Hakim, David merci pour votre amitié et votre gentillesse), Merci à tous mes anciens collègues de la GPCC, petite pensée à Laure qui nous a quitté récemment, tu nous manque. Merci à tous mes collègues de travail pour votre bonne humeur de tous les jours (Merci Béné pour ta contribution).

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	20
GENERALITES.....	23

PARTIE I : ETAT DES LIEUX DE LA MUCOVISCIDOSE **..... 24**

I- HISTORIQUE	25
----------------------------	-----------

II- EPIDEMIOLOGIE.....	26
-------------------------------	-----------

III- PHYSIOPATHOLOGIE	30
------------------------------------	-----------

1°) Gène CFTR.....	30
2°) Différentes classes de mutations.....	30
3°) Relations génotype-phénotype	31
4°) Protéine CFTR.....	32
5°) Conséquence de la mutation du gène CFTR	34

IV- SEMEIOLOGIE	35
------------------------------	-----------

1°) Atteinte respiratoire	35
1-A°) Atteinte respiratoire chez l'adulte	35
1-B°) Atteinte respiratoire chez l'enfant	36
2°) Manifestations digestives	37
2-A°) Atteinte gastro-intestinale.....	37
2-B°) Atteinte hépatobiliaire	38
3°) Manifestations génitales	40
4°) Autres manifestations	41
4-A°) Atteinte cardiaque.....	41
4-B°) Manifestations oto-rhino-laryngologiques (ORL).....	41
4-C°) Manifestations ostéoarticulaires	42

V- DIAGNOSTIC ET DEPISTAGE.....	42
--	-----------

1°) Diagnostic clinique	42
2°) Test de la sueur	43
2-A°) Définition.....	43
2-B°) Mise en œuvre	44
2-C°) Exploitation des résultats.....	45
2-D°) Mesure de la différence de potentielle nasale.....	47
2-E°) Trois types de mucoviscidoses	47
2-F°) Dépistage prénatal.....	47
2-G°) Dépistage néonatal	50

PARTIE II : INFECTIONS BACTERIENNES	52
I- INTRODUCTION	53
II- EPIDEMIOLOGIE	54
III- <i>Staphylococcus aureus</i>	56
1°) Description.....	56
2°) Stratégie thérapeutique	57
IV- <i>Haemophilus influenzae</i>	59
1°) Description.....	59
2°) Stratégie thérapeutique	60
V- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	61
1°) Description.....	61
2°) Antibiothérapie	64
2-A°) Traitement de l'infection aiguë	64
2-B°) Traitement de l'infection chronique	64
2-C°) Traitement d'entretien	65
VI- <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	66
1°) Description.....	66
2°) Stratégie thérapeutique	66
VII- <i>Burkholderia cepacia</i>	67
1°) Description.....	67
2°) Stratégie thérapeutique	68
VIII- <i>Achromobacter xylosoxidans</i>	70
1°) Description.....	70
2°) Stratégie thérapeutique	70
IX- Mycobactéries	70

PARTIE III : INFECTIONS FONGIQUES 73

I- INTRODUCTION74

II- EPIDEMIOLOGIE74

III- LES CHAMPIGNONS FILAMENTEUX.....75

1°) <i>Aspergillus</i>	75
1-A°) Description	75
1-B°) Pathologies dues aux <i>Aspergillus</i>	76
Aspergillose broncho-pulmonaire allergique	77
Aspergillose pulmonaire invasive	79
Aspergillose pulmonaire chronique nécrosante.....	80
Bronchite aspergillaire.....	81
2°) Autres champignons filamenteux	82
2-A°) Espèces du complexe <i>Scedosporium</i>	82
2-B°) <i>Exophiala dermatitidis</i>	83
2-C°) <i>Acroghialophora usigoru</i>	84
2-D°) <i>Penicillium</i> sp	84

IV- Espèces de *Candida*85

PARTIE IV : NOUVELLES VOIES THERAPEUTIQUES. 87

I- INTRODUCTION88

II- SQUALAMINE89

1°) Présentation	89
2°) Activités antimicrobiennes	90

II- ANTIBIOTHERAPIE INHALEE.....92

1°) Lysinate d'aztréonam en solution pour inhalation	93
2°) Amikacine liposomale pour inhalation.....	95
3°) Tobramycine en poudre pour inhalation.....	96

CONCLUSION.....98

LISTE DES ABREVIATIONS

°C : Degré Celsius
AA : Acide Aminé
ABCD : Atrésie Bilatérale des Canaux Déférents
ABPA : Aspergillose Broncho-Pulmonaire Allergique
ADN : Acide DésoxyriboNucléique
ADP : Adénosine DiPhosphate
AFDPHE : Association Française pour le Dépistage et la Prévention des Handicaps de l'Enfant
AMM : Autorisation de Mise sur le Marché
AMPc : Adénosine MonoPhosphate Cyclique
API : Aspergillose Pulmonaire Invasive
APSI : Aspergillose Pulmonaire Semi-Invasive
ARNm : Acide Ribonucléique Messenger
ASMR : Amélioration du Service Médical Rendu
ATP : Adénosine TriPhosphate
C1G : Céphalosporines de Première Génération
C2G : Céphalosporines de Deuxième Génération
CDC : Centers for Diseases Control and Prevention
CF : Cystic Fibrosis
CFF : Cystic Fibrosis Foundation
CFTR : Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator
Cl : Chlore
Cl⁻ : Ion chlorure
CMI : Concentration Minimale Inhibitrice
CNAMTS : Caisse Nationale d'Assurance Maladie et des Travailleurs Salariés
COMP : COmité des Médicaments orPhelins
CRCM : Centre de Ressources et de Compétences pour la Mucoviscidose
DAS : Dérivé AminoStéroïdien
DNN : Dépistage Néonatal
ECBC : Examen Cytobactériologique des Crachats
ELISA : Enzyme Linked Immunosorbent Assay
ENaC : Canaux épithéliaux sodiques
g : Gramme
IgE : Immunoglobuline de type E
IgG : Immunoglobuline de type G
IL-8 : Interleukine 8
IV : IntraVeineux
K : Potassium
Kcal : Kilocalorie
Kd : Kilodalton
kg : Kilogramme
LPS : LipoPolySaccharide
mA : Milliampère
méti-R : Souche résistante à la méticilline
méti-S : Souche sensible à la méticilline

mg : Milligramme
mL : Millilitre
mmol.L⁻¹ : Millimole par litre
MNT : Mycobactéries atypiques ou Non Tuberculeuses
N : Concentration équivalente
Na : Sodium
NaCl : Chlorure de sodium
NO : Oxyde nitrique
ORCC : Canaux chlore à rectification sortante
ORL : Oto-Rhino-Laryngologique
PKa : Protéine Kinase A
PKc : Protéine Kinase C
R : Domaine cytoplasmique de Régulation
RFM : Registre Français de la Mucoviscidose
SARM : *Staphylococcus Aureus* Résistant à la Méricilline
SASM : *Staphylococcus Aureus* Sensible à la Méricilline
SFN1 : Site de fixation des nucléotides 1
SFN2 : Site de fixation des nucléotides 2
SOID : Syndrome d'Obstruction Intestinale Distale
TIR : Trypsine ImmunoRéactive
TM1 : Domaine TransMembranaire hydrophobe 1
TM2 : Domaine TransMembranaire hydrophobe 2
µm : Micromètre
USA : Etats-Unis d'Amérique
VEMS : Volume Expiratoire Maximal par Seconde
VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : répartition de l'incidence de la mucoviscidose dans le monde.	26
Tableau II : fréquence en pourcentage des différents types de mutations du gène CFTR.	30
Tableau III : composition du sperme chez un individu sain et un individu atteint de mucoviscidose.	41
Tableau IV : caractéristiques cliniques de la mucoviscidose validée par Conférence de Consensus de la CFF (Cystic Fibrosis Foundation).	46
Tableau V : principaux antibiotiques anti-staphylococciques utilisés per os dans la mucoviscidose.	57
Tableau VI : principaux antibiotiques anti-staphylococciques utilisés par voie IV dans la mucoviscidose.	59
Tableau VII : dosage de la ciprofloxacine et de la colistine en fonction de l'ECBC.....	65
Tableau VIII : 17 espèces du complexe <i>B. cepacia</i> et leur répartition dans les 9 génomovars.....	67
Tableau IX : CMI de différents antibiotiques face à <i>B. cepacia</i>	69
Tableau X : données cliniques et épidémiologiques de certains agents pathogènes parmi les patients atteints de mucoviscidose	71
Tableau XI : posologie des antibiotiques actifs sur les mycobactéries.	72
Tableau XII : classification des stades d'ABPA..	78
Tableau XIII : CMI en mg / L des DASs sur de souches de référence et sur <i>A.fumigatus</i>	91
Tableau XIV : comparaison de l'activité antifongique in vitro des DASs contre les antifongiques de référence sur des souches cliniques de levures.	91
Tableau XV : activité antifongique des DASs contre des souches cliniques de champignons filamenteux isolées de patients atteints de mucoviscidose.....	92

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : nombre de patients vus dans l'année et pourcentage d'adultes, évolution depuis 1992 (RFM 2012).....	27
Figure 2 : nombre et pourcentage cumulé de patients selon l'âge au diagnostic N = 5801 (effectif des patients pour lesquels l'âge au diagnostic est connu) (RFM 2012).	28
Figure 3 : prévalence de la mucoviscidose par département (nombre de patients pour 100 000 habitants (RFM 2012).....	29
Figure 4 : structure de la protéine CFTR.....	32
Figure 5 : régulation du canal ORCC et ENaC par la protéine CFTR.	37
Figure 6 : déformation du doigt et des ongles chez un individu atteint d'hippocratisme digital.....	37
Figure 7 : doigts « en baguettes de tambour » chez une femme de 33 ans.....	37
Figure 8 : prélèvement des villosités chorales par voie transabdominale	49
Figure 9 : prélèvement de liquide amniotique par amniocentèse	49
Figure 10 : arbre décisionnel du dépistage néonatal de la mucoviscidose en 2008	51
Figure 11 : répartition de germes en 2001 et 2012 (RFM 2012).....	54
Figure 12 : bactéries cliniquement importantes, par âge	55
Figure 13: <i>S. aureus</i> au microscope électronique (10 000 X).....	56
Figure 14 : <i>H. influenzae</i> et <i>S. pneumoniae</i> dans une même cavité nasale	60
Figure 15 : <i>P. aeruginosa</i> (coloration de Gram, hémoculture)	61
Figure 16 : distribution des espèces de <i>Burkholderia</i> aux USA.....	68
Figure 17 : structure moléculaire de la squalamine	89
Figure 18 : un requin du genre <i>Squalus acanthias</i>	89
Figure 19 : structures moléculaires possibles des différents DAS.....	90
Figure 20 : représentation plane de l'aztréonam	93
Figure 21 : représentation de Haworth de la tobramycine.....	96

INTRODUCTION

L'origine du terme mucoviscidose vient de la quantité importante de mucus visqueux dans de nombreux organes. La communauté scientifique internationale traite amplement de cette pathologie sous le nom de fibrose kystique du pancréas. Dans tous les cas, il en résulte une exocrinopathie généralisée qui touche les glandes séreuses et les glandes à sécrétion séreuse (1). Elle est habituellement évoquée lors de l'association d'une bronchopathie obstructive chronique, d'une insuffisance pancréatique exocrine ainsi qu'une concentration en ion chlorure (Cl⁻) supérieure à 60 mmol.L⁻¹ dans la sueur (2).

Malgré les avancées faites dans la prise en charge de la maladie et une compréhension plus approfondie de la physiopathologie, cette maladie demeure incurable, et les traitements uniquement symptomatiques. Les patients atteints de mucoviscidose ont une espérance de vie variable, dépendant de l'accès aux soins ainsi que de la prise en charge, plus particulièrement nutritionnelle et respiratoire. Plus le repérage de la maladie est précoce, meilleure est la prise en charge. Durant l'année 2002, la France fut le premier pays à adopter le dépistage néonatal (DNN) systématique de la mucoviscidose et elle a largement contribué à améliorer le pronostic de la maladie (3).

Les conséquences symptomatologiques de cette pathologie sont très dégradantes avec une forte atteinte respiratoire et les complications qu'elles causent sont redoutables. Chez les patients atteints de mucoviscidose, les mycoses et infections bactériennes sont aujourd'hui les deux problèmes majeurs. Par exemple, *Pseudomonas aeruginosa* provoque une accélération de l'inflammation pulmonaire via l'augmentation de la quantité d'interleukine 8 (IL-8) et de leucocytes (4). *Aspergillus fumigatus* peut quant à lui provoquer une aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA) pouvant provoquer des lésions pulmonaires chroniques (5). De plus, dès lors que l'affection devient chronique, les antibiotiques antibactériens et antifongiques couramment utilisés parviennent difficilement à la destruction totale de ces micro-organismes et l'émergence de souches multi-résistantes appelle à l'utilisation de nouvelles molécules. L'utilisation d'antibiotiques inhalés est l'une des solutions permettant d'avoir une activité thérapeutique plus importante avec une toxicité systémique limitée.

L'objet de cette thèse est de définir l'impact et le rôle des bactéries et champignons dans la mucoviscidose. Pour cela, il conviendra tout d'abord de replacer la mucoviscidose dans son contexte historique et épidémiologique pour ensuite évoquer les mécanismes permettant le développement des conditions nécessaires à l'implantation de la maladie. Les symptômes qui en débouchent ainsi que le diagnostic de cette maladie concluront cette première partie. Ensuite, nous définirons dans une deuxième et troisième partie la place des bactéries et des champignons dans cette maladie ainsi que leurs traitements respectifs. Enfin, nous traiterons des nouvelles voies thérapeutiques avec le développement de la squalamine et de l'antibiothérapie inhalée.

GENERALITES

La mucoviscidose est la maladie héréditaire la plus grave des populations d'origine caucasienne. C'est une maladie génétique létale qui se transmet selon le mode autosomique récessif (seuls les sujets homozygotes sont malades). Elle atteint les deux sexes et se déclare à des âges variables, c'est-à-dire aussi bien à la naissance que lors de l'enfance ou même à l'âge adulte (dans les cas peu sévères). Son apparition est due à une ou des mutations concernant le gène codant pour la protéine CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator), canal responsable des échanges eau / électrolytes.

Le nombre de mutations est variable et la répartition de la protéine CFTR est très différente d'un individu à un autre. L'expression clinique de la mucoviscidose est ainsi très variable et varie également d'un sujet à un autre. Ainsi, pour une importante partie des patients atteints, elle ne serait découverte qu'à l'âge adulte. De nos jours, 6 000 patients seraient aujourd'hui atteints de mucoviscidose en France dont 40 % d'adultes (6). Ces mutations aboutiraient en aval à un mucus insuffisamment hydraté et épais menant principalement à une inflammation ainsi qu'à une obstruction des bronches et conduisant à l'apparition d'un milieu favorable aux surinfections broncho-pulmonaires. En effet, de nombreuses espèces de bactéries tels que *Staphylococcus aureus* et *P. aeruginosa* (atteignant environ 45 % des patients (7)) colonisent les voies respiratoires, amenant à une insuffisance respiratoire la plus souvent mortelle.

Malgré le fait qu'il n'existe aujourd'hui aucun traitement curatif, plusieurs traitements sont proposés. La kinésithérapie et le sport permettent ainsi d'évacuer le surplus de mucus et l'antibiothérapie d'éliminer les bactéries présentes dans celui-ci. Des enzymes pancréatiques peuvent également être utilisées pour contrecarrer la mauvaise digestion induite par la maladie. Enfin, une greffe pulmonaire peut être envisagée en cas de situation critique.

PARTIE I : ETAT DES LIEUX DE **LA MUCOVISCIDOSE**

I- HISTORIQUE

L'origine de la mucoviscidose se situerait « aux confins de la Turquie et de l'Irak » il y a environ 5 000 ans. Au Moyen Age, il était déjà d'usage de parler du « baiser salé » que pouvait faire la mère sur le front de son enfant dont on connaissait le destin tragique (8). Un vieux dicton d'Europe du nord était ainsi bien connu en Europe : « Malheur à l'enfant chez qui un baiser sur le front a un goût salé. Il est ensorcelé et doit bientôt mourir » (9). En 1606, le médecin espagnol Alonso y de los Ruyzes de Fonteca énonçait que les enfants ensorcelés avaient souvent le front salé (10). Ernst Ludwig Rochholz, historien allemand publiera dans son almanach en 1857 : « L'enfant mourra bientôt dont le front embrassé est salé (11). »

Les premières descriptions médicales de la mucoviscidose furent rapportées par l'anatomiste néerlandais Pieter Pauw en 1595 qui décrit un pancréas élargi, tuméfié, et blanc (8). Vinrent ensuite les descriptions de Karel Rokitansky au XIX^{ème} siècle puis de Archibald Garrod au XX^{ème} siècle. Mais il aura fallu patienter jusqu'en 1936 pour que le pédiatre suisse Guido Fanconi décrive plus précisément la maladie pour la première fois en qualifiant la maladie de fibrose kystique du pancréas avec bronchectasie. En 1938, la pédiatre américaine Dorothy H. Anderson participa grandement à la description de la maladie de part les autopsies qu'elle pratiquait sur les nourrissons. Elle remarqua ainsi les lésions histologiques spécifiques du pancréas, ainsi que des lésions pulmonaires et digestives. En 1943, le docteur Sydney Farber, médecin chef à Boston introduisit le terme de mucoviscidosis (12) permettant de mettre majoritairement en cause le mucus visqueux dans cette maladie, contrairement aux termes employés par Dorothy H. Andersen qui étaient plus « centrés » sur le pancréas. Le terme de Dorothy H. Andersen est majoritairement utilisé dans les pays anglo-saxons sous le terme de fibrose cystique du pancréas alors que le terme mucoviscidose est plutôt utilisé en France.

En 1946, la publication des travaux de Dorothy H. Andersen et Richard C. Hodges amenèrent à penser au caractère héréditaire selon le mode de transmission récessif (13). Il faudra attendre jusqu'en 1948 avec une « vague de chaleur » importante pour que le docteur Paul di Sant'Agnesse découvre et décrive en 1953 que les patients hyperthermiques atteints avaient pour la plupart une composition anormale en

électrolytes avec une perte de Cl, de sodium (Na) et de potassium (K) (14) (15). Ceci expliquerait donc l'excès de Cl et de Na dans la sueur des enfants atteints. Les débuts du diagnostic nommé « test de la sueur » naquirent, mesurant l'excès en ions Na et Cl dans la sueur, et en 1959, Gibson et Cooke conceptualisèrent ce test de la sueur par iontophorèse à la pilocarpine (16). Dans les années 1980, les scientifiques firent un grand pas dans la compréhension de la maladie. En effet, Knowles *et al.* démontrèrent en 1981 un potentiel électrique plus électronégatif dans la muqueuse nasale des patients atteints (17). Ils montrèrent ainsi une réabsorption importante du Na provoquant la déshydratation à la surface de l'épithélium. L'augmentation d'électrolytes dans la sueur fut démontrée en 1983 par Quinton également touché par la mucoviscidose qui décrivit le défaut de perméabilité des Cl des glandes sudoripares (18). En 1989 Lap-Chi Tsui, Francis Collins et Jack Riordan isolèrent le gène impliqué dans la mucoviscidose (19). Ils l'appelèrent « Cystic Fibrosis » (CF), codant pour une protéine transmembranaire composée de 1480 acides aminés (AA) appelé CFTR. Ainsi, les chercheurs s'intéressèrent aux différentes mutations responsables de la mucoviscidose car c'est ce gène qui est muté.

II- EPIDEMIOLOGIE

La mucoviscidose est diversement répartie dans le monde avec une incidence pouvant passer de 1 / 3 200 à 1 / 32 400 selon la région étudiée comme le montre le tableau I.

Ethnies	Incidence
Américains du nord	1 / 3 200
Européens	1 / 4 500
Moyen-Orient	1 / 4 400
Hispaniques	1 / 8 500
Noirs américains et africains	1 / 20 000
Asiatiques	1 / 32 400

Tableau I : répartition de l'incidence de la mucoviscidose dans le monde (20).

Ainsi, il existe très peu de patients atteints chez la population noire (américains et africains) et encore moins chez les asiatiques. Inversement, c'est la plus fréquente des maladies génétiques héréditaires graves dans la population euro-péenne. Selon le Registre Français de la Mucoviscidose (RFM) 2012, 6 196 patients étaient atteints de la mucoviscidose (21). Ce nombre est estimé équivalent à 90 % de la totalité de la population atteinte en France. Comme le montre la figure 1, ce nombre est constamment en progression depuis 1992.

De même, la figure 1 prouve que le pourcentage d'adultes tend aujourd'hui à 50 % ; la moyenne de vie des patients a ainsi augmenté ces dernières années et la maladie concerne aujourd'hui aussi bien les enfants que les adultes (3 099 enfants, et 3 046 adultes) (22).

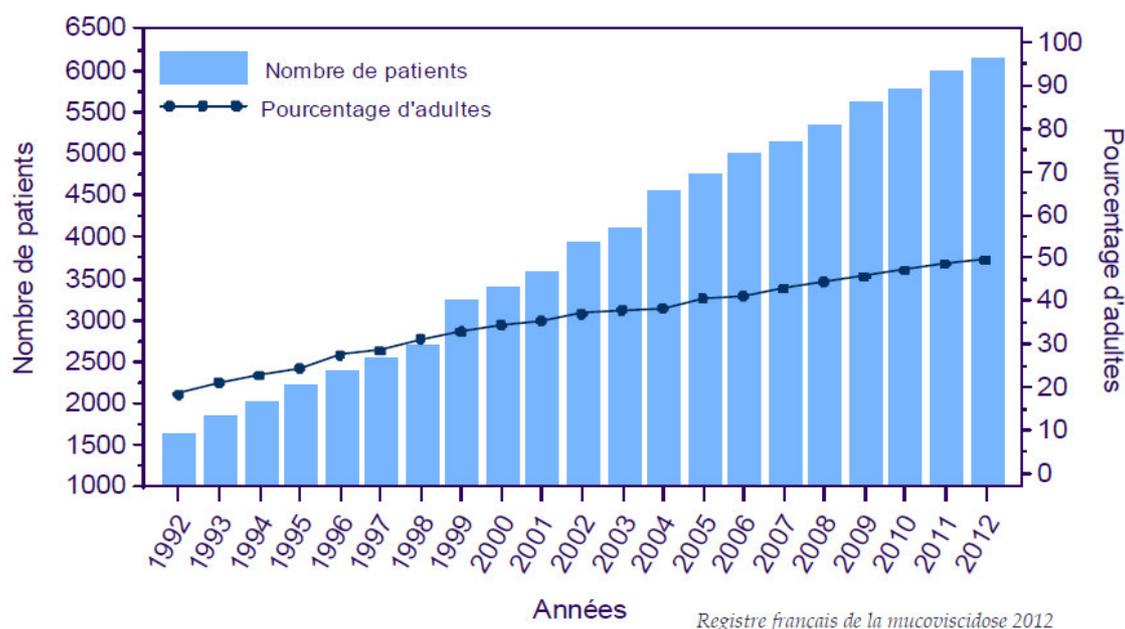


Figure 1 : nombre de patients vus dans l'année et pourcentage d'adultes, évolution depuis 1992 (RFM 2012) (22).

Concernant le sexe, la mucoviscidose touche autant les garçons que les filles (la mucoviscidose est cependant plus grave chez les femmes) avec 3 171 hommes vus dans l'année 2012 contre 2 974 femmes (22). Il convient de noter que l'âge moyen est de 19,2, l'âge médian de 17 et l'âge maximum de 86 (22).

De plus, les scientifiques remarquent de bons résultats dus aux progrès faits en matière de pronostic ces 25 dernières années. Ainsi, la population de plus de 40 ans a quadruplé de 2002 à 2012 passant de 119 à 469. Le taux brut de mortalité pour 1 000 est, quant à lui, passé de 20 en 1993 à 8,9 en 2012. De même, l'âge médian au décès a reculé, passant de 9 ans en 1981-1985 (10 ans chez les garçons versus 8 ans chez les filles, $p = 0,02$) à 21 ans (22 ans chez les garçons versus 20 ans chez les filles, non significatif) en 2001-2005 (23).

Concernant l'âge diagnostic, la figure 2 souligne que plus de 80 % des patients sont diagnostiqués avant 5 ans.

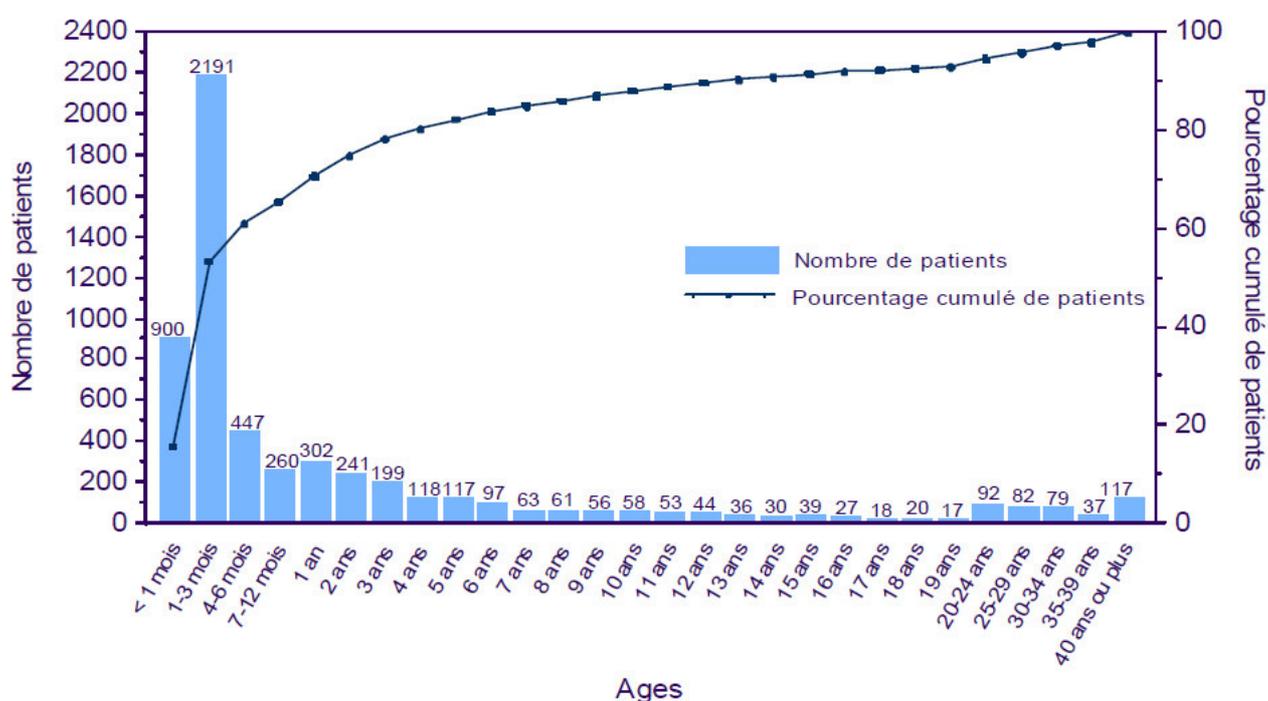


Figure 2 : nombre et pourcentage cumulé de patients selon l'âge au diagnostic N = 5801 (effectif des patients pour lesquels l'âge au diagnostic est connu (RFM 2012) (24).

La prévalence de la mucoviscidose en France est d'environ 6 000 cas soit 9,5 pour 100 000 habitants mais comme peut le montrer la figure 3, la répartition est assez disparate pouvant aller jusqu'à 15,3 patients pour 100 000 habitants.

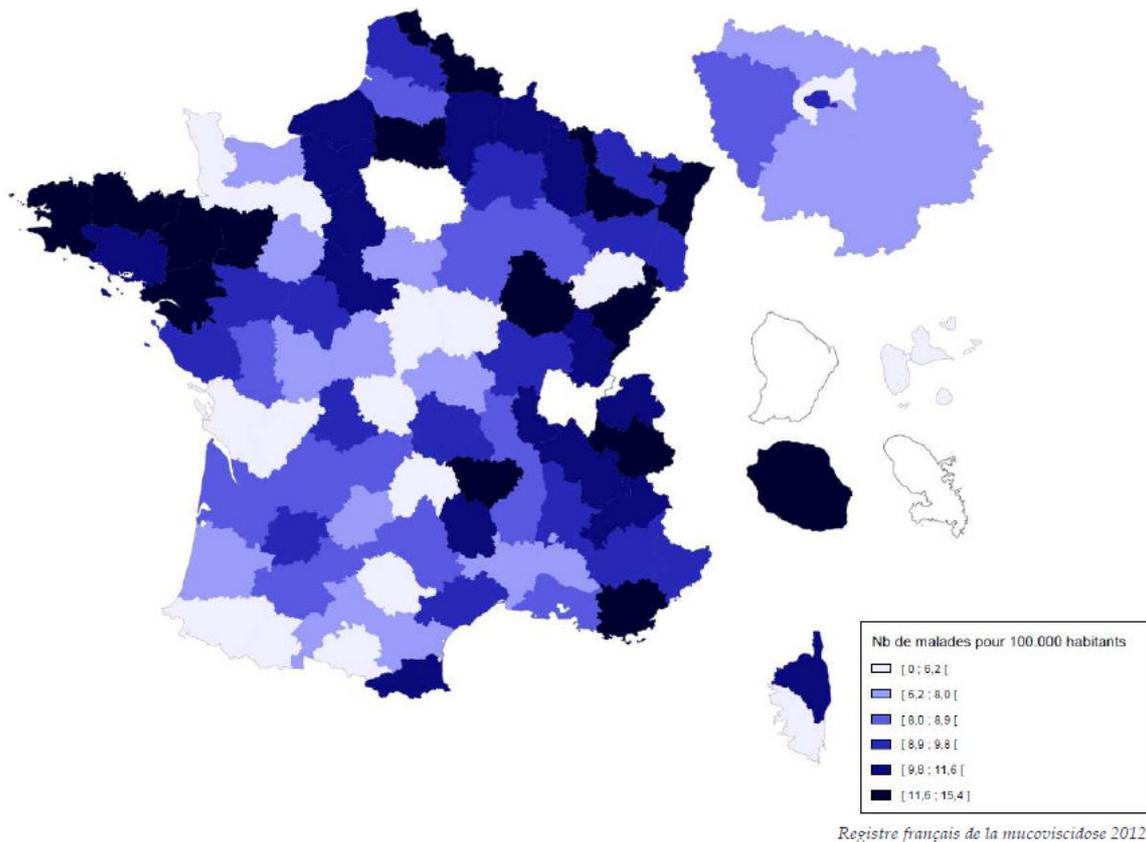


Figure 3 : prévalence de la mucoviscidose par département (nombre de patients pour 100 000 habitants (RFM 2012) (25).

Il existe ainsi une fréquence plus importante dans certaines régions comme la Bretagne. Cette forte incidence serait due, d'une part à des mariages consanguins beaucoup plus fréquents et d'autre part à une fertilité beaucoup plus forte chez les porteurs sains. Enfin, certains scientifiques pensent même que l'hétérozygotie apporterait certains avantages, « en terme de résistance accrue ». En effet Baxter *et al.* (1988) soutiennent l'hypothèse selon laquelle les sujets hétérozygotes atteints par des entérotoxines bactériennes provocatrices de diarrhées seraient protégés contre une perte importante hydrique et saline (26). De plus, en 1994, Gabriel démontra qu'après une exposition à des toxines cholériques, les souris hétérozygotes pour le gène CF avaient moins de diarrhée en opposition aux souris normales (27).

III- PHYSIOPATHOLOGIE

1°) Gène CFTR

Le gène CFTR est le gène qui code pour la protéine CFTR. Il a été découvert en 1985 et a été cloné en 1989 par Tsui *et al.* au Canada. Il possède 250 000 paires de bases réparties en 27 exons et codant un acide ribonucléique messager (ARNm) de 6,5 kb. Il est localisé sur le locus 7q31.2 dans la région q31.2 du bras long du chromosome 7. Les patients atteints de mucoviscidose peuvent avoir 2 mutations différentes sur les 2 allèles (hétérozygote) ou bien 1 même mutation sur les 2 allèles du gène (homozygote).

2°) Différentes classes de mutations

De nos jours, plus de 1900 mutations du gène CFTR sont répertoriées et peuvent avoir différentes origines. La mutation delta F508 est la mutation la plus fréquente et représente plus de 2 / 3 des cas. Elle se traduit par la délétion de la phénylalanine en position 5083. Il existe parmi ces 1900 mutations différents types indiqués dans le tableau II.

Type de mutations	Fréquence en %
Faux-sens	40,12
Insertions ou délétions décalant le cadre de lecture	15,91
Mutations entraînant un défaut d'épissage	11,60
Mutations non-sens	8,26
Courtes insertions / délétions	1,95
Larges insertions / délétions	2,57
Mutations du promoteur	0,77
Variations de séquence	13,80
Inconnus	5,03

Tableau II : fréquence en pourcentage des différents types de mutations du gène CFTR
(28).

Les conséquences de ces mutations du gène CFTR sont classées en six groupes (29) :

- 1- Les mutations altérant la synthèse de la protéine CFTR induisant soit une absence totale de la production de la protéine soit une absence partielle provoquant une synthèse de protéines aberrantes, tronquées. Ces « mutants » amèneraient un défaut de conductance au Cl du canal CFTR.
- 2- Les mutations modifiant le processus de maturation cellulaire (comme la mutation DF508) et / ou « du trafic intracellulaire du CFTR » amenant à la destruction de la protéine malformée ou bien à une plus faible quantité exprimée au sein de la membrane apicale.
- 3- Les mutations modifiant la régulation du canal Cl, plus précisément au niveau des sites de fixations de nucléotides qui auraient plus de mal à fixer l'adénosine triphosphate (ATP). Cela entraînerait un défaut d'ouverture de la protéine CFTR.
- 4- Les mutations modifiant la conduction transmembranaire du canal Cl / CFTR et sa sélectivité ionique.
- 5- Les mutations modifiant la stabilité de l'ARNm du gène CFTR entraînant une diminution de la quantité en protéines fonctionnelles.
- 6- Les mutations modifiant la stabilité de la protéine mature. Elles sont le plus souvent dues à une délétion de la partie C-terminale.

3°) Relations génotype-phénotype

Le phénotype est largement conditionné par le type de mutation en cause. Ainsi, avec des mutations de classe I, II et III on aura des conséquences phénotypiques beaucoup plus sévères qu'avec des mutations de classe IV et V (30).

La fonction pancréatique est intimement liée au génotype. Les formes de mucoviscidose avec insuffisance pancréatique sont ainsi plus souvent associées à des mutations de classe I, II et III (31). En revanche, la fonction pulmonaire semble beaucoup moins rattachée au génotype. Le phénotype de la mucoviscidose serait donc également influencé par d'autres mécanismes encore inconnus (gènes modificateurs, traitements, environnement) (32).

4°) Protéine CFTR

La protéine CFTR représentée par la figure 4 est une protéine transmembranaire de 1480 AA dont le poids moléculaire est de 170 Kd sous sa forme mature et fonctionnelle entièrement glycosylée. Cette protéine est située au pôle apical des cellules épithéliales de plusieurs régions anatomiques : le tractus intestinal, les canaux pancréatiques, les canaux déférents, l'épididyme, les cryptes intestinales, les glandes salivaires, la vésicule biliaire, les tubules du rein, les glandes sudoripares, les voies aériennes supérieures (nasales) et enfin l'appareil pulmonaire (trachée, bronches).

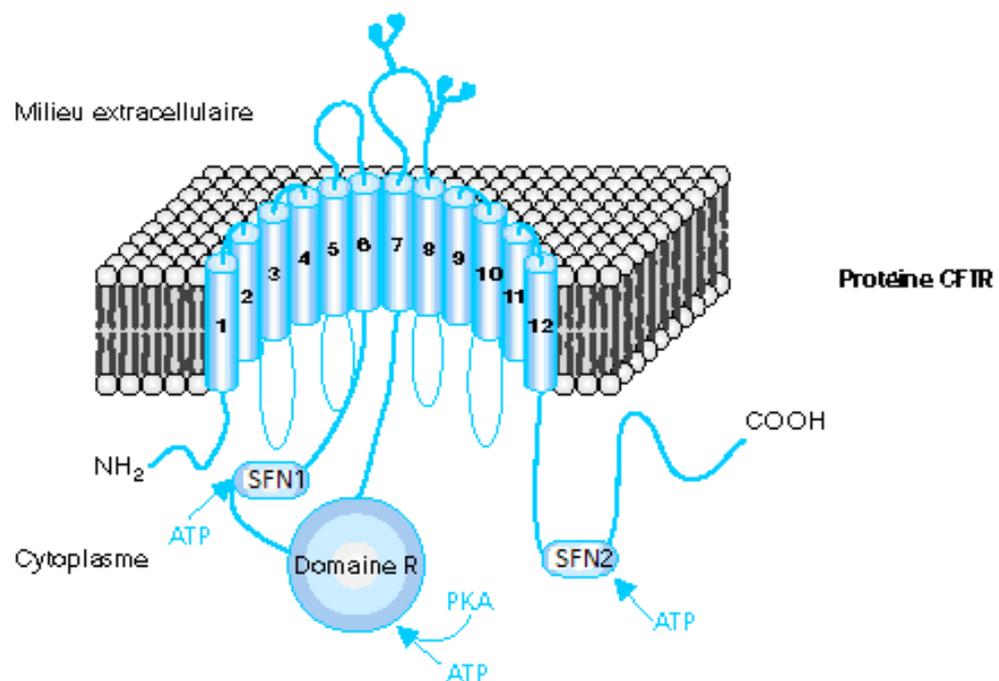


Figure 4 : structure de la protéine CFTR (33).

Elle est composée de cinq domaines (34) :

- deux domaines transmembranaires hydrophobes (TM1, TM2) comportant chacun 6 régions transmembranaires en hélice alpha.
- deux domaines hydrophiles qui sont des sites de fixations des nucléotides (SFN1 et SFN2) capables de fixer l'ATP mais aussi de l'hydrolyser.
- un domaine cytoplasmique de régulation (R) qui a à sa surface des sérines phosphorylables par les protéines kinases A et C (PKa, PKc).

Cette protéine agit en tant que « canal Cl » et sécrète donc du Cl. Elle est activée par la phosphorylation d'une ou plusieurs sérines régulatrices du domaine R contrôlé par l'adénosine monophosphate cyclique (AMPc) (lui-même activé par PKa). Cette phosphorylation permet de fixer l'ATP sur un site de fixation des nucléotides (SFN) ce qui va provoquer la modification de la conformation de la protéine CFTR et son ouverture. L'ouverture de la protéine serait même stabilisée si toutes les sérines sont phosphorylées. En effet un ATP se fixerait dans ce cas là sur un deuxième SFN. La fermeture de la protéine CFTR s'effectue par l'hydrolyse d'un ATP en adénosine diphosphate (ADP) sur les domaines de fixation des nucléotides en N-terminal et C-terminal. Si cette opération s'effectue lorsque la protéine CFTR est partiellement phosphorylée on aura fermeture du canal, si elle s'effectue lorsque la protéine est totalement phosphorylée on aura une forme ouverte mais instable.

La protéine CFTR possède une fonction régulatrice. Comme le montre la figure 5, l'épithélium des bronches est en effet constitué d'autres canaux sécrétant du Cl comme les canaux chlore à rectification sortante (ORCC) ainsi que des canaux épithéliaux sodiques (ENaC) absorbant du Na (35).

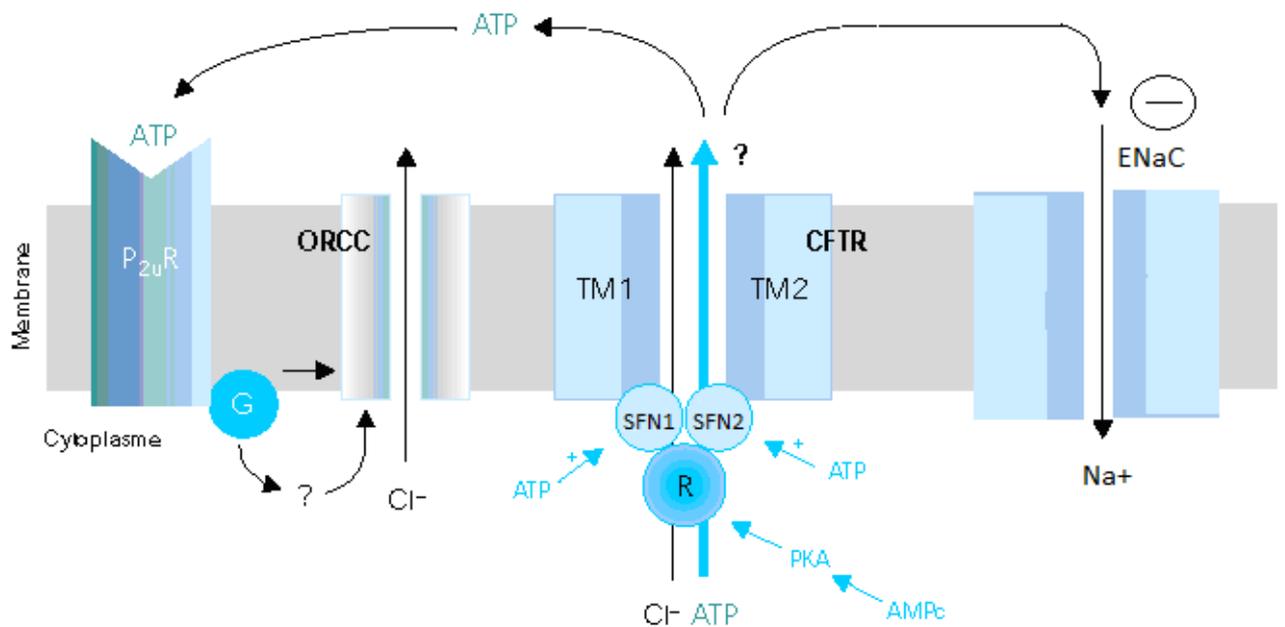


Figure 5 : régulation du canal ORCC et ENaC par la protéine CFTR (33).

L'activation de la protéine CFTR entraîne une sortie d'ATP de la cellule. Cette molécule d'ATP se fixe ensuite à un récepteur prurinergique qui permettra l'ouverture

de l'ORCC par le biais d'une protéine G active (34). Cela déboucherait ainsi à une libération de Cl. Cette sortie d'ATP entraîne également une régulation de l'ENaC qui provoque une diminution de l'entrée de Na dans la cellule épithéliale.

5°) Conséquence de la mutation du gène CFTR

La régulation de l'ENaC et l'activation de l'ORCC permettent de contrôler les flux ioniques entre les régions bronchiques sus et sous épithéliales. Ceci est fondamental pour maintenir un mucus bronchique hydraté et donc une clairance mucociliaire efficace permettant une bonne élimination des agents infectieux vers le système digestif.

Dans les cellules bronchiques et en l'absence de mucoviscidose, le gradient électrochimique provoqué par la protéine CFTR permet le passage de Cl vers l'extérieur de la cellule. Le film liquidien des cellules épithéliales bronchiques reste ainsi hydraté et riche en Cl. En revanche, l'absence de protéine CFTR fonctionnelle entraîne d'une part une rétention de Cl dans la cellule et d'autre part une hyperabsorption de Na et d'eau (29). Cette réabsorption importante d'eau induite provoque ainsi une déshydratation du mucus due à une hyperviscosité des sécrétions épithéliales. Cela entraîne l'accumulation du mucus qui permet l'obstruction des petites voies aériennes et une implantation plus facile des infections broncho-pulmonaires accompagnée d'une inflammation locale chez les patients atteints de mucoviscidose. Par ailleurs, il existe une notion de « cercle vicieux » dans cette maladie (36). Le mucus visqueux est favorable à l'inflammation et aux infections, ce qui provoque « une hyperplasie des cellules glandulaires de l'épithélium respiratoire » qui se traduit de nouveau par un excès de mucus.

En revanche, il se produit le contraire dans les cellules sudoripares. Les gradients sont inversés. L'absence de protéine CFTR fonctionnelle entraîne ainsi une sécrétion en chlorure de sodium et en eau.

De plus, la non fonctionnalité de cette protéine provoque un manque d'acidification dans le réseau trans-golgien ce qui provoque des anomalies au niveau

des sialyltransférases et les sulfotransféraes. Ceci pose un problème en terme de défense immunitaire bronchique. En effet, ces enzymes sont nécessaires à la maturation des mucines bronchiques qui ont un rôle important dans la défense antibactérienne.

IV- SEMEIOLOGIE

Les diverses implantations de la protéine CFTR au sein de l'organisme confèrent à la mucoviscidose une grande diversité clinique.

1°) Atteinte respiratoire

1-A°) Atteinte respiratoire chez l'adulte

Chez les patients atteints de mucoviscidose, il existe une atteinte des voies respiratoires hautes. Ainsi, les scientifiques observent une obstruction nasale et une rhinorrhée dans 90 à 100 % des cas, des polypes nasaux dans 40-50 % des cas et enfin une surdité de transmission dans 8 à 55 % des cas (29).

Concernant le tractus respiratoire bas, il existe des complications pulmonaires qui sont les plus graves en termes de morbidité et de mortalité (pronostic vital en jeu). L'atteinte est précoce dans plus de 80 % des cas (29). Elle survient ainsi majoritairement dès les douze premiers mois de vie (29).

L'atteinte pulmonaire est progressive. Elle débute d'abord par une toux sèche quinteuse chronique ou récurrente avec des vomissements possibles. Cette toux laisse ensuite place à une toux grasse avec des sécrétions épaisses plus ou moins purulentes évacuées par des crachats. Les bronches s'inflament; c'est une bronchite chronique induisant des lésions de l'arbre bronchique qui se traduisent par des bronchectasies.

L'évolution s'établit par poussées qu'on appelle exacerbations provoquées par des infections broncho pulmonaires provoquant ainsi une recrudescence des toux et expectorations. En effet, le liquide de surface bronchique est un environnement favorable à la prolifération des bactéries et champignons. Cependant, la présence d'une

prolifération massive de bactéries et de nombreuses lésions du parenchyme pulmonaire peut parfois laisser le patient asymptomatique.

Il existe également un phénomène de sensibilisation aux pneumallergènes après dégradation de l'épithélium, entraînant une hyper réactivité bronchique chez plus de 20 % des patients (34). Au cours du temps, les patients ressentent une diminution de la tolérance à l'effort, ainsi qu'une dyspnée et une asthénie pouvant être liée à une perte d'appétit associé à une perte de poids. Les complications de l'atteinte respiratoire peuvent aussi être marquées par des formes atypiques d'asthme mais aussi par des douleurs thoraciques et des cas de pneumothorax ou d'hémoptysies.

A chaque poussée, les fonctions respiratoires sont dégradées, et les conséquences sont parfois irréversibles. Ceci amène le patient à un stade plus avancé avec une insuffisance respiratoire pouvant même aller jusqu'au cœur pulmonaire chronique. Celui-ci se traduit par une dyspnée d'effort aboutissant à une cyanose périphérique ainsi que des maux de têtes et des insomnies. Il peut s'accompagner d'une aggravation des lésions pulmonaires avec formation d'abcès et de kystes conduisant à terme à une insuffisance respiratoire majeure représentant 90 % des décès (37).

1-B°) Atteinte respiratoire chez l'enfant

Il est difficile d'imputer des bronchites ou bronchiolites à la mucoviscidose chez un enfant dans la mesure où la fréquence des infections virales est très importante chez celui-ci. La mucoviscidose sera ainsi suspectée seulement en cas de bronchites ou bronchiolites sévères ou à caractère récidivant. La symptomatologie de la mucoviscidose chez le nourrisson et l'enfant reste modeste avec un encombrement bronchique (râles bronchiques diffus plus ou moins crépitants), une respiration sifflante, des sibilants (plus rares et parfois liés à une obstruction bronchiques par des sécrétions épaisses), et une toux déclenchée par l'effort, ou l'air froid. Ces enfants peuvent présentés une dystrophie thoracique (avec un thorax déformé en carène par une projection vers l'avant du sternum) et une cyphose dorsale. Vers l'âge de 5 ans, la maladie peut évoluer et il peut apparaître un hippocratisme digital illustré par les figures 6 et 7 qui se définit par une déformation des doigts et des ongles.



Figure 6 : déformation du doigt et des ongles chez un individu atteint d'hippocratisme digital (38).



Figure 7 : doigts « en baguettes de tambour » chez une femme de 33 ans (39) .

2°) Manifestations digestives

L'absence de protéine CFTR conduit à des sécrétions muqueuses trop visqueuses. Celles-ci obstruent les canaux excréteurs de nombreux organes comme le pancréas, le foie et la bile.

2-A°) Atteinte gastro-intestinale

L'iléus méconial est présent chez 15 % des patients atteints de mucoviscidose (35). C'est le symptôme le plus précoce de la mucoviscidose et correspond à l'occlusion

de l'intestin par un méconium (premières selles du nouveau-né habituellement évacuées dans les heures suivant la naissance) trop visqueux qui bouche l'iléon distal. En l'absence d'évacuation du méconium dans les 48 heures après la naissance, il peut surgir des ballonnements, une distension abdominale ainsi que des vomissements.

Le syndrome d'obstruction intestinale distale (SOID) est caractérisé par l'iléus méconial tardif. Celui-ci est spécifique à la mucoviscidose. Il est observé chez 40 % des patients dont 80 % après 18 ans (35). Les enfants ont des douleurs abdominales, des selles peu nombreuses et une diminution de l'appétit pouvant mener à l'anorexie. Concernant les adultes, ceux-ci observent une constipation augmentant avec l'âge associée à des douleurs abdominales chroniques. Cette constipation peut être associée à un prolapsus rectal. Il apparaît chez 20 % des patients le plus souvent dans les 36 premiers mois après la naissance et notamment lors de l'apprentissage de la propreté (34).

Concernant les atteintes gastriques, il existe une fréquence plus élevée de reflux gastro-œsophagien au cours de la mucoviscidose. Celui-ci pourrait être du d'une part à une mauvaise alimentation et d'autre part à une surpression thoraco-abdominale lors de la toux. Ainsi, trois nouveau-nés sur 4 et 20 % des patients ont des reflux gastro-œsophagiens et brûlures épigastriques (34) (dont les symptômes ne diminuent pas avec le temps) provoquant en aval des troubles alimentaires et l'aggravation des symptômes respiratoires.

Le dernier symptôme gastro intestinal est le mucocele appendiculaire. Celui-ci est une spécificité de la mucoviscidose et se définit par l'obstruction de l'appendice par du mucus épais. Il peut ainsi se manifester par des douleurs abdominales, des vomissements et de la fièvre.

2-B°) Atteinte hépatobiliaire

L'atteinte hépatobiliaire touche près de 20 % des patients atteints de mucoviscidose (36) et l'insuffisance hépatocellulaire représente la deuxième cause de mortalité (40). Celle-ci est due à un dysfonctionnement de la protéine CFTR qui

provoque l'augmentation de la viscosité de la bile. Les canaux biliaires sont bouchés, ce qui empêche l'évacuation de la bile vers la vésicule biliaire. Cela amène à une cirrhose biliaire entraînant de nombreux effets indésirables tels que l'hypertension de la veine porte, l'apparition de varices œsophagiennes, des hémorragies digestives, une stéatose et enfin un épanchement de liquide dans l'abdomen. La réduction de l'élimination hépatique provoque ainsi un ictère rétionnel néonatal (avec une coloration en jaune de la peau et des muqueuses). Cette cirrhose est qualifiée de biliaire focale et est retrouvée chez 20 à 40 % des enfants et 20 à 70 % des adultes (36) et évolue le plus souvent en cirrhose biliaire multifocale.

2-C°) Atteinte pancréatique

La mucoviscidose est communément appelée par les anglo-saxons : fibrose kystique du pancréas dans la mesure où elle induit l'occlusion des canaux pancréatiques par du mucus visqueux, provoquant des lésions pancréatiques pouvant aller jusqu'à la fibrose puis à une insuffisance pancréatique.

L'insuffisance pancréatique exocrine est ainsi présente dans 87 % des cas en France (35) mais ne s'observe que lorsque plus de 90 % du pancréas est détruit. Les enzymes digestives pancréatiques comme la lipase et la chimotrypsine qui servent à la digestion sont mal excrétées dans la lumière intestinale et provoquent ainsi :

- une perte énergétique par défaut d'absorption des graisses (acides gras essentiels, cholestérol, triglycérides) amenant une stéatorrhée (diarrhée chronique grasseuse) accompagnée de ballonnements abdominaux. La perte calorique fécale est environ de 2 Kcal / g de selles (29). L'enfant a ainsi un retard statut pondéral malgré un appétit conservé contrairement à l'adulte chez qui il existe souvent une malnutrition.
- une diminution de l'absorption des vitamines liposolubles (A, D, E et K) et hydrosolubles (B12) avec en outre une baisse de vitamine D responsable d'une diminution de la minéralisation de l'os avec un risque de rachitisme et de fracture.

La fibrose pancréatique peut atteindre les îlots de Langerhans et déclencher une atteinte pancréatique endocrine pouvant entre autre se compliquer de rétinopathies et néphropathies. Les cellules bêta des îlots de Langerhans sont détruites amenant un

défaut de sécrétion d'insuline et donc d'un diabète insulino-dépendant (qui diffère du diabète de type 1 auto-immun). Le diabète atteint ainsi entre 13 et 16 % des patients. Sa prévalence est faible chez l'enfant (4,6 % des enfants de 10 à 14 ans atteints) mais augmente avec l'âge (29,1 % des adultes de 25 à 29 ans atteints) et le sexe féminin (36).

3°) Manifestations génitales

Un retard de la puberté des deux sexes s'observe souvent chez les patients atteints de mucoviscidose. Cela peut être dû à un problème de nutrition mais également à l'absence de l'expression de la protéine CFTR au niveau de l'hypothalamus qui est indispensable à la sécrétion de la gonadolibérine (35) (elle-même essentielle à la stimulation des gonadotrophines et donc à la production des hormones sexuelles).

Chez la femme, la protéine CFTR est présente dans l'utérus et son expression dans l'endomètre est régulée par l'œstrogène (augmentation) et la progestérone (diminution) (35). L'absence de son expression provoque l'épaississement de la glaire cervicale associée à une augmentation de sa viscosité induite par un manque d'eau (36) (34). Il est plus difficile pour le spermatozoïde de traverser le col de l'utérus amenant une hypofertilité chez la femme. La durée de vie des patients croissant fortement, ce problème est de plus en plus fréquent. Cependant, les grossesses demeurent possibles malgré le risque respiratoire.

Chez les hommes atteints de mucoviscidose, 98 % sont stériles (41). En effet, la protéine CFTR s'exprime dans les spermatozoïdes (matures ou en cours de maturation) et son absence diminuerait la capacitation des spermatozoïdes indispensable à la fécondation. De plus, les chercheurs remarquèrent dès 1990 que les patients atteints d'une atrésie bilatérale des canaux déférents (ABCD) présentèrent le plus souvent des mutations bien précises du gène CFTR. La fréquence de ces mutations est très variable avec au moins une mutation chez 36 à 86 % des hommes (29). Les testicules demeurent fonctionnelles mais l'ABCD empêche les spermatozoïdes de se mélanger aux sécrétions des vésicules séminales et de la prostate. Cela entraîne ainsi une diminution de la quantité de spermatozoïdes dans l'éjaculat pouvant aller de

l'oligospermie à l'aspermie. De plus, la composition du sperme au moment de l'éjaculation est modifiée comme on peut le voir sur le tableau III.

	Normal	Mucoviscidose
pH	> 8	< 7
Acide citrique	400-1 500 mg / 100 mL	> 2 000 mg / 100 mL
Phosphatase acide	140-290 µg / mL	760-1 140 µg / mL
Fructose	250-720 mg / 100mL	30-80 mg / 100mL

Tableau III : composition du sperme chez un individu sain et un individu atteint de mucoviscidose (42).

4°) Autres manifestations

4-A°) Atteinte cardiaque

Des mutations du gène CFTR peuvent provoquer certains symptômes cardiaques dans la mesure où la protéine CFTR est présente au niveau du cœur. Ces symptômes sont minimes et peu graves. Cependant, l'insuffisance respiratoire peut amener à une atteinte cardiaque car elle provoque le plus souvent une hypoxie induisant une vasoconstriction pulmonaire (35). Le patient a ainsi une dysfonction ventriculaire droite cardiaque prenant la forme d'un cœur pulmonaire qui est une hypertrophie associée à une dilatation du ventricule droit se concluant par une hypertension artérielle pulmonaire (35).

4-B°) Manifestations oto-rhino-laryngologiques (ORL)

Les sujets atteints de mucoviscidose sont prédisposés à certaines atteintes oculaires tels que la kératoconjonctivite sèche induite par la diminution du nombre de cellules caliciformes et provoquant une importante insuffisance lacrymale (35).

La protéine CFTR est présente dans certaines cellules immunitaires telles que les lymphocytes B et T. De plus, elle participe à la libération et à la production d'anticorps et de cytokines (35). Chez les patients atteints de mucoviscidose il existe ainsi très souvent des inflammations prenant la forme de sinusites chroniques pouvant être associées à une polypose nasale (20 % des enfants de plus de 5 ans (43)) induisant une sensation de nez bouché et épistaxis.

4-C°) Manifestations ostéoarticulaires

La protéine CFTR s'exprime dans plusieurs types de cellules osseuses tels que les ostéoblastes, les ostéocytes et les ostéoclastes (35) ce qui explique l'importante résorption osseuse et la fréquence importante d'arthropathies (estimée à environ 10 % (37)) et d'ostéoporotique chez les patients atteints de mucoviscidose. Ainsi, le risque de fracture est deux fois plus élevé. De plus, il est à noter que lors d'épisodes infectieux, le taux de précurseurs d'ostéoclastes augmente.

V- DIAGNOSTIC ET DEPISTAGE

1°) Diagnostic clinique

Le diagnostic de la mucoviscidose peut se faire à n'importe quel âge même si celui-ci est le plus souvent pratiqué dès la naissance depuis les débuts de la généralisation du DNN en France en 2002. Ainsi, elle pourra être évoquée chez le fœtus (dès les premiers six mois) par une hyperéchogénicité intestinale associée plus ou moins à des dilatations intestinales rappelant une obstruction digestive ou un défaut de vésicule biliaire (37). Chez le nouveau-né, ou bien plus tardivement chez l'enfant ou l'adolescent, l'existence d'un iléus méconial rappellera également la pathologie. Enfin, lorsque des adultes présenteront certaines caractéristiques cliniques telles que des problèmes respiratoires chroniques, un prolapsus rectal, une atteinte hépatique avec ictère, une stéatorrhée (diarrhée grasseuse), une toux chronique, un retard staturo pondéral, des infections chroniques avec hypersécrétions ou enfin, une saveur anormalement salée de la peau, la mucoviscidose sera envisagée.

2°) Test de la sueur

2-A°) Définition

Chez le sujet atteint de mucoviscidose, la mauvaise réabsorption du Cl par l'épithélium de canaux excréteurs provoque une sécrétion anormale de Cl dans la sueur émise par les glandes sudoripares. Cette forte concentration de Cl dans la sueur (3 à 5 fois la normale) est recherchée dans le test diagnostique de première intention de la mucoviscidose que l'on appelle test de la sueur.

Le test de la sueur est un test spécifique à la mucoviscidose réalisé dans un Centre de Ressources et de Compétences pour la Mucoviscidose (CRCM) par un personnel expérimenté. C'est un test qui est rapide, efficace et inoffensif. Celui-ci peut être pratiqué après les quinze premiers jours pour un nourrisson pesant plus de 3 kg. Si le test est positif dès la naissance, il le restera toute la vie du patient chez 98 % des cas de mucoviscidose. En effet, une étude réalisée chez plus de 30 000 patients du test de Gibson et Cooke révéla une sensibilité de 98 %, une spécificité de 83 % ainsi qu'une valeur prédictive positive de 99,5 % (37). Cependant, il arrive parfois (dans les 2 % restants) que le test de la sueur soit négatif à la naissance pour devenir pathologique dix ans plus tard. Il faudra alors réaliser pour ces cas particuliers une analyse génétique ou une analyse de différence de potentiel nasal. De plus, le résultat du test n'est pas directement corrélé à la gravité de la maladie et il peut exister parfois des résultats opposés entre certains laboratoires d'analyses. Selon l'observatoire national de la mucoviscidose (1999), l'âge moyen du diagnostic est de 30 mois, 70 % des cas sont diagnostiqués avant 12 mois, 86 % des cas avant 5 ans, 7 % avant 10 ans et 3 % à l'âge adulte (37).

Certaines conditions sont cependant nécessaires pour éviter la présence de faux positifs (hormis les erreurs techniques). Il faut ainsi faire le test en l'absence de « toute pathologique œdémateuse, hypoalbuminémie et prise médicamenteuse » qui pourrait significativement augmenter la concentration de chlorure de sodium (NaCl) sudorale (37).

De même, il faut éviter la présence de faux négatifs (2 % des patients atteints de mucoviscidose) certainement due à une trop faible quantité de sueur (enfants de moins de six semaines). D'ailleurs, les faux négatifs sont représentés le plus souvent par une forme de mucoviscidose atypique avec atteinte pulmonaire modérée, atteinte pancréatique exocrine chronique ou récidivante isolée, ABCD, polypose majeure nasale isolée ou bien par une forme rigoureusement asymptomatique (37).

2-B°) Mise en œuvre

Le test de la sueur se déroule en trois étapes : la stimulation, le recueil, et le dosage.

1- Stimulation à la pilocarpine

La pilocarpine est un alcaloïde extrait de feuilles de jaborandi (*Pilocarpus pennatifolius* ou *Pilocarpus microphyllus*). C'est une substance à action parasymphomimétique possédant des propriétés cholinergiques (sélective des récepteurs muscariniques). Afin de provoquer la sudation, les scientifiques utilisent une compresse imbibée de pilocarpine (posée sur l'avant bras) sur laquelle est imposé pendant environ cinq minutes un courant d'une très faible intensité (2 à 5 mA) par le biais d'un ampèremètre à ionisation combiné à deux électrodes (34). La pilocarpine se déplace ainsi au niveau des glandes sudoripares par l'intermédiaire du gradient électrique (ionisation transcutanée). La peau est ensuite nettoyée à l'eau distillée puis séchée.

2- Recueil de la sueur

Un papier filtre préalablement pesé est placé sur la peau au niveau de l'ionisation transcutanée. Il sera positionné par-dessus un morceau de plastique souple collé à l'aide d'un sparadrap. La sueur sécrétée est ainsi recueillie pendant environ 30-40 minutes par l'intermédiaire de ce papier filtre qui est ensuite décollé et directement pesé sachant que le test est considéré comme fiable avec un poids minimal de 100-150 mg de sueur.

Il existe d'autres méthodes de recueil de la sueur (en godet) et même une dernière méthode sans recueil qui permettrait de doser les ions Cl directement sur les gouttes de sueur. Il conviendra de souligner que l'échantillon de sueur pourra également servir à mesurer l'osmolalité de la sueur ainsi que la concentration de Na par potentiométrie.

3- Dosage du chlore sudoral

Le dosage de Cl⁻ est établi par le test de Gibson et Cooke. Pour cela, le papier filtre trempé de sueur est déposé dans un récipient de 5 mL d'eau distillée. Après 5 à 10 minutes d'extraction, le dosage du Cl sudoral est réalisé grâce à la méthode colorimétrique modifiée de Schales (7). Ainsi, on titre la solution de sueur par du nitrate mercurique [0,01 N (concentration équivalente)] dans un environnement d'acide nitrique. Le test sera considéré comme positif par le virage de la solution marqué par une coloration violette stable (le diphényl-carbazone étant l'indicateur coloré préalablement utilisé).

2-C°) Exploitation des résultats

Chez un patient sain, la concentration de Cl⁻ dans la sueur ne dépasse pas les 40 mmol.L⁻¹. Pour les patients atteints de mucoviscidose, la concentration seuil varie avec l'âge. Chez le nourrisson, le test sera positif si la concentration de Cl⁻ sudoral est supérieure à la valeur seuil de 30 mmol.L⁻¹ (36). Concernant les enfants de plus de 3 mois, la valeur seuil est de 60 mmol.L⁻¹ (si la concentration sudorale reste entre 40 et 60 mmol.L⁻¹, il faudra répéter le test et aucun diagnostic ne sera écarté).

Lorsque le test est positif, le diagnostic de la mucoviscidose est proposé. Le test de la sueur est cependant répété pour confirmation (avec la méthode de référence) et peut s'appuyer sur la mise en évidence de symptômes cliniques répertoriés dans le tableau IV. Enfin, le diagnostic de la mucoviscidose pourra ultérieurement être confirmé par des analyses génétiques mettant en évidence certaines mutations du gène CFTR. Dans le cas où le diagnostic de mucoviscidose est confirmé par ces analyses, une consultation génétique est systématiquement proposée. En revanche, si les principales

mutations ne sont pas détectées, des recherches par des techniques avancées pourront être réalisées dans des laboratoires spécialisés.

<u>1- Atteinte respiratoire chronique</u>
<ul style="list-style-type: none">- Infection : colonisation chronique par des agents pathogènes typiques : SA, HI, PA et <i>Burkholderia cepacia</i>- Bronchite chronique : toux, expectoration mucopurulente- Anomalies de la radiographie pulmonaire à type de bronchectasies, atélectasies, infiltrats, emphysème- Obstruction des voies aériennes caractérisée par un sifflement et une dyspnée expiratoire- Polypose nasosinusienne ; anomalies radiologiques ou tomodensitométriques des sinus- Hippocratisme digital
<u>2- Atteinte digestive et troubles nutritionnels</u>
<ul style="list-style-type: none">- Intestins : iléus méconial (15 %), obstruction intestinale distale, prolapsus rectal- Pancréas : insuffisance pancréatique exocrine (85 %) (douleurs abdominales, stéatorrhée), pancréatite chronique- Foie : hépatopathie chronique à type de cirrhose biliaire focale ou multilobulaire (clinique ou histologique)- Retard de croissance, avec hypo protidémie, complications d'une carence en vitamines liposolubles
<u>3 – Syndrome de perte de sel</u>
<ul style="list-style-type: none">- Sensibilité accrue à la déshydratation, alcalose métabolique

Tableau IV : caractéristiques cliniques de la mucoviscidose validée par Conférence de Consensus de la CFF (Cystic Fibrosis Foundation) (37).

En cas de test à la sueur intermédiaire (à deux reprises), c'est-à-dire avec une concentration entre 40 et 60 mmol.L⁻¹ ou en cas de test de la sueur négatif (à deux reprises) avec signes cliniques évocateurs, l'analyse génétique et la mesure de la différence de potentiel nasal (plus sensible que le test de la sueur) seront essentiels pour la confirmation du diagnostic de la maladie (37).

2-D°) Mesure de la différence de potentielle nasale

Il existe certains mouvements ioniques au travers de l'épithélium respiratoire qui produisent un courant appelé différence de potentiel transépithélial. Ce courant peut être mesuré in vivo, au niveau de la muqueuse nasale (vers le plancher du cornet inférieur où se situent les cellules ciliées). La différence de potentiel nasal est ainsi deux fois plus importante chez le sujet sain que chez le patient atteint de mucoviscidose car il existe chez celui-ci une activité anormalement importante du canal ENaC.

2-E°) Trois types de mucoviscidose

Les scientifiques référencent trois types de mucoviscidose. Il existe tout d'abord la mucoviscidose classique diagnostiquée par un test de sueur positif associé à un syndrome clinique (respiratoire, pancréatique, ou retard de croissance), avec confirmation de deux mutations sur la protéine CFTR. Le deuxième type est ensuite la mucoviscidose atypique représentant 20 % des cas de mucoviscidose. Il existe dans ces cas le plus souvent une symptomatologie associée peu symptomatique avec un seul organe touché avec parallèlement à ceci, un test de la sueur avec une concentration intermédiaire (c'est-à-dire entre 40 mmol.L⁻¹ et la concentration seuil du patient). Ce type de mucoviscidose intervient le plus souvent tardivement. Enfin, il existe des variantes de mucoviscidoses présentes dans environ 2 à 3 % des cas.

2-F°) Dépistage prénatal

Concernant les couples hétérozygotes pour la mutation du gène CFTR désirant concevoir un enfant, ou pour les couples dont un ou plusieurs des membres de leurs

familles sont atteints de mucoviscidose (avec un enfant malade ou un parent atteint), ceux-ci seront classés dans les couples à risques. De même, la mucoviscidose sera suspectée chez une autre classe de patients chez lesquels il existe une hyperéchogénicité intestinale lors de l'échographie du second trimestre de grossesse.

Dans ces deux cas, des moyens de préventions existent. Ceux-ci ont l'opportunité (non obligatoire) de réaliser pré-conceptionnellement des tests génétiques. Si les tests s'avèrent positifs chez la mère, celui-ci est répété chez le futur père afin de connaître la situation du futur nouveau-né par rapport à la présence possible ou non de certaines mutations du gène CFTR au préalable identifiées chez le père ou la mère (de préférence non enceinte).

Lorsqu'une seule mutation est mise en évidence, des recherches plus approfondies sont effectuées pour trouver d'éventuelles autres mutations. Dès lors qu'aucune autre mutation n'est retrouvée, le diagnostic est considéré comme peu probable mais il ne peut être exclu (recherches non exhaustives). S'il est impossible de mettre en évidence ces mutations chez les parents et s'il n'existe pas d'antécédents familiaux mais la présence d'une hyperéchogénicité intestinale, le diagnostic prénatal par analyse génétique est impossible.

Dans ce cas là, il existe un test prénatal simple et rapide (obtention des résultats en une semaine) réalisé dès la douzième semaine d'aménorrhée. Afin de confirmer la filiation mère-enfant et de garantir la non contamination des tissus fœtaux par les cellules maternelles, ce test sera couplé à une analyse des marqueurs acide désoxyribonucléique (ADN). Le diagnostic prénatal est ainsi réalisé soit à partir de la biopsie du trophoblaste comme le montre la figure 8, soit plus tard par amniocentèse comme décrit sur la figure 9. Sur les villosités choriales ou le liquide amniotique ainsi obtenues, s'effectue le dosage des iso enzymes de la phosphatase alcaline. Un taux d'isoenzymes faible peut faire évoquer la mucoviscidose mais un caryotype doit toujours être réalisé pour éliminer les risques de faux positifs (trisomie 21, affection virale...). Ce test n'est plus réalisable après les 20-22^{ème} semaines de grossesses (seule l'analyse génétique sera possible dans ce cas là) car le taux d'enzymes n'est plus représentatif.

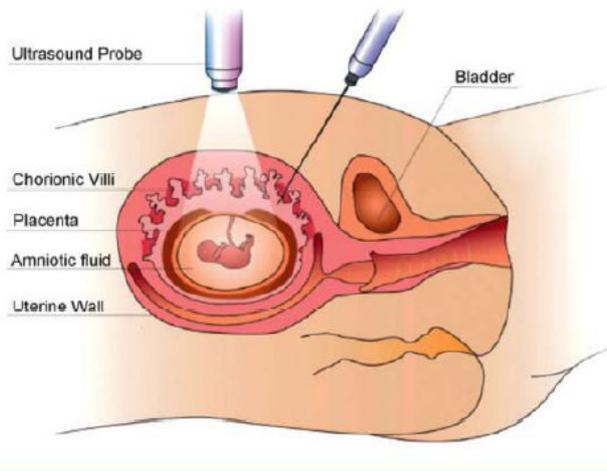


Figure 8 : prélèvement des villosités choriales par voie transabdominale (37).

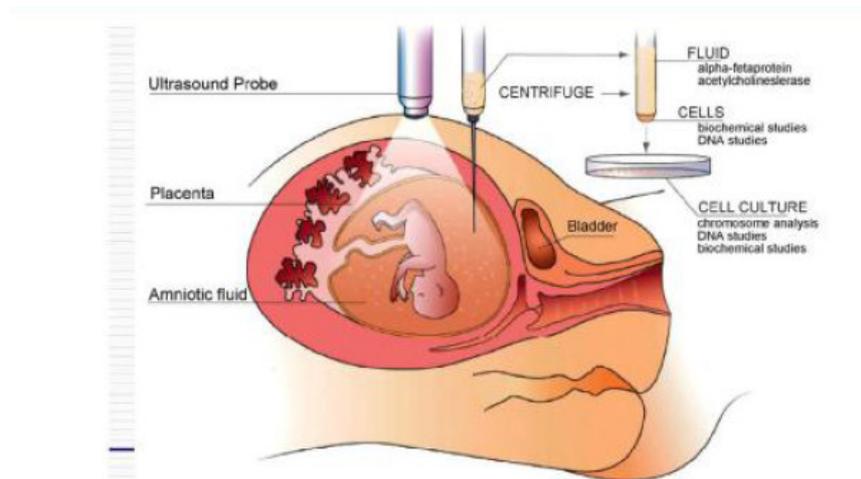


Figure 9 : prélèvement de liquide amniotique par amniocentèse (37).

L'un des inconvénients de ce dépistage est le caractère invasif (des recherches sont actuellement faites pour la mise en œuvre d'un diagnostic prénatal non invasif) de l'opération établissant un risque de fausse couche, expérience dépendant de l'opérateur (0,5 % à 3 % des cas). Dans tous les cas, si le fœtus est diagnostiqué comme positif à la mutation, une interruption volontaire de grossesse devra être considérée.

2-G°) Dépistage néonatal

Le DNN de la mucoviscidose a été généralisé sur l'ensemble de la France en 2002 (2003 pour l'Aquitaine et la Franche-Comté) par l'intermédiaire de la Caisse Nationale d'Assurance Maladie et des travailleurs Salariés (CNAMTS) qui s'est portée responsable du financement et qui signa en mai 2001 une convention avec l'Association Française pour le Dépistage et la Prévention des Handicaps de l'Enfant (AFDPHE), réduisant le rôle de ce dernier dans la prise en charge de la mucoviscidose. Cependant, ce DNN n'est pas obligatoire et 60 parents sur 800 000 le refusent encore aujourd'hui. Les dépistages néonataux sont ainsi réalisés dans le même lieu que le test de la sueur, c'est-à-dire dans les CRCM, et toujours avec un bénéfice-risque en faveur d'une intervention, raison pour laquelle les Centers for Diseases Control and Prevention (CDC) approuvèrent l'idée d'une extension possible de ce DNN à l'ensemble des Etats-Unis d'Amérique (USA).

Ce dépistage est ainsi réalisé simultanément avec celui de l'hyperplasie des surrénales, l'hypothyroïdie, de la phénylcétonurie et de la drépanocytose. Il permet donc une prise en charge clinique plus précoce de la maladie qui est un facteur essentiel d'amélioration de la qualité et de l'espérance de vie des patients. En effet, un suivi nutritionnel et respiratoire rapproché améliore dans un premier temps le pronostic de la maladie ainsi que la croissance et le développement de l'enfant et, dans un deuxième temps, évite la survenue de lésions irréversibles.

Le DNN est réalisé grâce à l'association de deux étapes schématisées dans la figure 10. La première est le test de Guthrie, c'est-à-dire le dosage de la trypsine immunoréactive (TIR). La TIR est un ensemble de molécules proches d'une enzyme sécrétée par le pancréas. Elle est observée dans le sang s'il apparaît une obstruction des canaux pancréatiques par un amas de protéines in utero. En effet, cela engendrerait (de façon non spécifique) un relargage enzymatique de TIR. Les scientifiques utilisent ainsi le sang séché du nourrisson prélevé sur le bord externe du talon trois jours après la naissance. Celui-ci est ensuite disposé sur du papier buvard afin d'effectuer le test de Guthrie (HAS 2009).

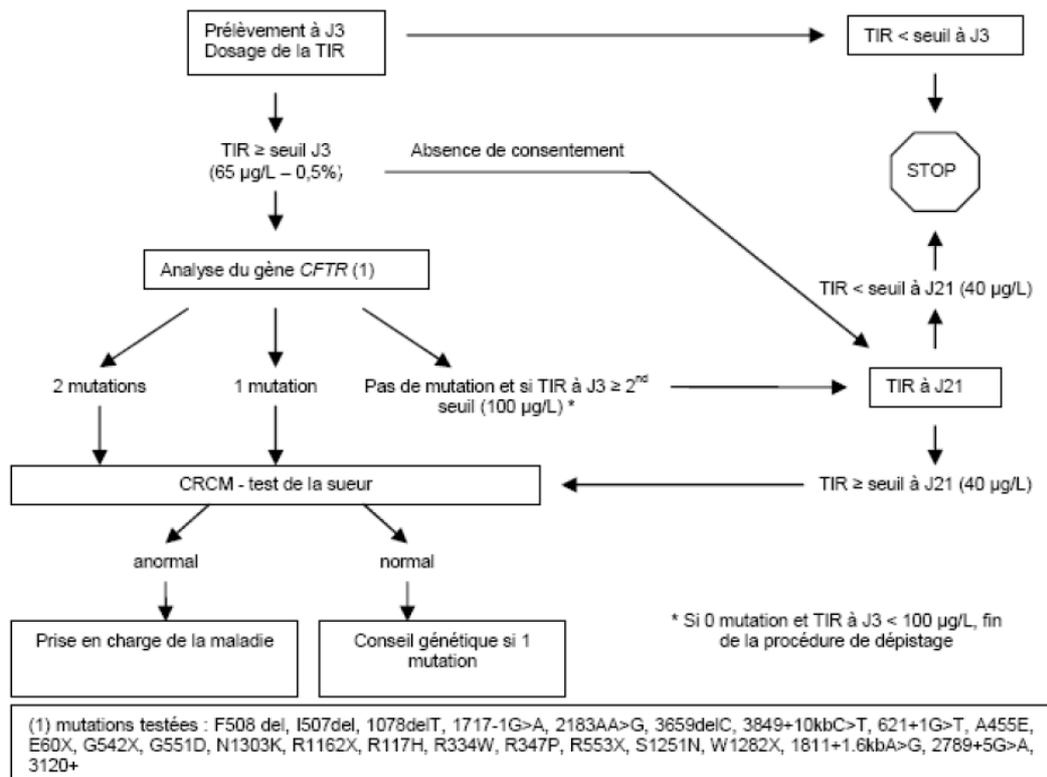


Figure 10 : arbre décisionnel du DNN de la mucoviscidose en 2008 (36).

Les enfants atteints de mucoviscidose présentent, dans 90 % des cas, un taux élevé de TIR. La valeur seuil avec une spécificité suffisante pour ne détecter que 0,5 % des faux positifs définie pour le dosage de la TIR est de 60 µg / L. Le prélèvement est ainsi considéré comme positif lorsque la concentration de TIR est supérieure à ce seuil. D’après le bilan de l’AFDPHE, le 28 avril 2008 et pour la période 2002- 2006, ce dépistage a une sensibilité de 96,45 % ainsi qu’une spécificité de 99,37 % (36).

Cette première étape est alors combinée à une deuxième dans ce cas-là ou bien dans le cas où il existe uniquement des signes évocateurs pour confirmer la suspicion de mucoviscidose. Cette étape est un test de biologie moléculaire qui consiste à rechercher des mutations fréquentes du gène CFTR sur le même échantillon de sang (sang séché prélevé au niveau du talon 3 jours après la naissance) que précédemment ou bien sur un deuxième prélèvement réalisé 2 à 4 semaines après celui-ci (si aucune mutation n’est retrouvée) permettant alors de confirmer le taux élevé persistant de TIR. En cas de test positif, la confirmation par le test de la sueur est systématiquement effectuée.

PARTIE II : INFECTIONS **BACTERIENNES**

I- INTRODUCTION

Chez un sujet atteint de mucoviscidose, de nombreux agents pathogènes (virus, bactéries) sont susceptibles de coloniser l'organisme et notamment l'appareil respiratoire, amenant une dégradation progressive de celui-ci via de nombreuses infections broncho-pulmonaires. Ainsi, l'examen bactériologique des expectorations révèle le plus souvent de nombreux germes. Les plus fréquemment rencontrés sont *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae* et *P. aeruginosa*. Chez ces bactéries, l'antibiothérapie est utilisée sans rencontrer de grandes résistances. D'autres bactéries sont quant à elles plus rares mais présenteront de bien plus nombreuses résistances. Ces bactéries sont *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia* ou *Achromobacter xylosoxidans*, *Legionella pneumophila*, et certaines mycobactéries.

L'antibiothérapie est le moyen le plus efficace pour lutter contre l'infection. La posologie et la durée de traitement est spécifique de l'état physiopathologique de chaque patient et de chaque bactérie préalablement identifiée par un antibiogramme réalisé en amont. Chez les patients atteints de mucoviscidose, les posologies sont supérieures à celles utilisées usuellement. D'une part car un patient atteint de mucoviscidose possède un volume de distribution augmentée associée à une demi-vie d'élimination diminuée. D'autre part car l'action des antibiotiques est réduite dans certains sites tel que le mucus (due à une difficulté de pénétration du médicament).

Concernant l'évolution de la colonisation bactérienne, le RFM publia un graphique représenté par la figure 11, comparant le nombre d'agents pathogènes diagnostiqués chez les patients atteints de mucoviscidose entre 2001 et 2011. Celui-ci relève une augmentation importante de la présence de certaines bactéries telles que *S. maltophilia*, *A. xylosoxidans* et certaines mycobactéries atypiques mais cette augmentation serait due à une recherche plus active de ces bactéries. En revanche, il existe une diminution globale de la présence des autres bactéries (*S. aureus* résistante à la méticilline (méti-R), *P. aeruginosa*, *B. cepacia*) avec même de très forts progrès chez les *Streptococcus* et *H. influenzae*.

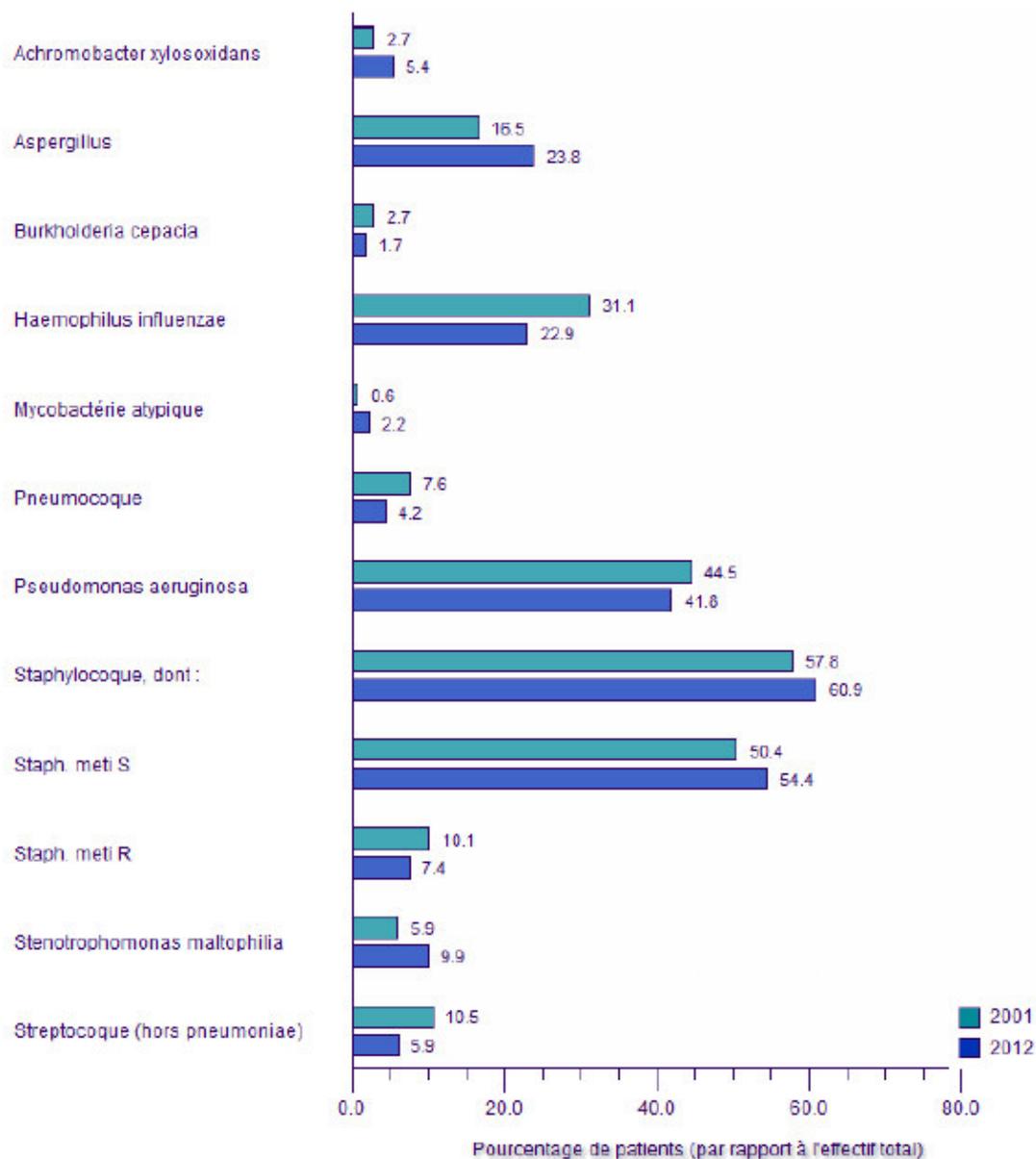


Figure 11 : répartition de germes en 2001 et 2012 (RFM) (7).

II- EPIDEMIOLOGIE

La fréquence de la colonisation par ces bactéries dans les poumons varie en fonction de l'âge du patient. Ainsi, le RFM publia en 2012 un graphique représenté par la figure 12 corrélant l'âge à la colonisation bactérienne et montre que le *S. aureus* (sensible à la méticilline (méti-S)) est « un colonisateur précoce ». C'est en effet la bactérie la plus souvent présente avant l'âge de 5 ans. Ainsi, plus de la moitié de la

population (en 2012) des jeunes enfants est colonisée par cette bactérie. Cette fréquence diminue ensuite largement atteignant moins de 30 % des patients chez les plus de 40 ans.

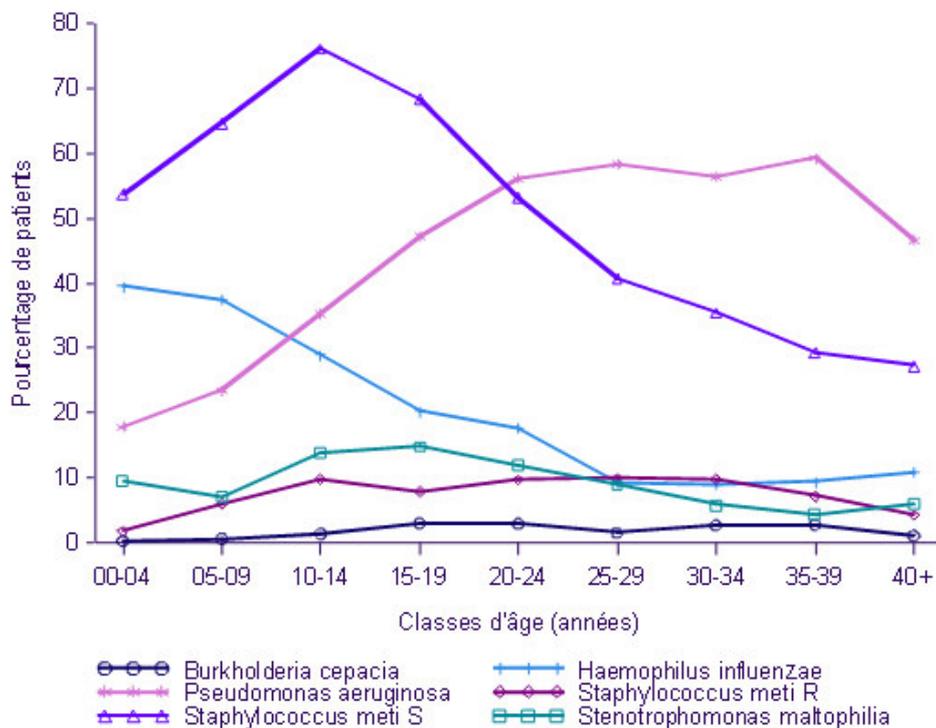


Figure 12 : bactéries cliniquement importantes, par âge (44).

La deuxième bactérie pouvant être considérée comme colonisateur précoce est *H. influenzae*. En effet, cet agent pathogène s'implante majoritairement chez les jeunes enfants (jusqu'à 9-10 ans), sa colonisation diminuant également chez les sujets plus âgés. Certaines études démontrent que ces deux bactéries augmenteraient les chances de *P. aeruginosa* de coloniser le patient et peuvent même disparaître au profit de celui-ci (35). Cependant, plus de 40 % des patients atteints de mucoviscidose colonisés par *P. aeruginosa* demeurent infestés par *S. aureus*.

P. aeruginosa est considéré comme un « colonisateur tardif » et est ainsi typiquement rencontré après l'âge de 10 ans (même s'il existe certains cas où l'agent pathogène est découvert dès la naissance). En effet, cette bactérie est rencontrée chez 18,5 % des patients de moins de 4 ans, 22,7 % des patients de 6 à 10 ans, 40,1 % des 11-17 ans, 58 % de la tranche 18-24 ans et atteint son pic chez les 25-34 ans avec une fréquence proche de 60 % (44).

B. cepacia est une bactérie qui colonise le patient atteint de mucoviscidose le plus souvent après une infection préalable par *P. aeruginosa*. C'est un germe qui se présente comme une bactérie extrêmement contagieuse par contact direct et requiert ainsi des mesures préventives distinguées par l'isolement des patients colonisés.

III- *Staphylococcus aureus*

1°) Description

S. aureus est une bactérie dont la colonisation est aujourd'hui le plus souvent sans gravité mais fut autrefois (avant l'avènement des antibiotiques) responsable de nombreux décès d'enfants en bas âge et était perçu comme la première cause de mortalité chez les enfants atteints de mucoviscidose. La colonisation se fait majoritairement par contamination directe, le plus souvent par gouttelettes de toux ou de salive ou simplement par les mains. Cet agent pathogène représenté par la figure 13 infeste ainsi les cavités nasales, l'oropharynx, la peau mais peut également se retrouver au niveau du tube digestif. Environ 37 % des enfants de 1 à 19 ans sont porteurs du micro-organisme (45). Cette population est ainsi acteur de la propagation de cette bactérie qui peut devenir très virulente chez les personnes ayant certains facteurs de risques tels les patients immunodéprimés et ceux atteints de mucoviscidose.



Figure 13 : *S. aureus* au microscope électronique (10 000 X) (46).

Chez les patients atteints de mucoviscidose, la bactérie adhère à l'épithélium respiratoire via l'acide teichoïque présent sur sa paroi et lui permettant d'outrepasser la

réponse immunitaire (36). Outre son pouvoir infectieux affaiblissant les fonctions respiratoires, *S. aureus* favoriserait une colonisation plus précoce du patient par *P. aeruginosa* en renforçant la détection de récepteurs épithéliaux (47). Ainsi, *P. aeruginosa* remplacerait souvent *S. aureus* dans l'histoire infectieuse du patient même si un grand nombre de patients reste colonisé par les deux agents pathogènes en même temps.

Il existe une distinction entre différentes souches de *S. aureus*. Ainsi, certaines souches sont méti-R contrairement à d'autres sensibles à la méticilline. Ces souches méti-R posent un problème majeur car elles produiraient spécifiquement certaines toxines et facteurs de virulence qui pourraient augmenter de manière significative le processus inflammatoire de l'appareil respiratoire.

2°) Stratégie thérapeutique

Le *Staphylococcus aureus* sensible à la méticilline (SASM) est détruit par un grand nombre d'antibiotiques comme le montre le tableau V. Aussi, lorsque l'infection est mixte, l'antibiothérapie doit agir sur les deux agents pathogènes à la fois.

Nom (par ordre alphabétique)	Posologie proposée en mg/kg par jour	Nombre de prises par jour	Conformité à l'AMM*
Acide fusidique en association (cf. texte)	30 à 60 (E)** Maxi 1 500 mg/j 1 000 à 1 500 mg/j (A)	2 à 3	=
Amoxicilline + acide clavulanique	80 (E) Maxi 3 000 mg/j (E) (A)	2 à 3	=
Céfalexine	50 (E) 100 (A)	3	>
Ciprofloxacine	30 (E) Maxi 1 500 mg/j (E) (A)	2 à 3	=
Erythromycine	50 (E) Maxi 3 000 mg/j (E) (A)	2	=
Linézolide (AMM si âge > 18 ans)	1 200 mg/j	2	=
Minocycline	4 (si âge > 8 ans) 100 à 200 mg/j (A)	2	=
Oxacilline, cloxacilline	100 à 150	3 à 4	>
Pristinamycine	50 (E) (A) Maxi 4 000 mg/j	2	=
Rifampicine en association (cf. texte)	20 à 30 Maxi 20 (A)	2	=

* AMM : AUTORISATION DE MISE SUR LE MARCHÉ ; = : POSOLOGIE CONFORME A CELLE DE L'AMM ;
> : POSOLOGIE SUPERIEURE A CELLE DE L'AMM.

** (A) : chez l'adulte ; (E) : chez l'enfant.

Tableau V : principaux antibiotiques anti-staphylococciques utilisés per os dans la mucoviscidose (48).

Pour les patients non allergiques à la pénicilline, de nombreux antibiotiques (céphalosporines, cotrimoxazole, acide fusidique...) permettent d'atteindre *S. aureus* mais le traitement de référence consiste en l'administration d'une bêta-lactamine (oxacilline ou amoxicilline + acide clavulanique) per os, pouvant être couplée à de l'acide fusidique pendant au moins 14 jours (37). Lorsque le traitement ne permet pas d'éradiquer la bactérie après deux semaines de traitement, il est possible d'instaurer une bêta-lactamine pendant 1 à 3 mois. Il n'existe cependant aucun protocole officiel dans cette situation. Concernant les patients allergiques aux pénicillines, celles-ci seront remplacées par de la rifampicine. En revanche, la présence du couplage acide fusidique-rifampicine sera obligatoire, ces deux antibiotiques ne pouvant être utilisés en monothérapie (49). Lors d'une double infection par *S. aureus* et *H. influenzae*, l'antibiothérapie doit cibler les deux germes. Ainsi le traitement de première intention est l'association de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique (49).

Pour éviter une réapparition des symptômes, une antibioprofylaxie secondaire peut être mise en place avec un traitement continu pendant 1 à 3 mois d'oxacilline, cloxacilline ou minocycline chez l'adulte et l'enfant de plus de 8 ans. De plus, le linézolide peut être utilisée si le patient est âgé de plus de 18 ans (49).

L'état respiratoire des patients infectés par des souches méti-R est diminué par rapport aux patients atteints par les souches méti-S dans la mesure où leur volume expiratoire maximal par seconde (VEMS) diminue significativement (50). La présence de SARM (*S. aureus* résistant à la méticilline) justifie des protocoles de respect d'hygiène de plus en plus contraignants ainsi qu'une utilisation plus importante d'antibiotiques (49). Ainsi, les antibiotiques ayant usuellement une bonne réponse sont la pristinaamycine et la rifampicine. L'association de ces 2 molécules constitue le traitement de première intention. Les bithérapies (triméthoprime-macrolides, fucidine-rifampicine (6 mois)) pourront également être utilisées chez les formes sévères (51). De même, le linézolide est envisageable s'il existe une résistance aux antibiotiques chez le sujet de plus de 18 ans. En seconde intention, la classe des glycopeptides pourra être éventuellement utilisée et concerne plus précisément la vancomycine [par voie intraveineuse (IV), car les nébulisations de vancomycine sont ici hors Autorisation de Mise sur le Marché (AMM)], et la teicoplanine (49).

Lors de cas de SARM de gravité majeure, l'antibiothérapie peut être administrée par voie IV comme le montre le tableau VI avec des bêta-lactamines comme l'oxacilline (Bristopen®), des glycopeptides, comme la teicoplanine (Targocid®) ou la vancomycine ou bien des aminosides représentés par l'amikacine (Amiklin®) ou encore la tobramycine (Nebcine®). En revanche, le recours à un traitement prophylactique (antibioprophylaxie anti-staphylococcique), c'est-à-dire avant une colonisation par *S. aureus*, n'apporte d'une part aucun bénéfice mais permettrait d'autre part l'apparition de résistances et une colonisation plus rapide de *P. aeruginosa* (52).

Nom (par ordre alphabétique)	Posologie proposée en mg/kg par jour	Nombre d'injections par jour	Conformité à l'AMM
Amikacine	20 à 30 maxi 20 mg/kg/j (A) Dose totale cumulée < 15g	1 à 3	>
Amoxicilline + acide clavulanique	200 (E) 2 à 12 g/j (A) Maxi 1 200 mg acide clav /j et 200 mg/injection (A)	3 à 4	=
Ciprofloxacine	30 (E) 400 à 1 200 mg/j (A) Maxi 1 200 mg/j (E) (A)	2 à 3	=
Linézolide (AMM si âge > 18 ans)	1 200 mg/j (> 18 ans)	2	=
Oxacilline	300	3 à 4	>
Rifampicine	20 à 30 Maxi 20 (A)	2	=
Teicoplanine	20	1 à 2	>
Tobramycine	8 à 10	1 à 3	>
Vancomycine	40 (E) 2 000 mg/j (A)	4	=

Tableau VI : principaux antibiotiques anti-staphylococciques utilisés par voie IV dans la mucoviscidose (48).

IV- *Haemophilus influenzae*

1°) Description

H. influenzae, anciennement appelé bacille de Pfeiffer, est une bactérie pouvant être présente sous deux formes distinctes chez l'homme. Sa forme sans capsule est ainsi responsable d'infections locales telles que les otites, conjonctivites, pharyngites,

sinusites alors que sa forme capsulée est responsable de méningites, d'otites, d'épiglottites, de septicémies, de pneumonies.

Cette bactérie est majoritairement retrouvée au niveau de la sphère ORL chez les nourrissons et les jeunes enfants et contrairement à *S. aureus* et *P. aeruginosa*, elle n'est responsable d'une colonisation chronique des voies respiratoires que dans des cas exceptionnels. Elle est le plus souvent retrouvée avec *Streptococcus pneumoniae* dans les infections respiratoires comme le montre la figure 14.

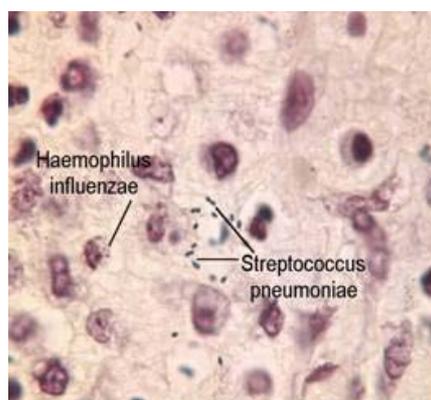


Figure 14 : *H. influenzae* et *S. pneumoniae* dans une même cavité nasale (53).

2°) Stratégie thérapeutique

Concernant le traitement, *H.influenzae* possède une « résistance acquise » aux bêta-lactamines car cette bactérie produit des pénicillases. Le traitement de première intention peut cependant se faire par de l'amoxicilline combinée à un inhibiteur des pénicillases tel que l'acide clavulanique (Augmentin®) (36). Pour les enfants, l'amoxicilline - acide clavulanique est administrée via des suspensions buvables ayant pour dosage 100 mg / 12,5 mg par mL pour les nourrissons et 500 mg / 62,5 mg par mL pour les enfants. Dans tous les cas, la posologie sera de 80 mg / kg / j en trois prises administrées par pipettes dose poids en veillant à ne pas dépasser 3 g / j. Concernant les adultes, l'amoxicilline - acide clavulanique est utilisée soit en suspensions buvables de 1 g /125 mg, soit en comprimés de 500 mg / 62,5 mg, la posologie usuelle étant de 3 g / j en trois prises.

Le traitement de deuxième intention est également possible par céphalosporines de 3^{ème} génération comme la cefpodoxime (Orelox®) (36). La cefpodoxime est ainsi présente sous forme de suspension buvable de 40 mg / 5 mL. Elle est administrée via une pipette dose-poids avec une posologie de 8 mg / kg / j en deux prises. Mais encore, le traitement de seconde intention peut également se faire par fluoroquinolones.

V- *Pseudomonas aeruginosa*

1°) Description

P. aeruginosa est la bactérie à l'origine du plus grand nombre d'infections respiratoires chez les sujets atteints de mucoviscidose. Cette bactérie représentée par la figure 15 a un impact important sur la fonction pulmonaire et favorise la dégradation pulmonaire. De plus, cette bactérie concerne 95 % des patients en phase terminale (54). C'est un bacille à coloration de Gram négative également appelé bacille pyocyanique pour le pigment bleu (pyocacine) ou vert (pyoverdine) qu'il peut sécréter.

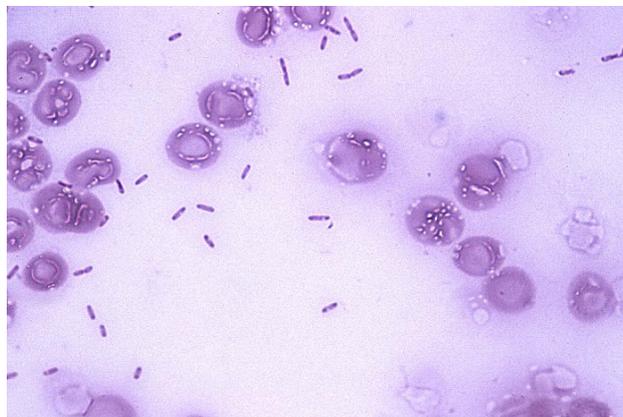


Figure 15 : *P. aeruginosa* (coloration de Gram, hémoculture) (55).

Cette bactérie est usuellement éliminée par les cellules épithéliales interagissant avec le noyau du lipopolysaccharide (LPS) présent sur la paroi de l'agent pathogène en question. En revanche, chez les patients atteints de mucoviscidose, l'organisme a des difficultés à éliminer la bactérie qui se multiplie et produit des toxines détruisant les cellules de l'épithélium respiratoire. De plus, il existe après la contamination par *P. aeruginosa* une sécrétion de protéases et de dérivés réactifs de l'oxygène par les

polynucléaires neutrophiles à l'origine d'une dégradation de la matrice extracellulaire et des cellules (56) associée à une inflammation.

Cette bactérie ubiquitaire vivant le plus souvent en milieu humide et dans les sols est considérée comme très solide du fait qu'elle résiste de manière innée aux familles d'antibiotiques suivantes : aminopénicillines, céphalosporines de 2^{ème} génération (C2G) et inhibiteur de béta lactamases (37). Mais encore, cette bactérie acquiert certaines résistances et peut devenir multi résistante (56) au cours de sa vie de par sa capacité à muter en fonction de son environnement. Ainsi, l'utilisation continue d'antibiotiques chez certains patients, entre autre ceux atteints de mucoviscidose, contribue à l'origine de souches de *P. aeruginosa* résistantes à presque tous les antibiotiques. Elles sont appelées souches toto-résistantes et il est dans la plus grande majorité des cas impossible de les combattre (57) avec la thérapeutique habituelle.

Pour toutes ces raisons, *P. aeruginosa* est considéré comme le représentant des bactéries pathogènes opportunistes, peu virulent, voire quasiment inoffensif, chez un sujet dont l'immunité n'est pas altérée mais souvent responsable d'infections nosocomiales avec une agressivité potentielle majeure chez les patients immunodéprimés et les patients atteints de pathologies chroniques comme la mucoviscidose.

La primo colonisation, c'est-à-dire la première identification lors d'un prélèvement bactériologique, survient en général très tôt (à l'âge de 6-10 ans en général) et explique pourquoi les autorités sanitaires recommandent des examens bactériologiques systématiques tous les 1 à 3 mois.

La contamination est interhumaine ou indirecte et commence habituellement au niveau de la sphère ORL (cavité buccale ou nasale) par voie aérienne via un environnement souvent humide par des souches mucoïdes retrouvées dans les crachats et expectorations du sujet infesté et se manifeste par la sécrétion de toxines et de facteurs cytotoxiques.

La colonisation « trachéo bronchique intermittente » par des souches non mucoïdes succède généralement à la primo colonisation. Cependant, ces bactéries existant sous forme de micro-colonies s'adaptent à leur environnement et ont ainsi une importante diversité phénotypique. Il existe ainsi des souches mucoïdes pouvant sécréter suffisamment d'exo-polysaccharides, entre autres des alginates, pour permettre la création d'un bio-film protecteur entre celui-ci et son environnement, c'est-à-dire son site d'infection. L'infestation est ainsi considérée comme colonisation chronique et lui confère une résistance face au système immunitaire en contrecarrant la phagocytose par les polynucléaires neutrophiles et son éradication par les antibiotiques (37).

Ces souches mucoïdes augmenteraient proportionnellement avec l'âge (29) et la gravité de l'atteinte respiratoire. En effet, selon une étude menée par Pedesern *et al.* en 1992, il se produirait, suite à l'infection par *P. aeruginosa*, une augmentation de la réponse immunitaire (45). Les anticorps qui réagiraient contre les souches mucoïdes de l'agent pathogène pourraient aggraver l'atteinte pulmonaire dans la mesure où ils seraient à l'origine d'une inflammation et une dilatation des bronches (45). Ainsi, l'état nutritionnel et les VEMS des patients atteints par des souches mucoïdes semblent beaucoup plus faible que chez les patients colonisés par des souches non mucoïdes.

Plus précisément, une infection est considérée comme chronique si elle répond à deux critères. Le premier est défini par l'identification de *P. aeruginosa* avec un taux supérieur à 10^6 germes / mL dans trois examens cyto bactériologiques des crachats (ECBC) successifs à un mois d'intervalle isolant l'agent pathogène (37). Le deuxième est déterminé par dosage d'anticorps anti-pyocyaniques par immunoelectrophorèse bidimensionnelle. En effet, ces anticorps forment des complexes immuns antigènes-anticorps via la formation d'arcs de précipitines dans le sérum (37).

2°) Antibiothérapie

2-A°) Traitement de l'infection aiguë

Le but premier du traitement de l'infection aiguë est de retarder au mieux le stade de la colonisation chronique extrêmement difficile à traiter. La prophylaxie a donc un rôle majeur dans la prévention de l'infection et se base sur des mesures d'hygiène très strictes. De plus, un traitement antibiotique rapide permettrait d'inhiber le développement de l'agent pathogène pendant des mois, voire même plusieurs années, retardant le passage à une infection chronique. Ainsi, le recours au traitement par voie IV hospitalier est largement instauré chez les moins de 6 ans.

Il n'existe aujourd'hui aucun protocole à « suivre à la lettre » mais celui couramment utilisé par les médecins français visant à ralentir l'atteinte fonctionnelle respiratoire est le suivant : c'est une bithérapie par voie parentérale de 14 à 21 jours associant deux classes de molécules (37) :

- les bêta-lactamines (le plus souvent ceftazidime ou l'association pipéracilline - tazobactam (Tazocilline®) ou encore l'imipénème (Tiénam®)) en commençant préférentiellement par le principe actif avec le spectre d'activité le plus faible.
- les aminosides [(le plus souvent tobramycine (Nebcine®)].

D'ailleurs, il est fortement recommandé d'effectuer un ECBC chaque mois pour analyser l'évolution de l'agent pathogène. Si la culture est positive, une nouvelle cure par voie IV est pratiquée.

2-B°) Traitement de l'infection chronique

Il existe cependant une alternative danoise (non validée mais possible) à ce protocole (37). Celui-ci est un traitement spécifique utilisé lors de l'existence de souches multi-résistantes de l'agent pathogène ou de la présence concomitante d'autres bactéries ou bien tout simplement lorsque le délai entre chaque cure du protocole ci-dessus est trop rapproché. Ce traitement est le même que précédemment, c'est-à-dire

l'association bêta-lactamine - aminoside, auquel il est ajouté de la ciprofloxacine (Ciflox®) par voie orale ou parentérale à une posologie de 30 mg / kg / jour en 2 prises pendant une durée de 21 jours à 3 mois comme le montre le tableau VII. Mais ce traitement peut être complété par l'utilisation d'aérosols de colistine (prescription initiale hospitalière de 6 mois) sous la forme d'une poudre pour inhalation pendant une durée de 3 à 6 mois à un dosage pouvant aller de 1 à 2 millions d'unités 2 fois par jour (tableau VII).

	Ciprofloxacine	Colistine
PA isolé < 1 fois en 6mois	30 mg / kg / j 21 jours	1 million UI 2 fois par jour
PA isolé > 1 fois en 6mois	30 mg / kg / j 21 jours	2 millions UI 2 fois par jour
PA isolé ≥ 3 fois en 6mois	30 mg / kg / j 3 mois	2 millions UI 2 fois par jour

Tableau VII : dosage de la ciprofloxacine et de la colistine en fonction de l'ECBC (37).

Une dernière alternative existe avec un macrolide, l'azithromycine, qui aurait une indication hors AMM (réévaluation du traitement tous les trois mois) (37). En effet, l'administration prolongée de cet antibiotique limiterait l'atteinte respiratoire en diminuant l'adhérence de l'agent pathogène au niveau des bronches et améliorant l'efficacité de certains antibiotiques tels que la colistine. Ainsi, cet antibiotique reste largement utilisé et est administrée à 37,6 % des patients atteints de mucoviscidose et jusqu'à 47 à 58 % des patients âgés de 15 à 39 ans (36).

2-C°) Traitement d'entretien

Concernant le traitement d'entretien, il est recommandé l'inhalation d'aminosides (possible dès l'âge de 6 ans) tel que la tobramycine en nébulisation un mois sur deux sur une durée de 96 semaines à hauteur de 300 mg deux fois par jour (37). Ce protocole n'est pas utilisé si les bénéfices sont inférieurs (voire même aggravation de la fonction respiratoire) au protocole par voie parentérale ou bien lorsqu'il existe certaines difficultés d'observance de ce traitement.

VI- *Stenotrophomonas maltophilia*

1°) Description

S. maltophilia est une bactérie autrefois classée dans le genre *Pseudomonas* puis *Xanthosomas* avant de finir dans celui des *Stenotrophomonas*. *S. maltophilia* est une bactérie opportuniste dans de nombreuses pathologies chroniques comme la mucoviscidose. Ainsi, cette bactérie est de plus en plus identifiée dans les voies respiratoires des patients atteints de cette maladie. A l'instar de *P. aeruginosa*, cette bactérie a également des résistances innées à certains antibiotiques.

2°) Stratégie thérapeutique

A l'heure actuelle, les connaissances scientifiques ne permettent pas d'affirmer que les sujets atteints de mucoviscidose doivent subir une antibiothérapie (58). Celle-ci est ainsi mise en place en fonction du jugement clinique du praticien.

L'antibiothérapie est représentée selon les données de l'antibiogramme effectué en amont par l'administration par voie IV de l'association ticarcilline - acide clavulanique (Claventin®), l'association piperacilline - tazobactam (Tazocilline®), mais aussi la tobramycine (Nebcine®) ou les fluoroquinolones.

- L'association ticarcilline - acide clavulanique se présente sous la forme d'un flacon de poudre pour solution injectable. Pour les adultes, la posologie est de 3 g à administrer 3 à 6 fois par jour (toutes les 4 à 8 heures). Pour les enfants, la posologie est de 225 à 300 mg / kg / j à administrer 3 à 4 fois par jour. La durée de traitement est à adapter en fonction du bénéfice / risque mais est en général de 2 semaines (59).
- L'association piperacilline - tazobactam se présente sous la forme d'une poudre pour solution pour perfusion. Pour l'adulte, la posologie est de 4 g / 0,5 g toutes les 6 heures avec une durée de traitement de 5 à 14 jours (59).
- La tobramycine se présente sous la forme d'une solution injectable avec une posologie de 3 mg / kg / j à administrer 3 fois par jour, la durée de traitement étant à adapter en fonction du bénéfice / risque (59).

VII- Burkholderia cepacia

1°) Description

B. cepacia est une bactérie à coloration de Gram négative opportuniste avec une incidence inférieure à 2,5 % de la population en France (60). Elle est la plus souvent rencontrée dans les végétaux, l'eau et les sols humides. Le complexe *B. cepacia* est constitué de 9 génomovars. Un génomovar regroupe des souches avec un phénotype semblable mais qui sont génétiquement différentes. Au génomovar III du complexe *B. cepacia* correspond les symptômes les plus graves avec entre autre la fréquence la plus importante de « syndrome cepacia » caractérisée par une septicémie mortelle (37). Comme le montre le tableau VIII, ce complexe est constitué de 17 autres espèces de bactéries appartenant au complexe *B. cepacia* dont *B. multivorans*, *B. cenocepacia*, *B. vietnamiensis*, *B. stabilis*, *B. ambifaria*, *B. dolosa*, *B. anthina*, *B. pyrrocinia*.

<u>Espèces</u>	<u>Génomovar</u>
<i>B. cepacia</i>	I
<i>B. multivorans</i>	II
<i>B. cenocepacia</i>	III
<i>B. stabilis</i>	IV
<i>B. vietnamiensis</i>	V
<i>B. dolosa</i>	VI
<i>B. ambifaria</i>	VII
<i>B. anthina</i>	VIII
<i>B. pyrrocinia</i>	IX
<i>B. ubonensis</i>	
<i>B. latens</i>	
<i>B. diffusa</i>	
<i>B. arboris</i>	
<i>B. seminalis</i>	
<i>B. contaminans</i>	
<i>B. lata</i>	

Tableau VIII : 17 espèces du complexe *B. cepacia* et leur répartition dans les 9 génomovars (45).

La gravité des symptômes provoqués par cette bactérie est variable pouvant aller du simple « portage chronique » à des infections très graves conduisant au décès rapide

(en quelques semaines à quelques mois) du patient concerné (45). Les bactéries de ce complexe sont habituellement retrouvées chez les patients immunodéprimés ainsi que les patients avec une atteinte pulmonaire latente comme les patients atteints de mucoviscidose. Pour éviter la contamination inter humaine, l'isolement de ces patients porteurs de l'agent pathogène est de rigueur.

Les espèces appartenant au complexe *B. cepacia* sont ainsi régulièrement mises en cause dans l'atteinte respiratoire (pneumonie nécrosante) pouvant être associée à un « syndrome *cepacia* ». Comme le montre la figure 16, le complexe *B. cepacia* est majoritairement représenté par deux souches qui sont *B. multivorans* et *B. cenocepacia*. Chez le patient atteint de mucoviscidose, ces 2 souches sont ainsi les plus couramment impliquées avec plus de 70 % des infections causées par celles-ci (45).

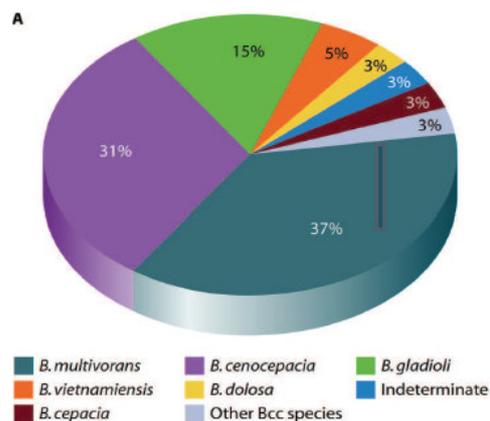


Figure 16 : distribution des espèces de *Burkholderia* aux USA (45).

2°) Stratégie thérapeutique

Le diagnostic de *B. cepacia* se réalise par son identification lors de la mise en culture d'expectorations. Un antibiogramme est ensuite réalisé, *B. cepacia* ayant des résistances innées et / ou acquises à une variété d'antibiotiques (dont la polymyxine B, la colistine, les carboxylpénicillines et les aminosides) et pouvant même survivre dans un antiseptique iodé tel que la Bétadine® (61).

Comme le montre le tableau IX représentant les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de différents antibiotiques face à cette bactérie, il existe des résistances naturelles à la ticarcilline, l'imipénème et à certaines céphalosporines de première génération (C1G) et C2G (céfalotine, céfoxitine, céfuroxime, céfotaxime). De plus, cette bactérie serait également résistante aux bêta-lactamines, aux aminosides et aux polymyxines (colistine) (62). Les substances antibiotiques actives face à cette bactérie seraient représentées par le cotrimoxazole (association sulfaméthoxazole – triméthoprime), la rifampicine, la temocilline, les fluoroquinolones, le chloramphénicol, Mais encore, il y aurait également les cyclines comme la doxycycline qui serait utilisable en monothérapie en relais des autres traitements ainsi que le méropénème qui conserverait une activité in vitro contrairement à l'imipénème. Ainsi, de nombreuses associations sont possibles telles que l'association : méropénème, rifampicine, ciprofloxacine (45).

Antibiotique	CMI (mg/L)	Catégorisation clinique
Amoxicilline	> 32	R
Amoxicilline + Ac clavulanique	> 32	R
Pipéracilline	4	S
Pipéracilline + Tazobactam	4	S
Ticarcilline	> 512	R
Ticarcilline + Acide clavulanique	> 512	R
Céfalotine	> 64	R
Céfoxitine	> 32	R
Céfuroxime	> 32	R
Ceftazidime	4	S
Céfotaxime	16	R
Latamoxef	128	R
Aztréonam	> 128	R
Imipénème	32	R
Méropénème	2	S
Sulbactam	2-3	S

Tableau IX : CMI de différents antibiotiques face à *B. cepacia* (50).

D'autres substances sont actives mais non bactéricides comme la ciprofloxacine, la tazocilline (pipéracilline + tazobactam), la ceftazidime (elle s'avère cependant décevante en clinique). Enfin, certains antimicrobiens auraient un impact positif contre le développement de cette bactérie. Certains produits à visée thérapeutique semblent

même en développement et contiennent ainsi de la lactoferrine et de l'hypothiocyanite. En effet, il s'avère que les poumons des patients atteints de mucoviscidose ont un déficit de ces deux molécules (63) (64) (la lactoferrine aurait la capacité d'inhiber le bio-film de bactéries comme *P. aeruginosa* et *B. cepacia* (55) (66)).

VIII- *Achromobacter xylooxidans*

1°) Description

A. xylooxidans est une bactérie à coloration de Gram négative retrouvée dans les environnements humides et est typiquement isolée chez les patients atteints d'infections pulmonaires. Cette bactérie provoque le plus souvent une bactériémie retrouvée typiquement chez les patients atteints de mucoviscidose.

2°) Stratégie thérapeutique

Concernant la thérapeutique, *A. xylooxidans* est une bactérie possédant une résistance innée à de nombreux antibiotiques (béta-lactamines, quinolones, aminoglycosides) (67). L'antibiothérapie est ainsi décidée en fonction des résultats de l'antibiogramme et est le plus souvent représenté par la minocycline, l'imipénème, le méropénem, et l'association pipéracilline – tazobactam (52).

IX- Mycobactéries

La famille des mycobactéries compte environ 175 espèces de bactéries qui sont les plus souvent retrouvées dans les sols et les environnements humides. La plupart du temps, il n'existe aucune différence de VEMS entre les patients colonisés et les non colonisés. Ces bactéries ne semblent donc pas dangereuses pour l'homme. La littérature scientifique recense néanmoins certaines exceptions telles que des infections chroniques à *Mycobacterium abscessus* qui seraient associées à une détérioration de la fonction pulmonaire. Une autre exception serait l'agent de la tuberculose (*Mycobacterium*

tuberculosis) infectant le système pulmonaire chez les patients atteints de mucoviscidose où il pourrait exister un certain impact clinique comme le montre le tableau X.

Organism	Prevalence	Clinical impact	Persistence	Selective media	Route of transmission*	Transmission precautions†	Multidrug resistance	
							Mechanism	Antimicrobial control‡
<i>P. aeruginosa</i>	++++	Significant	Chronic	No	P,E _{TS}	S§	Acquired	+
<i>B. cepacia</i> complex	+	Significant	Chronic	Yes	P>E _s	S,C	Intrinsic	+
MSSA	+++	Significant	Variable	Yes	P>E _s	S	Acquired	+/-
MRSA	+	Variable	Variable	Yes	P>>E _s	S,C	Acquired	+
<i>H. influenzae</i>	++	Variable	Variable	Yes	P	S	Acquired	+/-
<i>S. maltophilia</i>	++	Variable	Variable	Yes	E _{s,r} >P	§	Intrinsic	+
<i>A. xylooxidans</i>	+	Variable	Variable	No	E _s >P	§	Intrinsic	+
Respiratory viruses	Seasonal	Variable	No	Yes	P>E _s	S, C; add D for influenza, adenovirus	Acquired	-
<i>Mycobacterium</i> spp.								
Nontuberculous	++	Variable	Variable	Yes	E _r >>P	S	Acquired	-
<i>M. tuberculosis</i>	Rare	Variable	Rare	Yes	P	A	Acquired	-
<i>Aspergillus</i> spp.	++	Variable	Variable	Yes	E _r >>>P¶	S	Intrinsic	-

*P, person-to-person; E, environmental reservoir; E_r, environment may serve as a reservoir eg, water, sinks, soil, etc; or E_s, an environmental surface or patient-care item that has been contaminated with respiratory secretions.

†S, standard precautions; C, contact precautions; D, droplet precautions; A, airborne precautions.

‡Potential prevention strategy.

§Add contact precautions when *P. aeruginosa* is multidrug-resistant.

||Contact precautions when institution has evidence of person-to-person transmission.

¶Airborne transmission has been documented in setting of high organism burden accompanied by irrigation and debridement of wound.

Tableau X : données cliniques et épidémiologiques de certains agents pathogènes parmi les patients atteints de mucoviscidose (50).

Chez les patients atteints de mucoviscidose, les scientifiques retrouvent en fonction de la localisation géographique le plus souvent *M. abscessus* (en France), *Mycobacterium avium* (Amérique du nord), *Mycobacterium intracellulare* (Amérique du nord) et *Mycobacterium kansasii*. Ces dernières espèces représentent les mycobactéries atypiques ou non tuberculeuses (MNT) et sont représentées à hauteur de 5 à 15 % selon les établissements de santé (68). Ces bactéries sont le plus souvent impliquées dans la mucoviscidose chez les jeunes patients en induisant des infections pouvant être rapidement fatales. Les molécules antibiotiques disponibles contre ces bactéries sont représentées sous le tableau XI.

Concernant *M. abscessus*, celui-ci est naturellement résistant à de nombreux antibiotiques comme le montre le tableau XI. La cefoxitine, l'amikacine, la clarithromycine et l'imipénème sont les seuls principes actifs capables d'éradiquer durablement la bactérie.

Organism	Agents	Dosing (Route)	Monitoring
<i>Mycobacterium avium intracellulare</i> complex	Clarithromycin	15–30 mg/kg/d orally divided twice a day, max 1 g	Levels decreased by rifampin/rifabutin
	Rifampin	10–20 mg/kg/d orally, max 600 mg	Monitor CBC
	Rifabutin	5–10 mg/kg/d orally, max 300 mg	Monitor CBC
	Ethambutol	25 mg/kg/d orally	Monitor color vision and acuity
CONSIDER:	Streptomycin	500–750 mg two to three times/wk intravenously for first 8 weeks if severe	Monitor renal function, audiometry
<i>Mycobacterium abscessus</i>	Cefoxitin	200 mg/kg/d intravenously divided every 8 h, max 12 g	Monitor CBC
	Amikacin	10–15 mg/kg/d intravenously divided every 12 h	Monitor serum levels, renal function, audiogram
	Clarithromycin	15–30 mg/kg/d orally divided twice a day, max 1 g	Levels decreased by rifampin/rifabutin
CONSIDER:	Surgical debridement if infection is localized		

Definition of abbreviation: CBC = complete blood count (with differential).
Most doses are expressed as milligrams per kilogram of body weight.

Tableau XI : posologie des antibiotiques actifs sur les mycobactéries (50).

PARTIE III : INFECTIONS **FONGIQUES**

I- INTRODUCTION

De nombreuses espèces fongiques sont capables de coloniser l'appareil bronchique du patient atteint de mucoviscidose. La colonisation des bronches par ces champignons peut soit n'avoir aucun effet pathogène clairement identifié chez le patient avec simplement un portage chronique, soit provoquer des complications d'origines infectieuses ou bien allergiques amenant à une dégradation de la fonction respiratoire.

De par la sévérité de sa symptomatologie clinique, *A. fumigatus* demeure l'espèce la plus dangereuse chez les patients atteints de mucoviscidose. D'autres espèces fongiques capables de coloniser les voies respiratoires peuvent également avoir un effet pathogène telles que *Scedosporium apiospermum*, *Exophiala dermatitidis* ou encore *Aspergillus terreus*.

II- EPIDEMIOLOGIE

En France, les mycoses broncho-pulmonaires sont majoritairement causées par les espèces du genre *Aspergillus* et plus particulièrement par *A. fumigatus*. En effet, cette espèce représente largement à elle seule une grande partie des cas de colonisation fongique des voies respiratoires et est ainsi la cause de la majorité des pathologies aspergillaires des patients atteints de mucoviscidose. Ainsi, 46 % d'entre eux présentent une infection par *A. fumigatus* (45). La colonisation bronchique par ce champignon reste peu importante avant le début de l'adolescence mais sa prévalence s'accroît avec l'âge. Ce champignon infecte ainsi le sujet entre 12,3 ans et 14,1 ans (45).

Aspergillus flavus est également une espèce de champignons qui requiert une vigilance accrue chez les patients immunodéprimés et, a fortiori, ceux atteints de mucoviscidose. Cet agent pathogène est en effet la cause de 10 % des infections broncho-pulmonaires et particulièrement dans les cas d'aspergilloses pulmonaires invasives (API).

L'impact clinique d'*A. terreus* ne doit pas être négliger dans le domaine de la mucoviscidose avec une fréquence estimée à 6,2 % (45). Il est ainsi souvent à l'origine d'une colonisation chronique chez ce type de patients et est mis en cause dans des cas d'aspergilloses broncho-pulmonaires allergiques (ABPA) et des cas d'aspergilloses pulmonaires.

III- LES CHAMPIGNONS FILAMENTEUX

Les champignons filamenteux colonisant les patients atteints de mucoviscidose sont majoritairement représentés par les espèces *Aspergillus* dont *A. fumigatus*, *A. terreus*, *S. apiospermum* et *E. dermatitidis*.

1°) Aspergillus

1-A°) Description

Le genre *Aspergillus* est constitué de 185 espèces fongiques dont une vingtaine seulement est pathogène pour l'homme (69). De par leur virulence, leur thermo-résistance et les dimensions de leurs spores, *A. fumigatus*, *A. flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus nidulans* et *A. terreus*, sont les espèces les plus fréquemment retrouvées (70).

Les *Aspergillus* sont des ascomycètes ubiquitaires retrouvés particulièrement dans les zones humides, la surface des sols, les végétaux en décomposition, les zones de grands travaux avec de la poussière de maison issue des matériaux de construction. Ces champignons sont considérés comme des agents pathogènes opportunistes très dangereux qui retrouvent les conditions favorables à leur implantation et développement sous forme filamenteuse chez les patients immunodéprimés comme chez certains de ceux atteints de mucoviscidose (70).

Les *Aspergillus* possèdent une capacité de sporulation élevée (71) permettant l'imprégnation massive de l'environnement par ses spores et ses conidies. La colonisation des bronches débute donc majoritairement par l'inhalation des spores (conidies) dont la taille varie entre 2 à 3,5 µm de diamètre qui sont ainsi constamment inhalées. L'une des caractéristiques essentielles de ces spores est sa thermo-résistance avec une capacité à résister à des températures de 15 à 53°C permettant une dissémination jusqu'aux alvéoles pulmonaires (45).

Chez les patients atteints de mucoviscidose, une partie de ces spores est usuellement éliminée par des barrières naturelles telles que le tapis muqueux possédant des cils vibratiles permettant l'extraction de l'agent pathogène vers l'extérieur de l'organisme. Cependant, le système immunitaire ne participe pas ou peu à la défense de l'organisme avec l'insuffisante production de macrophages, de monocytes et de polynucléaires neutrophiles. La colonisation par ce champignon peut également s'effectuer de manière digestive ou cutanée avec l'ingestion de fruits, thé, poivre, ou bien simplement par le contact des spores au niveau d'une peau lésée à l'aide de pansements contaminés, par exemple (70).

1-B°) Pathologies dues aux *Aspergillus*

Parmi les nombreuses répercussions respiratoires que peut provoquer l'inhalation de ces spores chez les patients atteints de mucoviscidose, les plus importantes sont des réactions d'hypersensibilité de type I, III ou IV. Ainsi, les *Aspergillus* sont responsables de quatre grandes formes cliniques d'aspergilloses qui sont l'ABPA, l'aspergillose pulmonaire invasive (API), l'aspergillose pulmonaire chronique nécrosante communément appelée aspergillose pulmonaire semi-invasive (APSI) (ou aspergillose fibrocavitaire) et la bronchite aspergillaire. Cependant, les patients atteints de mucoviscidose peuvent également être sujets à d'autres rares cas d'aspergilloses que sont l'aspergillome, la bronchite ou l'asthme.

La plus grande partie de ces aspergilloses est liée à *A. fumigatus* dans 90 % des cas, les 10 % restants étant réparti entre *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus*. Ces aspergilloses ont une incidence de 6,9 % dont 3,7 % sont représentées par des sujets

immunodéprimés (72). Parmi ces sujets atteints, la mortalité est de 80 % dont 20 % peut être directement imputé à cette pathologie (73).

Aspergillose broncho-pulmonaire allergique

Chez les patients (non greffés) atteints de mucoviscidose, la colonisation bronchique est essentiellement réalisée par *A. fumigatus* (74) et se traduit le plus souvent par une ABPA. Cette forme d'aspergillose fut la première aperçue chez les patients atteints de mucoviscidose et demeure la plus représentée aujourd'hui.

En effet, l'environnement bronchique du patient atteint de mucoviscidose est propice au développement du champignon dans la mesure où la clairance mucociliaire y est affectée. Cette pathologie touche 2 à 25 % des patients et les scientifiques évaluent sa prévalence entre 2 et 11 % (7,8 % en France) chez les sujets atteints de mucoviscidose (75). Enfin, l'augmentation des crises d'ABPA semblerait être corrélée à une certaine prédisposition génétique dans la mesure où cette pathologie affecte majoritairement les asthmatiques et les patients atteints de mucoviscidose (76).

L'ABPA est une maladie pulmonaire allergique résultant d'une hypersensibilité à ce champignon. La colonisation d'*A. fumigatus* provoque tout d'abord une réaction d'hypersensibilité immédiate (de type I) puis enfin une réaction d'hypersensibilité de type III semi retardée avec les libérations respectives d'immunoglobulines de type E (IgE) et d'immunoglobulines de type G (IgG) spécifiques de l'agent pathogène (77).

Cette pathologie évolue par poussées d'exacerbations (70) et il existe ainsi cinq stades évolutifs de la maladie représentés par le tableau XII. Les symptômes majoritaires ressemblent fortement à un asthme mal contrôlé associé à des infiltrats pulmonaires récidivants. Elle se traduit ainsi par un spasme bronchique important associé à une toux, des crachats purulents, des hémoptysies et des douleurs thoraciques. A ces symptômes peuvent s'ajouter de la fièvre, des céphalées, une anorexie ou des malaises. A long terme, l'inflammation pulmonaire provoque ainsi une production excessive de mucus dont la stase induit l'hyperactivité des voies aérienne aboutissant à

des bronchectasies tubulaires (dilatations des bronches) et même dans certains cas à une fibrose pulmonaire (70).

	Biologie	Rx
I Aigu	Ig E totales très augmentées ± éosinophilie sanguine	Infiltrats pulmonaires (LS et LM)
II Rémission	Ig E totales normales ou augmentées	Pas d'infiltrats sans corticoïdes oraux depuis > 6 mois
III Exacerbation	Ig E totales très augmentées ± éosinophilie sanguine	Infiltrats pulmonaires (LS et LM)
IV Asthme corticodépendant	Ig E totales normales ou augmentées	Avec ou sans infiltrats
V Fibrose	Ig E totales normales	Fibrose, bronchectasies,

Tableau XII : classification des stades d'ABPA (45).

Concernant son diagnostic, celui-ci est délicat car sa symptomatologie reste similaire à celle de la mucoviscidose. Les scientifiques se basent donc sur le test cutané immédiat des IgE à *Aspergillus* positives, des IgE totales et des précipitines anti-aspergillaires augmentées. Ce diagnostic peut être affirmé par une hyperéosinophilie et la présence d'IgG anti-aspergillaires mises en évidence par la méthode immunoenzymatique (Enzyme Linked Immunosorbent Assay, ELISA) ou encore l'isolement de *l'aspergillus* dans une expectoration (70).

Concernant le traitement de l'ABPA, celui-ci repose essentiellement sur des corticoïdes par voie orale. Ceux-ci présentent néanmoins de larges effets indésirables chez les patients atteints de mucoviscidose. Une épargne corticoïde peut ainsi être souhaitée avec l'association d'antifongiques : l'itraconazole, le voriconazole ou même le posaconazole qui pourrait être envisagé contre des résistances aux autres molécules. Mais encore, le posaconazole diminuerait les récurrences rencontrées après l'arrêt du traitement et permettrait un sevrage plus aisé (71).

Aspergillose pulmonaire invasive

L'API est une pathologie pulmonaire qui reste beaucoup plus rare chez les patients atteints de mucoviscidose. Cette pathologie se rencontrerait majoritairement chez les patients immunodéprimés et plus particulièrement chez les patients allogreffés, porteurs du Virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH), neutropéniques, ou ayant subi une radiothérapie.

La mortalité de l'API reste très élevée et supérieure à 50 % (70). Cette complication aiguë infectieuse est caractérisée par une résistance aux antibactériens et aux antibiotiques associée à la présence d'opacités plus ou moins diffuses de condensations plurifocales ou infiltratives sur la radiographie du thorax.

Après inhalation des spores aspergillaires, l'agent pathogène se place au niveau des bronches pulmonaires. Les filaments de l'*Aspergillus* provoquent ainsi une destruction des bronches et du parenchyme pulmonaire suivi par la propagation vers l'artère pulmonaire pouvant provoquer une thrombose artérielle ou un infarctus pulmonaire. Par la suite, cet agent pathogène peut même envahir d'autres organes comme le cœur, la peau, les os ou bien le cerveau (70).

Les symptômes sont caractérisés par une dyspnée associée à des douleurs thoraciques, des hémoptysies ainsi qu'une fièvre persistante malgré l'utilisation d'antibiotiques. Concernant le diagnostic, celui-ci est majoritairement basé sur la tomodensitométrie révélant le « signe du halo » dans les jours suivants la contamination (J0 à J5) et le signe du « croissant gazeux » dix jours plus tard (J10 à J20) (70). Ce

diagnostic peut être confirmé biologiquement par une antigénémie aspergillaire, évaluée par la détection dans le sérum du galactomannane par ELISA. Enfin, le diagnostic de certitude peut être réalisé par la biopsie pulmonaire mais cette méthode reste le dernier recours et est ainsi utilisée uniquement chez les patients à forts risques vitaux.

Aspergillose pulmonaire chronique nécrosante

L'APSI est une variante de l'API. Elle est majoritairement provoquée par *A. fumigatus* mais des cas liés à *A. niger* ont également été répertoriés. Après inhalation des spores aspergillaires, le champignon envahit les bronches et les filaments du champignon se développent dans le parenchyme pulmonaire amenant une nécrose pulmonaire associée à une inflammation chronique.

Cette pathologie se distingue de l'API par deux caractéristiques. Tout d'abord, l'agent pathogène ne s'installe pas dans les autres parties du corps. Ainsi les scientifiques qualifient cette pneumonie comme évoluant insidieusement, se développant lentement à bas bruit en 5 à 6 mois. De plus, contrairement à l'API qui touche généralement les personnes en forte immunodépression, l'APSI ne concerne majoritairement que les patients ayant un système immunitaire légèrement affaibli ou atteints d'une pathologie pulmonaire chronique.

L'infection se traduit généralement par une altération de l'état général avec une fièvre au long cours et un amaigrissement mais surtout par une toux avec des expectorations productives et colorées ainsi que des douleurs thoraciques en cas d'atteinte pariétale.

En effet, cette pathologie se traduit au niveau des radiographies pulmonaires par des opacités infiltratives unies ou bilatérales des lobes supérieurs s'excavant et pouvant avoir un aspect en grelot (aspergillome) (78). Ces lésions peuvent également s'accompagner d'un épaississement pleural en regard du foyer parenchymateux.

Au niveau biologique, cette pathologie provoque un syndrome inflammatoire. En effet, les scientifiques retrouvent chez les sujets atteints d'APSI une sérologie aspergillaire la plus souvent positive (comparée avec une sérologie majoritairement négative dans l'API) avec généralement plus de trois arcs en immunoelectrophorèse (ou un arc avec un patient immunodéficient) (74). De plus, contrairement à la granulopénie observée chez le sujet atteint d'API, l'APSI est souvent associée à une polynucléose neutrophile.

Concernant le diagnostic, la suspicion de l'APSI commence par une résistance à l'antibiothérapie à large spectre et / ou à un traitement antibacillaire d'épreuve puis par la mise en évidence de filaments d'*Aspergillus* dans l'expectoration ou dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire. Le diagnostic est confirmé par un relevé positif d'une biopsie pulmonaire (transbronchique, percutanée ou chirurgicale) ramenant des preuves physiques du développement de l'agent pathogène.

Cette pathologie est usuellement traitée par l'amphotéricine B pouvant être associée à la 5-fluorocytosine par voie IV (79). Cependant, d'autres antifongiques peuvent être utilisés avec notamment l'itraconazole qui est soit utilisé en complément du traitement parentéral, soit d'emblée comme traitement de référence. Le traitement peut durer plusieurs mois voire même plus d'un an. Après l'arrêt du traitement, des rechutes restent possibles et il est important de mettre en place une surveillance radiologique et sérologique accrue. D'ailleurs, la présence de cavités résiduelles oblige le corps médical à envisager l'exérèse de l'organe atteint.

Bronchite aspergillaire

La bronchite aspergillaire (asthmatiforme dans certains cas) est une pathologie peu fréquente provoquant une inflammation localisée au niveau des alvéoles pulmonaires. Elle provoque ainsi une dyspnée, des sibilances, des expectorations, des hémoptysies, pouvant être associées à une hyperthermie et des douleurs thoraciques. Concernant la biologie, le taux d'IgE, la sérologie ainsi que le taux de polynucléaires éosinophiles restent normaux (70).

2°) Autres champignons filamenteux

2-A°) Espèces du complexe *Scedosporium*

Après les espèces du genre *Aspergillus* auxquelles elles sont liées (*S. apiospermum* est usuellement retrouvé dans les expectorations soit en même temps que les espèces d'*Aspergillus* soit après la colonisation par ce dernier (80)), les espèces du genre *Scedosporium* représentent en fréquence le deuxième groupe de champignons capable de coloniser les voies respiratoires des patients atteints de mucoviscidose (81). En effet la prévalence des espèces du genre *Scedosporium* est évaluée à 8-10 % (82). Ce genre *Scedosporium* est représenté par cinq espèces émergentes : *S. apiospermum*, *Pseudoallescheria boydii*, *Scedosporium prolificans*, *Scedosporium aurantiacum*, *Scedosporium dehoogii*. Seuls *S. apiospermum*, *P. boydii* et *S. prolificans* sont répertoriés comme de potentiels agents pathogènes opportunistes des sujets immunodéficients et des patients atteints de mucoviscidose.

Parmi les champignons de ce complexe, *S. prolificans* peut être responsable d'importantes infections chez les sujets greffés. En revanche, la colonisation par cette espèce chez les patients atteints de mucoviscidose reste généralement transitoire et asymptomatique (82).

Le chef de file de ce complexe est *S. apiospermum* et n'est rencontré qu'après le début de l'adolescence avec une moyenne d'âge d'isolement du champignon de 14,5 ans. Ce sont des champignons filamenteux, saprophytes et ubiquitaires, se développant majoritairement dans des milieux pauvres en oxygène tels que les sols issus de l'agriculture ou des jardins (fumiers), les environnements boueux mais également dans les eaux polluées telles que les eaux d'égouts et les eaux rejetées des zones industrielles.

Concernant la contamination, elle est établie à partir d'une spore soit par voie aérienne (inhalation des spores) soit par voie transcutanée (suite à une blessure). Ce genre de champignon reste un agent pathogène important pour les patients atteints de mucoviscidose (80). En effet, il vit dans un climat tempéré mais est thermotolérant et peut également résister à de faibles concentrations en oxygène. De plus, il possède une facilité à se développer chez un patient immunodéprimé. Ainsi l'agranulocytose et

l'utilisation prolongée de corticoïdes forment des facteurs de risques majeurs pour cette affection, facilitant la colonisation par l'agent pathogène (82). De même, les scientifiques constatent un développement plus aisé du champignon dans un environnement préalablement altéré (lésions du tractus respiratoires).

La colonisation par *S. apiospermum* peut se traduire par des tumeurs inflammatoires appelées mycétomes et participerait à un processus inflammatoire détruisant progressivement l'appareil respiratoire (80). Elle serait également liée à des mycoses broncho pulmonaires allergiques dont les symptômes ressembleraient fortement à une ABPA, le diagnostic différentiel étant basé sur l'absence de l'agent pathogène dans les sécrétions bronchiques et une sérologie négative avec absence de précipitines sériques anti *S. apiospermum* (82).

Pour les patients atteints de mucoviscidose, cette colonisation augmenterait le risque d'être atteint d'ABPA (83) et pourrait même provoquer des atteintes neurologiques avec des mycoses du système nerveux central ou même des mycoses systémiques avec des cas de scédosporioses systémiques le plus souvent fatals (80).

Concernant les traitements, les champignons du genre *Scedosporium* posent un véritable problème thérapeutique dans la mesure où ils sont résistants à la majorité des antifongiques. De plus, le corps médical envisage difficilement les transplantations pulmonaires (contre-indication relative et compromet les chances de succès) dès lors qu'il y a colonisation par ce genre de champignons. En effet, la colonisation par cet agent pathogène serait un haut facteur de risques de pathologies invasives et de mortalité durant la période post-greffe (84). Lorsque la transplantation s'impose, le corps médical recourt à des antifongiques avant l'intervention de manière à éviter l'apparition ultérieure d'une scédosporiose invasive (80).

2-B°) *Exophiala dermatitidis*

E. dermatitidis est un champignon filamenteux saprophyte le plus souvent non pathogène colonisant les bronches du sujet de manière chronique en restant asymptomatique. En revanche, certains scientifiques imputeraient des cas de

pneumopathies à ce champignon. Il serait retrouvée à hauteur de 1,8 à 15,7 % (taux d'isolement) chez les patients atteints de mucoviscidose (77).

E. dermatitidis est issu des environnements tempérés humides et tropicaux et est donc retrouvé dans des milieux comme les salles de bain ou les saunas (81). Ce champignon serait souvent responsable d'atteintes superficielles telles que des mycoses sous-cutanées post-traumatiques ou systémiques étant à l'origine d'affections pulmonaires, viscérales et neurologiques (82).

Chez les patients atteints de mucoviscidose, *E. dermatitidis* se développe dans l'appareil respiratoire induisant de rares mais possibles infections profondes déclenchant une réponse immunitaire spécifique (80).

2-C°) *Acroghialoghora usigoru*

A. usigoru est un champignon filamenteux thermorésistant le plus souvent retrouvé dans les sols. Il aurait été mis en cause lors de trois cas d'infections pulmonaires, trois cas de kératites et un cas d'abcès cérébral. De plus, il a déjà été retrouvé un cas asymptomatique avec une colonisation transitoire chez un sujet espagnol atteint de mucoviscidose.

Malgré ces cas répertoriés la prévalence de ce champignon demeure encore très faible aujourd'hui même si certains scientifiques supposent qu'elle est peut être sous estimée au vu du nombre insuffisant de données scientifiques (80).

2-D°) *Penicillium sp*

La première description des *penicillium* à été réalisée en 1999 par Cimon *et al.*, Les *penicillium* sont des champignons filamenteux saprophytes de type moisissure dégradant le plus souvent les denrées alimentaires. Ces champignons sont très répandus dans l'environnement, aussi bien dans les denrées alimentaires, le compost, les matières organique, les graines, les céréales que dans les sols et l'air. Deux espèces de *Penicillium* sont capables de coloniser de manière chronique les sujets atteints de mucoviscidose : *Penicillium emersonii* et *Geosmithia argillacea*.

G. argillacea est un champignon filamenteux possédant de nombreuses similarités avec *P. emersonii*, avec lequel il est souvent confondu. *G. argillacea* est considéré aujourd'hui comme agent pathogène émergent chez les patients atteints de mucoviscidose. Ainsi, les scientifiques recensent depuis 1999 17 cas d'infections par ce champignon (85).

La colonisation chronique de ce champignon résulterait de son affinité à la chaleur (thermophile), lui permettant de se développer aisément dans les bronches (86). Certaines conditions permettraient également l'implantation chronique de l'agent pathogène dans l'appareil respiratoire telles que des lésions épithéliales bronchiques provoquées par la colonisation au préalable d'autres bactéries comme *S.aureus*.

Chez les patients atteints de mucoviscidose, cet agent pathogène serait capable d'engendrer des infections invasives mortelles en cas d'immunosuppression et plus précisément chez les sujets transplantés (86).

IV- Espèces de *Candida*

A l'instar des champignons décrits précédemment, il existe un deuxième groupe d'espèces fongiques que sont les levures, également responsable de mycoses systémiques. Ce groupe de champignons joue un rôle important dans certaines pathologies respiratoires ainsi que d'autres affections telles que la mucoviscidose.

Le genre *Candida* comporte une grande variété d'espèces. Elles sont majoritairement représentées par *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis* et *Candida tropicalis*. Les espèces de *Candida* sont des champignons saprophytes retrouvés dans l'environnement au niveau du sol et des végétaux et présents chez l'homme au niveau cutané ainsi que des muqueuses respiratoires, vaginales et digestives. En règle générale, la colonisation par ce genre de champignons n'aboutit pas à des infections candidosiques.

En effet, certaines bactéries infectant l'appareil pulmonaire posséderaient certaines propriétés antifongiques. Ainsi, la présence de *P. aeruginosa* serait étroitement

liée à celle de *C. albicans* (87) car elle utiliserait la forme filamenteuse de celui-ci à son avantage et ralentirait son évolution par le biais d'une activité fongicide (88).

Cependant, les espèces de *Candida* peuvent aussi être à l'origine de graves infections systémiques et particulièrement, voire exclusivement, chez les sujets greffés (82). D'après certains chercheurs, la colonisation par *C.albicans* aurait même des répercussions physiologiques sous-estimées même si les caractéristiques respiratoires restent quasiment inchangées (89)

C. albicans est l'espèce la plus souvent rencontrée lors de ces infections. Cette levure est un champignon commensal opportuniste colonisant les cavités naturelles (les muqueuses buccales, gastro intestinales et urogénitales humaines). C'est l'espèce la plus rencontrée dans les expectorations des sujets atteints de mucoviscidose (82). Ainsi, *C. albicans* serait présente à des fréquences variant de 56 à 75 % chez les patients atteints de mucoviscidose (45) Par ailleurs, la susceptibilité d'une colonisation par *Candida* augmenterait proportionnellement à l'utilisation de produits tels que les antibiotiques au long cours ou des inhalations de corticoïdes ainsi qu'à certains facteurs favorisant tels qu'un diabète (82).

D'autres espèces du genre *Candida* ont également été recensées chez des patients atteints de mucoviscidose. Ainsi *Candida dubliniensis* détient une prévalence de 11,1 % chez ce type de patients et aurait également été responsable d'infections mortelles chez certains sujets en période post greffe bi-pulmonaire (82). De même, *Candida trichoderma* et *Saccharomyces cerevisiae* ont déjà été décrits comme ayant colonisé les voies respiratoires de patients atteints de mucoviscidose sans pour autant apporter de preuves scientifiques quant à leur implication et possible pouvoir pathogène dans la maladie.

PARTIE IV : NOUVELLES VOIES **THERAPEUTIQUES**

I- INTRODUCTION

Les antibiotiques antibactériens et les antifongiques sont des agents chimiques capables de détruire ou d'empêcher spécifiquement le développement de certaines bactéries et champignons. Leur découverte a révolutionné l'histoire de la médecine humaine et permis de réduire fortement la mortalité de nombreuses maladies infectieuses et fongiques au cours du XX^{ème} siècle comme la syphilis ou le tétanos. Chez les patients atteints de mucoviscidose, ils ont ainsi permis de traiter et / ou réduire les fréquences des affections pulmonaires en assurant une meilleure prise en charge de la maladie.

Néanmoins, la destruction totale des bactéries et champignons siégeant dans l'appareil respiratoire est impossible. En effet, aucune des voies d'administration disponibles ne permet une biodisponibilité pulmonaire suffisante sans causer de trop importants effets secondaires (90). L'administration sous forme d'aérosol reste néanmoins le meilleur choix avec une concentration pulmonaire de médicaments très forte sans pour autant avoir trop d'effets indésirables, le médicament agissant localement sans passage systémique. Cependant, seulement deux molécules possédant une AMM sont couramment utilisées dans l'antibiothérapie inhalée : la tobramycine et la colistine.

De plus, l'utilisation trop importante et répétée et parfois inappropriée a conduit au développement de bactéries et champignons résistants à ces médicaments. Ce problème est d'autant plus important chez les patients atteints de mucoviscidose dans la mesure où ceux-ci sont le plus souvent immunodéprimés et donc des cibles privilégiées aux infections pulmonaires.

Cependant, comme le dit Franck Dufour, directeur scientifique de l'association Vaincre la mucoviscidose, « *la recherche contre la mucoviscidose est très active et nous vivons actuellement une période charnière* » et de nombreux traitements sont en développement clinique.

II- SQUALAMINE

1°) Présentation

Afin d'obtenir de nouvelles alternatives face à l'émergence de ces champignons et bactéries multi-résistantes, les scientifiques tentent de développer de nouvelles substances « antimicrobiennes ». Ainsi le chercheur américain Michael Zasloff fit la découverte de la squalamine (figure 17) en 1993. Ce dérivé aminostéroïdien à été retrouvé dans le foie d'un requin du genre *Squalus acanthias* (figure 18).

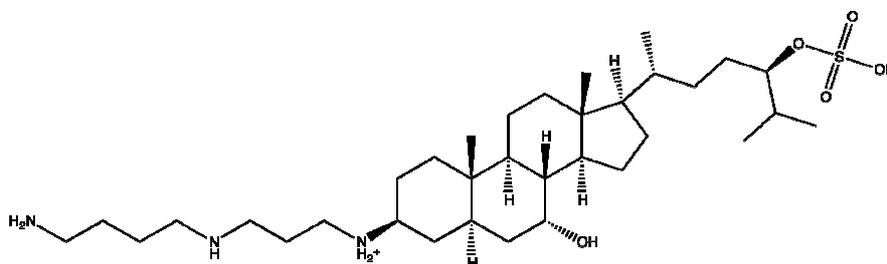


Figure 17 : structure moléculaire de la squalamine (91).



Figure 18 : un requin du genre *Squalus acanthias* (92).

Cette molécule possède un noyau stéroïdien, une chaîne polyamine et des groupements sulfate et hydroxyle. La synthèse de cette molécule est difficile et coûteuse de par son rendement très faible. Les scientifiques ont donc synthétisé des molécules analogues à la squalamine avec des procédés plus simple et moins onéreux. Ce sont des aminostérols synthétiques appelés dérivés aminostéroïdiens (DASs) représentés dans la figure 19.

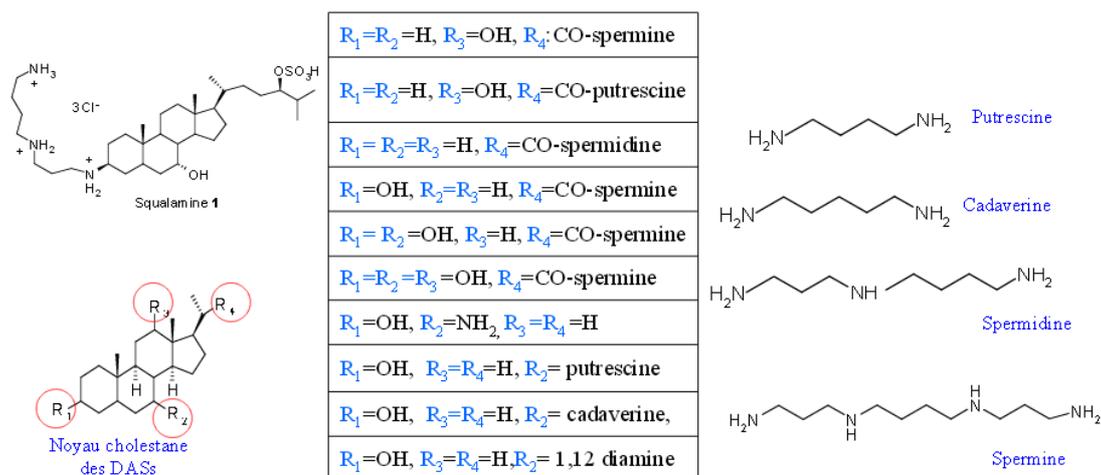


Figure 19 : structures moléculaires possibles des différents DASs (93).

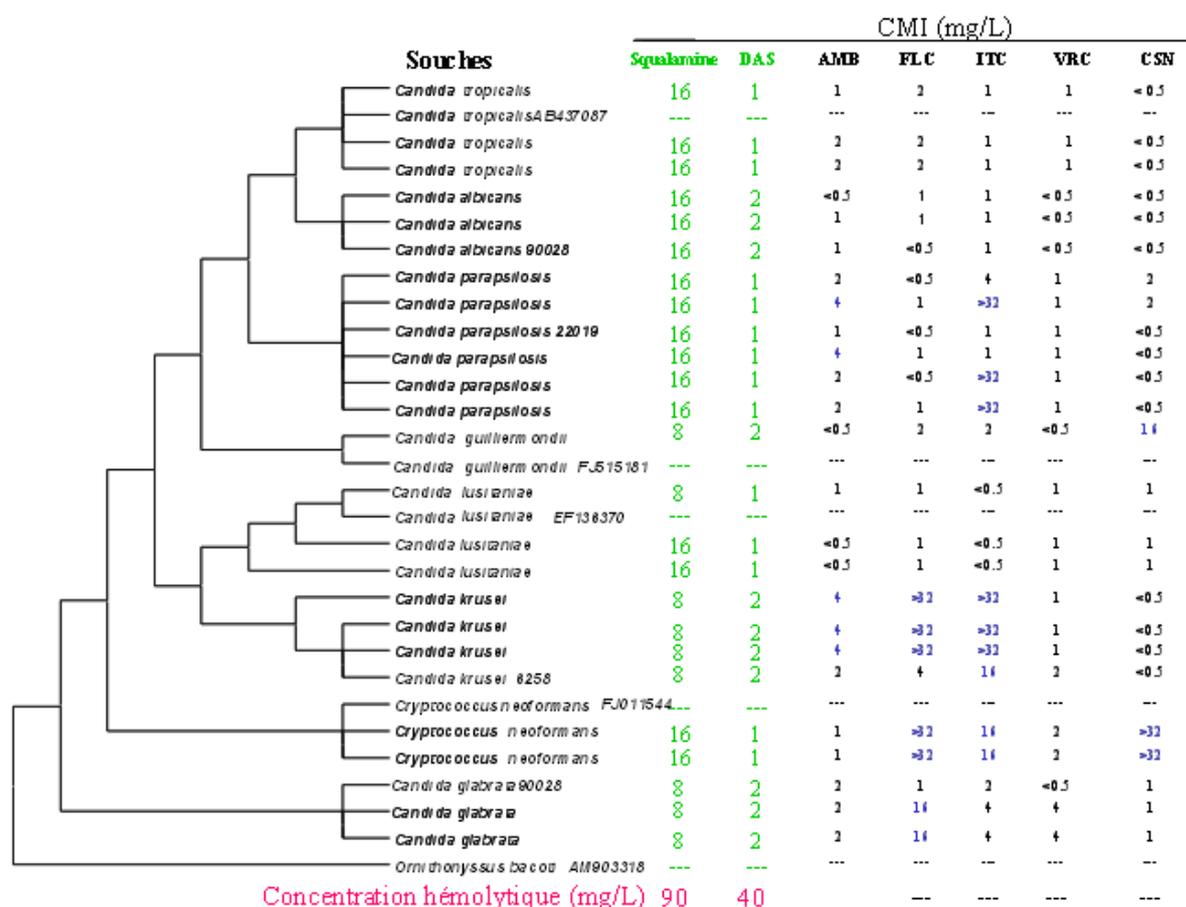
2°) Activités antimicrobiennes

De récentes études *in vitro* auraient ainsi montrées l'existence d'une activité antibactérienne et antifongique de ce composé aminostéroïdien. Ainsi, la squalamine interagirait avec les groupements phosphates chargés négativement des bactéries à coloration de Gram négative et provoquerait des lésions membranées (similaires à l'action des détergents) aboutissant à leurs ruptures (93). De plus, la squalamine aurait la capacité de dépolariser les bactéries à coloration de Gram positive, permettant une rupture totale de leurs membranes. De la même façon, la squalamine aurait une activité antifongique en dégradant la membrane fongique comme le prouve l'efflux d'ATP intracellulaire dans de nombreuses études *in vitro* (90).

Comme le montrent les tableaux XIII, XIV et XV représentant les CMI des DASs sur des souches de référence de bactéries et champignons, les DASs possèdent un large spectre d'activité antimicrobienne. De plus, le mécanisme (perturbation de l'intégrité des membranes) antibactérien et antifongique utilisé étant purement « physique », celui-ci ne devrait pas présenter de résistances.

CMI's mg/L							
Dérivés	Bactéries à Gram-positif			Bactéries à Gram-négatif			Champignons
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. pneumoniae</i> ATCC 6305	<i>S. pyogenes</i> ATCC 19615	<i>E. coli</i> ATCC25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 27853	<i>A. fumigatus</i> H1120
Squalamine	2	-	-	1-2	4-8	-	-
1	1.56	3.13	0.78	3.13	3.13	3.13	12.5
2	25	25	6.25	50	100	50	50
3	3.13	0.78	3.13	3.13	12.5	6.25	3.13
4	0.78	3.13	0.78	1.56	0.78	> 100	12.5
5	1.56	3.13	0.78	3.13	3.13	3.13	12.5
6	6.25	25	3.13	25	25	>100	25

Tableau XIII : CMI en mg / L des DASs sur de souches de référence et sur *A. fumigatus* (90).



AMB: Amphotéricine B, ITC: itraconazole, VRC: voriconazole, CAS: caspofungine

Tableau XIV : comparaison de l'activité antifongique in vitro des DASs contre les antifongiques de référence sur des souches cliniques de levures (90).

Souches	N°	CMI's mg/L					
		Sq	DAS 1	AMB	ITC	VRC	CAS
<i>Aspergillus fumigatus</i> complex	10	8-16	4	1-2	2	1-2	<0.5-1
<i>Aspergillus niger</i> complex	2	16	4	1	1	2	<0.5
<i>Aspergillus flavus</i> complex	8	8-16	2-4	<0.5-1	1-2	<0.5-1	1
<i>Aspergillus terreus</i> complex	5	8	4	8->32	16->32	<0.5	<0.5
<i>Aspergillus ustus</i> complex	1	16	2	2	>32	16	16
<i>Penicillium griseofulvum</i>	2	8	2	8	>32	16	16
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	2	16	4	2	>32	8	16
<i>Alternaria triticina</i>	1	8	4	<0.5	2	2	2
<i>Fusarium proliferatum</i>	2	16	2-4	>32	>32	16	16
<i>Scedosporium prolificans</i>	1	16	2	>32	>32	>32	16
<i>Pseudallescheria boydii</i>	2	16	4	8	16	16	8
<i>Scedosporium apiospermum</i>	1	8	2	>32	16	16	16

AMB: Amphotéricine B, ITC: itraconazole, VRC: voriconazole, CAS: caspofungine

Tableau XV : activité antifongique des DASs contre des souches cliniques de champignons filamenteux isolées de patients atteints de mucoviscidose (90).

Cependant, nous constatons que la squalamine ou ses analogues auraient des CMI trop importantes pour une utilisation autre que par voie locale. Mais cette substance n'en demeure pas moins intéressante chez les patients atteints de mucoviscidose, pouvant être utilisée directement par voie pulmonaire sous la forme d'aérosol.

II- ANTIBIOTHERAPIE INHALEE

Depuis ces dix dernières années, différentes molécules sont étudiées notamment dans le domaine de l'antibiothérapie par inhalation. Parmi tous ces antibiotiques en stade de développement, trois se distinguent particulièrement par leurs avancées majeures : le lysinate d'aztréonam, l'amikacine liposomale pour inhalation, et la tobramycine en poudre pour inhalation.

1°) Lysinate d'aztréonam en solution pour inhalation

L'aztréonam est un antibiotique du groupe des bêta-lactamines permettant la destruction de *P. aeruginosa*, bactérie fréquemment rencontrée chez les patients atteints de mucoviscidose. En effet, ce principe actif se lie à des protéines présentes à la surface de cette bactérie inhibant le renouvellement de sa paroi cellulaire et provoquant sa destruction (94).

Après de nombreuses études cliniques (94), il s'est avéré que l'aztréonam améliore grandement la symptomatologie des patients atteints de mucoviscidose avec une activité antibiotique satisfaisante, une amélioration des symptômes respiratoires et de la fonction pulmonaire ainsi qu'une diminution du recours à l'hospitalisation et a fortiori d'autres antibiotiques.

L'aztréonam en solution pour inhalation représenté par la figure 20 est aujourd'hui délivré en France sous le nom de CAYSTON® par les laboratoires GILEAD. En effet, celui-ci a obtenu l'AMM le 5 septembre 2011 avec comme indication les infections pulmonaires chroniques dues à *P. aeruginosa* chez les patients adultes atteints de mucoviscidose. De plus, ce médicament a été reconnu comme étant un médicament orphelin de par le faible nombre de sujets touchés par une infection bactérienne parmi les patients atteints de mucoviscidose.

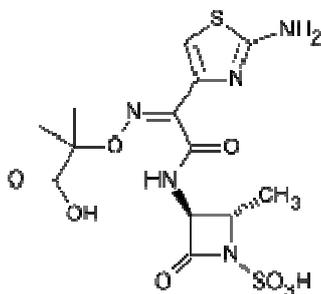


Figure 20 : représentation plane de l'aztréonam (95).

L'aztréonam injecté par voie IV est délivré sous la forme de sel d'arginine. Cependant l'organisme synthétise de l'oxyde nitrique (NO) à partir de celui-ci et peut

ainsi provoquer une inflammation des voies respiratoires chez les patients atteints de mucoviscidose. L'aztréonam est ainsi commercialisé sous la forme de sel de lysine (56).

Dans une boîte de CAYSTON® à conserver impérativement au réfrigérateur se trouvent des flacons de 75 mg d'aztréonam sous la forme de poudre lyophilisée stérile. Cette poudre doit être reconstituée à l'aide d'un solvant stérile prévu à cet effet pour donner une solution à administrer dans les minutes suivantes. L'administration s'effectue par le biais d'un nébuliseur et la posologie est de trois fois par jour pendant 28 jours avec au moins 4 heures d'intervalle entre deux doses. Chaque dose de CAYSTON® doit être précédée d'une prise de bronchodilatateur. Le cycle de 28 jours peut être renouvelé selon les recommandations du médecin avec un intervalle minimum recommandé de 28 jours (56).

Le niveau de risque lié à l'utilisation de cette molécule est faible voire modéré avec comme signes les plus souvent observés des sifflements, toux, douleurs pharyngolaryngées, congestion nasale, dyspnée et fièvre (94). Certains inconvénients sont également à noter tels que la fréquence des prises (3 par jour), la conservation au réfrigérateur, la préparation au préalable de la solution, ainsi que le nettoyage du nébuliseur.

Néanmoins, une récente étude ne démontre aucun avantage clinique de CAYSTON® par rapport aux autres antibiotiques inhalés (tobramycine (TOBI®) et colistine (Colimycine®)) chez les patients atteints de mucoviscidose ayant une infection pulmonaire chronique à *P. aeruginosa*. Comme le précise la Haute Autorité de Santé (HAS), ce médicament présente une absence d'amélioration du service médical rendu (ASMR) (96). L'avantage de ce médicament réside donc dans sa capacité à représenter une alternative aux infections pulmonaires dues à *P. aeruginosa* chez les patients ayant développé des résistances aux autres antibiotiques ou ne tolérant simplement pas la tobramycine ou la colistine par voie inhalée. De plus, CAYSTON® peut être utilisé en alternance avec les patients ne supportant pas les 28 jours sans tobramycine (TOBI®) inhalée.

2°) Amikacine liposomale pour inhalation

L'amikacine est un antibiotique de la famille des aminosides. Il est couramment utilisé par voie IV (son administration sous forme nébulisée n'apporte pas de bénéfice) pour traiter les infections bactériennes chez les patients atteints de mucoviscidose. Cependant, son utilisation prolongée peut provoquer une toxicité rénale et auditive.

Pour améliorer sa tolérance par rapport à l'amikacine injectable par réduction de sa toxicité intrinsèque, les scientifiques développèrent l'amikacine sous forme liposomale. Les études de phase I et II démontrent une efficacité remarquable. En effet, après son inhalation, certains facteurs de virulence de *P. aeruginosa* comme le rhamnolipide permettraient la libération du produit directement à proximité du site infecté. Mais encore, cette formulation aurait une certaine facilité à pénétrer le bio-film bactérien (de *P. aeruginosa* par exemple) ainsi que le mucus pulmonaire (97) (56).

Ensuite, des enzymes spécifiques de la bactérie dégraderaient progressivement cette forme liposomale. La demi-vie du principe actif dans les voies respiratoires est donc fortement augmentée (durée d'action d'environ une semaine). De plus, cela permettrait également de diminuer la fréquence des prises. Les études microbiologiques (56) (98) montrent un bénéfice antibactérien lors de l'ajout de l'amikacine liposomale inhalée au traitement standard. Les effets secondaires sont assez fréquents avec une dysphonie, de la toux et des douleurs oropharyngées.

Cette forme d'amikacine est actuellement en cours de développement (études de phase III aux USA) sous le nom d'ARIKACE® des laboratoires INSMED INCORPORATED. Ce médicament a été reconnu comme médicament orphelin en Europe le 25 juillet 2006 par le comité des médicaments orphelins (COMP). Il serait utilisé en inhalation par le biais d'un nébuliseur E-flow® ce qui diminuerait sa durée d'administration. La posologie de l'ARIKACE® serait d'une administration par jour, ce qui présente un avantage non négligeable concernant l'observance du traitement.

Chez les patients ayant reçu l'ARIKACE®, on constate une amélioration de la fonction respiratoire associée à une diminution de la densité bactérienne de *P.aeruginosa* dans les poumons, ainsi qu'un allongement du temps avant la prochaine exacerbation. L'ARIKACE® représenterait ainsi une alternative intéressante en cas d'échec du traitement usuel ou d'apparition de souches résistantes.

3°) Tobramycine en poudre pour inhalation

La tobramycine représentée dans la figure 21 est un antibiotique agissant en dégradant la perméabilité de la membrane cellulaire de la bactérie, provoquant sa rupture progressive puis sa destruction. La solution de tobramycine (TOBI® - 300 mg / 5mL) pour inhalation pour nébulisation existe depuis plus d'une dizaine d'année sous prescription initiale hospitalière de 6 mois mais les scientifiques ont décidé de développer la tobramycine en poudre pour inhalation connue sous le nom de TOBI Podhaler® par les laboratoires NOVARTIS. Ce médicament a été reconnu comme médicament orphelin le 17 avril 2003 (traitement des infections pulmonaires à *P. aeruginosa*) et a obtenu une AMM pour tous les pays de l'Union Européenne (procédure centralisée) le 20 juillet 2011 avec comme indication le traitement des infections pulmonaires chroniques à *P. aeruginosa* chez les adultes et enfants âgés de 6 ans et plus, atteints de mucoviscidose.

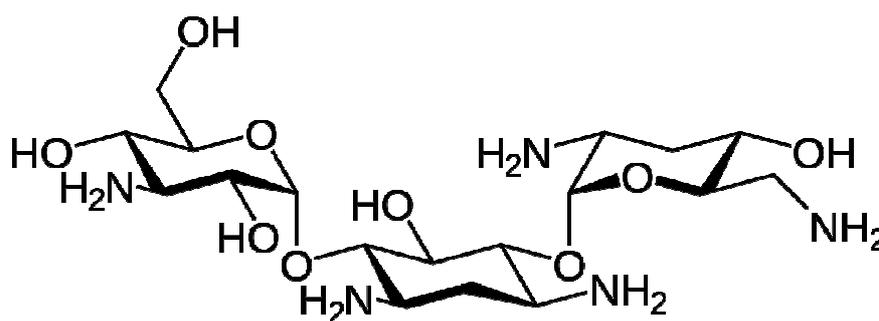


Figure 21 : représentation de Haworth de la tobramycine (99).

TOBI Podhaler® a été développée sous forme de poudre sèche, ce qui lui confère la capacité d'être inhalée beaucoup plus facilement et rapidement, condition requise pour une bonne observance du traitement. La plupart des antibiotiques ne

peuvent pas être délivrés sous forme de poudre sèche car leurs inhalateurs ne peuvent délivrer qu'une quantité limitée (quelques microgrammes) de principe actif alors que la quantité nécessaire est ici de l'ordre du milligramme (28 mg). Afin de remédier à ce problème, les scientifiques ont développé une nouvelle technologie (Pulmosphère®) permettant d'obtenir des particules très dispersibles pouvant être ainsi administrées en grande quantité.

L'administration de TOBI Podhaler® se fait exclusivement par inhalation orale avec l'inhalateur Podhaler®. La posologie est d'une dose de 4 gélules de 28 mg deux fois par jour (100). Elle s'effectue par cycles de 28 jours avec une pause de 28 autres jours après chaque cycle de traitement. Le nombre de cycles administrés est décidé en fonction de l'évaluation du médecin par rapport au bénéfice apporté au patient.

L'utilisation de TOBI Podhaler® est bien tolérée. En effet, les effets indésirables sont fréquents mais d'ordre de gravité qui reste léger à modéré avec le plus souvent de la toux, une dysphonie, une dysgueusie, quelques troubles auditifs, des troubles pulmonaires, des douleurs laryngées et pharyngées (101). L'administration de TOBI Podhaler® doit cependant rester prudente en particulier chez les sujets souffrant de troubles rénaux, auditifs, vestibulaires ou neuromusculaires. La mise en place de mesures de concentration sérique du principe actif est ainsi envisagée chez ces types de patients.

Les tests d'efficacité ont montré une efficacité non-inférieure de TOBI Podhaler® par rapport à TOBI®. En revanche, la durée d'administration est significativement inférieure avec l'administration de TOBI Podhaler® avec une durée moyenne de 5,6 minutes contre 19,7 minutes avec TOBI® (56). Ce bénéfice de 28 minutes par jour représente un gain de temps non négligeable et favorise une meilleure observance du traitement et laisse ainsi penser à de meilleurs résultats cliniques.

Cependant, dans l'étude EAGER de l'essai de phase III comparant l'efficacité de TOBI Podhaler® par rapport à TOBI®, les scientifiques notent une augmentation comparable des CMI (102) dans les deux groupes d'études ce qui pose encore une fois le problème du développement des résistances.

CONCLUSION

CONCLUSIONS

THESE SOUTENUE PAR : M. CHHUY Stéphane

Avec 6196 sujets recensés en 2012, le nombre de patients atteints de mucoviscidose en France est en constante augmentation. Malgré un taux brut de mortalité passé de 20 à 8,9 pour 1 000 entre 1993 et 2012, les traitements sont toujours symptomatiques et la maladie reste incurable, affectant aussi bien les voies respiratoires que digestives et sexuelles.

Les bactéries les plus fréquemment rencontrées sont *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae* et *Pseudomonas aeruginosa*. *S. aureus* favoriserait la colonisation plus précoce du sujet par *P. aeruginosa* en renforçant la détection de récepteurs épithéliaux. *P. aeruginosa* est à l'origine du plus grand nombre d'infections respiratoires et concerne 95 % des patients en phase terminale. Dès l'identification et l'antibiogramme des bactéries connus, une antibiothérapie adaptée permet d'éviter le plus souvent la colonisation chronique des agents pathogènes ainsi que l'apparition de résistances innées (*Burkholderia cepacia*, mycobactéries, etc.) ou acquises (sécrétion d'un bio-film entre *P. aeruginosa* et son site d'infection, etc.).

Aspergillus fumigatus est l'espèce fongique la plus dangereuse avec une présence de 46 % chez les sujets atteints. Elle provoque des réactions d'hypersensibilité de type I, III ou IV responsables d'aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA), d'aspergillose pulmonaire invasive et semi-invasive et de bronchite aspergillaire. La plus courante est l'ABPA caractérisée par de la fièvre, des céphalées, une anorexie et à plus long terme, l'hyperactivité des voies aériennes pouvant aboutir à des bronchectasies tubulaires et même à des cas de fibroses pulmonaires.

De part une biodisponibilité pulmonaire insuffisante, l'éradication totale des bactéries est impossible. A l'heure actuelle, l'utilisation d'aérosols présente une meilleure biodisponibilité mais elle exclut malheureusement de nombreux principes actifs. De nouvelles voies thérapeutiques se développent actuellement avec l'utilisation de la squalamine qui posséderait une activité antibactérienne et antifongique, du lysinate d'aztréonam et de l'amikacine par inhalation et enfin de la tobramycine en poudre pour inhalation qui permettraient une meilleure destruction des bactéries.

Le Président de la thèse,

Nom :

Signature :

Vu et permis d'imprimer, Lyon, le

Vu, la Directrice de l'Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Faculté de Pharmacie

Pour le Président de l'Université Claude Bernard Lyon 1,

Professeure C. VINCIGUERRA

BIBLIOGRAPHIE

1. Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français. Item 31 : Problèmes posés par les maladies génétiques [Internet]. [consulté le 28 novembre 2014]. Disponible à : <http://campus.cerimes.fr/gynecologie-et-obstetrique/enseignement/item31/site/html/7.html>
2. I. Sermet-Gaudelus, L. Couderc, S. Vrielynck, J. Brouard. Recommandations nationales pour la prise en charge du nourrisson dépisté atteint de mucoviscidose. Consensus de la fédération des centres de ressources et de compétences de la mucoviscidose. 2014; 21:654-62.
3. Munck.A. Dépistage néonatal de la mucoviscidose: bilan de la généralisation. Info respiration n° 63. 2004:7-9.
4. Y. Kernén A. Sauty M. Roulet. Détection et prise en charge précoce de la primo-infection à «*Pseudomonas aeruginosa*» chez les patients avec mucoviscidose. Revue Médicale Suisse n°9. 2005.
5. Elphick HE, Southern KW. Antifungal therapies for allergic bronchopulmonary aspergillosis in people with cystic fibrosis. Cochrane Database of Systematic Reviews 2012, Issue 6.
6. La mucoviscidose. Le moniteur des pharmacies. Cahier formation II, 24 février 2007, n° 2665.
7. Registre Français de la Mucoviscidose - Bilan de données 2012. 2014:26.
8. Busch R. On the history of cystic fibrosis. Acta Univ. Carol. 1990; 36:13-15.
9. « Woe to the child kissed on the brow who tastes salty, for he is cursed and soon must die. » Welsh MJ and Smith AE. Cystic fibrosis. Sci Am. 1995; 273:52-59.
10. Alonso y de los Ruyzes de Fonteca, J. Diez Privilegios para Mgeres Preñadas. Henares, Spain: Alcalá de Henares. 1606; 212.
11. « The child will soon die whose brows tastes salty when kissed. » Ernst Ludwig Rochholz, Almanac of Children's Songs and Games from Switzerland. Publié en 1857 par J. J. Weber.
12. Farber S. Pancreatic insufficiency and the celiac syndrome. N Engl J Med 1943; 229:653-682.
13. Andersen DH, Hodges RC. Celiac syndrome. V. Genetics of cystic fibrosis of the pancreas with a consideration of etiology. Am J Dis Child 1946; 72:62-80.
14. Darling RC, diSant' Agnese PA, Perera GA, Andersen DH. Electrolyte abnormalities of the sweat in fibrocystic disease of the pancreas. A J Med Sci 1953; 225:67-70.

15. Di Sant' Agnese PA, Darling RC, Perera GA, et al. Abnormal electrolyte composition of sweat in cystic fibrosis of the pancreas: clinical implications and relationship to the disease. *Pediatrics* 1953; 12:549-563.
16. Gibson LE, Cooke RE. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilising pilocarpine electrophoresis. *Pediatrics* 1959; 23:545-549.
17. Knowles MR, Gatzky JT, Boucher RC. Increased bioelectric potential difference across respiratory epithelia in cystic fibrosis. *N Eng J Med* 1981; 305:1489-95.
18. Quinton PM. Chloride impermeability in cystic fibrosis. *Nature* 1983; 301:421-2.
19. B. S. Kerem, J. M. Rommens, J. A. Buchanan, D. Markiewicz, T. K. Cox, A. Chakravarti, M. Buchwald et L. C. Tsui, Identification of the Cystic Fibrosis Gene : Genetic Analysis. *Science*. 1989, Vol. 245; 1073-80.
20. Epidemiology: Mutational Diversity [Internet]. [consulté le 30 novembre 2014]. Disponible à : <http://www.cftrscience.com/epidemiology.php>
21. Registre Français de la Mucoviscidose - Bilan de données 2012. 2014:50.
22. Registre Français de la Mucoviscidose - Bilan de données 2012. 2014:7.
23. F. Suzan, A.C. Paty, A. Aouba, S. Ravilly, E. Jouglu. Évolution de la mortalité liée à la mucoviscidose en France sur la période 1981-2005. *Archives de Pédiatrie*. 2010, Volume 17, Issue 6, Page 6.
24. Registre Français de la Mucoviscidose - Bilan de données 2012. 2014:14.
25. Registre Français de la Mucoviscidose - Bilan de données 2012. 2014:9.
26. Baxter P.S., Goldhill J, Hardcastle J, Hardcastle P.T. et al. ; Accounting for cystic fibrosis. *Nature* 1988; 335:211.
27. Gabriel S, Br al ; Brigman K, Koller B, Boucher R et al ; Cystic fibrosis heterozygote resistance to cholera toxin in the cystic fibrosis mouse model. *Science*. 1994 ; 266:107.
28. Cystic Fibrosis Mutation Database: Statistics [Internet]. [consulté le 30 novembre 2014]. Disponible à : <http://genet.sickkids.on.ca/StatisticsPage.html>
29. Yahia Mouloud. Diagnostic, physiopathologie et génétique de la mucoviscidose dans la population de l'est et sud algérien [Thèse de doctorat: Biologie Physiologie Animale]. [Université Mentouri Constantine]; 2007.
30. Haute Autorité de Santé. Le dépistage néonatal systématique de la mucoviscidose en France : état des lieux et perspectives après 5 ans de fonctionnement. 2009.

31. EF McKone, S Emerson, KL Edwards, ML Aitken Effects of genotype on phenotype and mortality in cystic fibrosis: a retrospective cohort study. *Lancet* 2003; 361:1671-6.
32. Encyclopédie Orphanet Grand public. La mucoviscidose. [Internet]. [consulté le 30 novembre 2014]. www.orpha.net/data/patho/Pub/fr/Mucoviscidose-FRfrPub49v01.pdf | Octobre 2006.
33. Emmanuelle Girodon, Bruno Costes, Cécile Caseneuve, Pascale Fanen, Michel Goossens. *Génétique de la mucoviscidose*. 1997; 3:431–41.
34. Fanny Angelot. Pathologies associées aux mutations et polymorphismes du gène - Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator ou CFTR [Thèse d'exercice : Pharmacie]. Université de Franche-Comte; 2005.
35. Bossard Florian. La mucoviscidose : Correction de la mutation DF508 par sur-expression de NHE-RF1 ; Modifications d'expression de NHE-RF1 et des récepteurs b-adrénergiques dans les poumons humains. [Thèse de doctorat : Biologie]. Université de Nantes; 2007.
36. Brepson Caroline. Prise en charge des enfants atteints de mucoviscidose dépistés à la naissance, à l'hôpital d'enfants à Nancy [Thèse d'exercice : Pharmacie]. Université Henri Poincaré; 2010.
37. Tayae Mariam. La mucoviscidose chez l'enfant [Thèse d'exercice : Médecine]. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah; 2011.
38. Cours [Internet]. [consulté le 27 novembre 2014]. Disponible à : <http://campus.cerimes.fr/gynecologie-et-obstetrique/enseignement/item31/site/html/7.html>
39. Hippocratismes digital — Wikipédia [Internet]. [consulté le 30 novembre 2014]. Disponible à : http://fr.wikipedia.org/wiki/Hippocratismes_digital
40. Verhaeghe Catherine. Etude des mécanismes moléculaires responsables d'un état inflammatoire intrinsèque dans la mucoviscidose.
41. Derelle Jocelyne. La mucoviscidose de l'enfant à l'adulte. JOHN LIBBEY EUROTTEXT. 1998; 250.
42. Holsclaw DS, Perlmutter AD, Jockin H, Shwachman H. Genital abnormalities in male patients with cystic fibrosis. *J Urol*. 1971; 106(4):568-74.
43. Pierre Foucaud, Bruno Borel, Gérard Béal, Marc Bellaiche, Sophie Lenoir, Sylvain Missonnier. La mucoviscidose chez l'enfant. 1997. Volume 3, issue 6; 443–9.
44. Registre Français de la Mucoviscidose - Bilan de données 2012. 2014: 25.

45. Gallo Marine. Etude de la colonisation fongique chez les patients adultes atteints de mucoviscidose au CHU de Rouen entre 2005 et 2010 [Thèse d'exercice : Pharmacie]. Université de Médecine et de Pharmacie de Rouen; 2012.
46. Staphylococcus aureus | Examiner.com [Internet]. [consulté le 30 novembre 2014]. Disponible à : <http://www.examiner.com/topic/staphylococcus-aureus>.
47. Coche Delphine. Prévalence et importance clinique de la colonisation respiratoire par les streptocoques du groupe milleri dans la mucoviscidose [Thèse d'exercice : Pharmacie]. [Université de Lille 2]; 2011.
48. Fiche N°893-Mucoviscidose-2012 [Internet]. [consulté le 30 novembre 2014]. Disponible à : http://www.medqual.fr/pro/Marie/RESSOURCES%20ET%20INFORMATIONS/1-CLINIQUE_GERME/Mucoviscidose/893-MUCOVISCIDOSE-2012.pdf
49. Société Française de Pédiatrie - ANAES : Conférence de consensus « Prise en charge du patient atteint de mucoviscidose ». Texte court des recommandations « pneumologie-infectiologie ». Rev Mal Respir 2003; 20:149-57.
50. Rozenn Le Berre. Infections pulmonaires et mucoviscidose. DESC Maladies infectieuses et Tropicales. Présentation mai 2011.
51. Gérard Lenoir, Stéphanie Vrielynck, Marlène Clairicia, Djamila Afsa Fezaa, Michel Sorin, Isabelle Sermet-Gaudelus. Infection bactérienne et mucoviscidose. Revue Francophone des Laboratoires. 2007 Décembre; (397):51.
52. Muriel Le Bourgeois, Stéphanie Vrielynck. Infection bronchopulmonaire dans la mucoviscidose. Médecine thérapeutique / Pédiatrie. 2005. Volume 8, issue 3:175-81.
53. Haemophilus influenzae [Internet]. [consulté le 30 novembre 2014]. Disponible à : http://web.mst.edu/~microbio/BIO221_2010/H_influenzae-2.html
54. Gérard Chabanon, Christine Segonds, Nicole Marty, Jean-Luc Dournes, Louis Agueda. Aspects microbiologiques des infections pulmonaires au cours de la mucoviscidose. Médecine thérapeutique. Juin-Juillet 1997; Volume 3, issue 6: 415-7.
55. *Pseudomonas aeruginosa* [Internet]. [consulté le 30 novembre 2014]. Disponible à : <http://bacterioweb.univ-fcomte.fr/photo2detail.php?id=159>
56. Gros Camille. Traitement de l'infection à *Pseudomonas aeruginosa* dans la mucoviscidose : état actuel et perspectives [Thèse d'exercice : Pharmacie]. Université de Nantes; 2012.

57. Résistance aux antibiotiques [Internet]. [consulté le 6 décembre 2014]. Disponible à : <http://www.inserm.fr/layout/set/print/thematiques/microbiologie-et-maladies-infectieuses/dossiers-d-information/resistance-aux-antibiotiques>
58. Amin R, Waters V. Antibiotic treatment for in people with cystic fibrosis. Cochrane Database of Systematic Reviews 2014, Issue 4.
59. Thériaque [Internet]. [consulté le 30 novembre 2014]. Disponible à : <http://www.theriaque.org>
60. C. Segonds, G. Chabanon. Burkholderia cepacia: dangers of a phytopathogen organism for patients with cystic fibrosis. Mai-Juin 2001. Annales de Biologie Clinique. Volume 59, issue 3.
61. Anderson R, Vess R, Panlilio A, Favero M Prolonged survival of *Pseudomonas cepacia* in commercially manufactured povidone-iodine. Appl Environ Microbiol 1990; 56-11:3598-600.
62. McGowan J Resistance in nonfermenting gram-negative bacteria: multidrug resistance to the maximum Am J Infect Control 2006; 34(5):S29-37:discussion S64-73.
63. Rogan MP, Taggart CC, Greene CM, Murphy PG, O'Neill SJ, McElvaney NG. Loss of microbicidal activity and increased formation of biofilm due to decreased lactoferrin activity in patients with cystic fibrosis [archive]. J Infect Dis. 2004 Oct 1; 190(7):1245-53. Epub 2004 Aug 26.
64. Mowska, Patryk, Daniel Lorentzen, Katherine Excoffon, Joseph Zabner, Paul B. McCray, William M. Nauseef, Corinne Dupuy, and Botond Bánfi. A novel host defense system of airways is defective in cystic fibrosis. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 1 Nov. 2006.
65. Singh PK, Shaefer AL, Parsek MR, Moninger TO, Welsh MJ, Greenberg EP. Quorum-sensing signals indicate that cystic fibrosis lungs are infected with bacterial biofilms [archive]. Nature. 2000; 407:762-4.
66. Singh PK, Parsek MR, Greenberg EP, Welsh MJ. A component of innate immunity prevents bacterial biofilm development [archive], Nature. 2002; 417:552-5.
67. F. Huet. Prise en charge des germes inhabituels dans la mucoviscidose. Revue des Maladies Respiratoires. avril 2003; Vol 20, N° 2: 26-28.
68. Tuberculose et mycobactéries chez l'enfant. 8e Séminaire de perfectionnement en pneumologie pédiatrique, 11-12 juin 2004, Paris, France.

69. Krishnan S, Manavathu Elias K, Chandrasekar PH. *Aspergillus flavus*: an emerging non *fumigatus* *Aspergillus* species of significance. *Mycoses*. 2009; 52(3):206-222.
70. Germaud P. “*Aspergillus*” et système respiratoire. EMC-Médecine. 2005; 2(6): 585-595.
71. Le Bourgeois M, Sermet I, Bailly-Boutha C, Delacourt C, De Blic J. Infections fongiques au cours de la mucoviscidose. *Archives de Pédiatrie*. 2011; Tome 18: 15-21.
72. Meersseman W, Vandecasteele SJ, Wilmer A, Verbeken E, Peetermans WE, Van Wijngaerden E. Invasive aspergillosis in critically ill patients without malignancy. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004; 170(6):621-5.
73. Invasive aspergillosis in critically ill patients: analysis of risk factors for acquisition and mortality. Vandewoude K, Blot S, Benoit D, Depuydt P, Vogelaers D, Colardyn F. *Acta Clin Belg*. 2004; 59(5):251-7.
74. Couturaud F. *Aspergillus* et poumon. *Revue française d’allergologie et d’immunologie clinique*. 2004. Volume 44. Pages 83-88.
75. B. Coltey, I. Pin, G. Ferretti, A. Bonadona, C. Pison, Ch. Brambilla. Aspergillose bronchopulmonaire allergique révélatrice d’une mucoviscidose. *Revue des Maladies Respiratoires*. octobre 2001; Vol 18, N° 5:Pages 549–51.
76. Agarwal, R. Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis. *Chest*. 2009; 135(3):805-826.
77. Poirier B. Epidémiologie des colonisations et infections fongiques dans la mucoviscidose: Etude chez les patients suivis au CRCM sur une période de 7 ans. [Thèse d'exercice]. 2008.
78. Leponthe Paul. *Pneumonies*. John Libbey Eurotext; 2001. Page 215.
79. Leponthe Paul. *Pneumonies*. John Libbey Eurotext; 2001. Page 216
80. Pihet M, Carrere J, Cimon B, Chabasse D, Delhaes L, Symoens F, Bouchara JP. Occurrence and relevance of filamentous fungi in respiratory secretions of patients with cystic fibrosis - a review. *Medical Mycology*. 2009. Volume 47:Pages 387-397.
81. Lipuma J. The changing microbial epidemiology in cystic fibrosis. *Clinical Microbiology Reviews*. 2010. Volume 23. N°2:Pages 299-323.
82. Cimon B, Chabasse D, Bouchara JP. Rôle des champignons dans la pathologie respiratoire au cours de la mucoviscidose. *Revue Francophone des Laboratoires*. 2007. N°397:Pages 59-64.

83. Paugam A, Baixench MT, Demazes-Dufeu N, Burgel PR, Sauter E, Kanaan R, Dusser D, Dupouy-Camet J, Hubert D. Characteristics and consequences of airways colonization by filamentous fungi in 201 adults patients with cystic fibrosis in France. *Medical Mycology*. 2010. Volume 48. Suppl 1:Pages 32-36.
84. Blyth C, Middleton P, harun A, Sorrell T, Meyer W, Chen S. Clinical associations and prevalence of *Scedosporium* spp. in Australian cystic fibrosis patients : identification of novel risk factors ? *Medical Mycology*. 2010. Volume 48. Suppl 1: Pages 37-44.
85. *Geosmithia argillacea*: an Emerging Pathogen in Patients with Cystic Fibrosis. *J Clin Microbiol*. Jul 2010; 48(7):2381–2386.
86. Giraud S, Pihet M, Razafimandimby B, Carrère J, Degand N, Mely L, Favennec L, Dannaoui E, Bouchara JP, Calenda A. *Geosmithia argillacea* : an Emerging Pathogen in Patients with Cystic Fibrosis. *Journal of Clinical Microbiology*. 2010. Volume 48. N°7:Pages 2381-2386.
87. Chotirmall SH, Greene CM, McElvaney NG. *Candida* species in cystic fibrosis: A road less travelled. *Medical Mycology*. 2010. Volume 48. Suppl 1. S114-S124.
88. F. Ader, K. Faure, B. Guery, S. Nseir. Interaction de *Pseudomonas aeruginosa* avec *Candida albicans* dans les voies respiratoires: de la physiopathologie à une perspective thérapeutique. 2008; 56(3):164–9.
89. Van Grunderbeeck N, Conseil V, Leroy S, Wallaert B, Delhaes L. Le risque fongique dans la mucoviscidose : étude pilote. *Annales de la biologie clinique*. 2010. Volume 68. N°2:Pages 157-162.
90. Alhanout Kamel. Evaluation de l'activité antimicrobienne de nouveaux composés aminostéroïdiens dans le contexte de la mucoviscidose [Thèse de doctorat : Science de la vie et de la santé]. Université de la Méditerranée Aix-Marseille II; 2010.
91. Squalamine - Wikipedia, the free encyclopedia [Internet]. [consulté le 30 novembre 2014]. Disponible à : <http://en.wikipedia.org/wiki/Squalamine>
92. Spiny dogfish - Wikipedia, the free encyclopedia [Internet]. [consulté le 30 novembre 2014]. Disponible à : http://en.wikipedia.org/wiki/Spiny_dogfish
93. Alhanout Kamel. Évaluation de l'activité antimicrobienne de nouveaux composés aminostéroïdiens dans le contexte de la mucoviscidose. Soutenance de thèse d'université ; 2010; Faculté de pharmacie de Marseille.

94. European Medicines Agency. Cayston. Résumé EPAR à l'intention du public. 2012:2.
95. Aztréonam — Wikipédia [Internet]. [consulté le 30 novembre 2014]. Disponible à : <http://fr.wikipedia.org/wiki/Aztr%C3%A9onam>
96. Haute Autorité de Santé - CAYSTON [Internet]. [consulté le 30 novembre 2014]. Disponible à : http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_1221610/fr/cayston
97. Valerie Waters, Felix Rajten. Expert Review of Respiratory Medicine. 2014, Vol. 8, No. 4:Pages 401-409.
98. Inhaled liposomal amikacin. - PubMed - NCBI [Internet]. [consulté le 30 novembre 2014]. Disponible à : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24882271>
99. Tobramycine - Wikipedia [Internet]. [consulté le 30 novembre 2014]. Disponible à : <http://nl.wikipedia.org/wiki/Tobramycine>
100. Monographie de produit. Tobi Podhaler. 2011:13.
101. Monographie de produit. Tobi Podhaler. 2011:8.
102. Konstan MW, Flume PA, Kappler M, Chiron R, Higgins M, Brockhaus F et al. Safety, efficacy and convenience of tobramycin inhaation powder in cystic fibrosis patients: the EAGER trial. Jcyst Fibros. 2011; 10(1):54-61.

L'ISPB - Faculté de Pharmacie de Lyon et l'Université Claude Bernard Lyon 1 n'entendent donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.

CHHUY Stéphane

Mycoses et infections bactériennes chez les patients atteints de mucoviscidose

Th. D. Pharm., Lyon 1, 2015, 109 pages

RESUME

La mucoviscidose est la maladie génétique autosomique récessive la plus fréquemment rencontrée chez les patients d'origine caucasienne. Ses complications sont majoritairement dues aux mycoses et infections bactériennes. L'incapacité fonctionnelle de la protéine CFTR entraîne d'une part la déshydratation du mucus créant un environnement propice aux pathologies respiratoires et digestives et d'autre part, un retard de la puberté des deux sexes.

L'antibiothérapie est le moyen le plus efficace pour lutter contre des bactéries tels que *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae* et *Pseudomonas aeruginosa* mais son utilisation répétée et parfois inappropriée conduit à l'émergence de bactéries résistantes (*Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia* ou *Achromobacter xylosoxidans*, etc.). L'inhalation de spores fongiques entraîne des réactions d'hypersensibilité provoquant différents cas d'aspergilloses majoritairement liés à *A. fumigatus* (90 % des cas).

La destruction totale des agents pathogènes est impossible car aucune des voies d'administration disponibles ne permet une biodisponibilité suffisante. Cependant, de nouvelles alternatives apparaissent avec la squalamine qui posséderait une activité antimicrobienne et le développement de l'antibiothérapie par inhalation représenté par le lysinate, l'amikacine liposomale ou encore la tobramycine.

MOTS CLES

- cystic fibrosis
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Aspergillus fumigatus*
- antibiothérapie

JURY

M. BOIRON Patrick, Professeur des Universités
Mme RODRIGUEZ-NAVA Veronica, Maître de Conférences des Universités
M. BLAHA Didier, Maître de Conférences des Universités
M. TORNER Paul, Docteur en Pharmacie
Mme FIASSON Maryne, Docteur en Pharmacie

DATE DE SOUTENANCE

Mardi 6 janvier 2015

ADRESSE DE L'AUTEUR

65 avenue Paul Santy - 69008 Lyon