



كلية الطب
والصيدلة - مراكش
FACULTÉ DE MÉDECINE
ET DE PHARMACIE - MARRAKECH

Année 2022

Thèse N° 148

**Apport de la biologie moléculaire dans le diagnostic
étiologique précoce des pneumopathies
nosocomiales en réanimation**

THÈSE

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 19/05/2022

PAR

Mlle. Intissar KIAL

Née Le 15/11/1996 à Safi

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MÉDECINE

MOTS-CLÉS

FilmArray - Diagnostic précoce - pneumopathies nosocomiales

JURY

M.	S. ZOUHAIR Professeur de Bactériologie-Virologie	PRESIDENT
Mme.	L. ARSALANE Professeur de Bactériologie-Virologie	RAPPORTEUR
M.	Y. QAMOUSS Professeur d'Anesthésie-Réanimation	} JUGES
M.	Y. ELKAMOUNI Professeur agrégé Bactériologie-Virologie	

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

قَالُوا سُبْحَانَكَ لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا مَا عَلَّمْتَنَا إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ

الْحَكِيمُ ﴿٣٢﴾

صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمُ

(سورة البقرة)



Serment d'hippocrate

Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale,

Je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.

Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.

*Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de mes malades
sera mon premier but.*

Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.

*Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les nobles
traditions de la profession médicale.*

Les médecins seront mes frères.

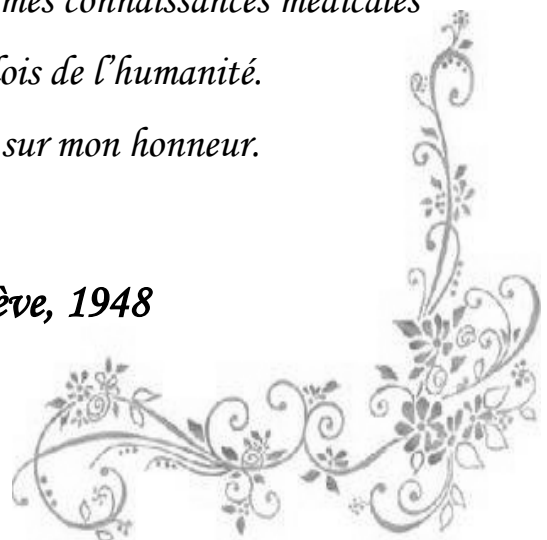
*Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération
politique et sociale, ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.*

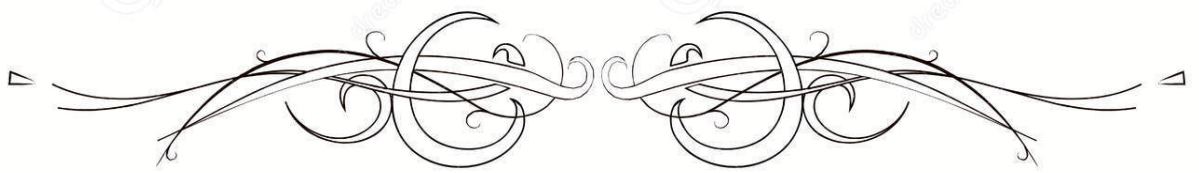
Je maintiendrai strictement le respect de la vie humaine dès sa conception.

*Même sous la menace, je n'userai pas mes connaissances médicales
d'une façon contraire aux lois de l'humanité.*

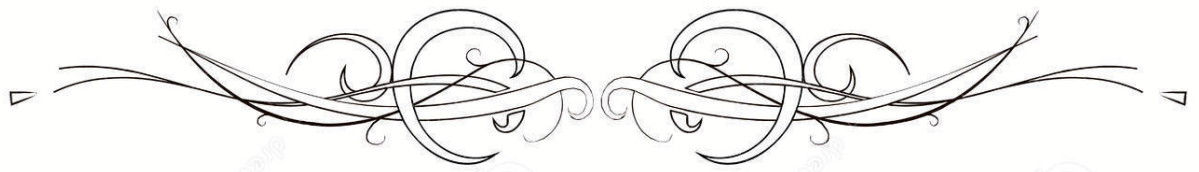
Je m'y engage librement et sur mon honneur.

Déclaration Genève, 1948





LISTE DES PROFESSEURS



UNIVERSITE CADI AYYAD
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
MARRAKECH

Doyens Honoraires : Pr. Badie Azzaman MEHADJI
: Pr. Abdelhaq ALAOUI YAZIDI

ADMINISTRATION

Doyen : Pr. Mohammed BOUSKRAOUI
Vice doyen à la Recherche et la Coopération : Pr. Mohamed AMINE
Vice doyen aux Affaires Pédagogiques : Pr. Redouane EL FEZZAZI
Vice doyen chargé de la Pharmacie : Pr. Said ZOUHAIR
Secrétaire Générale : Mr. Azzeddine EL HOUDAIGUI

Professeurs de l'Enseignement Supérieur

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABIR Badreddine	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale	ATMANE El Mehdi	Radiologie
ABKARI Imad	Traumato-orthopédie	BAIZRI Hicham	Endocrinologie et maladies métaboliques
ABOU EL HASSAN Taoufik	Anesthésie-réanimation	BASRAOUI Dounia	Radiologie
ABOUCHADI Abdeljalil	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale	BASSIR Ahlam	Gynécologie obstétrique
ABOULFALAH Abderrahim	Gynécologie-obstétrique	BELBACHIR Anass	Anatomie pathologique
ABOUSSAIR Nisrine	Génétique	BELBARAKA Rhizlane	Oncologie médicale
ADALI Imane	Psychiatrie	BELKHOUS Ahlam	Rhumatologie
ADARMOUCH Latifa	Médecine communautaire (médecine préventive, santé publique et hygiène)	BEN DRISS Laila	Cardiologie
ADMOU Brahim	Immunologie	BENALI Abdeslam	Psychiatrie

AGHOUTANE El Mouhtadi	Chirurgie pédiatrique	BENCHAMKHA Yassine	Chirurgie réparatrice et plastique
AISSAOUI Younes	Anesthésie-réanimation	BENELKHAÏAT BENOMAR Ridouan	Chirurgie générale
AIT AMEUR Mustapha	Hématologie biologique	BENHIMA Mohamed Amine	Traumatologie-orthopédie
AIT BATAHAR Salma	Pneumo-phtisiologie	BENJELLOUN HARZIMI Amine	Pneumo-phtisiologie
AIT BENALI Said	Neurochirurgie	BENJILALI Laila	Médecine interne
AIT-SAB Imane	Pédiatrie	BOUCHENTOUF Rachid	Pneumo-phtisiologie
ALJ Soumaya	Radiologie	BOUKHANNI Lahcen	Gynécologie obstétrique
AMAL Said	Dermatologie	BOUKHIRA Abderrahman	Biochimie-chimie
AMINE Mohamed	Epidémiologie clinique	BOUMZEBRA Drissi	Chirurgie Cardio-vasculaire
AMMAR Haddou	Oto-rhino-laryngologie	BOURRAHOUE Aïcha	Pédiatrie
AMRO Lamyae	Pneumo-phtisiologie	BOURROUS Monir	Pédiatrie
ANIBA Khalid	Neurochirurgie	BOUSKRAOUI Mohammed	Pédiatrie
ARSALANE Lamiae	Microbiologie-virologie	BSISS Mohammed Aziz	Biophysique
ASMOUKI Hamid	Gynécologie-obstétrique	CHAFIK Rachid	Traumato-orthopédie
CHAKOUR Mohammed	Hématologie biologique	HAZMIRI Fatima Ezzahra	Histologie-embryologie cytogénétique
CHELLAK Saliha	Biochimie-chimie	HOCAR Ouafa	Dermatologie
CHERIF IDRISSE EL GANOUNI Najat	Radiologie	JALAL Hicham	Radiologie
CHOULLI Mohamed Khaled	Neuro pharmacologie	KADDOURI Said	Médecine interne
CHRAA Mohamed	Physiologie	KAMILI El Ouafi El Aouni	Chirurgie pédiatrique
DAHAMI Zakaria	Urologie	KHALLOUKI Mohammed	Anesthésie-réanimation
DAROUASSI Youssef	Oto-rhino-laryngologie	KHATOURI Ali	Cardiologie
DRAISS Ghizlane	Pédiatrie	KHOUCHANI Mouna	Radiothérapie
EL ADIB Ahmed Rhassane	Anesthésie-réanimation	KISSANI Najib	Neurologie
EL AMRANI Moulay Driss	Anatomie	KRATI Khadija	Gastro-entérologie
EL ANSARI Nawal	Endocrinologie et maladies métabolique	KRIET Mohamed	Ophtalmologie
EL BARNI Rachid	Chirurgie générale	LAGHMARI Mehdi	Neurochirurgie

EL BOUCHTI Imane	Rhumatologie	LAHKIM Mohammed	Chirurgie générale
EL BOUIHI Mohamed	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale	LAKMICH Mohamed Amine	Urologie
EL FEZZAZI Redouane	Chirurgie pédiatrique	LAKOUICHMI Mohammed	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale
EL HAOUATI Rachid	Chirurgie Cardio-vasculaire	LAOUAD Inass	Néphrologie
EL HAOURY Hanane	Traumato-orthopédie	LOUHAB Nisrine	Neurologie
EL HATTAOUI Mustapha	Cardiologie	LOUZI Abdelouahed	Chirurgie-générale
EL HOUDZI Jamila	Pédiatrie	MADHAR Si Mohamed	Traumato-orthopédie
EL IDRISSE SLITINE Nadia	Pédiatrie	MANOUDI Fatiha	Psychiatrie
EL KAMOUNI Youssef	Microbiologie-virologie	MANSOURI Nadia	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale
EL KARIMI Saloua	Cardiologie	MAOULAININE Fadl mrabih rabou	Pédiatrie (Néonatalogie)
EL KHADER Ahmed	Chirurgie générale	MARGAD Omar	Traumatologie-orthopédie
EL KHAYARI Mina	Réanimation médicale	MATRANE Aboubakr	Médecine nucléaire
EL MEZOUARI El Mostafa	Parasitologie mycologie	MLIHA TOUATI Mohammed	Oto-rhino-laryngologie
EL MGHARI TABIB Ghizlane	Endocrinologie et maladies métaboliques	MOUAFFAK Youssef	Anesthésie-réanimation
EL OMRANI Abdelhamid	Radiothérapie	MOUFID Kamal	Urologie
ELFIKRI Abdelghani	Radiologie	MOUHSINE Abdelilah	Radiologie
ESSAADOUNI Lamiaa	Médecine interne	MOUTAJ Redouane	Parasitologie
FADILI Wafaa	Néphrologie	MOUTAOUAKIL Abdeljalil	Ophtalmologie
FAKHIR Bouchra	Gynécologie-obstétrique	MSOUGAR Yassine	Chirurgie thoracique
FAKHRI Anass	Histologie-embryologie cytogénétique	NARJIS Youssef	Chirurgie générale
FOURAJI Karima	Chirurgie pédiatrique	NEJMI Hicham	Anesthésie-réanimation
GHANNANE Houssine	Neurochirurgie	NIAMANE Radouane	Rhumatologie
GHAZI Mirieme	Rhumatologie	OUALI IDRISSE Mariem	Radiologie
GHOUNDALE Omar	Urologie	OUBAHA Sofia	Physiologie
HACHIMI Abdelhamid	Réanimation médicale	OULAD SAIAD Mohamed	Chirurgie pédiatrique

HAJJI Ibtissam	Ophtalmologie	QACIF Hassan	Médecine interne
HAROU Karam	Gynécologie– obstétrique	QAMOUSS Youssef	Anesthésie réanimation
RABBANI Khalid	Chirurgie générale	TAZI Mohamed Illias	Hématologie clinique
RADA Noureddine	Pédiatrie	TOURABI Khalid	Chirurgie réparatrice et plastique
RAIS Hanane	Anatomie Pathologique	YOUNOUS Said	Anesthésie– réanimation
RAJI Abdelaziz	Oto–rhino–laryngologie	ZAHLANE Kawtar	Microbiologie– virologie
ROCHDI Youssef	Oto–rhino–laryngologie	ZAHLANE Mouna	Médecine interne
SALAMA Tarik	Chirurgie pédiatrique	ZAOUI Sanaa	Pharmacologie
SAMKAOUI Mohamed Abdenasser	Anesthésie–réanimation	ZARROUKI Youssef	Anesthésie– réanimation
SAMLANI Zouhour	Gastro–entérologie	ZEMRAOUI Nadir	Néphrologie
SARF Ismail	Urologie	ZIADI Amra	Anesthésie– réanimation
SERGHINI Issam	Anesthésie–réanimation	ZIDANE Moulay Abdelfettah	Chirurgie thoracique
SORAA Nabila	Microbiologie–virologie	ZOUHAIR Said	Microbiologie
SOUMMANI Abderraouf	Gynécologie– obstétrique	ZYANI Mohammad	Médecine interne
TASSI Noura	Maladies infectieuses		

Professeurs Habilités (PH)

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
FDIL Naima	Chimie de coordination bio– organique		
GEBRATI Lhoucine	Chimie		
LOQMAN Souad	Microbiologie et toxicologie environnementale		

Professeurs Agrégés

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABDELFETTAH Youness	Rééducation et réhabilitation fonctionnelle	HAJJI Fouad	Urologie
ABDOU Abdessamad	Chirurgie Cardio– vasculaire	HAMMOUNE Nabil	Radiologie

AKKA Rachid	Gastro-entérologie	JALLAL Hamid	Cardiologie
ALJALIL Abdelfattah	Oto-rhino-laryngologie	JANAH Hicham	Pneumo-phtisiologie
ARABI Hafid	Médecine physique et réadaptation fonctionnelle	LAFFINTI Mahmoud Amine	Psychiatrie
ARSALANE Adil	Chirurgie thoracique	MAOUJOURD Omar	Néphrologie
ASSERRAJI Mohammed	Néphrologie	MESSAOUDI Redouane	Ophtalmologie
BAALLAL Hassan	Neurochirurgie	MILOUDI Mouhcine	Microbiologie-virologie
BABA Hicham	Chirurgie générale	NADER Youssef	Traumatologie-orthopédie
BAKZAZA Oualid	Chirurgie Vasculaire périphérique	NASSIM SABAH Taoufik	Chirurgie réparatrice et plastique
BELFQUIH Hatim	Neurochirurgie	OUMERZOUK Jawad	Neurologie
BELGHMAIDI Sarah	Ophtalmologie	RAISSI Abderrahim	Hématologie clinique
BELHADJ Ayoub	Anesthésie-réanimation	REBAHI Houssam	Anesthésie-réanimation
BELLASRI Salah	Radiologie	RHARRASSI Issam	Anatomie-pathologique
BENNAOUI Fatiha	Pédiatrie	SEBBANI Majda	Médecine Communautaire (Médecine préventive, santé publique et hygiène)
BOUZERDA Abdelmajid	Cardiologie	SEDDIKI Rachid	Anesthésie-réanimation
EL- AKHIRI Mohammed	Oto-rhino-laryngologie	SIRBOU Rachid	Médecine d'urgence et de catastrophe
ELBAZ Meriem	Pédiatrie	ZBITOU Mohamed Anas	Cardiologie
ESSADI Ismail	Oncologie médicale	ZOUIZRA Zahira	Chirurgie Cardio-vasculaire
FENANE Hicham	Chirurgie thoracique		

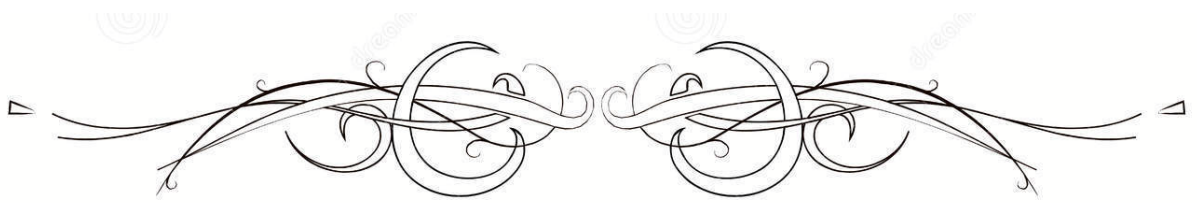
Professeurs Assistants

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
AABBASSI Bouchra	Pédopsychiatrie	DAMI Abdallah	Médecine Légale
ABALLA Najoua	Chirurgie pédiatrique	DARFAOUI Mouna	Radiothérapie
ABOUDOURIB Maryem	Dermatologie	DOUIREK Fouzia	Anesthésie-réanimation

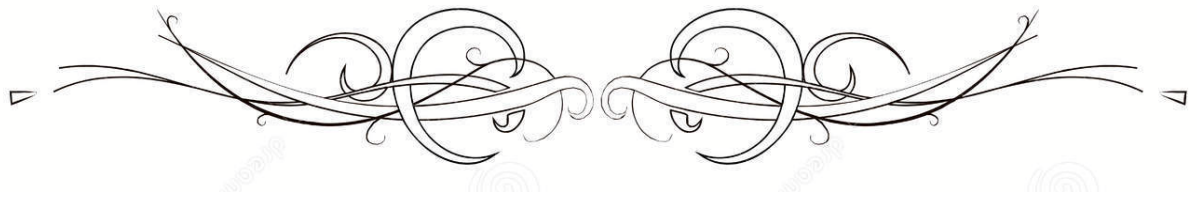
ABOULMAKARIM Siham	Biochimie	DOULHOUSNE Hassan	Radiologie
ACHKOUN Abdessalam	Anatomie	EL AMIRI My Ahmed	Chimie de Coordination bio- organique
AHBALA Tariq	Chirurgie générale	EL FADLI Mohammed	Oncologie médicale
AIT ERRAMI Adil	Gastro-entérologie	EL FAKIRI Karima	Pédiatrie
AIT LHAJ El Houssaine	Ophtalmologie	EL GAMRANI Younes	Gastro-entérologie
AMINE Abdellah	Cardiologie	EL HAJJAMI Ayoub	Radiologie
ARROB Adil	Chirurgie réparatrice et plastique	EL HAKKOUNI Awatif	Parasitologie mycologie
AZAMI Mohamed Amine	Anatomie pathologique	EL HAMD AOUI Omar	Toxicologie
AZIZ Zakaria	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale	EL JADI Hamza	Endocrinologie et maladies métaboliques
AZIZI Mounia	Néphrologie	EL KHASSOUI Amine	Chirurgie pédiatrique
BELARBI Marouane	Néphrologie	EL MOUHAFID Faisal	Chirurgie générale
BENAMEUR Yassir	Médecine nucléaire	ELATIQUI Oumkeltoum	Chirurgie réparatrice et plastique
BENANTAR Lamia	Neurochirurgie	ELJAMILI Mohammed	Cardiologie
BENCHAFAI Ilias	Oto-rhino-laryngologie	ELOUARDI Youssef	Anesthésie- réanimation
BENYASS Youssef	Traumato-orthopédie	EL-QADIRY Rabiya	Pédiatrie
BENZALIM Meriam	Radiologie	ESSAFTI Meryem	Anesthésie- réanimation
BOUHAMIDI Ahmed	Dermatologie	FASSI FIGHRI Mohamed jawad	Chirurgie générale
BOUMEDIANE El Mehdi	Traumato-orthopédie	FIKRI Oussama	Pneumo-phtisiologie
BOUTAKIOUTE Badr	Radiologie	HAIHOUI Farouk	Neurochirurgie
CHEGGOUR Mouna	Biochimie	HAMRI Asma	Chirurgie Générale
CHETOUI Abdelkhalek	Cardiologie	HAZIME Raja	Immunologie
CHETTATI Mariam	Néphrologie	IDALENE Malika	Maladies infectieuses
JEBRANE Ilham	Pharmacologie	RAMRAOUI Mohammed- Es-said	Chirurgie générale
KHALLIKANE Said	Anesthésie-réanimation	RHEZALI Manal	Anesthésie- réanimation
LACHHAB Zineb	Pharmacognosie	ROUKHSI Redouane	Radiologie
LAHLIMI Fatima Ezzahra	Hématologie clinique	SAHRAOUI Houssam Eddine	Anesthésie- réanimation
LAHMINI Widad	Pédiatrie	SALLAHI Hicham	Traumatologie-

			orthopédie
LAKHDAR Youssef	Oto-rhino-laryngologie	SAYAGH Sanae	Hématologie
LALAOUI Abdessamad	Pédiatrie	SBAAI Mohammed	Parasitologie- mycologie
LAMRANI HANCHI Asmae	Microbiologie-virologie	SBAI Asma	Informatique
LGHABI Majida	Médecine du Travail	SLIOUI Badr	Radiologie
MEFTAH Azzelarab	Endocrinologie et maladies métaboliques	WARDA Karima	Microbiologie
MOUGUI Ahmed	Rhumatologie	YAHYAOUI Hicham	Hématologie
MOULINE Souhail	Microbiologie-virologie	YANISSE Siham	Pharmacie galénique
NASSIH Houda	Pédiatrie	ZIRAOUI Oualid	Chimie thérapeutique
RACHIDI Hind	Anatomie pathologique	ZOUITA Btissam	Radiologie
RAFI Sana	Endocrinologie et maladies métaboliques		

LISTE ARRETEE LE 03/04/2023



DÉDICACES



*Ce moment est l'occasion d'adresser mes remerciements et
ma reconnaissance et de dédier cette thèse*



Je dédie cette thèse

A ALLAH

Tout puissant

*Qui m'a inspiré et m'a guidé dans le bon chemin. Je vous dois ce que je suis
devenue*

Louanges et remerciements pour votre clémence et miséricorde.

Au PROPHÈTE MOHAMMED paix et salut sur lui.

Aux meilleurs parents du monde,

*A ceux qui m'ont donné la vie, à ceux qui m'ont toujours tout donné sans
jamais rien compter, les mots se font pauvres et impuissants pour vous
exprimer ce que je ressens en écrivant ces quelques lignes :*

Chère maman,

*A la meilleure, la plus courageuse et la plus merveilleuse de toutes les
mères. Ta présence constante ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui.
Tes sacrifices innombrables et ton dévouement furent pour moi la plus
grande des motivations. Merci de m'avoir inculqué les belles valeurs de la
vie. Merci maman de te soucier autant de mon bonheur et de mon bien
être. Je te rends hommage par ce modeste travail en guise de mon infini
amour. Puisse Dieu tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue
vie et bonheur que je puisse te rendre un minimum de ce que je te dois. Je
t'aime.*

Cher papa,

Aucun mot ne saurait exprimer toute ma reconnaissance et ma gratitude à ton égard. Tu as été et tu seras toujours un exemple pour moi par ta droiture, ta persévérance et ta rigueur. Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir. Que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal.

À ma chère sœur Karima,

Les mots ne suffisent guère pour exprimer mon amour envers toi. Puisse la fraternité nous unisse à jamais. Je te souhaite une vie prospère, pleine de réussite et de bonheur. Merci d'être à mes côtés et de m'avoir continuellement encouragé.

A mes chers frères Mohamed Yassine et Adam,

Que mon travail soit témoignage de mon grand amour et respect envers vous.

A La Mémoire De Ma grand-mère Hajja Safia aboulfadl

Que Dieu, le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis.

À ma grande famille

Mes oncles, tantes, cousins et cousines

En témoignage de mon amour et mon respect je vous dédie cette thèse. Que ce travail traduise toute mon affection et mes souhaits de bonheur, de santé et de longue vie.

A Mes Amies d'enfance Oumaïma, Chaïmaa, Meryem et Ghita

A tous les moments qu'on a passé ensemble, à tous nos souvenirs ! Je vous souhaite à tous longue vie pleine de bonheur et de prospérité.

A mes chères amies Moniba, Fatima, Asmae et Yasmine

Vous avez rendu ces huit longues années des moments pleins de joie et de bons souvenirs. En témoignage de mon amour et mon respect je vous dédie cette thèse

A mes chères amies Ouïame et Oumaïma

Que ce travail soit le témoignage des bons moments que nous avons passés ensemble, des moments qui ont rendu ces deux ans d'internat moins pénibles.

A mes chères amies d'internat,

A ma chère Yasmína,

en si peu de temps tu es devenue une sœur avec qui j'ai partagé énormément de choses, ta bonté et ton sens d'humour sont capables de guérir tous les maux du monde, j'espère que notre amitié ne s'arrêtera jamais. Tous mes souhaits de bonheur et de réussite.

A ma chère Imane,

à tous les moments que nous avons passés ensemble, à nos premières gardes, à nos rires et nos confessions et à tous nos souvenirs ! Je te souhaite une vie pleine de joie.

A ma chère Jijí,

ton âme pure et ta générosité ont marqué ma vie, je te souhaite une très belle carrière.

*A ma chère Asma,
que ce travail traduise toute mon affection et mes souhaits de réussite.*

*A mes chers amis Hamza, Sara, Oussama, Fatimaezzahra, Taoufik,
Loulou, Mouhssine
Vous m'avez accueilli les bras ouverts dans votre famille. Vous avez
toujours été à l'écoute toujours prêts à convertir les moments de
déceptions en moments d'exploits. A tous les moments de joie que nous
avons passés ensemble, à tous nos souvenirs, Je vous dédie ce travail avec
tous mes vœux de bonheur et de santé.*

*A mes amis de la réanimation pédiatrique Anas jouahri et kenza
barakate,
Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur et de santé.*

*A mon cher professeur Tourabi khalid,
Cette humble dédicace ne saurait exprimer mon grand respect et ma
profonde estime.*

*A la 19ème promotion des internes,
Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de joie et de réussite.*

*A tous ceux qui m'ont transmis leur savoir depuis la maternelle jusqu'à
ce jour.*

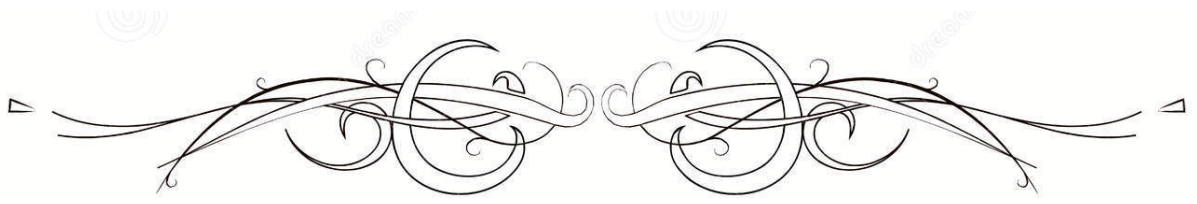
*À tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce
travail.*

*À tous ceux qui ont cette pénible tâche de soulager les gens et diminuer
leurs souffrances.*

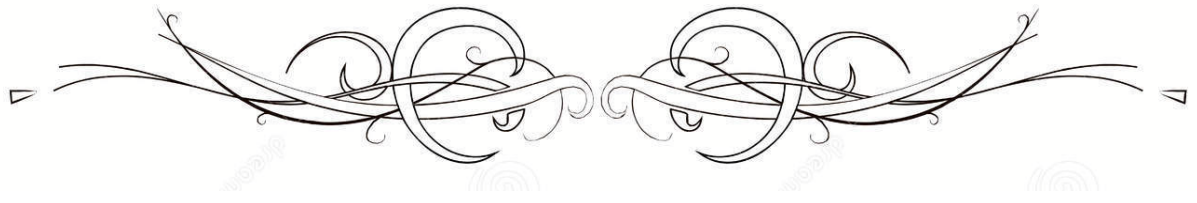
A tous les malades...

Que Dieu nous aide à apaiser vos souffrances...

Enfin à tous ceux que j'ai omis involontairement de citer...



REMERCIEMENTS



A notre Maître et Président de thèse

Professeur ZOUHAIR Saïd

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de présider notre jury de thèse. Nous avons eu le privilège de travailler parmi votre équipe et d'apprécier vos qualités scientifiques, pédagogiques et surtout humaines qui seront pour nous un exemple à suivre dans l'exercice de notre profession. Veuillez trouver ici l'expression de notre respectueuse considération et notre profonde admiration.

A notre maître et rapporteur de thèse

Professeur ARSALANE Lamíae

Votre parcours professionnel, votre compétence incontestable, vos qualités humaines et surtout votre modestie font de vous un grand professeur et nous inspirent une grande admiration et haute considération. Nous saisissons cette occasion pour vous exprimer notre profonde gratitude, nous vous remercions pour la gentillesse et la sympathie avec lesquelles vous avez bien voulu diriger ce travail. Nous avons eu le grand plaisir de travailler sous votre direction, et avons trouvé auprès de vous le conseiller et le guide qui nous a reçus en toute circonstance avec sourire et bienveillance. Les conseils fructueux que vous nous avez prodigués ont été très précieux. Veuillez trouver ici l'expression de ma reconnaissance, de mon profond respect et de ma vive gratitude.

A notre maître et juge de thèse

Professeur QAMOUSS Youssef

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de vous associer à notre jury de thèse. Vous représentez pour nous l'exemple du professeur aux grandes qualités humaines et professionnelles. Votre compétence et votre dévouement sont pour nous un exemple à suivre dans l'exercice de la profession médicale. Veuillez croire, chère Maître, à l'expression de notre sincère reconnaissance et notre grand respect.

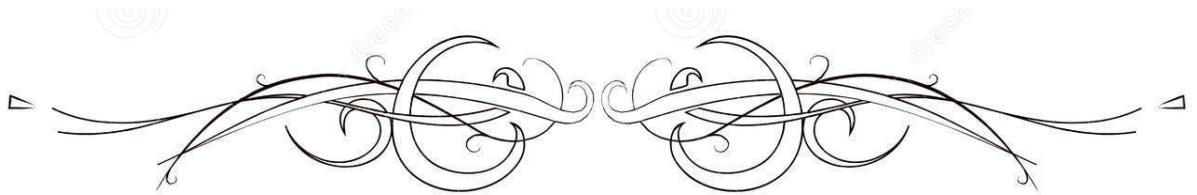
A notre maître et juge de thèse

Professeur ELKAMOUNI Youssef

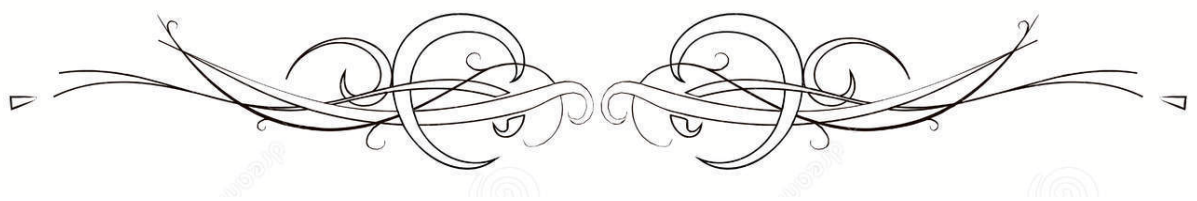
Vous nous avez fait un grand honneur en acceptant de juger ce travail. Votre compétence, votre savoir-faire et votre simplicité exemplaire sont pour nous un objet de considération. Nous avons eu l'occasion d'apprécier vos qualités professionnelles et humaines qui ont toujours suscité notre admiration. Veuillez accepter, cher Maître, nos sincères remerciements et toute la reconnaissance que nous vous témoignons.

Aux techniciens et tout le personnel du Laboratoire de l'hôpital Militaire

Avicenne de Marrakech



TABLEAUX & FIGURES



The image features a central title 'TABLEAUX & FIGURES' in a bold, italicized serif font. The title is framed by two symmetrical, ornate flourishes. Each flourish consists of two mirrored, swirling scroll-like elements that extend horizontally outwards, ending in small triangular points. The entire composition is centered on a plain white background.

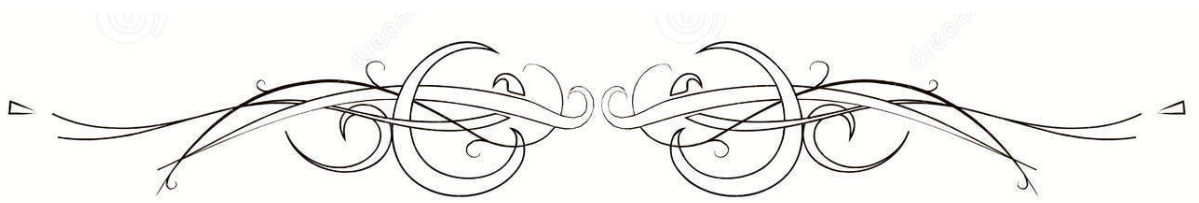
Liste des tableaux

- Tableau I** : Caractéristiques des principaux types de prélèvements
- Tableau II** : Répartition des échantillons réalisés selon le sexe durant la période d'étude
- Tableau III** : Répartition des pneumonies nosocomiales en fonction du type de prélèvement
- Tableau IV** : Germes détectés par méthode
- Tableau V** : Tableau de contingence FilmArray vs Culture
- Tableau VI** : Concordance entre culture et biologie moléculaire pour la détection d'agents pathogènes
- Tableau VII** : Nombre de gènes de résistance retrouvés
- Tableau VIII** : Clinical Pulmonary Infection Score modifié
- Tableau IX** : Liste des agents pathogènes testés par BIOFIRE® FILMARRAY® Respiratory Panel 2.1 plus
- Tableau X** : Liste des agents pathogènes testés par BIOFIRE® FILMARRAY® Pneumonia plus Panel
- Tableau XI** : Facteurs de risque d'infection à BMR
- Tableau XII** : PNP sans facteurs de risque d'infection à BMR
- Tableau XIII** : PNT avec risque d'infection à BMR
- Tableau XIV** : Détection d'agents pathogènes par méthode
- Tableau XV** : Taux de positivité comparé aux autres études
- Tableau XVI** : Sensibilité et spécificité du Filmarray dans différentes études
- Tableau XVII** : Délai de rendu de résultats du FilmArray ME par rapport à celui de la microbiologie conventionnelle
- Tableau XVIII** : Répartition des germes isolés selon la littérature (%)

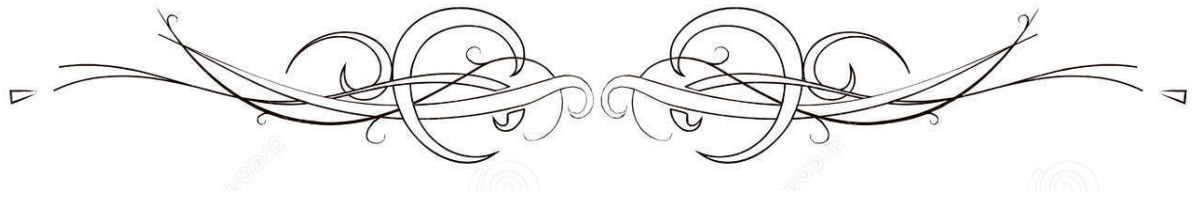
Liste des figures

- Figure1** : Différents milieux de culture en bactériologie
- Figure 2** : Les pathogènes détectés par le panel pneumonia plus FilmArray
- Figure3** : Prélèvement du liquide broncho alvéolaire
- Figure4** : Schéma récapitulatif de la préparation d'une cassette filmarray
- Figure5** : Répartition des pneumonies nosocomiales en réanimation selon le sexe
- Figure6** : Répartition des pneumonies nosocomiales en fonction du type de prélèvement
- Figure7** : Répartition des pneumonies nosocomiales selon la positivité de la culture
- Figure8** : Répartition des pneumonies nosocomiales selon le délai de positivité de la culture
- Figure9** : Répartition des pneumonies nosocomiales selon la positivité de la biologie moléculaire
- Figure10** : Nombre de germes détectés
- Figure11** : Répartition des pneumonies nosocomiales selon le germe isolé par la culture
- Figure12** : Nombre de détection des bactéries par FilmArray
- Figure13** : Nombre d'agents pathogènes détectés par méthodes
- Figure14** : Anatomie des voies respiratoires
- Figure15** : Voies de colonisation / infection chez les patients sous VM
- Figure16** : Examen cytbactériologique des crachats
- Figure17** : Dispositif de wimberley
- Figure18** : Milieux de culture
- Figure19** : Concordance entre le BioFire® FilmArray® PNplus Panel (PCR) et la culture par bactérie détectée.
- Figure20** : Principes de la PCR
- Figure21** : Principales étapes d'analyse d'un échantillon en biologie moléculaire
- Figure22** : Image photographique (à gauche) et schéma (à droite) montrant les principales caractéristiques d'un système d'analyse FilmArray
- Figure23** : Principales mesures spécifiques de prévention des PNAVM
- Figure24** : Comparaison de la détection bactérienne culture vs biologie moléculaire

- Figure 25** : Répartition selon le sexe dans certaines études
- Figure26** : Répartition du sex-ratio H/F dans les différentes études
- Figure27** : Taux de positivité comparé aux autres études
- Figure28** : Nombre de pathogènes détecté par FilmArray vs méthodes standards
- Figure29** : Comparaison de détection des co-infections entre FilmArray et culture
- Figure30** : Taux de positivité de l'acinetobacter baumannii dans différentes études
- Figure31** : Comparaison entre BioFire Pneumonie plus Panel (PNplus) et norme méthodes conventionnelles pour la détection bactérienne dans les pneumopathies nosocomiales par Ginocchio et Al
- Figure32** : Taux de positivité du Pseudomonas aeruginosa dans différentes études
- Figure33** : Taux de positivité du Klebsiella pneumoniae dans différentes études
- Figure34** : Taux de positivité du staphylococcus aureus dans différentes études

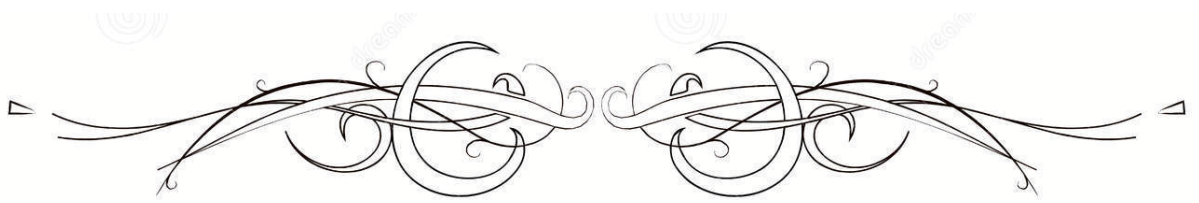


ABBREVIATIONS

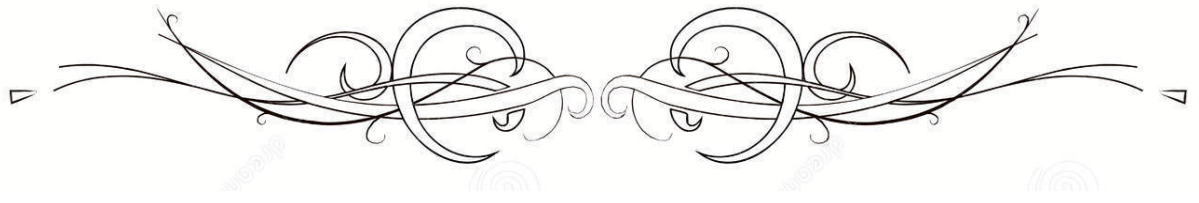


Liste des abréviations :

PN	: Pneumopathies nosocomiales
PCR	: Polymerase chain reaction
ECBC	: Examen cytobactériologique des crachats
AET	: Aspiration endo-trachéale
LBA	: Liquide broncho-alvéolaire
PDP	: Prélèvement distal protégé
ARN	: Acide ribonucléique
ADN	: Acide désoxyribonucléique
VPP	: Valeur prédictive positive
VPN	: Valeur prédictive négative
VAS	: Voies aériennes supérieures
VAI	: Voies aériennes inférieures
USI	: Unité de soin intensif
PAH	: Hospitala cquired pneumonia
PAV	: Ventilator associated pneumonia
BGN	: Bactéries gram négatif
BMR	: Bactéries multi-résistantes
SARM	: Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline
SASM	: Staphylococcus aureus sensible à la méthicilline
SDRA	: Syndrome de détresse respiratoire aigu
ATS	: American thoracic society

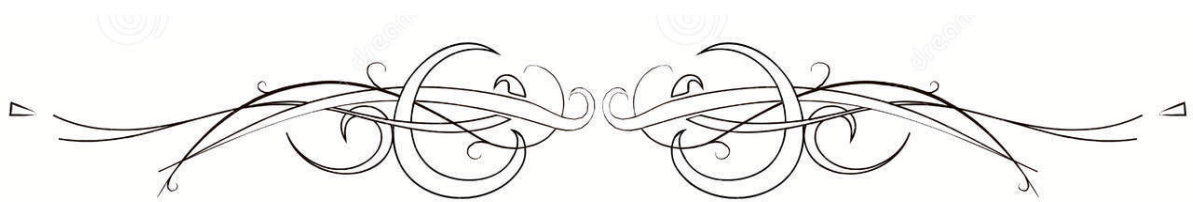


PLAN

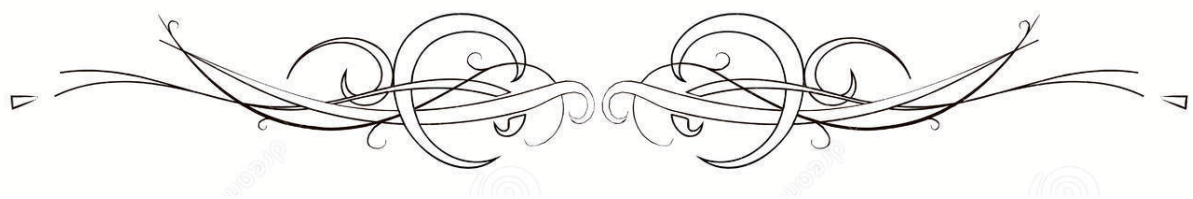


INTRODUCTION	1
MATERIEL ET METHODES	3
I. MATERIEL.....	4
1. Présentation de l'étude	4
2. Objectifs de l'étude	4
3. Critères d'inclusion	5
4. Critères d'exclusion	5
5. Recueils des données	5
6. Outils statistiques	6
7. Considérations éthiques	6
II. METHODES (diagnostic microbiologique).....	6
1. Le prélèvement	6
2. culture	8
3. Biologie moléculaire (FilmArray).....	11
RESULTATS	20
I. Caractéristiques de la population étudiée et épidémiologie des pneumonies nosocomiales en milieu de réanimation	21
1. Répartition des pneumonies nosocomiales en réanimation selon le sexe	21
II. Evaluation des performances diagnostiques de la technique FilmArray.....	22
1. Répartition des pneumonies nosocomiales en réanimation selon le type de prélèvement	22
2. Répartition des pneumonies nosocomiales selon le taux de positivité.....	23
3. Répartition des pneumonies nosocomiales en réanimation selon le type de germes	37
4. Répartition des pneumonies nosocomiales en réanimation selon le profil de résistance	30
DISCUSSION	32
I. Epidémiologie des infections respiratoires nosocomiales en milieu de réanimation.....	33
1. Définition des Infections respiratoires nosocomiales.....	33
2. Rappels anatomophysiologiques des voies respiratoires et physiopathologie	34
3. Aspect clinique.....	37
4. Agents pathogènes.....	39
5. Diagnostic microbiologique.....	42
6. Prise en charge thérapeutique.....	53
II. Discussion des résultats de notre étude :.....	57
1. L'apport de la biologie moléculaire dans le diagnostic précoce des infections respiratoires nosocomiales.....	58
2. Epidémiologie des infections respiratoires nosocomiales en réanimation.....	61
3. Evaluation des performances diagnostiques de la technologie FilmArray.....	63
4. Les bactéries responsables de pneumopathies nosocomiales détectés par le Panel PNEUMOPLUS FILMARRAY®	69
5. Forces et limites.....	75

III. Recommandations	76
CONCLUSION.....	77
ANNEXES	79
RESUMES	80
BIBLIOGRAPHIE.....	87



INTRODUCTION



Les pneumopathies nosocomiales (PN) sont des infections respiratoires basses survenant 48 heures ou plus après l'hospitalisation, n'étant pas en phase d'incubation au moment de celle-ci et allant jusqu'à 7 jours après la sortie de l'hôpital.

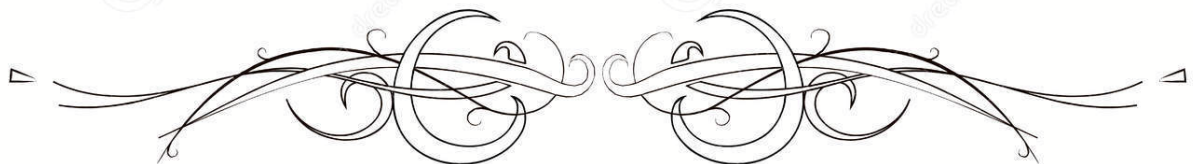
Les PN sont liées d'une part à la qualité des soins en rapport avec tous les acteurs qui gravitent autour du malade, aux mesures de lutte et de prévention qui dépendent de la politique d'hygiène de l'unité de soins considérée et d'autre part au terrain fragile des patients hospitalisés aux unités de soins intensifs (immunodépression, pathologie grave...).

Malgré les progrès de l'antibiothérapie, les techniques de suppléance et la mise en œuvre de mesures préventives, les PN représentent encore un des problèmes majeurs de la santé publique responsable d'un taux de morbi-mortalité et d'un coût de soins très élevés.

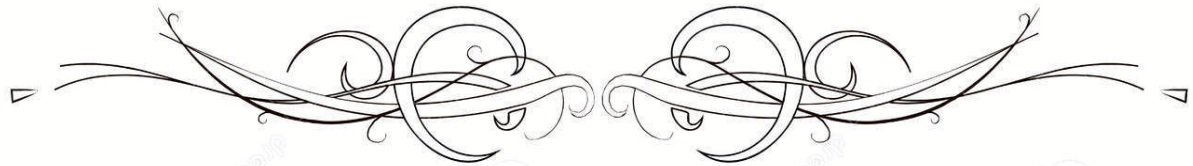
Actuellement les PN posent un problème de désarmement thérapeutique face aux multiples résistances aux antibiotiques des bactéries causales.

Des tests diagnostiques conventionnels sont disponibles mais la sensibilité, la spécificité et le délai de réponse de ces tests ne sont pas réellement satisfaisants d'où le besoin d'un développement de tests de diagnostic rapide.

Les techniques moléculaires actuellement développées (PCR simplex, Multiplex) constituent un progrès important pour le diagnostic des pneumopathies nosocomiales en milieu de réanimation correspondant aux besoins et attentes des cliniciens. Le Panel pneumoplusFilmArray® est un dispositif automatisé de diagnostic in vitro, destiné à la détection de cibles d'acides nucléiques multiples contenues dans les prélèvements respiratoires et qui permet donc l'analyse des agents pathogènes respiratoires communs y compris les virus, les bactéries et les parasites responsables de pneumopathies nosocomiales. L'objectif de notre étude est d'évaluer l'apport de la technologie FilmArray dans le diagnostic étiologique précoce des pneumopathies nosocomiales.



MATÉRIEL ET MÉTHODES



I. MATERIEL

1. Présentation de l'étude :

Il s'agit d'une étude rétrospective à visée descriptive, réalisée sur 82 prélèvements respiratoires provenant des patients hospitalisés au service de réanimation de l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech ayant bénéficié d'un examen de biologie moléculaire (FilmArray) et d'une culture bactérienne au sein du laboratoire de microbiologie- virologie et de biologie moléculaire du même hôpital.

Ce travail s'est étalé sur une période de quatre ans, du 1er janvier 2018 au 31 décembre 2021.

2. Objectifs de l'étude :

2.1. Objectif principal

- Apport du panel Pneumoplus Biofire FilmArray dans le diagnostic étiologique précoce des infections respiratoires nosocomiales en milieu de réanimation.

2.2. Objectifs secondaires

- Connaître l'aspect épidémiologique des infections respiratoires nosocomiales chez les patients de réanimation.
- Etudier objectivement les avantages et les limites du panel Pneumoplus Biofire FilmArray.

3. Critères d'inclusion :

Les critères d'inclusion de notre étude sont les suivants :

- Tous les patients hospitalisés au sein de la réanimation de l'hôpital Avicenne de Marrakech durant la période de l'étude ayant bénéficié d'un Biofire FilmArray panel pneumoplus et d'une culture bactérienne.

4. Critères d'exclusion :

Nous avons exclu de notre étude les patients :

- dont les prélèvements étaient invalides.
- dont les prélèvements étaient redondants.

5. Recueils des données :

Le recueil des données a été fait à partir des archives du service de Bactériologie–Virologie–biologie moléculaire.

Les dossiers des 82 patients inclus dans l'étude ont été recueilli sur une fiche d'exploitation réalisée à cet effet comportant les données de :

- Identité du patient
 - ❖ Nom et prénom
 - ❖ Sexe
 - ❖ Résultat de la culture et profil de résistance sur l'antibiogramme
 - ❖ Résultats de la PCR multiplex (FilmArray) :
 - Agents pathogènes identifiés
 - Présence de co-infection
 - Présence de gènes de résistance

6. Outils statistiques :

L'analyse statistique des données a été effectuée à l'aide du logiciel SPSS. La saisie des textes et des données a été faite sur le logiciel Microsoft Word et celle des graphiques sur le logiciel Microsoft Excel. La bibliographie a été réalisée à l'aide du logiciel Mendeley.

7. Considérations éthiques :

L'étude a été réalisée après obtention de l'autorisation de la commission pédagogique de la faculté de médecine et de pharmacie ainsi que le comité des thèses. L'équipe de travail a veillé à l'anonymat et à la confidentialité des données de nos patients.

II. METHODES (diagnostic microbiologique)

1. Le prélèvement :

Constitue l'une des étapes les plus critiques en microbiologie.

La qualité du prélèvement conditionne la fiabilité du résultat.

Les prélèvements sont effectués et recueillis au niveau du service de réanimation puis acheminés au laboratoire.

Le choix de la méthode de prélèvement des sécrétions broncho pulmonaires est capital. Elle doit permettre de limiter au maximum des contaminations par des germes présents au niveau des voies aériennes supérieures et recueillir des sécrétions provenant bien du foyer infectieux.

Les différents types de prélèvements broncho pulmonaires :

1.1. Expectoration : ECBC

Les précautions pour son recueil sont les suivantes :

- Recueil dans un récipient stérile
- De préférence le matin à jeun
- Après un rinçage bucco-dentaire à l'eau
- Lors d'un effort de toux, aidé si besoin d'une kinésithérapie.

L'idéal est de le pratiquer avant toute antibiothérapie.

1.2. Aspiration bronchique et l'aspiration endo-trachéale (AET)

Leur objectif est de désencombrer les patients des sécrétions bronchiques afin de faciliter leur ventilation. On les pratique à l'aveugle (sans fibroscope) sauf pour certaines aspirations bronchiques réalisées à l'occasion d'une fibroscopie.

L'aspiration endo-trachéale concerne seulement les sujets intubés, le recueil des sécrétions se faisant par la sonde d'intubation.

Pour ces deux modalités de prélèvements, le risque de contamination par la flore des voies aériennes supérieures est important.

1.3. Lavage broncho-alvéolaire (LBA)

Ce prélèvement, réalisé sous fibroscope, consiste à injecter une solution (50 à 250 ml) de liquide physiologique stérile à 37°C dans une bronche de 3° ou de 4° génération. On aspire ensuite une fraction de 20 à 60% du liquide injecté. Le LBA permet de récupérer les germes présents dans les bronchioles distales et les alvéoles pulmonaires.

Ainsi, l'avantage du LBA est d'explorer un plus vaste territoire pulmonaire alvéolaire avec le recueil d'une plus grande quantité de sécrétions.

Le LBA n'est pas un prélèvement protégé. La flore des voies aériennes supérieures le contamine légèrement. L'observation de rares cellules épithéliales pharyngées témoignera de cette légère contamination.

1.4. Aspiration bronchique distale protégée(PDP)

Cette méthode s'appelle également, méthode du « cathéter distal protégé » ou « prélèvement distal protégé ».

L'introduction d'un double cathéter protégé par la sonde d'intubation se fait à l'aveugle. Si le patient n'est pas intubé, le prélèvement peut être guidé par un fibroscope.

Après avoir retiré le dispositif, le préleveur essuie le cathéter externe avec une compresse stérile imbibée d'alcool. Ensuite il fait ressortir de quelques centimètres le cathéter interne et le coupe avec des ciseaux stériles. Enfin il fait passer dans la lumière du cathéter 1 ml de sérum physiologique qu'il recueille dans un tube. Pour terminer, il sectionne le cathéter et place son extrémité distale dans le tube de recueil. Il agite ensuite le tube pendant 2 minutes.

Tableau I: Caractéristiques des principaux types de prélèvements

Prélèvement	Protégé	Fibroscopie	Avantages	Inconvénients
Expectoration	Non	Possible mais non indispensable	Simple et non invasif	Forte contamination
Aspiration bronchique	Non	Non	Simple	Contamination
Lavage broncho-alvéolaire	Non	Oui	Explore une grande partie du territoire pulmonaire	Mal toléré par les patients
Prélèvement distal protégé	Oui	Possible mais non indispensable	Bonne qualité même sans fibroscopie Faible coût	Faible volume de prélèvement Pas de visualisation du site prélevé (en l'absence de fibroscopie)

2. culture :

La culture microbienne ou culture microbiologique est une technique de laboratoire de développement contrôlé de micro-organismes, croissance in vitro, en principe d'une seule souche bactérienne. Ces cultures facilitent donc l'étude des souches bactériennes.

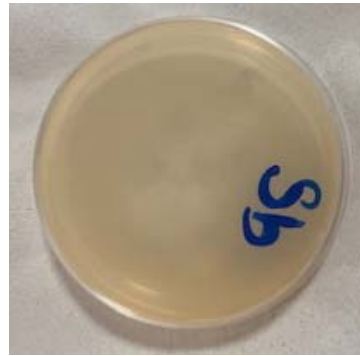
Le matériel d'analyse (prélèvements broncho pulmonaires) contenant les bactéries présumées a été prélevé chez le patient. Au laboratoire, les bactéries sont cultivées pendant la nuit dans un incubateur pour déterminer les germes avec précision, et leur sensibilité aux antibiotiques a été testée (antibiogramme). Il est ainsi possible d'établir à quels antibiotiques le germe est sensible ou insensible (résistant). Cela est particulièrement important en présence de germes rares ou d'infections graves, afin de mettre en œuvre le traitement antibiotique optimal.

Pour la culture bactérienne, le matériel a été placé sur un milieu nutritif spécial (boîte de Petri) dans un incubateur à une température de 37 degrés Celsius (température corporelle). Il s'agit de placer des bactéries à la surface ou à l'intérieur d'une gélose.

Les géloses contiennent des éléments nécessaires à la croissance bactérienne, des produits inhibiteurs qui les rendent sélectifs et des indicateurs (pH et colorants) qui les rendent différentiels. On a placé les cultures microbiennes à une température favorable (en général 35 °C) pendant minimum une journée (24 heures) dans une atmosphère, soit aérobie, anaérobie ou micro aérophilie (O₂).

Plusieurs jours sont généralement nécessaires afin qu'une culture bactérienne ait atteint une croissance suffisante pour être bien visible. De nombreux germes peuvent déjà être reconnus au microscope ou par la croissance et l'apparence (couleur) typiques de la colonie. D'autres sont quant à eux identifiés par des méthodes spéciales d'analyse biochimique.

Pour l'antibiogramme, de petits disques de feutre imbibés de divers antibiotiques ont été placés sur la lame sur laquelle la culture bactérienne se développe. Cela permet de déterminer quel antibiotique inhibe le mieux la croissance bactérienne, puisque la zone autour du disque de feutre n'est pas colonisée. Plus la zone est importante, plus l'antibiotique en question est efficace pour inhiber les bactéries.



Milieu de sabouraud



Gélose chapman



Gélose au sang



Gélose chocolat

Figure1 : Différents milieux de culture en bactériologie

3. Biologie moléculaire (FilmArray)

Le FilmArray® panel Pneumonia plus est un test diagnostique in vitro permettant la détection simultanée et l'identification de bactéries, virus et parasites responsables de symptômes respiratoires, en 1 heure environ. Il s'agit d'un système fermé et automatisé réalisant l'extraction des acides nucléiques, les amplifications et la lecture des résultats. Ce test est à la fois semi quantitatif et qualitatif, cible 27 agents pathogènes et 7 gènes de résistance bactérienne. Il est directement réalisable à partir d'un prélèvement respiratoire dont l'analyse est réalisée sans intervention manuelle, dans des cassettes spécifiques prêtes à l'emploi, seules les injections dans la cassette, de la solution d'hydratation et de la solution tampon contenant l'échantillon sont manuelles.

BACTÉRIES (Résultats semi-quantitatifs) <i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii</i> complexe <i>Enterobacter cloacae</i> complexe <i>Escherichia coli</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Klebsiella aerogenes</i> <i>Klebsiella oxytoca</i> Groupe <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Moraxella catarrhalis</i> <i>Proteus</i> spp. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i>	BACTÉRIES ATYPIQUES (Résultats qualitatifs) <i>Chlamydia pneumoniae</i> <i>Legionella pneumophila</i> <i>Mycoplasma pneumoniae</i> VIRUS Adénovirus Coronavirus Métapneumovirus humain Entérovirus/rhinovirus humains Virus de la grippe A Virus de la grippe B Coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS CoV) Virus parainfluenza Virus respiratoire syncytial	GÈNES DE RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES Résistance à la pénicilline <i>mecA/C</i> et MREJ Carbapénémases IMP KPC NDM OXA-48-like VIM BLSE CTX-M
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Figure 2: Les pathogènes détectés par le panel pneumonia plus FilmArray

1.1. Identification du prélèvement :

La conformité du prélèvement doit contenir les renseignements suivants :

- Nom et prénom du patient
- Date, heure du prélèvement
- Indication du prélèvement

- Terrain du patient
- Renseignements cliniques
- Antibiothérapie récente
 - Transport immédiat ou dans les 2 heures pour éviter une multiplication bactérienne

Conservation \leq 24 heures à 4°C.



Figure3:Prélèvement du liquide broncho alvéolaire

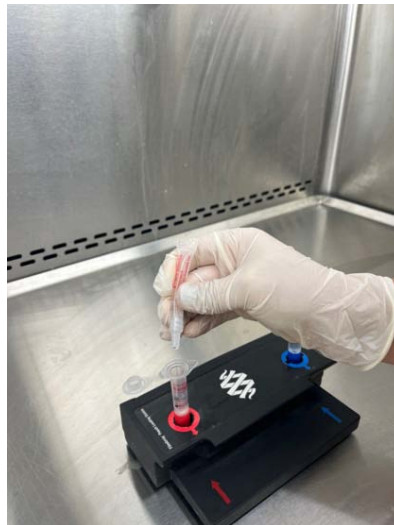
1.2. Préparation de la cassette :

La préparation d'une cassette FilmArray® est très simple, elle nécessite moins de 5 minutes de manipulation en incluant le nettoyage de la zone de travail et ne nécessite pas de mesure précise de volume. Cette étape consiste à injecter dans la cassette, préalablement insérée sur la station de chargement, une solution d'hydratation et le tampon de lyse contenant 200 μ L d'échantillon du prélèvement respiratoire. Des orifices sont prévus à cet effet sur la cassette et des codes couleurs indiquent à l'opérateur l'orifice d'injection de chaque solution. L'aspiration des solutions dans la cassette est réalisée grâce à un vide d'air qui permet de s'affranchir de toute mesure de volume. Cette préparation doit être effectuée dans des conditions d'hygiène strictes, sous une hotte dédiée après nettoyage de la zone de travail et de la station de chargement.

Avant l'analyse, on prépare la cassette en y injectant la solution d'hydratation et l'échantillon combiné avec son tampon.

La Station de chargement de la cassette a été conçue pour éviter les erreurs, en fournissant des instructions et des indications visuelles sous la forme de flèches de couleur, afin de garantir le chargement correct de la cassette. Elle contient 2 puits : le bleu où on introduit le flacon d'injection d'hydratation et le rouge pour le flacon de l'échantillon.

1-Le tampon d'échantillon est ajouté au flacon d'injection d'échantillon. (le puit rouge)



2-L'échantillon est ajouté au flacon en utilisant la pipette de transfert.



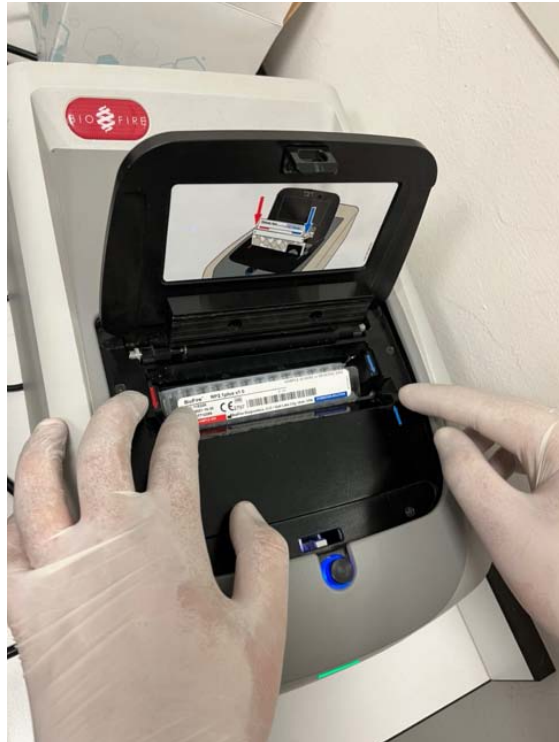
3-Le flacon d'échantillon est fermé et retourné 3 fois pour mélanger l'échantillon.



4-Le mélange échantillon / tampon est injecté dans l'orifice d'échantillon de la cassette.



6- introduction de la cassette dans le bloc de l'automate



7-scanner la cassette FilmArray pour sa reconnaissance par le logiciel.



8-programmation de la cassette dans le logiciel BiofireFilmArray

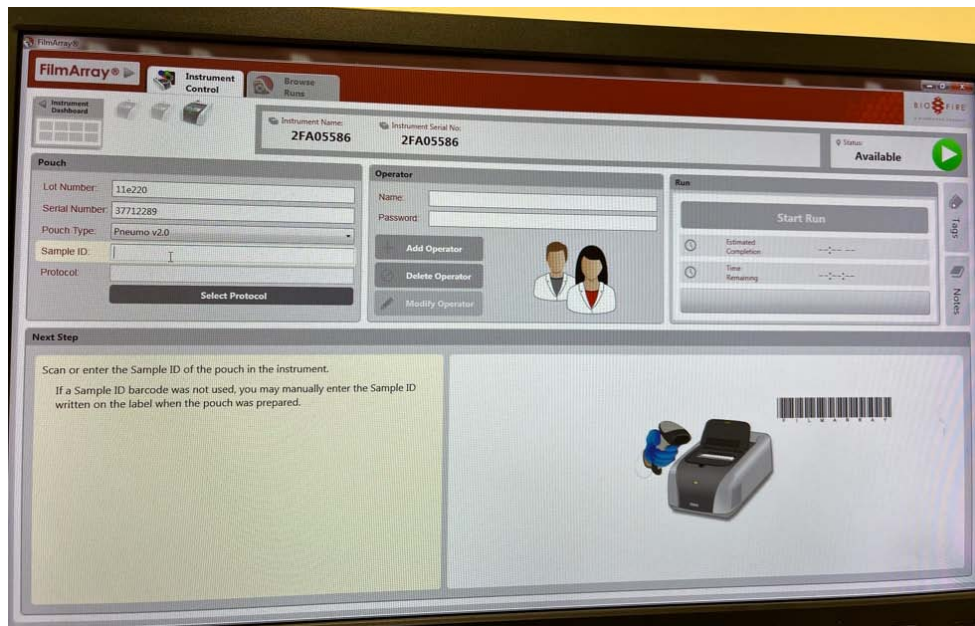


Figure4:Schéma récapitulatif de la préparation d'une cassette filmarray

1.3. Principe de l'analyse :

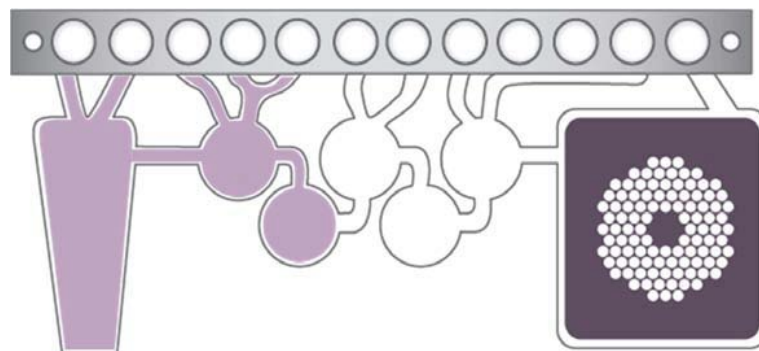
Une fois la cassette insérée dans l'automate FilmArray®, toute l'analyse est automatisée jusqu'au rendu du résultat. Les réactifs nécessaires à l'extraction et purification des acides nucléiques, la transcription inverse, les PCR et la détection sont contenus dans la cassette sous forme lyophilisée. Une fois l'analyse lancée, plusieurs étapes vont se succéder dans les différents compartiments de la cassette.

a. Lyse et purification des acides nucléiques :

L'échantillon est tout d'abord lysé par une combinaison de processus chimiques et mécaniques (broyage par billes) afin de libérer les acides nucléiques. Ces derniers sont ensuite capturés, lavés et élués selon une technique utilisant des billes magnétiques. Ces étapes sont réalisées dans les trois premiers compartiments de la cassette.

b. Transcription inverse et 1ère PCR multiplex :

De nombreux agents pathogènes sont des virus à ARN, une étape de transcription inverse est donc nécessaire afin de convertir l'ARN viral en ADN complémentaire avant l'amplification. En parallèle, une première réaction de PCR se déroule afin d'amplifier d'éventuelles séquences cibles présentes dans l'échantillon. La solution d'acides nucléiques purifiés est mélangée à une solution préchauffée contenant les réactifs nécessaires à la transcription inverse et à la première réaction de PCR (amorces, transcriptase,). Cette première PCR permet d'enrichir la solution en acides nucléiques cibles présents dans l'échantillon



c. 2ème PCR (PCR nichée) :

Avant cette deuxième réaction, les produits de la première PCR sont dilués et mélangés avec un agent intercalant fluorescent. Cet agent émet un signal de fluorescence lorsqu'il est fixé sur l'ADN double brin. L'analyse FilmArray® fait appel à la technique dite de la PCR nichée. Cette technique consiste à réaliser une deuxième réaction de PCR ciblant une séquence d'acides nucléiques inclus dans les produits d'amplification de la première réaction. Cette opération est réalisée dans des micro-puits contenant une deuxième paire d'amorces ciblant des séquences d'acides nucléiques spécifiques des agents pathogènes recherchés. Dans chaque puit se déroule donc une réaction de PCR simple si la séquence cible est présente. Cette technique de PCR nichée permet de limiter fortement les problèmes d'amplification non spécifique (fixation des amorces sur un site incorrect) et donc d'améliorer la spécificité de la réaction. Chaque paire d'amorces est présente en trois exemplaires (trois puits contenant la même paire d'amorces).

d. Analyse des courbes de fusion d'ADN :

Les copies d'ADN double brin générées lors de la PCR (amplicons) ont des séquences uniques basées sur la matrice qui a été amplifiée. La longueur et la séquence de l'amplicon déterminent la température à laquelle l'ADN double brin va se séparer en simples brins appelée température de fusion (Tf) de l'amplicon. Les produits de PCR issus de différentes cibles auront des séquences différentes et donc des Tf différentes. Après le dernier cycle de PCR, le système FilmArray® va augmenter progressivement la température entre 60°C et 94°C. Lorsque la température atteint la Tf d'un amplicon, ce-dernier va se dénaturer et le signal de fluorescence va diminuer par libération de l'agent intercalant. L'analyse des signaux de fluorescence permet au système d'établir une courbe de fusion puis la représentation de la dérivée de cette courbe permet d'obtenir un pic à la Tf spécifique de la cible recherchée. Le logiciel va alors comparer cette Tf à la plage de Tf attendues, si cela correspond, le résultat sera alors considéré comme positif. Comme dit précédemment, chaque paire d'amorces est présente en trois exemplaires, une fois les courbes de fusion identifiées, le logiciel évalue les trois répliques de chaque essai. Pour qu'un test soit positif, au moins deux des trois courbes de fusion doivent être considérées

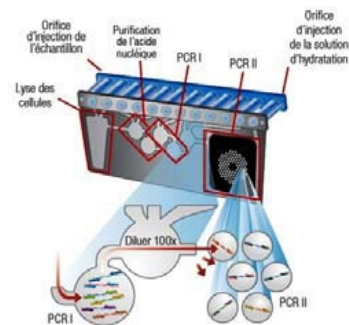
comme positives et la Tf doit être similaire (à 1°C près) pour au moins deux des trois courbes de fusion positives.

e. Contrôles de qualité :

Deux contrôles sont inclus dans chaque cassette :

RNA Process control (contrôle du traitement de l'ARN) Ce contrôle cible un produit de transcription (ARN) d'une levure, *Schizosaccharomyces pombe*, présente sous forme lyophilisée dans la cassette. Ce contrôle passe par toutes les étapes du processus d'analyse, notamment la lyse, l'extraction et purification des acides nucléiques, la transcription inverse, la 1ère étape de PCR, la dilution, la 2ème PCR et la fusion de l'ADN. Un résultat positif indique donc que toutes ces étapes se sont déroulées correctement.

PCR2 control (contrôle de PCR 2) Ce contrôle utilise une cible d'ADN séchée dans les micro-puits avec les amorces correspondantes. Un résultat positif indique que la 2ème réaction de PCR s'est déroulée correctement. Pour qu'une analyse soit validée, les deux tests de contrôle doivent être positifs, le système émet alors un rapport d'analyse comportant les résultats de type détecté / non détecté, pour chaque pathogène recherché.



f. Interprétation

L'analyse automatique des courbes de fusion par le logiciel permet de générer le rapport complet.



RESULTATS



I. Caractéristiques de la population étudiée et épidémiologie des pneumonies nosocomiales en milieu de réanimation :

1. Répartition des pneumonies nosocomiales en réanimation selon le sexe :

Sur 82 prélèvements reçus au laboratoire de microbiologie virologie de l'HMA de Marrakech ayant bénéficié des deux techniques, la biologie moléculaire (FilmArray) et la culture bactérienne :

- 69 échantillons étaient de sexe masculin (81.7%).
- 13 échantillons étaient de sexe féminin (18.3%).
- Le sexe ratio H/F est de 5.3

Nous notons donc, une prédominance masculine dans notre série.

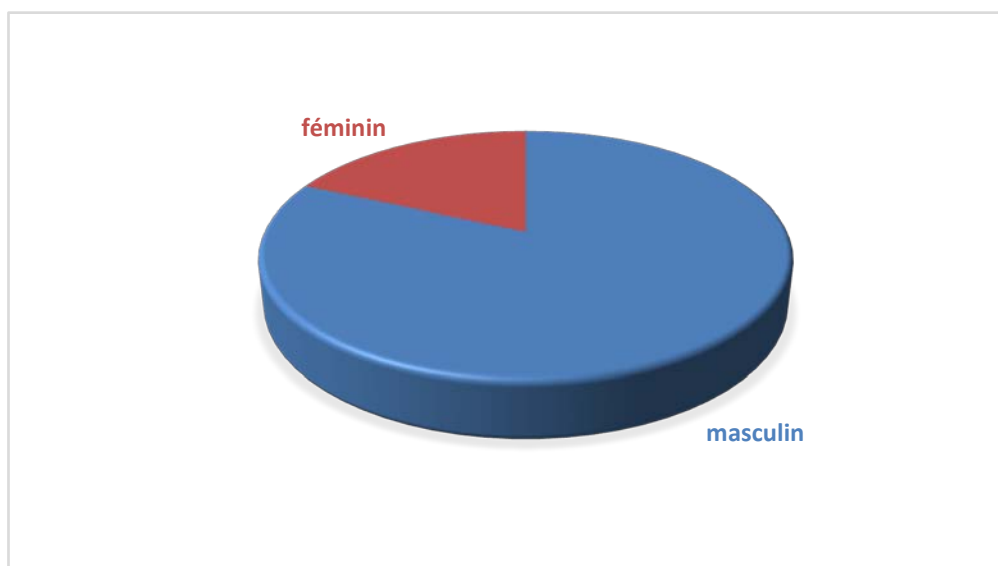


Figure 5: Répartition des pneumonies nosocomiales en réanimation selon le sexe

Tableau II: Répartition des échantillons réalisés selon le sexe durant la période d'étude

Sexe	Nombre de malades
Masculin	69
Féminin	13

II. Evaluation des performances diagnostiques de la technique FilmArray

1. Répartition des pneumonies nosocomiales en réanimation selon le type de prélèvement

Sur les 82 prélèvements reçus, ayant bénéficié des deux techniques FilmArray et culture ,57 étaient des lavages broncho alvéolaires représentant 69% de tous les prélèvements ,15 étaient des prélèvements distaux protégés représentant 19% des prélèvements, tandis que les 10 restants étaient des expectorations.

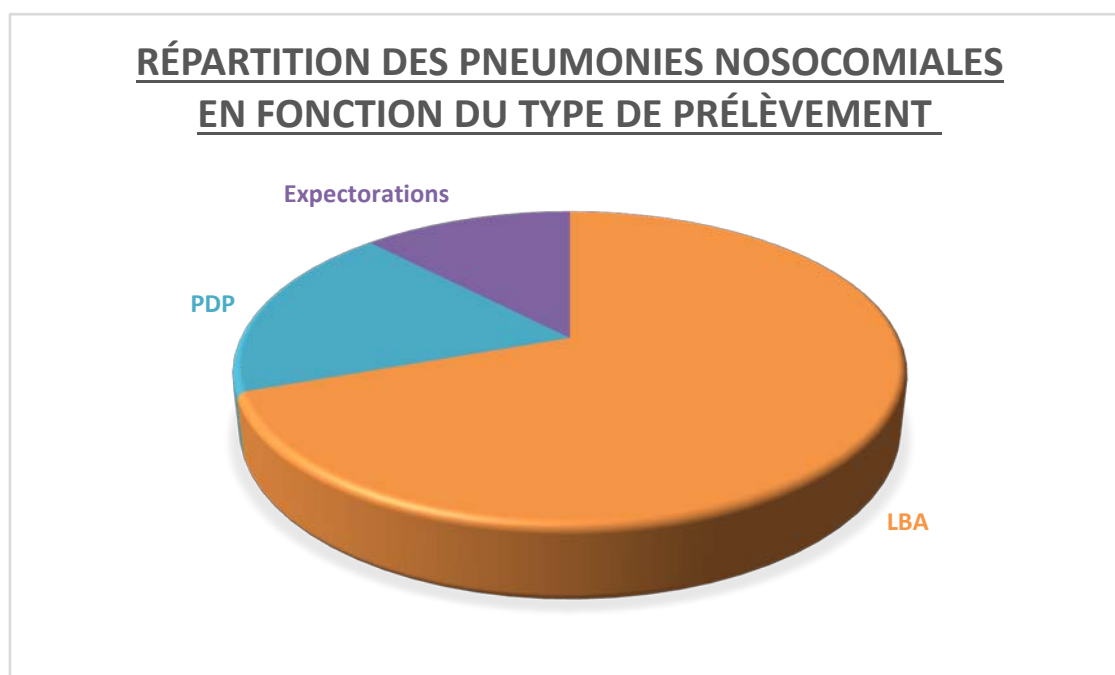


Figure6 :répartition des pneumonies nosocomiales en fonction du type de prélèvement

Tableau III : répartition des pneumonies nosocomiales en fonction du type de prélèvement

Prélèvements	Nombre de patients	Pourcentage
Lavage broncho alvéolaire	57	69%
PDP	15	19%
Expectorations	10	12%

2. Répartition des pneumonies nosocomiales selon le taux de positivité

2.1. Répartition des pneumonies nosocomiales selon la positivité de la culture :

Une culture a été réalisée sur les 82 prélèvements reçus, 55 prélèvements présentaient des germes soit 65,8%, 27 patients avaient des prélèvements stériles (34,2%).

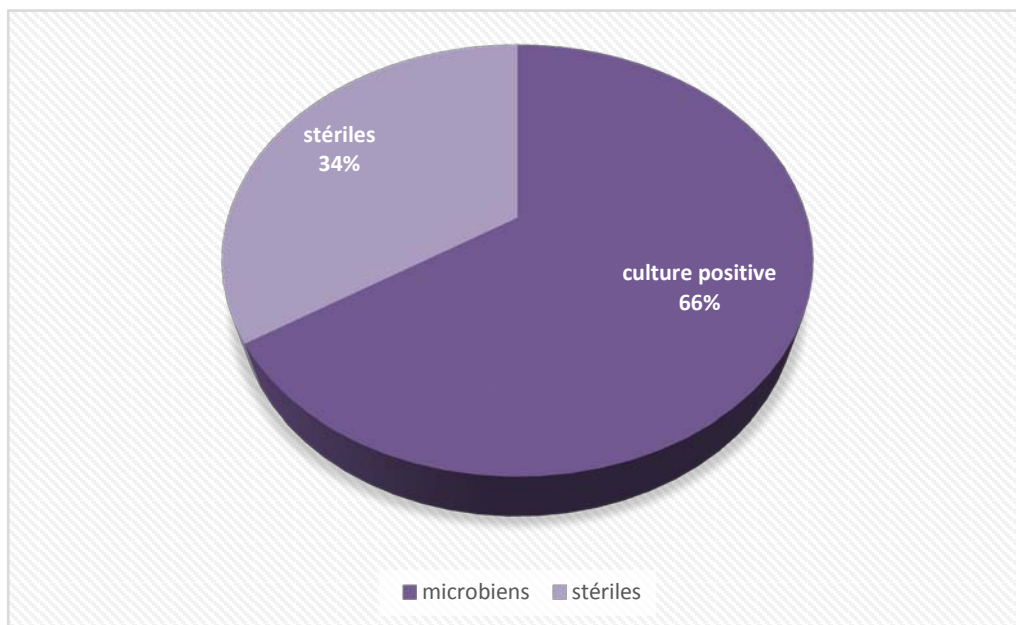


Figure7 : répartition des pneumonies nosocomiales selon la positivité de la culture

2.2. Répartition des pneumonies nosocomiales selon le délai de positivité

Sur les 55 prélèvements présentant des germes isolés sur culture :

- 14 prélèvements étaient positifs au bout de 24h (25%)
- 34 prélèvements étaient positifs au bout de 48h (61,8%)
- 8 prélèvements étaient positifs après 72h

On note donc que la moyenne du délai de positivité de la culture est de 48h qui reste nettement supérieur à celui de la biologie moléculaire (FilmArray) qui est en général deux heures.

Différentes étapes sont réalisées avant de rendre le résultat, il faut prendre en compte :

- Le délai d'envoi du prélèvement par le service
- L'enregistrement de l'analyse
- La phase pré-analytique
- La phase analytique (analyse par le système FilmArray®)
- La phase post-analytique (communication du résultat, validations techniques et biologiques)

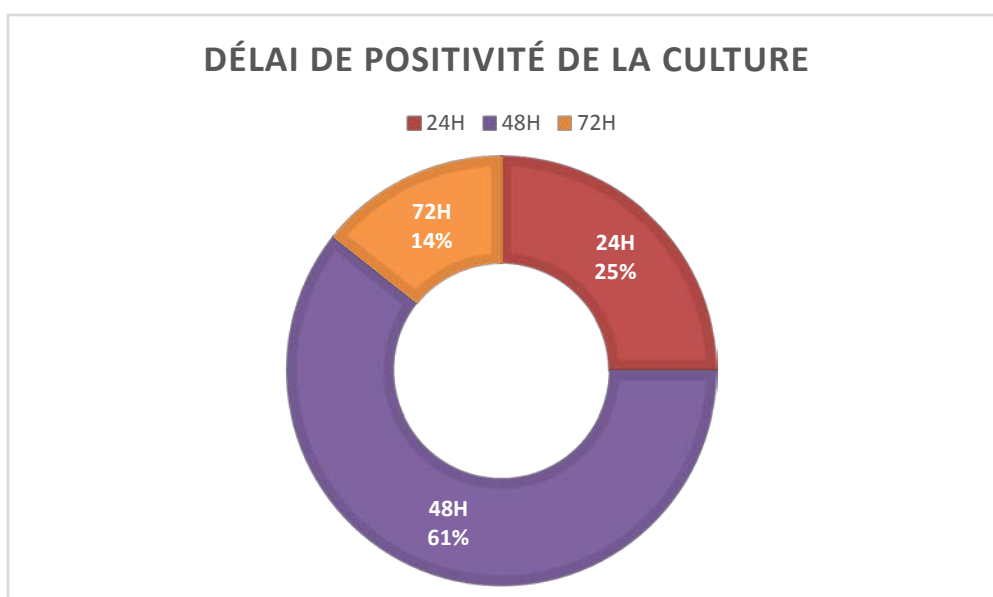


Figure8 : répartition des pneumonies nosocomiales selon le délai de positivité de la culture

Tableau

	Culture	FilmArray
Étape technique	5min	5min
Risque de contamination	Présent	Minime (circuit fermé)
Délai de rendu des résultats	48-72H	2H

2.3. Répartition des pneumonies nosocomiales selon la positivité de la biologie moléculaire

Sur les 82 prélèvements que nous avons reçus, 64 prélèvements présentaient des germes (1 germe ou plus) soit 78%. 18 patients avaient des prélèvements stériles (22%).

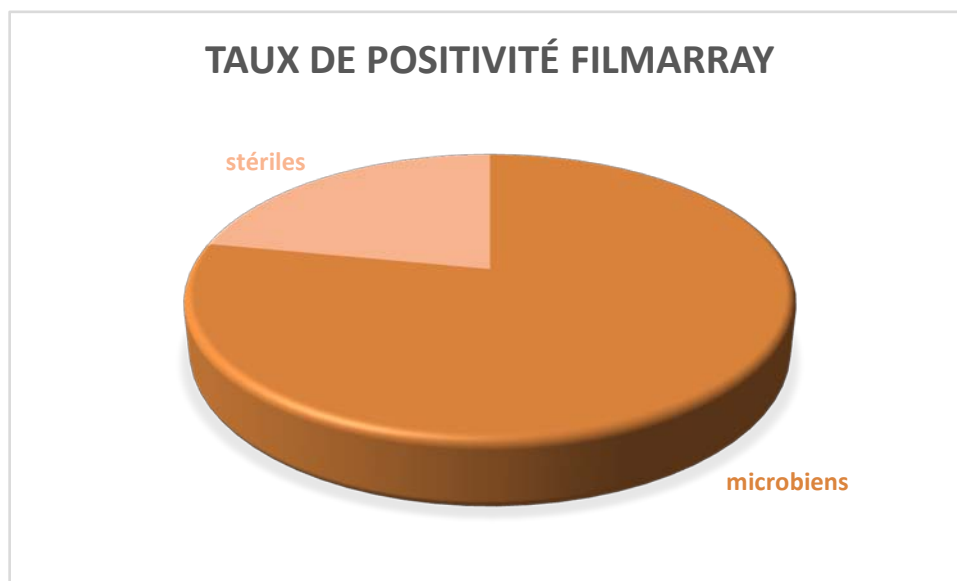


Figure9 : répartition des pneumonies nosocomiales selon la positivité de la biologie moléculaire

TableauIV : germes détectés par méthode

Germes	Nombre détecté par FA	Nombre détecté par culture
Bactéries détectées	64/82	55/82
Acinetobacterbaumaniicomplex	23	18
Klebsiellapneumoniae	19	15
Staphylococcus aureus	18	14
Staphylococcus hemolyticus	0	1
Enterobactercloacae	5	1
Escherichia coli	3	1
Haemophilusinfluenzae	7	0
Klebsiellaoxytoca	3	1
Moraxellacatarrhalis	2	0
Pseudomonas aeruginosa	9	5
Proteusspp	2	2
Serratiamarcescens	5	0
Streptococcus pneumoniae	3	0
Bactéries atypiques détectées		
Legionellapneumophila	4	0
Virus détectés		
Human rhinovirus/enterovirus	4	0
Influenza A	1	0
Parainfluenza virus	1	0

2.4. Répartition des pneumonies nosocomiales selon la détection des co-infections :

Sur les 64 prélèvements présentant des germes :

- 40 prélèvements étaient mono bactériens
- 24 prélèvements présentaient deux germes ou plus

Le taux de détection de co-infections par FilmArray est de 37,5%, un taux non négligeable comparé aux prélèvements ayant bénéficié de la culture qui étaient tous mono-bactériens.

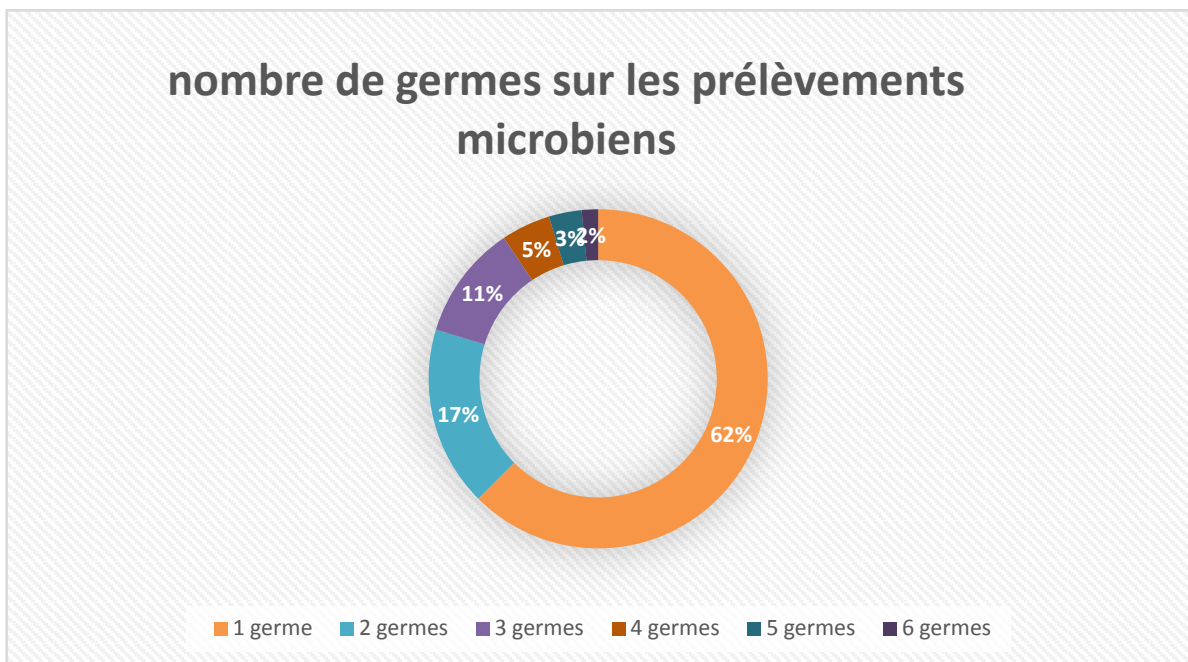


Figure10 :Nombre de germes détectés

2.5. sensibilité et spécificité du FilmArray

Tableau V: tableau de contingence FilmArray vs Culture

		Goldstandard(culture)		
		Positive	Négative	
Test diagnostique (FilmArray)	Positive	60	4	VPP : 93,7%
	Négative	2	16	VPN : 88,8%
		Sensibilité : 96,7%	Spécificité :80%	Coefficient Kappa :0,77=> accord fort

- Sensibilité : 96,7%
- Spécificité : 80%
- Valeur prédictive positive : 93,7%
- Valeur prédictive négative : 88,8%

3. Répartition des pneumonies nosocomiales en réanimation selon le type de germes

3.1. répartition des pneumonies nosocomiales selon le type de germes isolé par culture :

– Sur les 55 germes isolés sur culture, les germes les plus retrouvés sont l'Acinetobacter calcoaceticus–baumanii complex, Klebsiella pneumoniae et le Staphylococcus aureus et dont les taux sont respectivement 33%, 27,2% et 25,4% .

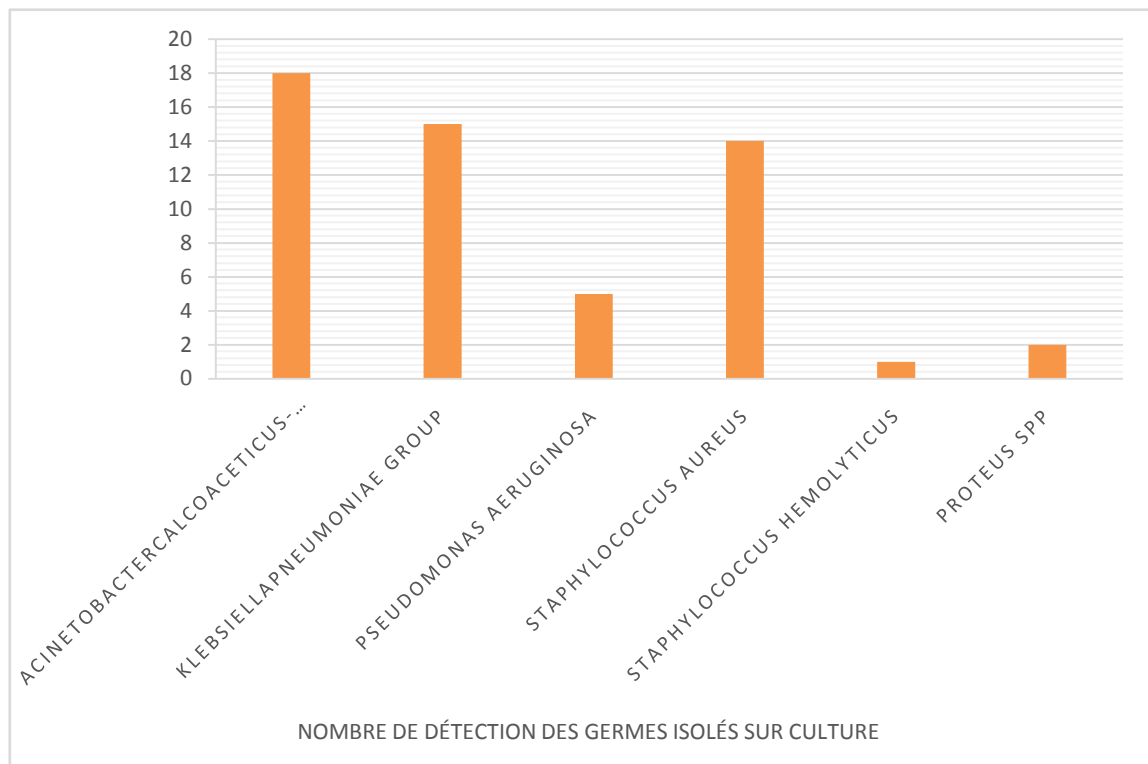


Figure 11 : répartition des pneumonies nosocomiales selon le germe isolé par la culture

3.2. répartition des pneumonies nosocomiales selon le type de germes détecté par biologie moléculaire

– Sur 64 prélèvements présentant des germes par technique de biologie moléculaire, les germes les plus retrouvés sont l'Acinetobacter baumannii, Klebsiella pneumoniae et le Staphylococcus aureus dont les taux sont respectivement 35,9%, 29,6% et 28%.

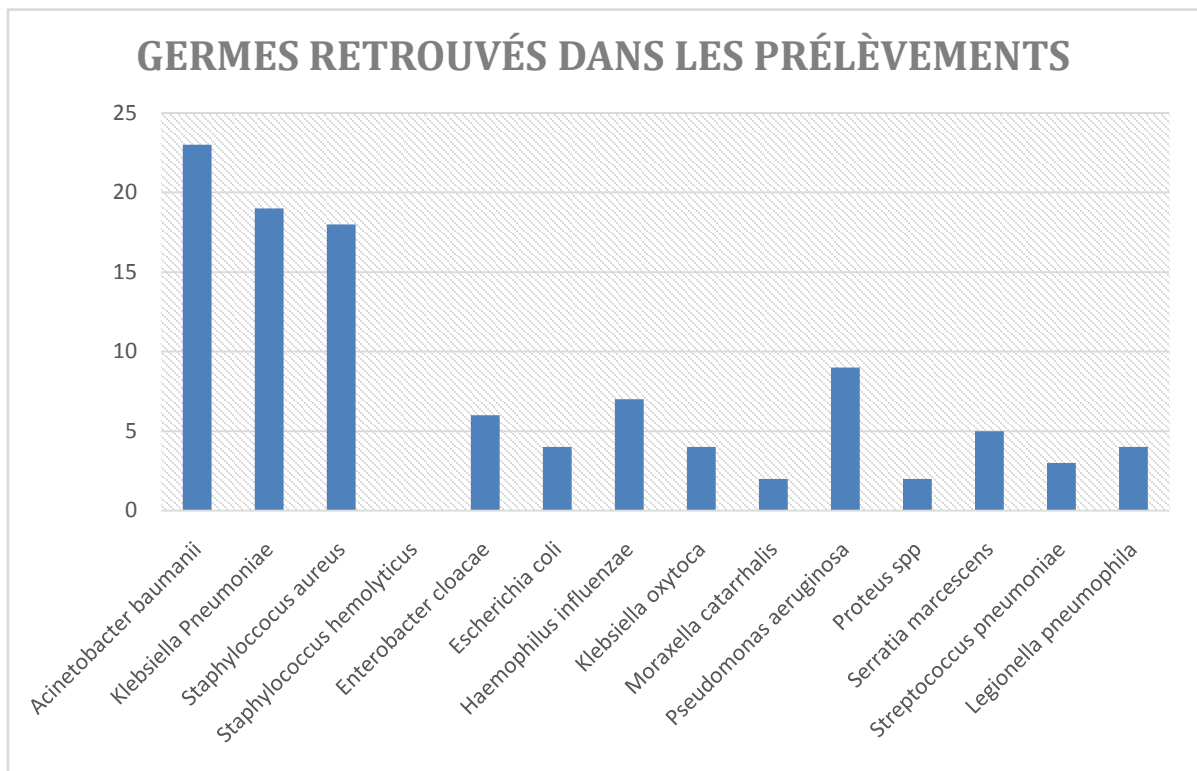


Figure 12 : nombre de détection des bactéries par FilmArray

**TableauVI : concordance entre culture et biologie moléculaire
pour la détection d'agents pathogènes**

Agent pathogène	C+ FA+	C+ FA-	FA+ C-	FA- C-	Sensibilité	Spécificité
<u>Bactéries gram Positif</u>						
Staphylococcus aureus	10	1	8	63	91%	88,7%
Staphylococcus hemolyticus	0	1	0	81	-	-
Streptococcus pneumoniae	1	0	2	79	100%	97,5%
<u>Enterobactéries</u>						
Escherichia coli	1	0	3	78	100%	96,2%
Enterobactercloacae	1	0	5	76	100%	93,8%
Klebsiellapneumoniae	12	3	6	61	80%	91%
Klebsiellaoxytoca	1	0	3	78	100%	96,2%
Moraxellacatarrhalis	1	0	1	80	100%	99%
Serratiamarcescens	1	0	4	79	100%	95,1%
ProteusSpp	2	0	0	80	100%	100%
<u>Bactéries non fermentaires</u>						
Acinetobacterbaumani	16	0	3	63	100%	95,4%
Pseudomonas aeruginosa	4	0	2	76	100%	97,4%
<u>Autres bactéries gram négatif</u>						
Haemophilusinfluenzae	0	0	7	75	-	91%
<u>Bactéries atypiques</u>						
Legionellapneumophila	0	0	4	78	-	95%
<u>Virus</u>						
HRV/enterovirus	0	4	0	78	-	100%
Influenza A	0	1	0	81	-	100%
Parainfluenza virus	0	1	0	80	-	100%

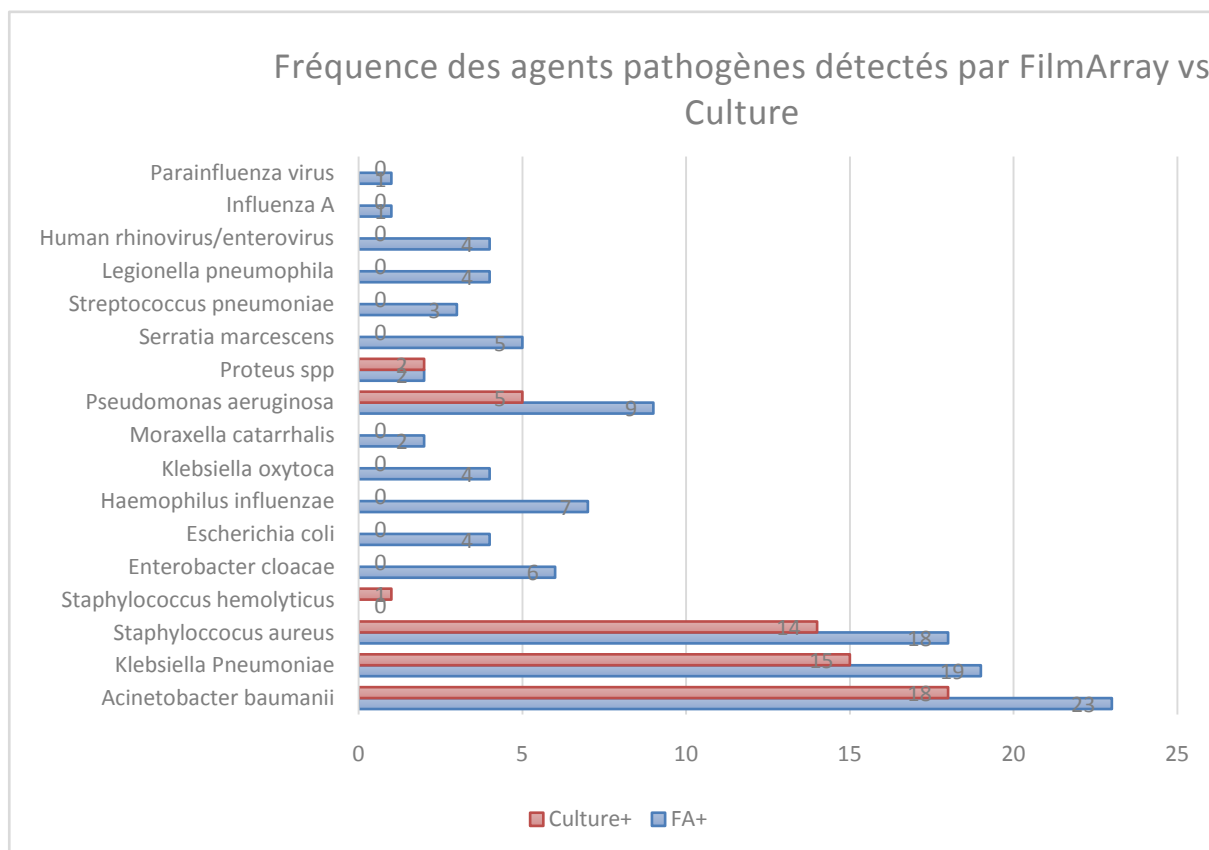


Figure13 : nombre d'agents pathogènes détectés par méthodes

4. Répartition des pneumonies nosocomiales en réanimation selon le profil de résistance

- Sur 55 prélèvements ayant bénéficié de la culture et présentant des germes, 50 présentaient des résistances à l'antibiogramme.
- Sur 64 prélèvements présentant des germes détectés par biologie moléculaire, on note la présence de gènes de résistance dans 73,4% des prélèvements et leur absence dans 26,6% des prélèvements.
- Les gènes de résistance les plus fréquemment retrouvés sont NDM dans 21 prélèvements, suivi du gène CTX-M dans 14 prélèvements et Mec A/C and MREJ du staphylococcus résistant à la méthicilline dans 7 prélèvements.
- VIM et KPC n'ont pas été détectés

Tableau VII : nombre de gènes de résistance retrouvés

Gènes de résistance	Nombre
NDM	21
CTX-M	14
MecA/C and MREJ	7
OXA-48like	4



DISCUSSION

I. Epidémiologie des infections respiratoires nosocomiales en milieu de réanimation

1. Définition des Infections respiratoires nosocomiales

La pneumonie nosocomiale est une infection aiguë des voies respiratoires basses qui, par définition, est acquise au moins 48 heures après l'admission à l'hôpital et qui n'était ni présente ni en incubation au moment de l'admission. (1)

Le terme PN est un terme large qui couvre les pneumopathies acquises en milieu hospitalier, les pneumopathies acquises sous ventilation mécanique et les pneumopathies liées aux soins qui se développent chez les patients ayant une exposition à l'environnement de soins de santé, tels que les patients en dialyse et les patients recevant des soins infirmiers à domicile. Elle a été incluse en 2005 par l'American Thoracic Society / Infectious Diseases Society of America (ATS / IDSA) dans le cadre de PN, parce que ces patients peuvent héberger des germes multi résistants.(2)

C'est un problème de santé publique qui concerne tous les services hospitaliers et en particulier la réanimation lorsqu'elles se développent chez le malade ventilé. L'infection nosocomiale est préoccupante par sa fréquence, son incidence éventuelle sur le pronostic de l'affection initiale et par son coût.

Elles sont alors de diagnostic difficile, les agents responsables sont souvent résistants et leur pronostic est grave (1)

Il convient de noter que le terme « pneumonie nosocomiale » a été banni des recommandations de bonnes pratiques en 2016.

On distingue alors deux définitions :

- La PAH (hospital acquired pneumonia) est une infection des voies respiratoires basses vérifiée par la présence d'un nouvel infiltrat pulmonaire à l'imagerie, qui se développe après 48 heures de l'admission chez les patients non intubés.(3)

- La PAV (ventilator associated pneumonia) infection nosocomiale la plus fréquente et la plus mortelle en réanimation, est une pneumonie qui se développe après 48 heures d'intubation endo-trachéale. Il est important de noter qu'au moment de l'apparition de la PAV, les patients peuvent être déjà extubés.(3)

L'apparition d'une PAH ou d'une PAV par rapport à l'admission à l'hôpital distingue une pneumonie précoce (< 5 jours) d'une pneumonie tardive (\geq 5 jours) selon les recommandations de l'ATS/IDSA (4)

- L'apparition tardive de PN implique la plupart des agents pathogènes multi résistants, en raison de la pression sélective des antibiotiques, la transmission croisée, et la colonisation à partir de sources environnementales des USI.

La pneumopathie nosocomiale est confirmée microbiologiquement par l'identification définitive d'un micro-organisme isolé à partir d'échantillons respiratoires ou d'hémocultures.(2)

2. Rappels anatomophysiologiques des voies respiratoires et physiopathologie

2.1. Anatomie des voies respiratoires

Les voies respiratoires sont des canalisations permettant le passage de l'air depuis le nez et la bouche vers les poumons et les alvéoles pulmonaires au cours de la ventilation. Elles sont classées en :

- Voies respiratoires supérieures ou voies aériennes supérieures (VAS) qui sont extra thoraciques (Nez et fosses nasales, bouche, Pharynx (carrefour aérodigestif) et Larynx (la gorge).
- Voies respiratoires inférieures ou voies aériennes inférieures (VAI) qui sont intra thoraciques et réparties en une zone de conduction et de transition (trachée, bronches) et une zone respiratoire (Conduits et sac alvéolaires, alvéoles pulmonaires.

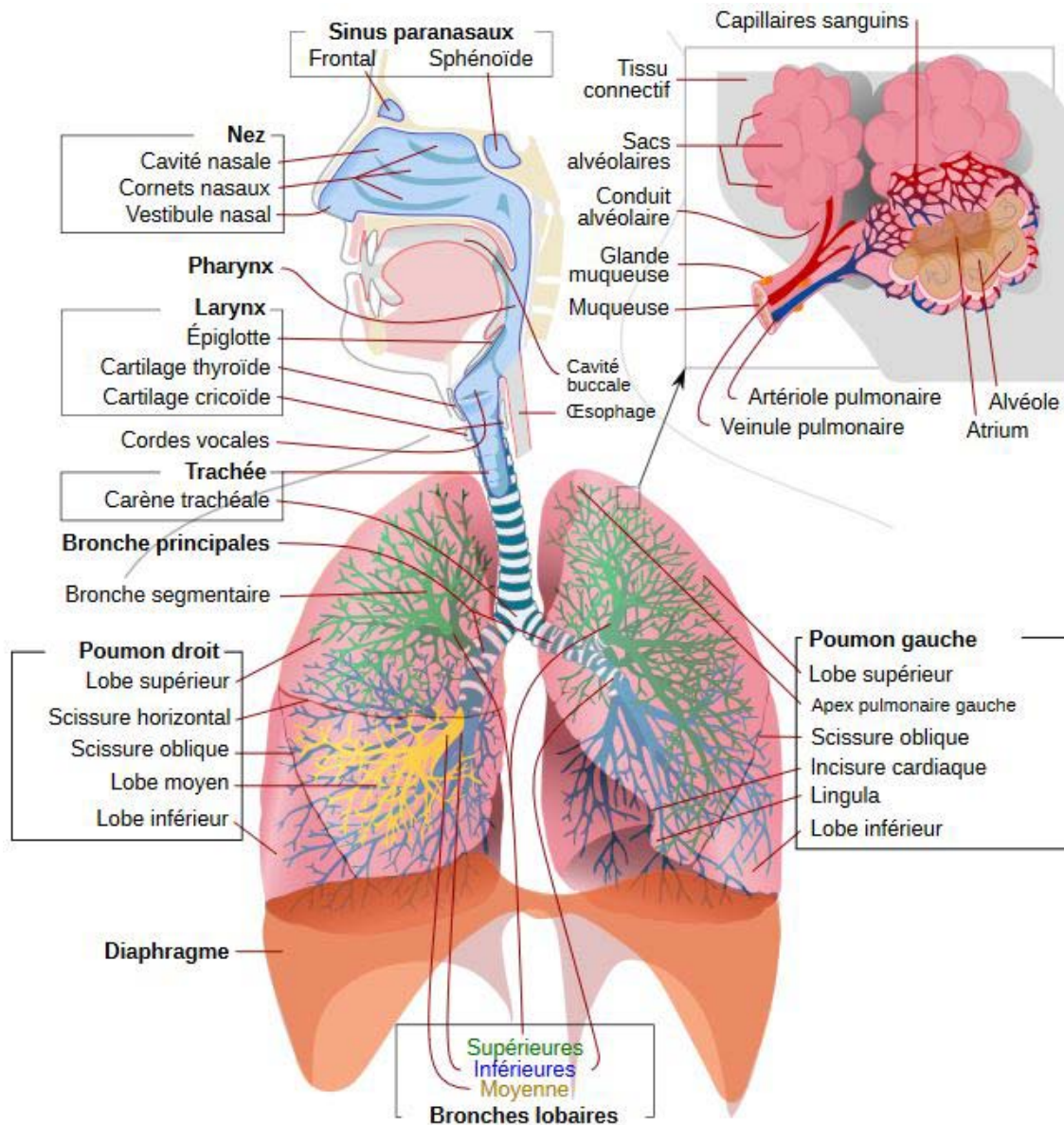


Figure 14: anatomie des voies respiratoires

2.2. Mécanismes de défense

Les mécanismes de défense des voies aériennes sont nombreux, leur intrication garantit un résultat optimal. On décrit généralement deux lignes de défense.

La première est constituée par le revêtement épithélial et l'appareil muco-ciliaire des voies aériennes, Les pathogènes et les particules qui sont piégés sur la couche de mucus sont expectorés par la toux ou acheminés vers la bouche et avalés.

La seconde par le système immunitaire des muqueuses, représenté par les macrophages alvéolaires, un type de globules blancs, qui se trouvent à la surface des alvéoles.(5)

2.3. physiopathologie :

Les pneumopathies résultent généralement de la pénétration et du développement de microorganismes dans les voies aériennes inférieures qui, après une phase de colonisation, vont conduire à une infection du parenchyme pulmonaire par dépassement des capacités de défenses mécaniques (clairance muco-ciliaire), cellulaires (polynucléaires, macrophages, lymphocytes, cytokines) et/ou humorales (anticorps et complément) de l'hôte.

La première étape est donc la modification de la flore oro-pharyngée : celle-ci est précoce chez le malade hospitalisé et favorisée par la gravité de la maladie sous-jacente, la longueur du séjour hospitalier, le mauvais état nutritionnel, l'utilisation d'antibiotiques et la présence d'une sonde d'intubation.

La seconde étape est la colonisation de l'arbre trachéo-bronchique à partir de la flore oro-pharyngée. Chez le malade ventilé, le mécanisme principal à l'origine des PNAVM repose sur une contamination dite endogène, par passage de sécrétions oro-pharyngées autour, puis au-delà du ballonnet de la sonde d'intubation, qui n'est jamais parfaitement étanche. En outre, la présence d'une sonde d'intubation altère la muqueuse respiratoire, ralentit la vitesse de la clairance muco-ciliaire et gêne la toux.

Cette parésie muco-ciliaire, est à l'origine de la colonisation trachéale proximale, lit de la colonisation puis de l'infection en distal.

Une contamination exogène est également possible, essentiellement par transmission croisée lors des aspirations trachéales, et sera directement liée à un défaut de respect des règles d'hygiène.

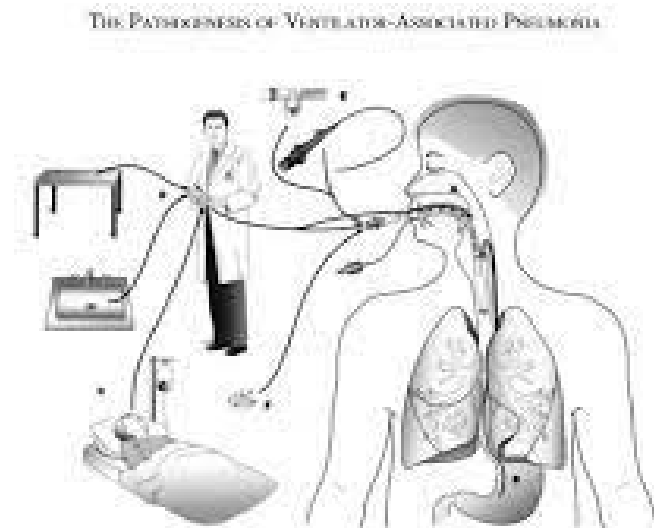


Figure15 : Voies de colonisation / infection chez les patients sous VM(6)

3. Aspect clinique

Sur le plan diagnostique, les objectifs de toute approche diagnostique au cours des PN sont, d'une part d'affirmer l'existence d'une pneumopathie (en éliminant une simple colonisation trachéo-bronchique ou toute infection d'origine extra pulmonaire) et d'autre part d'identifier l'agent pathogène en cause (diagnostic microbiologique).

En l'absence de Gold standard, y compris histologique, deux stratégies s'opposent actuellement (7,8) La stratégie clinique s'appuie sur l'analyse de critères cliniques pour définir l'existence d'une pneumopathie ; et la stratégie microbiologique reposant sur les résultats microbiologiques (examen direct et cultures semi-quantitatives) d'un prélèvement non invasif (aspiration endo-trachéale ou expectoration) pour identifier l'agent causal.

Pour définir la pneumopathie ou sa suspicion, les critères cliniques associent classiquement : l'existence et la persistance d'un nouvel infiltrat pulmonaire, ou l'aggravation d'un infiltrat préexistant sur la radiographie, à des signes d'infection (fièvre, expectoration purulente, hyperleucocytose ou leucopénie, détérioration gazométrique).

Individuellement, ces signes apparaissent d'un intérêt limité car peu spécifiques chez des patients hospitalisés depuis plusieurs jours en milieu de réanimation.(9)

La présence d'un infiltrat pulmonaire peut également relever d'une cause autre qu'une pneumopathie et son interprétation radiologique peut s'avérer très variable entre différents observateurs (10)

Selon les recommandations de l'ATS, 2 des 3 critères suivants sont nécessaires au diagnostic de PNAVM :

- Température sup à 38,5 C ou inf. à 36,5 C aspiration trachéale purulente
- hyperleucocytose GB sup à 10 000/ mm³ ou leucopénie GB inf. à 1500/mm³ ; associés à une culture positive des sécrétions respiratoires et à l'apparition ou à la progression radiologique d'un infiltrat. Cela représenterait néanmoins le critère clinique le plus performant pour débiter une antibiothérapie empirique (9,11)
- Pugin et al a développé au début des années 1990 le Clinical Pulmonary Infection Score (CPIS) combinant 6 variables affectées chacune d'un coefficient de pondération variant de 0 à 2 (tableau 1). Un score CPIS supérieur à 6 était prédictif de l'existence d'une PNAVM avec une sensibilité de 93% et une spécificité de 100% (12,13)

L'objectif est d'optimiser le diagnostic de PNAVM et de réserver l'introduction d'un traitement antibiotique aux seuls patients ayant un score supérieur à 6

Tableau VIII : Clinical Pulmonary Infection Score modifié

Température							
≥36,5	°C	et	≤38,4	°C	0 point		
≥38,5	°C	et	≤38,9	°C	1 point		
≤36 °C ou ≥39 °C					2 points		
Aspirations					trachéales		
Rares					0 point		
Abondantes					1 point		
Sécrétions abondantes et purulentes					2 points		
Leucocytose							
≥	4	000/mm ³	ou	≤	11	000/mm ³	0 point
<	4	000/mm ³	ou	>	11	000/mm ³	1 point
< 4 000/mm ³ ou > 11 000/mm ³ + formes immatures ≥ 500/mm ³					2 points		
PaO₂/FiO₂							
>	240		ou	SDRA		0 point	
≤ 240 sans SDRA					2 points		
Radiographie					thoracique		
Absence					d'infiltrat	0point	
Infiltrat					diffus	1 point	
Infiltrat localisé						2 points	
Cultures	semi-quantitatives	des	sécrétions	trachéales			
(0,	1,	2,	ou	3+)			
Négative					0 point		
Positive					1 point		
Coloration Gram positive au même pathogène					2 points		

4. Agents pathogènes

Une grande variété des germes provenant de l'environnement de soins ou de la flore du patient lui-même peut causer la PN (14)

Les données du programme de surveillance de SENTRY, une étude multinationale, a indiqué que les 6 premiers agents étiologiques souvent en cause (Staphylococcus aureus 28 %, Pseudomonas aeruginosa 21,8%, Klebsiella spp 9,8%, Escherichia coli 6,9%, Acinetobacter spp 6,8%, et Enterobacter spp 6,3%) ont été à l'origine de 80% de toutes les infections.(15)

4.1. Bacilles à Gram négatif

Les BGN sont les premiers germes pathogènes responsables d'infections nosocomiales (16,17) Au sein de ce groupe, on distingue les BGN fermentants comme les entérobactéries et les non fermentants.

Le *Pseudomonas aeruginosa* et l'*Acinetobacter baumannii* sont les principaux représentants de cette seconde catégorie (18)

a. *Acinetobacter baumannii*

Le genre *Acinetobacter* est caractérisé par des BGN non fermentants, aérobies strictes, immobiles, de morphologie principalement en diplobacilles ou diplocoques, catalase-positif et oxydase-négatif. Leur culture est facile sur les milieux ordinaires entre 20°C et 30°C (19) L'*Acinetobacter* est considéré comme une bactérie ubiquiste, ayant classiquement l'environnement comme habitat (sol, eau). Chez l'homme, on le trouve au sein de la flore cutanée, dans le tube digestif, le pharynx et plus particulièrement des localisations humides (aine, zone axillaire, zones interdigitales). Il se trouve également dans l'environnement du patient : sur les cathéters, les appareils de VM et d'aérosol thérapie, les robinets, les cuvettes, etc. (17,20)

b. *Pseudomonas aeruginosa*

Le genre *Pseudomonas* est fait de bacilles mobiles, aérobies stricts, cultivant facilement sur les milieux usuels. *P. aeruginosa* (bacille pyocyanique) est une espèce bactérienne à Gram négatif, ubiquitaire, saprophyte très répandue dans l'eau et les milieux humides. Elle peut aussi coloniser l'homme. La transmission peut se faire à partir des sources environnementales, soit directement, soit par l'intermédiaire de matériels lavés ou rincés à l'eau du réseau. Elle peut être aussi interhumaine à partir d'un sujet colonisé (15)

L'univers de la réanimation et des soins intensifs est un milieu particulièrement propice à la colonisation par *P. aeruginosa*. Le transfert manuporté par le personnel et le transfert entre patients sont les modes de contamination usuels.

P. aeruginosa est la bactérie à Gram négatif la plus impliquée dans les PN(21). Ainsi le pourcentage des patients colonisés à l'admission varie de 15 à 17% et après 14 jours d'hospitalisation, près de 60% des patients sont colonisés.(21)

Le *Pseudomonas* est responsable d'environ 20% des broncho-pneumopathies chez les patients sous VM et la mortalité liée aux PNAVM à *Pseudomonas* est plus importante (60 à 70%) que celle liée aux autres espèces bactériennes (20 à 50%) (14)

c. Entérobactéries

Les entérobactéries forment une importante famille de BGN. Elles ont en commun leur localisation préférentielle au niveau du tube digestif de l'homme et des animaux d'où leur appellation entérobactérie. On les trouve aussi dans la cavité buccale, au niveau des voies aériennes supérieures et sur les organes génitaux. Elles peuvent persister en dehors des organismes vivants, on les rencontre dans le sol, l'eau et dans certaines denrées alimentaires. La famille des entérobactéries comprend actuellement une centaine d'espèces.

Les entérobactéries d'intérêt médical appartiennent à 12 genres : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, et *Yersinia* (22)

4.2. *Staphylococcus aureus*

Les staphylocoques sont des CGP qui tendent à se regrouper en amas. La bactérie est très répandue chez l'homme et environ un tiers des sujets sont des porteurs sains qui hébergent la bactérie au niveau des muqueuses (principalement les fosses nasales) et des zones cutanées humides (23)

S. aureus commence à poser un véritable problème pour la santé humaine au niveau mondial.

Trois raisons expliquent les nouvelles préoccupations : l'apparition de pandémies à SARM en milieu hospitalier, l'apparition de souches à sensibilité diminuée aux glycopeptides et l'émergence de souches de SARM en médecine communautaire. Cependant, la prévalence des

SARM dans le monde est très hétérogène et variable : elle varie avec les pays et les régions, avec la période d'étude, les services et les conditions de vie des populations concernées.(23)

La mortalité des PNAVM à *S. aureus* reste importante malgré une prise en charge appropriée, et varie entre 30 et 70 %, la mortalité étant plus importante chez les patients bactériémiques(24,25)

5. Diagnostic microbiologique

Il se base avant tout sur l'analyse microbiologique (examen direct et cultures quantitatives) d'un prélèvement respiratoire non invasif ou invasif (PDP ou lavage broncho-alvéolaire (LBA)) réalisé ou non sous fibroscopie bronchique. Plusieurs outils diagnostiques microbiologiques de performance variable sont disponibles. Le choix de l'outil dépend du plateau technique, de l'expérience de l'équipe et du coût. En aucun cas, la réalisation des prélèvements respiratoires ne doit retarder l'initiation de l'antibiothérapie probabiliste, en particulier en cas d'instabilité hémodynamique et/ou de SDRA

5.1. Modes de prélèvement :

a. Examen cytobactériologique des crachats :

L'examen s'effectue le matin au lever, et peut être réalisé de plusieurs façons :

- soit par expectoration
- soit par aspiration grâce à un tube gastrique des expectorations avalées pendant la nuit
- soit par fibroscopie bronchique: les sécrétions sont alors recueillies grâce à un tube aspirateur souple introduit dans le fibroscope

Le plus souvent, le prélèvement s'effectue par expectoration. Il faut d'abord se laver les dents et se rincer la bouche avec une solution antiseptique diluée, afin de limiter la contamination des crachats par les bactéries présentes dans la bouche.(26)

Les crachats obtenus après des efforts de toux ou après des mouvements de kinésithérapie respiratoire sont recueillis dans un récipient stérile.

Le prélèvement doit être acheminé rapidement au laboratoire

Lors du passage dans la cavité buccale, le prélèvement peut être contaminé par de la flore oro-pharyngée. Il est donc indispensable que ce type de prélèvement soit examiné par une coloration de Gram afin de juger de sa qualité avant ensemencement.

La qualité de l'expectoration sera considérée comme acceptable s'il y a présence de beaucoup de leucocytes (expectoration purulente) et de peu de cellules épithéliales (d'origine buccale). La présence d'une flore polymicrobienne est également un signe d'une mauvaise qualité d'expectoration sauf lors de pneumonie d'aspiration. La qualité de l'expectoration peut être améliorée, par exemple via une induction par physiothérapie.

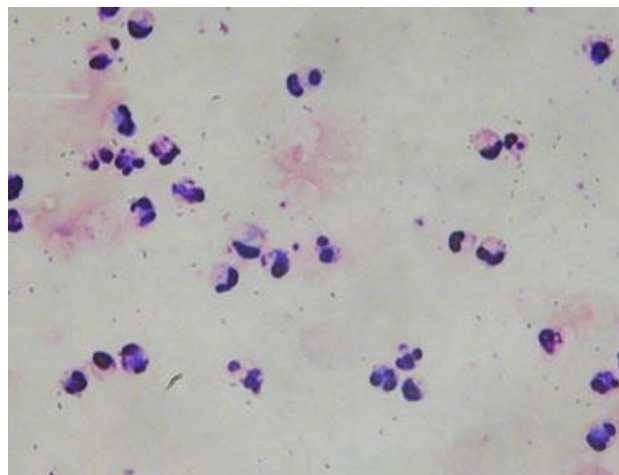





Figure16 : examen cytobactériologique des crachats

Selon les normes de Bartlett, Murray et Washington, un échantillon est accepté si il contient moins de 10 cellules épithéliales et plus de 25 polynucléaires par champ.(27)

Classe	Cellules par champ (moyenne sur 10 champs) au grossissement X100 (objectif X10)		Indication de mise en culture (selon Bartlett)
	Cellules épithéliales pharyngées	Granulocytes neutrophiles	
1	>25	<10	NON
2	>25	10-25	NON
3	>25	>25	NON
?	10-25	<10	NON
?	10-25	10-25	NON
4	10-25	>25	OUI
?	<10	<10	NON
?	<10	10-25	OUI
5	<10	>25	OUI

Règles à retenir et décisions d'ensemencement de milieux de culture :

-  Les crachats présentant plus de 25 cellules épithéliales pharyngées par champ au grossissement X100 sont fortement contaminés par la salive et ne doivent pas être mis en culture
-  Les crachats présentant moins de 10 granulocytes par champ au grossissement X100 présentent une faible probabilité de provenir d'un foyer infectieux ou alors le sujet est immunodéprimé
-  Ces crachats peuvent être mis en culture

b. Aspiration endo-trachéale :

L'aspiration endo-trachéale est une méthode alternative souvent réalisée chez des patients sous ventilation invasive en réanimation. Cependant, comme pour l'ECBC, le risque de contamination par la flore salivaire est encore élevé.

En plus, on retrouve souvent une contamination par la flore commensale qui colonise les sondes d'intubation. De ce fait, une évaluation de la qualité du prélèvement doit être réalisée avant l'ensemencement. (27)

c. lavage broncho-alvéolaire :

Le LBA réalisé sous fibroscopie reste la méthode de référence au quotidien, à condition d'être réalisé en pratique dans les règles de l'art. Il consiste à instiller du sérum physiologique stérile au travers du chenal interne du fibroscope lequel est positionné dans une bronche de 3e ou 4e génération où ainsi seules les bronchioles distales et les alvéoles sont échantillonnées. Il faut insister sur la nécessité d'un volume de lavage suffisant (environ 120 ml) pour obtenir un

réel échantillonnage alvéolaire, et sur l'obligation de jeter le premier recueil pour ne pas contaminer le lavage alvéolaire avec l'équivalent d'une AET.

Le LBA fournit, en plus des données microbiologiques disponibles dès l'examen direct, des informations sur l'état du poumon profond. Les limites de la faisabilité de la technique sont sa tolérance chez les patients hypoxémiques, pouvant limiter la quantité de liquide administré et la qualité de l'examen. La culture quantitative du LBA est associée à une sensibilité de l'ordre de 75 % et une spécificité de l'ordre de 85 %.(27)

d. Prélèvement distal protégé :

Constitué d'un cathéter de prélèvement par aspiration ou par brossage, protégé à l'intérieur d'un cathéter externe, il peut s'utiliser à l'aveugle ou lors d'une fibroscopie. Il présente deux grands intérêts : la possibilité de prélever en distal, par opposition à l'AET, donc de faire la part des choses, au moins en théorie, entre les germes colonisant l'arbre trachéo-bronchique proximal et ceux réellement responsables de la pneumopathie suspectée ; il n'est pas nécessaire de recourir à une fibroscopie, ce qui en fait une technique accessible au personnel paramédical(27)

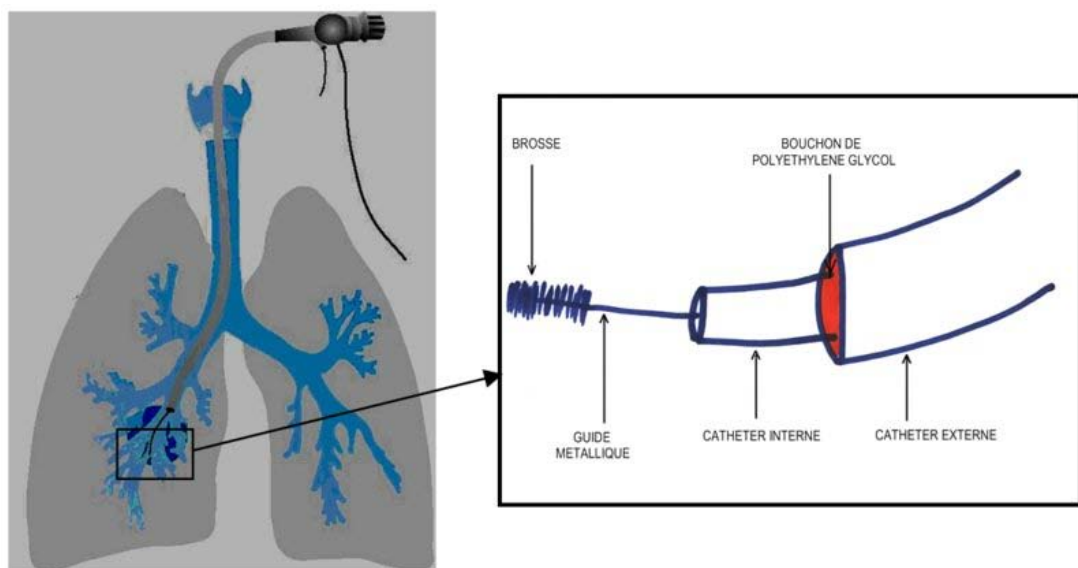


Figure 17: Dispositif de Wimberley(27)

5.2. diagnostic microbiologique

a. Examen direct :

L'examen direct à la recherche des bactéries, telles que le pneumocoque et l'*Haemophilus influenzae*, se pratique sur des prélèvements provenant du tractus respiratoire inférieur et permet non seulement d'évaluer la qualité de l'échantillon, mais également de donner une réponse rapide préliminaire au clinicien. La sensibilité de cet examen est cependant faible, puisque l'on ne détecte qu'environ une bactérie par champ microscopique au grossissement de 1000 x lorsque 10⁵ bactéries par ml d'échantillon sont présentes. De plus, l'examen direct par coloration de Gram ne permet qu'une identification présomptive de l'agent étiologique.

Ainsi, par exemple, si l'on retrouve des diplocoques Gram positif avec un halo témoin de la présence d'une capsule, on suspectera qu'il s'agit d'un pneumocoque, mais le diagnostic définitif devra être apporté par d'autres techniques, dont la culture.(28)

b. Culture :

Pour la culture bactérienne, le matériel est placé sur un milieu nutritif spécial (boîte de Petri) dans un incubateur à une température de 37 degrés Celsius (température corporelle). Il s'agit de placer des bactéries à la surface ou à l'intérieur d'une gélose. Les géloses contiennent des éléments nécessaires à la croissance bactérienne, des produits inhibiteurs qui les rendent sélectifs et des indicateurs (pH et colorants) qui les rendent différentiels. On place les cultures microbiennes à une température favorable (en général 35 °C) pendant minimum une journée (24 heures) dans une atmosphère, soit aérobie, anaérobie ou microaérophilie (O₂).

Plusieurs jours sont généralement nécessaires afin qu'une culture bactérienne ait atteint une croissance suffisante pour être bien visible. De nombreux germes peuvent déjà être reconnus au microscope ou par la croissance et l'apparence (couleur) typiques de la colonie. D'autres sont quant à eux identifiés par des méthodes spéciales d'analyse biochimique.

Pour l'antibiogramme, de petits disques de feutre imbibés de divers antibiotiques sont placés sur la lame sur laquelle la culture bactérienne se développe. Cela permet de déterminer quel antibiotique inhibe le mieux la croissance bactérienne, puisque la zone autour du disque de feutre n'est pas colonisée. Plus la zone est importante, plus l'antibiotique en question est efficace pour inhiber les bactéries.



Figure18 : milieux de culture

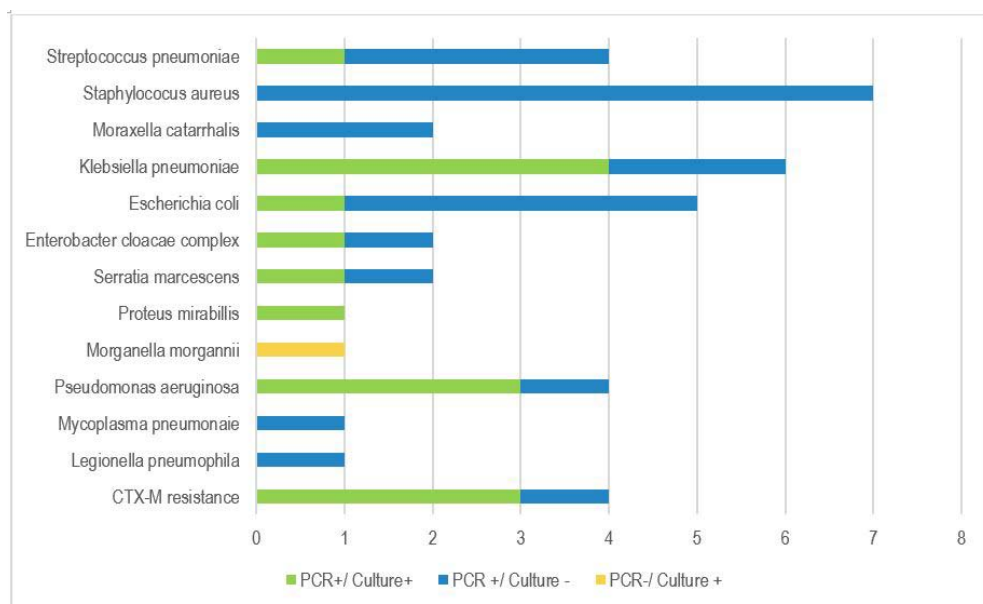


Figure19 : Concordance entre le BioFire® FilmArray® PNplus Panel (PCR) et la culture par bactérie détectée. Morganellamorgannii n'est pas incluse dans le panel BioFire.(29)

c. Biologie moléculaire :

Le diagnostic moléculaire fait référence à des méthodes de détection et d'analyse du génome d'un organisme. Les premières méthodes d'analyse de l'ADN (comme le Southern blot) existaient dans les années 1970, mais le développement de la PCR, vers la fin des années quatre-vingt, a démocratisé leur application.

Peu de temps après, la possibilité d'amplifier l'ADN et l'ARN fut utilisée pour la détection des agents pathogènes. 30 ans plus tard, la PCR est devenue un pilier des laboratoires de microbiologies(30)

c.1. Principe de la PCR

La PCR (polymerase chain reaction) est fondée sur une réaction enzymatique in vitro permettant d'amplifier plusieurs millions de fois des séquences d'ADN génomique ou d'ADN complémentaire (ADNc, généré par transcription inverse à partir d'une molécule d'ARN). Elle nécessite de connaître les séquences des extrémités de la région à amplifier, et de les utiliser pour élaborer des amorces nucléotidiques. Après fixation des amorces sur leurs séquences cibles par complémentarité, la région d'ADN cible est copiée par incorporation de désoxyribonucléotides libres grâce à une enzyme ADN polymérase thermostable. Des variations cycliques de températures vont permettre successivement la dénaturation de l'ADN, l'hybridation des amorces et leur extension par l'ADN polymérase. La succession des cycles permet une augmentation quasi exponentielle de la quantité d'ADN. La réaction, réalisée de façon automatique grâce à un thermocycleur, permet de générer en moins d'une heure des millions de copies de la séquence cible à partir de très faibles concentrations initiales d'ADN (de l'ordre de 10–15 mol/l(31))

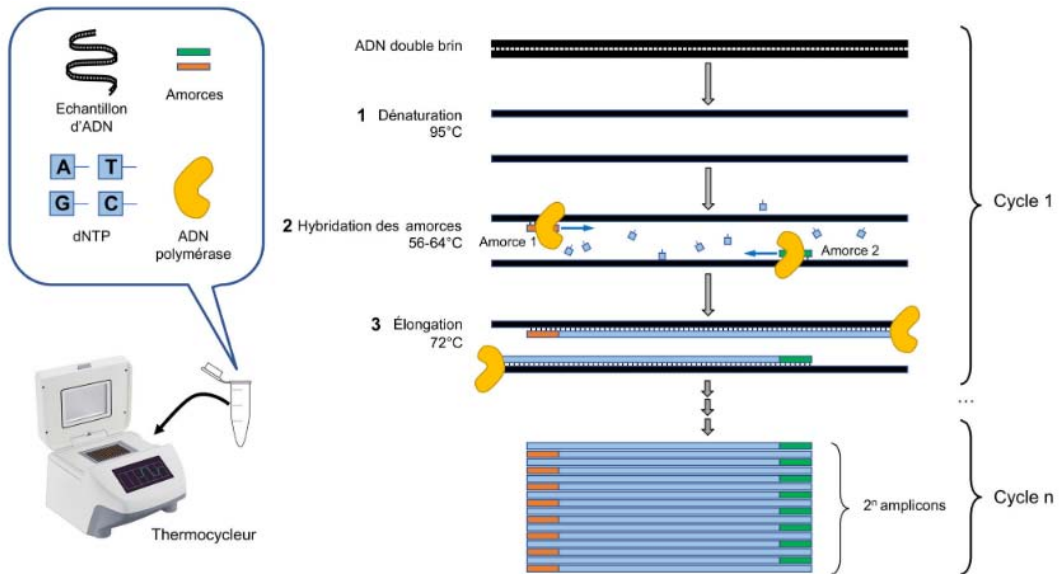


Figure20 : principes de la PCR

L'analyse d'échantillons par la biologie moléculaire passe par trois étapes:

1. Extraction de l'ADN et / ou l'ARN de l'échantillon d'origine
2. Amplification par PCR de la séquence ADN / ARN cible du pathogène
3. Détection des produits de l'amplification.(28)

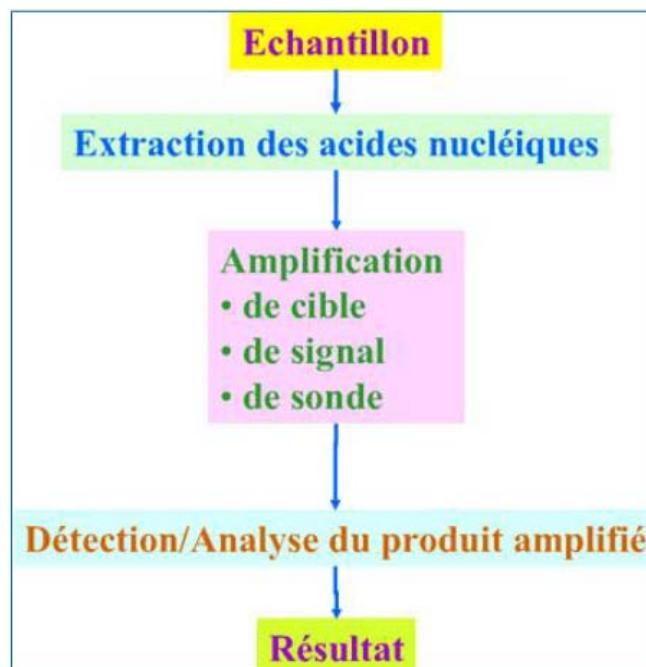


Figure21:Principales étapes d'analyse d'un échantillon en biologie moléculaire

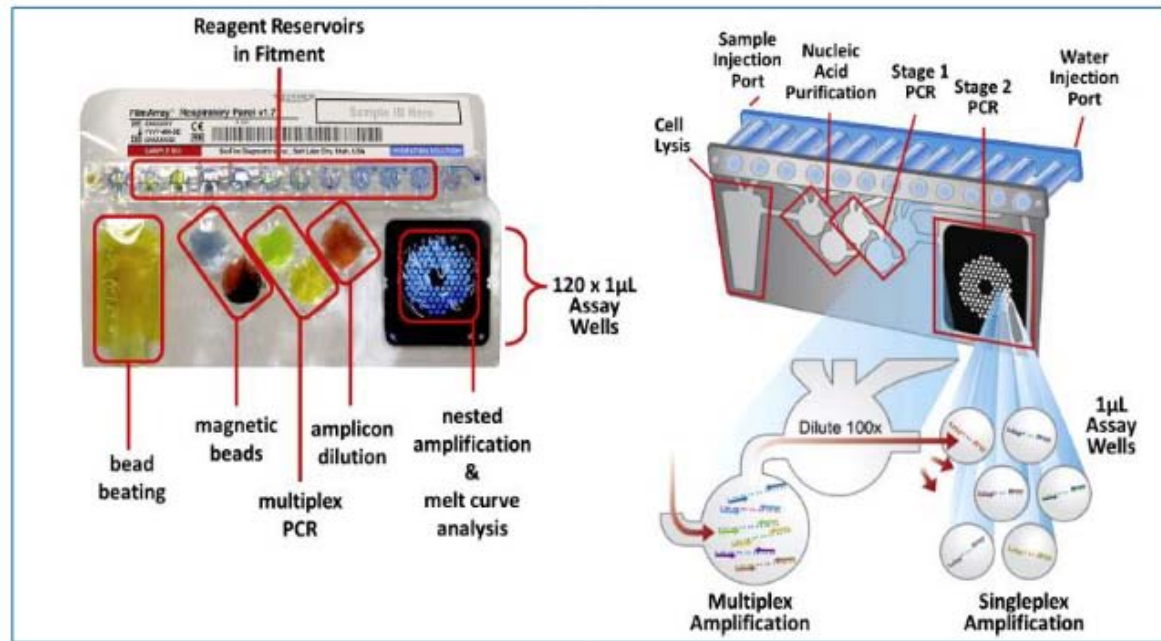


Figure 22: Image photographique (à gauche) et schéma (à droite) montrant les principales caractéristiques d'un système d'analyse FilmArray

Récemment, deux panels complémentaires sont commercialisés :

✓ BIOFIRE® FILMARRAY® Respiratory Panel 2.1 plus

Le panel BIOFIRE® Respiratoire 2.1 plus teste 19 virus y compris le SRAS-CoV-2 et 4 bactéries responsables d'infections des voies respiratoires avec une sensibilité et une spécificité globales de 97,4% et 99,4% respectivement. Il fonctionne sur les systèmes BIOFIRE® FILMARRAY® 2.0 et Torch, un système PCR multiplex certifié FDA, intègre la préparation, l'amplification, la détection et l'analyse des échantillons dans un système simple qui ne nécessite que 2 minutes de temps de travail, pour une durée totale d'environ une heure.

Traitement des échantillons :

- Type d'échantillon : Prélèvement nasopharyngé
- Volume de l'échantillon : 300 µL
- Durée d'exécution : Environ une heure

Tableau9: liste des agents pathogènes testés par BIOFIRE® FILMARRAY®

Respiratory Panel 2.1 plus

Viruses		Bacteria
Adenovirus	Influenza A	<i>Bordetella pertussis</i>
Coronavirus 229E	Influenza A/H1	<i>Bordetella parapertussis</i>
Coronavirus HKU1	Influenza A/H1-2009	<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>
Coronavirus OC43	Influenza A/H3	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
Coronavirus NL63	Influenza B	
Middle East Respiratory Syndrome CoronaVirus (Mers-CoV)	Parainfluenza 1	
Severe Acute Respiratory Syndrome CoronaVirus 2 (SARS-CoV-2)	Parainfluenza 2	
Human Metapneumovirus	Parainfluenza 3	
Human Rhinovirus/Enterovirus	Parainfluenza 4	
	RSV	

✓ BIOFIRE® FILMARRAY® Pneumonia plus Panel

Le BIOFIRE® FILMARRAY® Pneumonie plus Panel teste 18 bactéries (11 Gram négatives, 4 Gram positives et 3 atypiques), 7 marqueurs de résistance aux antibiotiques et 9 virus qui causent la pneumonie et d'autres infections des voies respiratoires inférieures (Tableau 3).

Il offre une sensibilité et une spécificité globales de 96,2 % et 98,3 % respectivement pour les échantillons de type broncho alvéolaire (BAL) et de 96,3 % et 97,2 % respectivement pour les échantillons d'expectorations

Traitement des échantillons :

- Type d'échantillon : Crachats induits, expectorés, Aspirations endo-trachéales, LBA, mini LBA.
- Volume de l'échantillon : 200 microL recueillis à l'aide d'un écouvillon.
- Durée d'exécution : Environ une heure

Tableau10: liste des agents pathogènes testés par BIOFIRE® FILMARRAY®

Pneumonia plus Panel	
Bacteria (semi quantitative)	Antibiotic Resistance Genes
<i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii complex</i>	ESBL
<i>Enterobacter cloacae</i>	CTX-M
<i>Escherichia coli</i>	
<i>Haemophilus influenzae</i>	Carbapenemases
<i>Klebsiella aerogenes</i>	KPC
<i>Klebsiella oxytoca</i>	NDM
<i>Klebsiella pneumoniae group</i>	Oxa48-like
<i>Moraxella catarrhalis</i>	VIM
<i>Proteus spp.</i>	IMP
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
<i>Serratia marcescens</i>	Methicilin Resistance
<i>Staphylococcus aureus</i>	mecA/mecC and MREJ
<i>Streptococcus agalactiae</i>	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	
<i>Streptococcus pyogenes</i>	
Atypical Bacteria (Qualitative)	Viruses
<i>Legionella pneumophila</i>	Influenza A
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Influenza B
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	Adenovirus
	Coronavirus
	Parainfluenza virus
	Respiratory Syncytial virus
	Human Rhinovirus/Enterovirus
	Human Metapneumovirus
	Middle East Respiratory Syndrome
	Coronavirus (MERS-CoV)*
	* MERS-CoV will only be available on the Pneumonia Panel <i>plus</i>

Les techniques de biologie moléculaire évoluent rapidement. Leurs principes et indications varient selon les applications. Bien que ces nombreuses techniques soient différentes, elles présentent toutes des avantages et des inconvénients communs.

❖ **Avantages de la biologie moléculaire :**

En plus leur grande rapidité par rapport à la culture, les méthodes basées sur la PCR ont également une spécificité et une sensibilité très élevées par rapport aux méthodes traditionnelles.

En outre, tant que des séquences génétiques de référence sont disponibles, le développement de tests moléculaires pour des pathogènes spécifiques est relativement facile. Ce qui permet d'élaborer des tests moléculaires en quelques semaines et de réagir rapidement à l'émergence de nouveaux agents pathogènes.(32)

❖ **Inconvénients de la biologie moléculaire :**

La haute spécificité des méthodes moléculaires est également leur faiblesse. Par conséquent, les nouvelles variantes de virus ou de bactéries peuvent ne pas être, ou au moins pas bien, détectées.

Le laboratoire est chargé de vérifier régulièrement les caractéristiques de ses tests, de les comparer aux données génétiques disponibles et de les adapter aux nouvelles variantes. Enfin, la biologie moléculaire nécessite un ensemble d'appareils et de kits coûteux, un personnel spécialisé et entraîné, et des locaux spécifiques

6. Prise en charge thérapeutique

6.1. Antibiothérapie probabiliste

En cas de suspicion d'une PN, les échantillons pour études microbiologiques devraient être recueillis et analysés le plus tôt possible. Pendant ce temps, le début du traitement empirique ne devrait pas être retardé en raison de la nécessité d'effectuer d'autres procédures spéciales(33)

L'ATS a publié des recommandations pour le diagnostic et le traitement des patients adultes atteints de PN dans lesquelles il est considéré que les deux principaux facteurs qui déterminent le type d'antibiotiques à administrer sont la durée d'hospitalisation, classifiant la pneumonie en précoce ou tardive, et la présence de facteurs de risque d'infection par des BMR(tableau 4).

Chez les patients atteints d'une PNP et sans facteurs de risque des BMR, le traitement doit couvrir les agents pathogènes qui se trouvent généralement en communauté et avec une faible probabilité de multi résistances (tableau 5).

Au contraire, les patients avec la PNT ou avec présence de facteurs de risque de BMR devraient recevoir une bithérapie empirique initiale à large spectre (Tableau 6).

L'objectif de l'utilisation d'une bithérapie est de trouver la synergie entre les différents groupes d'antibiotiques, l'élargissement du spectre pour assurer un traitement approprié contre la majorité des germes en cause dans ce groupe de patients, et d'éviter le développement de résistances.(14)

Tableau XI : Facteurs de risque d'infection à BMR(34)

Facteurs de risque des bactéries multirésistantes
<p>1. Une antibiothérapie dans les 90 jours précédents</p> <p>2. Une hospitalisation de 5 jours ou plus pendant les 90 derniers jours</p> <p>3. Un taux élevé de résistance aux antibiotiques dans la communauté ou l'unité hospitalière</p> <p>4. Présence de facteurs de risque de PN</p> <ul style="list-style-type: none"> - Hospitalisation pour 2 jours ou plus dans les 90 derniers jours - Séjour dans un centre de soin de longue durée - Perfusion à domicile (y compris des antibiotiques) - Hémodialyse chronique dans les 30 derniers jours - Soins à domicile des plaies - Membre de la famille atteint d'une infection à BMR <p>5. Immunodépression ou traitement immunosuppresseur</p>

Tableau XII : PNP sans facteurs de risque d'infection à BMR(34)

Germes probables	Recommandations de traitement empirique
<p>-Streptococcus pneumoniae</p> <p>-Haemophilus influenzae</p> <p>-SASM</p> <p>-Entérobactéries</p> <p>EscherichiacoliKlebsiellapneumoniae</p> <p>Enterobacterspp.</p> <p>Proteusspp.</p> <p>Serratiamarcescens</p>	<p>Ceftriaxone</p> <p>ou</p> <p>Lévofoxacine</p>

TableauXIII: PNT avec risque d'infection à BMR(35)

Germes probables	Associations thérapeutiques
Germes du 1er groupe + Pseudomonas aeruginosa Klebsiellapneumoniae (BLSE+) Acinetobacterspp SARM Legionellapneumophila Autres BGN non fermentant	Céphalosporine Antipseudomonale (Ceftazidime or céfépime) Ou Carbapénème (imipenème, meropénème) Ou Bêtalactamine/inhibiteur de bêtalactamase (Pipéracilline/tazobactam) + Fluoroquinolones (Ciprofloxacine, lévofloxacine) Ou Aminoglycoside (Amikacine)

6.2. Désescalade

Une stratégie utilisée actuellement dans la pratique clinique qui est également l'objet de plusieurs études est la soi-disant désescalade. Cela consiste en une réduction du spectre ou le nombre d'antibiotiques en fonction des résultats des cultures microbiologiques. Dans diverses études, cette stratégie a obtenu une diminution de l'utilisation des antibiotiques, sans augmentation significative du taux de récurrences ou mortalité.(36)

6.3. Durée du traitement

Classiquement, la durée de traitement chez le patient immunocompétent est plafonnée à huit jours, dans le cas d'un traitement d'emblée adapté et d'une évolution favorable, et à l'exception des PNAVM à BGN non fermentants (P.aeruginosa tout particulièrement), qui justifieraient d'un traitement prolongé à 15 jours, afin de diminuer le taux de rechute.(37) Cette durée est un compromis entre succès, clinique et bactériologique, et prévention de l'émergence de résistance. Toutefois, il est tentant de rechercher des marqueurs permettant d'ajuster de façon plus individuelle cette règle générale (37)

6.4. Prévention

En dehors du terrain et de la gravité de l'affection sous-jacente, plusieurs facteurs de risque de PN, en particulier de PNAVM, ont été identifiés. Ces facteurs peuvent être distingués en facteurs modifiables ou non modifiables pour conduire à des mesures générales ou spécifiques plus ou moins efficaces dans l'espoir d'améliorer la prise en charge, la prévention et le coût des PN au quotidien.

Les stratégies globales de prévention des infections nosocomiales constituent un des éléments majeurs de l'amélioration de la qualité des soins pour réduire la part évitable de ces infections.

Le respect du ratio réglementaire des effectifs soignants est un pré requis fondamental à la mise en place d'une telle démarche.

Les stratégies globales combinent plusieurs interventions : surveillance épidémiologique, programme d'éducation multidisciplinaire, mesures générales (hygiène hospitalière, politique d'utilisation des anti-infectieux, réduction du risque d'exposition) et d'autres mesures spécifiques.

Intervention	Recommandation
Ventilation mécanique	
Intubation orale/ SNG orale	Oui *
Pression du ballonnet maintenue > 20 cmH ₂ O	Oui
Système clos d'aspiration endotrachéale	Oui
Aspiration sous-glottique continue	À considérer
Échangeurs de chaleur et d'humidité (filtres)	Discuté
Protocoles de sevrage de la VM/de la sédation	Oui
Kinésithérapie respiratoire	Non
Trachéotomie précoce	Non
Ventilation non-invasive	Oui (patients sélectionnés)
Recherche d'une sinusite	Non
Expérience et performance des équipes	Oui
Position-Nutrition	
Position demi-assise (30-45°)	Oui
Décubitus ventral	Non
Lit basculant	À considérer
Nutrition entérale > parentérale	Oui
Stratégies pharmacologiques	
DDS (ATB orale)	Non
ATB systémique prophylactique	Non
DDS + ATB systémique	Non
ATB intra-trachéale	Non
Antiseptiques oraux (chlorhexidine)	Non
Sucralfate	Non
Restriction transfusionnelle	À considérer (chirurgie cardiaque)
Contrôle glycémique (insulinothérapie intensive)	À considérer
<small>PNAVm : pneumopathie nosocomiale acquise sous ventilation mécanique; SNG : sonde nasogastrique; * pour prévenir les sinusites nosocomiales mais pas de lien direct de causalité formellement prouvé entre PNAVm et intubation ou SNG par voie nasale; VM : ventilation mécanique; DDS : décontamination digestive sélective; ATB : antibiothérapie.</small>	

Figure 23: Principales mesures spécifiques de prévention des PNAVm(4)

II. Discussion des résultats de notre étude :

Bien que les cultures bactériennes et les tests de sensibilité soient essentiels au cours des pneumopathies nosocomiales, la technique FILMARRAY®Pneumonia Plus représente un outil de diagnostic précoce et d'épargne d'antibiothérapie exhaustive dans les services de réanimation.

À travers cette étude, nous avons évalué l'impact qu'apporte la recherche simultanée d'agents pathogènes par la technologie FilmArray dans le diagnostic étiologique précoce des pneumopathies nosocomiales au sein du Laboratoire de l'Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech par rapport aux méthodes microbiologiques conventionnelles particulièrement la culture bactérienne.

Ce travail a permis alors une estimation du gain potentiel que procure cette innovation dans l'ensemble du diagnostic précoce et la prise en charge des infections respiratoires nosocomiales en milieu de réanimation. Il a permis également une approche d'évaluation de l'une des nouvelles techniques disponibles en microbiologie et biologie moléculaire.

1. L'apport de la biologie moléculaire dans le diagnostic précoce des infections respiratoires nosocomiales

1.1. La biologie moléculaire et infections respiratoires nosocomiales

Les pneumopathies nosocomiales par leur prévalence, leur gravité et les dépenses de santé qu'elles entraînent représentent un enjeu majeur de santé publique. Elles sont plus fréquentes chez les patients hospitalisés en réanimation ou unités de soins intensives.

Le diagnostic des pneumopathies nosocomiales repose le plus souvent sur des arguments cliniques, radiologiques et microbiologiques. Concernant leur prise en charge, l'antibiothérapie probabiliste est initiée et fondée sur des probabilités étiologiques découlant de la connaissance de l'épidémiologie, des arguments cliniques et radiologiques et des facteurs de risque propres au patient.

Des tests diagnostiques conventionnels sont disponibles mais la sensibilité, la spécificité et le délai de réponse de ces tests ne sont pas réellement satisfaisant d'où le besoin d'un développement de tests de diagnostic rapide.

Les panels respiratoires de ces plateformes comprennent les agents pathogènes les plus fréquemment impliqués dans les pneumopathies nosocomiales. Cette approche par panel

présente de nombreux intérêts. Elle permet, à partir d'un seul et unique prélèvement respiratoire, la détection et l'identification simultanée de nombreux pathogènes avec des niveaux de spécificité élevés et un rendu des résultats dans des délais très courts.

Plusieurs études ont évalué le test FilmArray pour la détection et l'identification d'agents pathogènes responsables de pneumopathies nosocomiales chez les patients hospitalisés en réanimation. Une étude rétrospective menée par Yoo et al. a évalué 100 échantillons de prélèvements respiratoires, la sensibilité du panel pneumoplus variait de 98.5% à 100% et sa spécificité variait de 83.3% à 99% pour tous les organismes.(38)

Aussi l'étude de Buchan et al et Maataoui et al, réalisée respectivement sur 259 et 67 prélèvements, ont montré une sensibilité à 96.2% et une spécificité à 98.3%.(39,40)

TableauXIII : détection d'agents pathogènes par méthode

Performance of the FilmArray Pneumonia Panel *plus* compared with the culture method.

Pathogen	Culture (+)FA- Pneumo (+)	Culture (+)FA- Pneumo (-)	Culture (-)FA- Pneumo (+)	Culture (-)FA- Pneumo (-)	Performance, % (95% CI)	
					Sensitivity	Specificity
Gram-positive bacteria						
<i>Staphylococcus aureus</i>	16	0	14	69	100 (75.9–100)	83.3 (73.0–90.1)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1	0	4	94	100 (5.5–100)	95.9 (89.3–98.7)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1	0	3	95	100 (5.5–100)	96.9 (90.1–99.2)
Enterobacterales						
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	2	0	7	90	100 (19.8–100)	92.8 (85.2–96.8)
<i>Escherichia coli</i>	3	0	8	88	100 (31.0–100)	91.7 (83.8–96.1)
<i>Klebsiella aerogenes</i>	1	1	3	94	50.0 (2.7–97.3)	96.9 (90.6–99.2)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	0	1	98	–	99.0 (93.7–99.9)
<i>Klebsiella pneumonia</i> group	5	0	12	82	100 (46.3–100)	87.2 (78.4–92.9)
<i>Moraxella catarrhalis</i>	0	0	1	98	–	99.0 (93.7–99.9)
<i>Proteus</i> spp.	0	0	1	98	–	99.0 (93.7–99.9)
<i>Serratia marcescens</i>	0	0	3	96	–	97.0 (90.8–99.2)
Non-fermenter						
<i>Acinetobacter calcoaceticus–baumannii</i> complex	21	0	9	69	100 (80.8–100)	88.5 (78.7–94.3)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19	0	9	71	100 (79.1–100)	88.8 (79.2–94.4)
Other gram-negative bacteria						
<i>Haemophilus influenzae</i>	0	0	5	94	–	94.9 (88.1–98.1)
Total	64	1	8	26	98.5 (90.6–99.9)	76.5 (58.4–88.6)

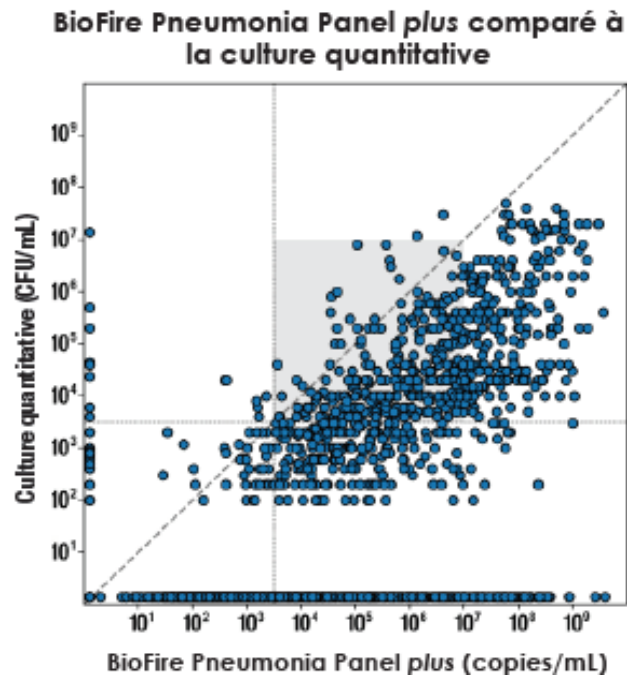


Figure24 : comparaison de la détection bactérienne culture vs biologie moléculaire(41)

La croissance des bactéries en culture peut être entravée par la réponse immunitaire, le traitement antibiotique préalable, les conditions de transport des échantillons et de nombreux autres facteurs. Ces facteurs interfèrent de façon moins significative avec les méthodes moléculaires.(41)

Test conventionnel

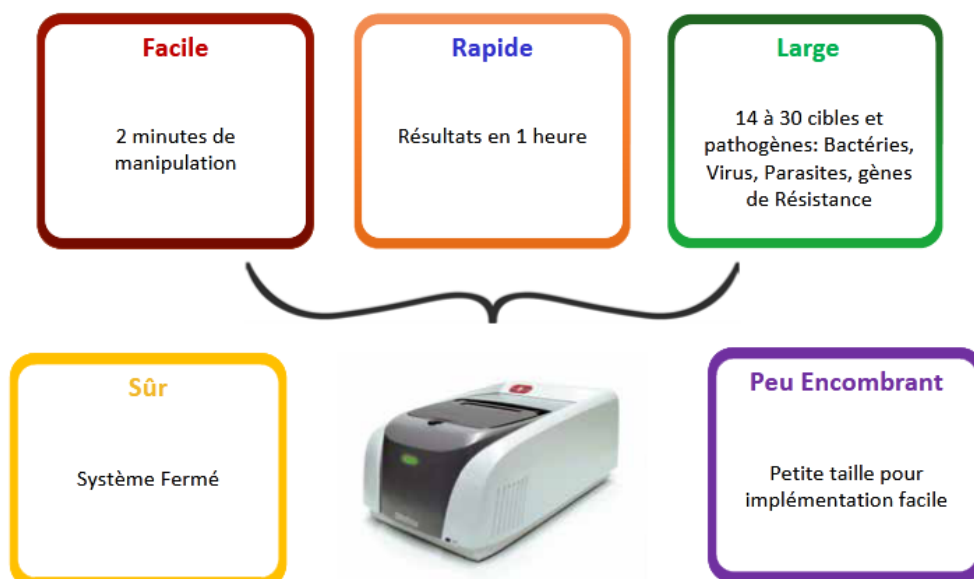


Figure

Analyse syndromique



Figure



2. Epidémiologie des infections respiratoires nosocomiales en réanimation

2.1. Sexe

Dans notre étude, nous avons recensé 18,3 % de patients de sexe féminin et 81,7 % de sexe masculin soit un Sex-ratio H/F= 5,3, soit une nette prédominance masculine ce qui concorde parfaitement avec les données de la littérature :

Selon l'étude de Merzougui et al menée en 2019, on constate que 71% des patients sont de sexe masculin vs 29 % de sexe féminin soit un sex-ratio de 2.48(42)

De même pour l'étude de Rzepecki menée en 2019 et al 74.6 % de sexe masculin vs 25.4 % de sexe féminin soit un ratio de 2.93 (43), dans l'étude réalisée par Camelena et al 73% de sexe masculin vs 27 % de sexe féminin soit un ratio de 2.8(44) , de même pour l'étude Ioannis et al (2021) montrant un taux de 61.4% de sexe masculin contre 38.6% de sexe féminin avec un ratio de 1.48.(45)

Par contre dans l'étude de Mitton et al (2020) 50 % étaient de sexe masculin vs 50 % de sexe féminin soit un sex-ratio de 1.(46)

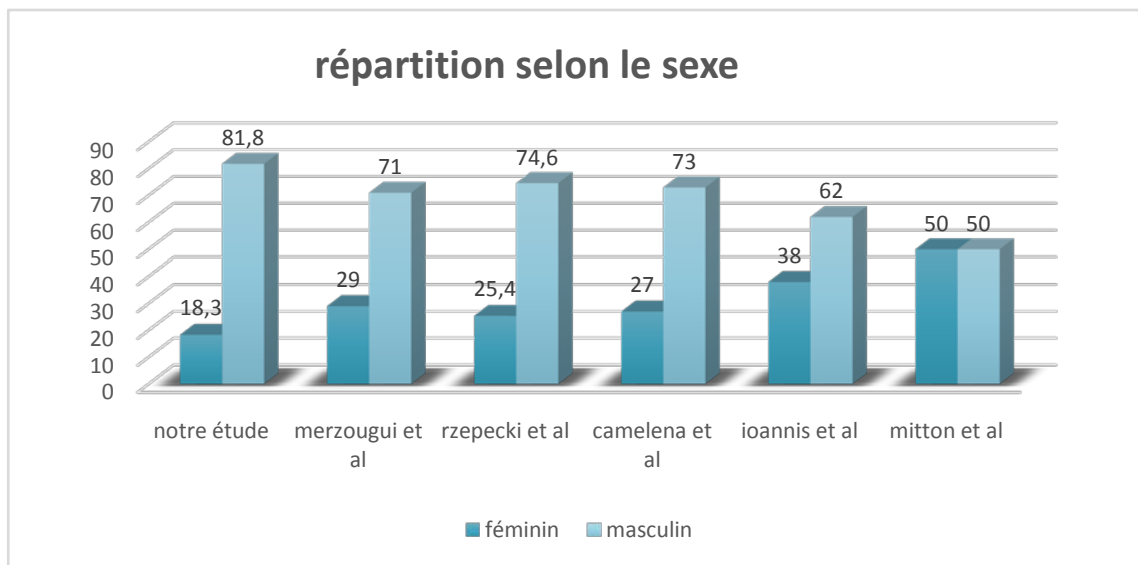


Figure 25 : Répartition selon le sexe dans certaines études

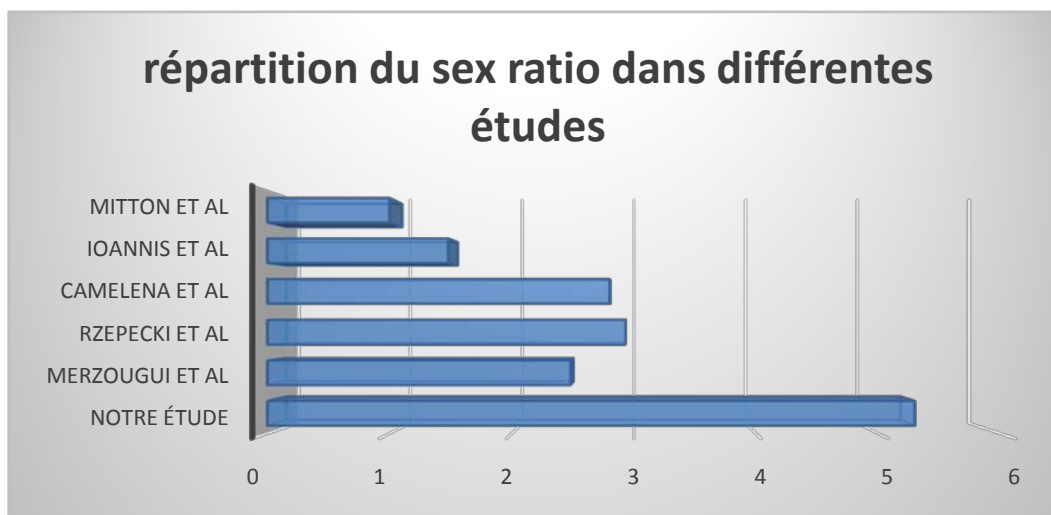


Figure26:Répartition du sex-ratio H/F dans les différentes études

3. Evaluation des performances diagnostiques de la technologie FilmArray

3.1. Taux de positivité

Parmi 82 échantillons, nous avons détecté au moins 1 pathogène dans 64 échantillons grâce au panel Pneumoplus FilmArray® soit un taux de positivité de 78%.

L'analyse moléculaire des prélèvements broncho-pulmonaires permet donc une augmentation significative du taux de positivité par rapport aux méthodes conventionnelles (la culture bactérienne) testée dans notre étude, dont le taux est de 67%, grâce à sa sensibilité supérieure et à la variété de pathogènes ciblés par une seule analyse, avec un taux de sensibilité et de spécificité de 96,7% et 80% respectivement.

Ces taux de positivité s'approchent de l'étude américaine menée par Ioannis et al montrant un taux de positivité de 74% pour FilmArray vs 41% pour les techniques conventionnelles.(45)

Mais aussi à ceux obtenus dans d'autres études européennes avec par exemple : un taux de 81% vs 79% dans l'étude de Rzepecki et al(43), et 46% vs 39% pour l'étude de Camelena et al(44), 76.13% vs 56% dans l'étude de Ginocchio et al(41), 71.2% vs 68% pour l'étude de Mitton et al (46) et enfin un taux de 73.7% vs 65.7% dans l'étude coréenne de Yoo et al(38).

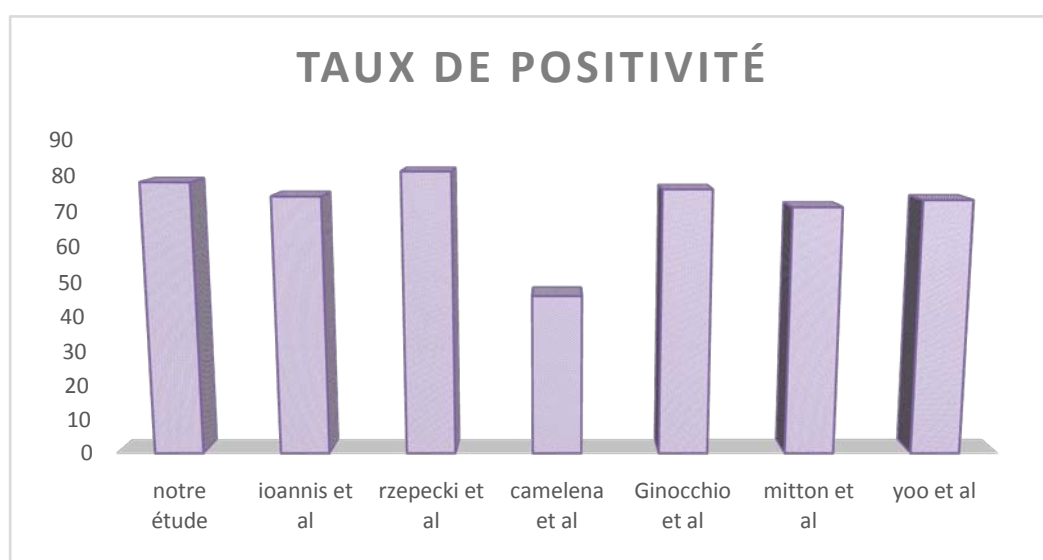


Figure27 : Taux de positivité comparé aux autres études

TableauXV: Taux de positivité comparé aux autres études

<u>Série</u>	<u>Année</u>	<u>Pays</u>	<u>Taux de positivité FilmArray</u>	<u>Taux de positivité Culture</u>
Notre étude	2021	Maroc	78%	65%
Ioannis et Al(45)	2021	Etats unis	74%	41%
Rzepecki et Al(43)	2019	France	81%	79%
Camelena et Al(44)	2021	France	46%	39%
Ginocchio et Al(47)	2021	Europe	76.1%	56%
Mitton et Al(46)	2020	Afrique du sud	71%	68%
Yoo et Al(38)	2021	Corée du sud	73.7%	65.7%

TableauXVI : Sensibilité et spécificité du Filmarray dans différentes études

	<u>Sensibilité</u>	<u>Spécificité</u>
<i>Notre étude</i>	96,7%	80%
<i>Mitton et al(46)</i>	92%	93,8%
<i>Yoo et al(38)</i>	98%	76,5%
<i>Murphy et al(39)</i>	95%	90,1%
<i>Rzepecki et al(43)</i>	88,9%	90,1%

3.2. Délai de positivité

Selon une étude rétrospective menée par Rzepecki et Al, prenant la culture comme méthode de référence, le délai moyen de rendu de résultat est 2.9–5 jours. Si l'antibiothérapie probabiliste basée sur les recommandations nationales avait été prescrite, elle aurait été efficace que dans 81,4%des cas. Par contre, si la stratégie de la technique de biologie moléculaire avait été utilisée (délai moyen de rendu de résultat 70 plus ou moins 5 min), elle aurait permis d'être efficace dans88,1 % des cas.(43)

En outre, dans une étude anglaise réalisée par Ginocchio et Al, le panneau BioFire PN plus relève plusieurs défis associés aux méthodes de tests de routine, particulièrement le délai de résultat retardé. Ginocchio a enregistré un délai de rendu de résultats compris entre 50min et 1h30 avec BIOFIRE® FILMARRAY®,ce délai est inférieur à celui obtenu par les méthodes traditionnelles qui est compris entre 48 et 72h.(41)

Par ailleurs, Murphy et Al ont comparé en 2021 le temps nécessaire pour le diagnostic d'une pneumopathie entre les méthodes conventionnelles et le panel BioFire FilmArray Pneumoplus. Ils ont constaté un temps médian nécessaire de 48–72hh pour les méthodes de routine contre seulement une médiane de 1h30 min pour le FilmArray.(48)

–Pour Mitton et al, Le principal avantage des panels PCR multiplex par rapport aux méthodes de culture est l'amélioration significative du délai d'exécution. Cela se traduit dans ses résultats avec une différence de temps de 3705 minutes, cela équivaut à une moyenne de gain de temps de 2 jours, 13 heures et 45 minutes par FilmArray. Ce gain de temps important peut avoir un impact majeur sur la gestion des antimicrobiens et en particulier sur la prévention et le contrôle des infections. (46)

–Camelena, Ioannis et Yoo rejoignent les auteurs précédents et rapportent que les méthodes basées sur la culture donnent des résultats en 24 à 72 h, ce qui constitue un retard critique dans la prise en charge des patients, comparé au FilmArray dont le délai est d'environ 70min.(38,44,45)

Dans notre étude nous avons mesuré les délais de rendu de résultat par FilmArray®. Le délai médian mesuré était de 70min contre 48 h pour les méthodes conventionnelles. FilmArray Pneumoplus a donc le potentiel d'être un outil décisionnel puissant pour la gestion des patients et l'amélioration des résultats des soins.

TableauXVII : Délai de rendu de résultats du FilmArray ME par rapport à celui de la microbiologie conventionnelle.

	Notre étude	Rzepecki	Ginocchio	Murphy	Mitton	Camelena	Ioannis	Yoo
FilmArray	70min	70min	50–90min	90min	60min	70min	70min	60min
Méthodes conventionnelles	48h	2.5–5jours	48–72h	48–2h	64h	48–72h	72h	48–72h

3.3. Détection des co-infections

Les détections multiples de pathogènes ont concerné 40% de nos échantillons, contrairement aux prélèvements ayant bénéficié de la culture qui étaient tous mono bactériens.

L'association la plus fréquente était *Acinetobacter calcoaceticus*–*baumanni* complex et *Staphylococcus aureus*, mais de nombreuses autres combinaisons incluant virus, et bactéries atypiques ont été observées.

La diversité des associations induit une difficulté dans la détermination du rôle étiologique de l'agent détecté.

Des études ont mis en évidence des taux de co-infections du même ordre de grandeur allant de 55 à 71% (38,41,46,48)

Le taux de co-infections dans l'étude menée par Yoo et al était de 71% pour FilmArray contre 6% pour la culture(38), 55% vs 34% pour l'étude de Ginocchio et al(41),66% vs 11% pour Mitton et al(46) et 69.6% vs 26% pour Murphy et al(48)

Le nombre moyen de cible bactérienne détectée par la technique FilmArray était de 2.

Comparison of FilmArray Pneumonia *plus* panel and culture for the detection of targets included on the FilmArray Pneumonia *plus* panel.

Target	FilmArray Pneumonia <i>plus</i> n (%)	Culture n (%)
Bacteria		
<i>Acinetobacter baumannii</i> complex	18 (30.5)	13 (22.0)
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	7 (11.9)	1 (1.7)
<i>Escherichia coli</i>	8 (13.6)	4 (6.8)
<i>Haemophilus influenzae</i>	8 (13.6)	2 (3.4)
<i>Klebsiella aerogenes</i>	1 (1.7)	2 (3.4)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2 (3.4)	1 (1.7)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> group	15 (25.4)	8 (13.6)
<i>Moraxella catarrhalis</i>	2 (3.4)	0 (0.0)
<i>Proteus</i> species	5 (8.5)	0 (0.0)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10 (16.9)	9 (15.3)
<i>Serratia marcescens</i>	5 (8.5)	3 (5.1)
<i>Staphylococcus aureus</i>	12 (20.3)	6 (10.2)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1 (1.7)	0 (0.0)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3 (5.1)	1 (1.7)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1 (1.7)	0 (0.0)

Figure28 :Nombre de pathogènes détecté par FilmArray vs méthodes standards(41)

Certains auteurs attribuent l'abondance de ces associations à une infection initiale, qui va provoquer une inflammation formant un lit de colonisation par d'autres agents pathogènes, l'infection initiale peut endommager les lymphocytes, en particulier les cellules B, les cellules T et les cellules NK, ce qui entraînera l'affaiblissement du système immunitaire, pouvant être la principale raison de la co-infection.

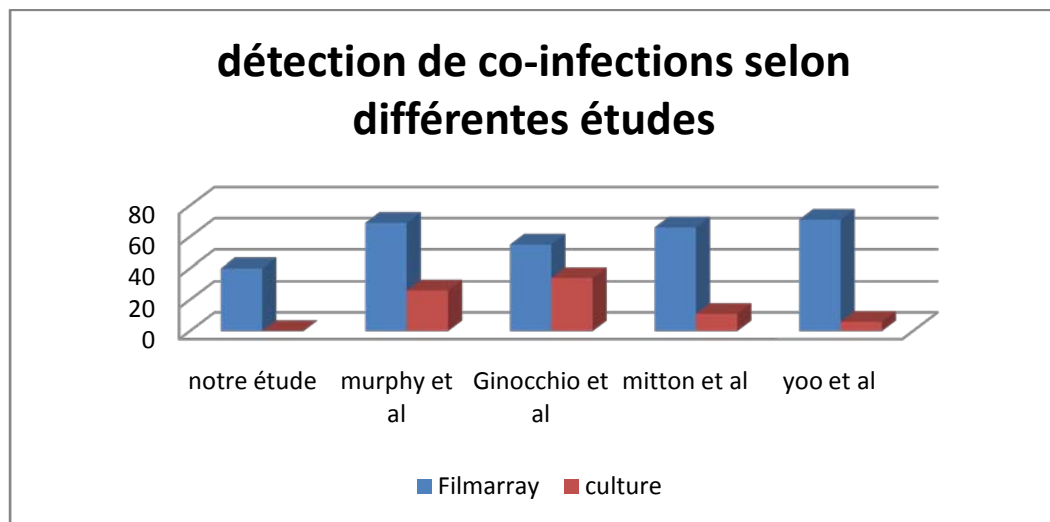


Figure 29: Comparaison de détection des co-infections entre FilmArray et culture

Ces résultats montrent la part non négligeable des co-infections dans les pneumopathies nosocomiales en milieu de réanimation, elles sont largement sous-estimées par les méthodes conventionnelles.

Le développement d'analyses moléculaires permettant la quantification des pathogènes contribue à la mise en place rapide d'un traitement adéquat.

3.4. Détection des gènes de résistance

Dans la présente étude, FilmArray panel Pneumoplus a détecté avec précision les gènes de résistance aux antibiotiques, montrant des résultats concordants pour tous les organismes résistants aux antimicrobiens identifiés à l'aide des méthodes de routine.

La technique FilmArray Panel Pneumoplus a détecté des gènes de résistance aux antimicrobiens dans 73% des échantillons.

Un total de 46 gènes de résistance aux antimicrobiens dans 64 échantillons positifs ont été détectés.

Le gène de résistance le plus fréquemment détecté était NDM dans 21 échantillons, suivi de CTX-M dans 14 échantillons et des gènes *mecA/C* avec jonction de l'extrémité droite SCCmec (MREJ) dans 7 échantillons.

Pour Yoo et Al, la technique FilmArray a détecté des gènes de résistance aux antimicrobiens dans 17 des 18 échantillons testés (94,4 %), qui étaient résistants par les méthodes conventionnelles.(38)

Murphy et Al rapportent que le panel PN comprend des tests pour six gènes de résistance bactérienne associés à la résistance aux carbapénèmes et aux bêta-lactamines. CTX-M et KPC étaient les cibles de résistance anti microbienne les plus couramment détectées dans les échantillons, et les gènes de type IMP et OXA-48 n'ont pas été détectés. (48)

L'étude de Zepecki et Al, affirme qu'aucune différence n'a été obtenue concernant les marqueurs de résistance entre FilmArray et culture. (43)

Pour Mitton et al, Les gènes de résistance aux antibiotiques suivants ont été détectés, CTX-M(47,9 %), *mecA/C* et MREJ (22,7 %), NDM (13,6 %), OXA-48-like (11,9 %) et VIM (3,9 %). Les gènes IMP ou KPC n'ont pas été détectés.

Présence d'une forte corrélation entre l'antibiotique phénotypique basé sur la culture et le panel FAPP, avec une valeur prédictive positive et valeur prédictive négative de 100 % et 98,5 % respectivement.

On note également la présence de gènes de résistance détectés provenant de bactéries présentes à des nombres très faibles que la culture n'a pas réussi à détecter. (46)

Pour Camelena et Al, FilmArray a détecté six marqueurs de résistance, dont deux *mecA/C* et MREJ, trois blaCTX-M et un blaVIM, dans six échantillons.

Un seul des trois gènes blaCTX-M détectés avec FA-PP ont été confirmés dans la culture : une bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE).(44)

Ioannis et Al trouve que malgré la concordance à 100 % entre le gène de résistance détectés par FilmArray et le profil de résistance obtenue par culture, seule la culture permet des tests de sensibilité in vitro. De plus, même si les résultats concernant la présence des gènes de résistance peuvent aider à guider la thérapie empirique, il devrait être reconnu que ces gènes détectés qualitativement pourraient appartenir aux bactéries commensales plutôt qu'aux bactéries causant la pneumonie du patient(45)

4. Les bactéries responsables de pneumopathies nosocomiales détectés par le Panel PNEUMOPLUS FILMARRAY®

4.1. Fréquence globale des germes isolés

La prédominance des bacilles à Gram négatif est soulignée par la plupart des études épidémiologiques quel que soit la technique de prélèvement utilisée. Ils sont responsables d'environ 92% des PN dans les pays en voie de développement.(50)

Selon l'étude EPIIC II (European Prevalence of Infection in Intensive Care) qui inclut 1265 services de réanimation dans 75 pays différents, les BGN représentent 62,2% de l'ensemble des cas de PN inclus. (51)

Restrepo et Peterson soulignent cette prédominance des BGN lors d'une étude qui compare les germes des PN précoces et tardives chez les patients inscrits dans 2 larges essais cliniques aux Etats Unis.(52) Ceci rejoint l'étude de Merzougui et Al menée en Tunisie, parmi les 125 épisodes infectieux détectés lors de cette enquête, les microorganismes les plus souvent isolés étaient des bacilles gram négatifs dans 80% des cas. Le *P. aeruginosa*, la *K. pneumoniae* et l'*E. coli* étaient retrouvés dans 66% des cas.(42)

Dans notre série, la culture bactérienne a objectivé des BGN dans 79,7% des prélèvements réalisés; le taux d'isolement des cocci à Gram positif était 19%. Ceci rejoint les résultats trouvés par les équipes du CHU de Casablanca et celui de Rabat, qui rapportent la prédominance des BGN à un taux de 70% et 67,4% respectivement.(53,54)

4.2. Répartition des principaux germes isolés

a. BGN non fermentant :

a.1. *Acinetobacterbaumannii* :

Selon Mitton et al, Toutes les cibles bactériennes (hors bactéries atypiques) présentes sur le Panelpneumo plus ont été détectées. Le complexe A. baumannii a été détecté le plus souvent (18/42, 42,9 %)(46).

De même pour Yoo et Al, l'agent pathogène le plus fréquemment retrouvé était le complexe Acinetobacter calcoaceticus–baumannii dans 21 /64 résultats (32,8 %).(38)

D'autres études retrouvent des prévalences moins élevées d'A. Baumannii dans les infections respiratoires nosocomiales. Ainsi, Ioannis et Al rapporte que parmi des souches isolées des prélèvements respiratoires provenant des patients ventilés sont des Acinetobacter baumannii avec un taux de 13%.(45)

Dans notre série, l'Acinetobacter baumannii était au 1er rang des germes identifiés responsables de PN avec un taux de 37%. Ceci rejoint l'étude faite à Rabat et celle à Casablanca qui montrent que l'Acinetobacter baumannii est le 1er germe causal de ces infections, mais à des taux différents (tableau3).(53,54)

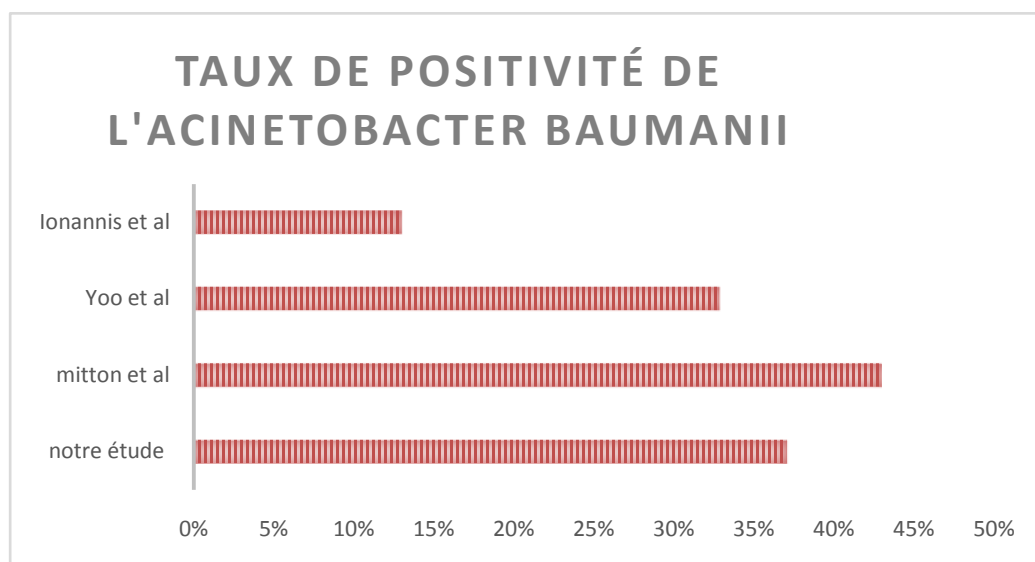


Figure30 : taux de positivité de l'acinetobacterbaumannii dans différentes études

a.2. Pseudomonas Aeruginosa :

Selon nos résultats, *Pseudomonas aeruginosa* n'était isolé que dans 9 prélèvements durant la période de notre étude, soit un taux de 14,6%. Ainsi, il représente le 4e germe le plus isolé dans notre formation.

Ce résultat est différent de celui rapporté par la plupart des études: *Pseudomonas* était le 1er germe incriminé dans les PN en France selon l'étude de Camelena et Al avec un taux de 44% (44), alors qu'il était le 2ème en Corée du sud selon Yoo et Al (29.7%)(38), et le 3ème au Royaume-Uni selon Ginocchio et Al(15.63%)(41) .

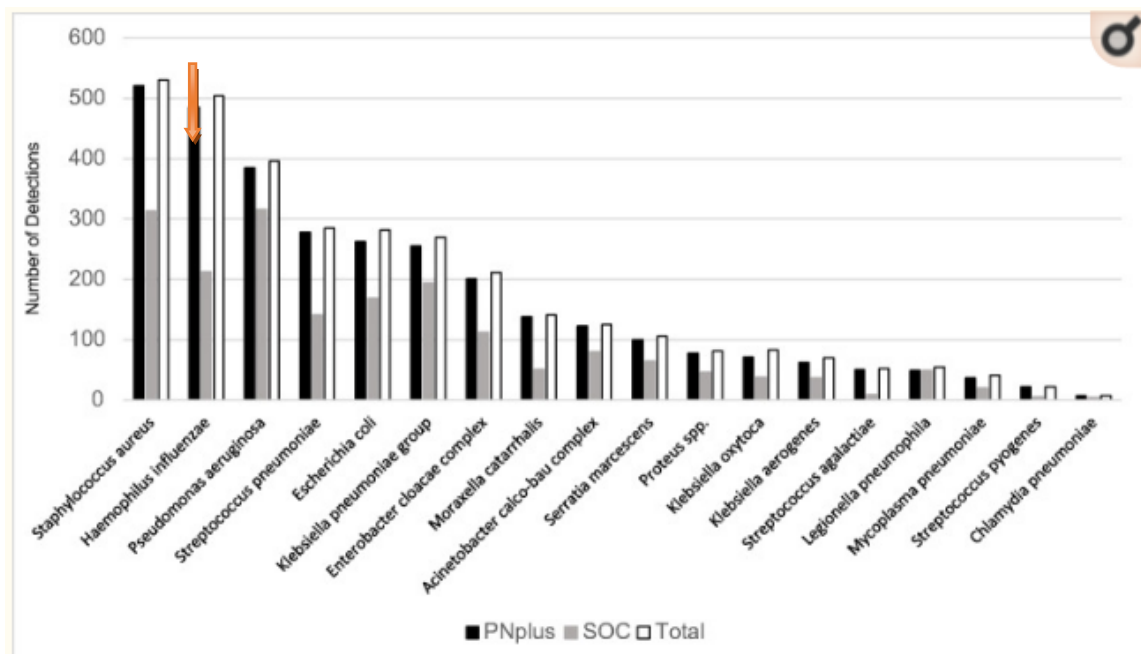


Figure31 : Comparaison entre BioFire Pneumonie plus Panel (PNplus) et norme méthodes conventionnelles pour la détection bactérienne dans les pneumopathies nosocomiales par Ginocchio et Al(41)

D'autres études retrouvent des prévalences moins élevées : Mitton et Al, Murphy et Al et Ioannis et Al avec des taux de 16.9%,13.9% et 10% respectivement.

Cependant, l'équipe de Rabat et celle de Casablanca rapportent que le *Pseudomonas* était dans leur série le 3ème germe le plus isolé dans cette pathologie (Tableau3)(53,54)

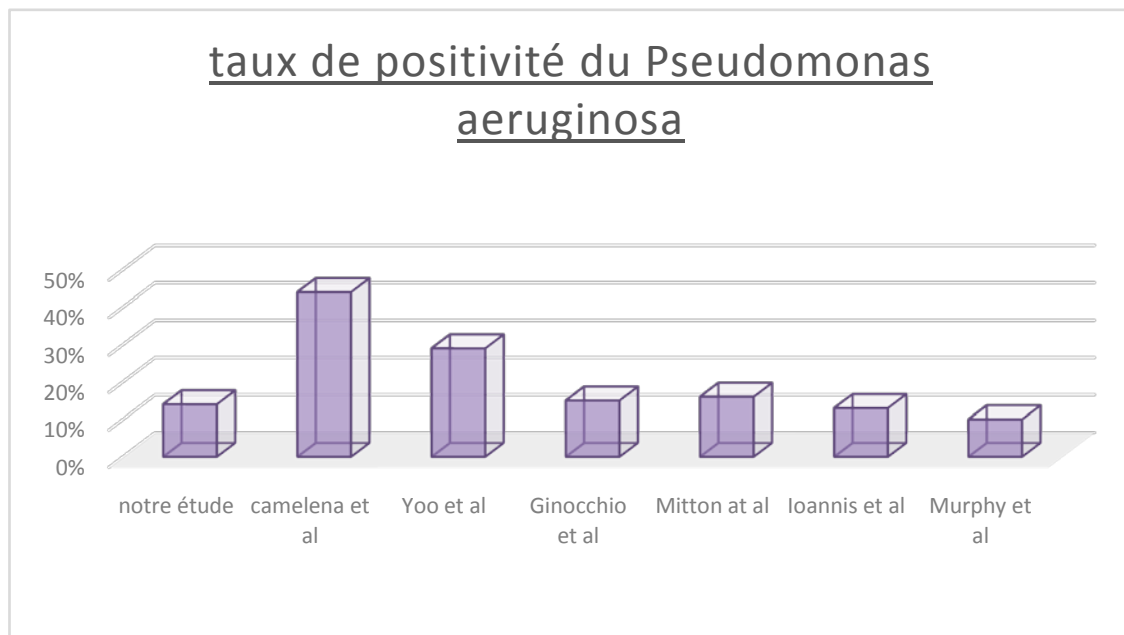


Figure32 : taux de positivité du Pseudomonas aeruginosa dans différentes études

b. Entérobactéries

Les entérobactéries étaient impliquées dans 34.7% des cas de notre étude, dont la majorité était représentée par Klebsiellapneumoniae (29,6%) qui occupe le 3ème rang après A.baumannii et S.aureus responsables des PN, suivie de l'Enterobacter Cloacae complex(9%).

Nos résultats corrélerent avec les données de la littérature, l'implication des entérobactéries était non négligeable représentée majoritairement par Klebsiella pneumonia en 2ème rang pour Mitton et Al(25.7%) et en 4ème rang(26%) pour Yoo et Al.(38,46)

De même pour les études menées par Ioannis et Al et Murphy et Al, avec des taux de 7% et 3.5% respectivement.(45,48)

Cependant, les résultats sont inversés pour Camelena et Al, l'E.coli représente l'entérobactérie la plus fréquemment isolée dans les prélèvements, avec un taux de 8%, suivie du Klebsiella aerogenes 6% et puis Klebsiella pneumoniae 3%.(44)

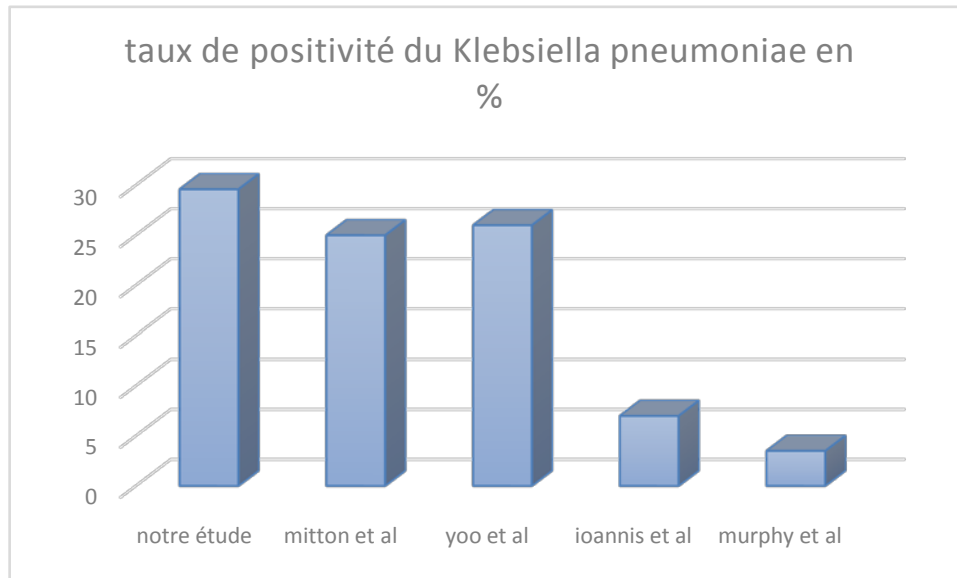


Figure33 : taux de positivité du *Klebsiella pneumoniae* dans différentes études

b.1. Staphylococcus aureus

La fréquence d'isolement du *S. aureus* dans notre série est de l'ordre de 28%, et est proche de celle trouvée dans la littérature, 19% selon Camelena et Al(44) et 19.2% selon Ioannis et Al(45), en 2ème rang, et en 3ème rang après *A.baumannii* et *K.pneumoniae* selon Mitton et Al (46) et Yoo et Al (38) avec des taux de 20.3% et 25% respectivement.

Au CHU Ibn Rochd de Casablanca, 12% des cas de PN sont dues à *Staphylococcus aureus*, 10,2% sont rapportés à Rabat. (tableau3)

A l'inverse, le *Staphylococcus aureus* représente le 1er germe responsable de pneumopathies nosocomiales en réanimation aux états unis et au Royaume-Uni selon Ginocchio et Al et Murphy et Al, dont les prévalences sont 21.15% et 19% respectivement.

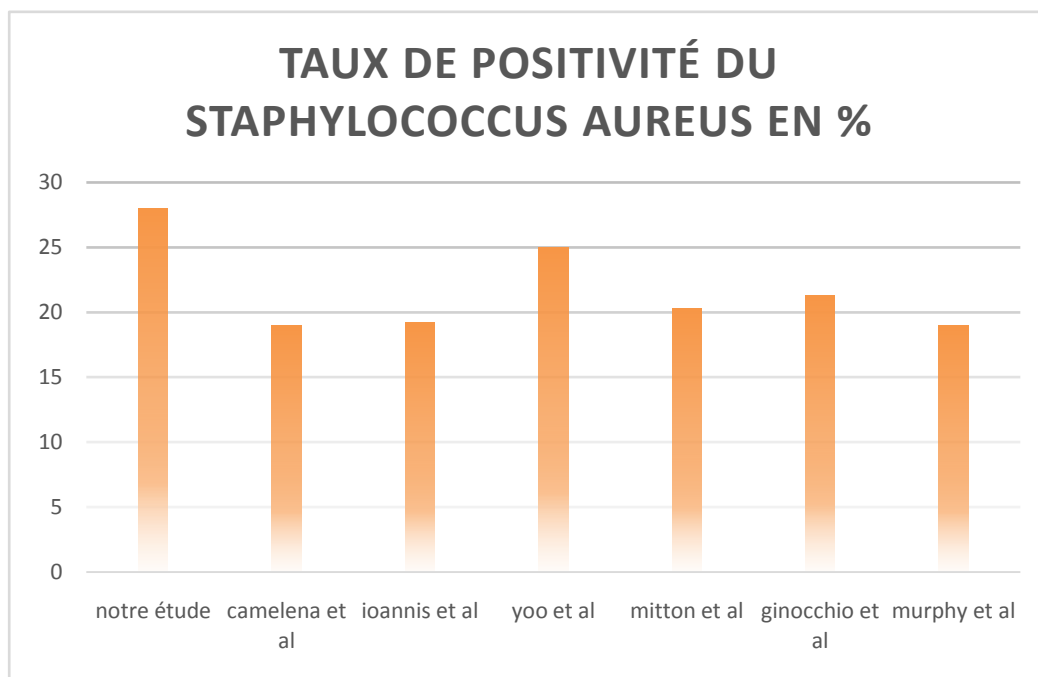


Figure34 : taux de positivité du staphylococcus aureus dans différentes études

TableauXVIII: Répartition des germes isolés selon la littérature (%)

Auteur	Ginocchio 2021	Mitton 2020	Camelena 2021	Ioannis et Al	Murphy et Al	Yoo et Al	Marjane 2012	Nouamou 2012	Notre étude
Pays	Royaume-Uni	Afrique du sud	Paris, France	Etats-Unis	Etats-Unis	Corée du sud	Rabat, Maroc	Casablanca, Maroc	Marrakech, Maroc
Acinetobacter Baumannii	3	42.9	11	13	1	32.8	31.5	35,9	52
Pseudomonas aeruginosa	15.63	16.9	44	10	13.9	29.7	15.7	23	14
Staphylococcus aureus	21.16	20.3	19	19.2	19	25	10.2	12	28
Klebsiella pneumoniae	-	25.7	3	7	3.5	10	4.5	14	29,6
Escherichia Coli	4.6	2.5	8	1.2	2	4.1	7.9	4	6,2
Enterobacter cloacae	-	-	-	-	3.3	9	3.4	3	9,3

5. Forces et limites:

5.1. Avantages de la technique FILMARRAY®

La recherche systématique de 27 agents pathogènes par une technique moléculaire très sensible présente de nombreux avantages :

- ✓ Nombre de cas de pneumopathies nosocomiales documentés microbiologiquement nettement amélioré.
- ✓ Evite d'avoir à choisir l'un des tests conventionnels, limitant ainsi le risque de retard de diagnostic ou de non-documentation.
- ✓ Risque de contamination minime (circuit fermé)
- ✓ Simplifie le travail du technicien, améliore le flux de travail.
- ✓ Détection de pathogène dont la recherche n'est pas prescrite ou la présence non suspectée notamment lors de co-infections.
- ✓ Obtention rapide du résultat (avantage majeur pour la bactériologie et la parasitologie).
- ✓ Performance diagnostique non affectée par la prise préalable d'antibiothérapie probabiliste
- ✓ Rationalisation de la prescription d'anti-microbiens.
- ✓ Raccourcissement des durées d'hospitalisation
- ✓ Réduction du coût de la prise en charge

Ces avantages montrent que le panel FilmArray®Pneumoplus s'avère être un moyen efficace pour le diagnostic précoce des pneumopathies nosocomiales en milieu de réanimation.

(55)

5.2. Limites de la technique FILMARRAY®

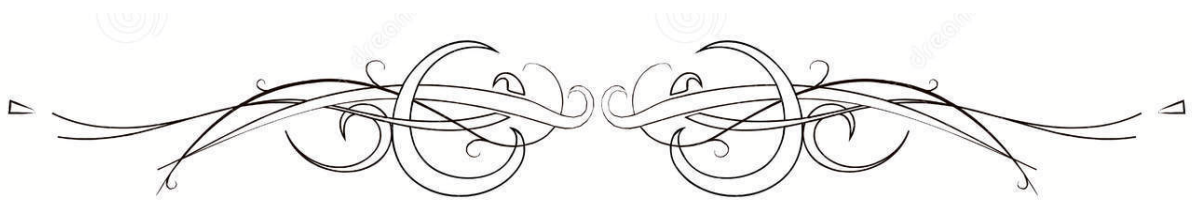
L'analyse comparative a aussi permis de mettre en lumière quelques limites liées à l'utilisation du panel pneumoplus FilmArray®, notamment du fait de sa sensibilité élevée, du caractère génotypique et qualitatif de cette analyse :

- Coût élevé du test FilmArray par rapport aux autres méthodes conventionnelles
- Détection de germes non inclus dans le panel
- Non-information sur la viabilité du pathogène détecté

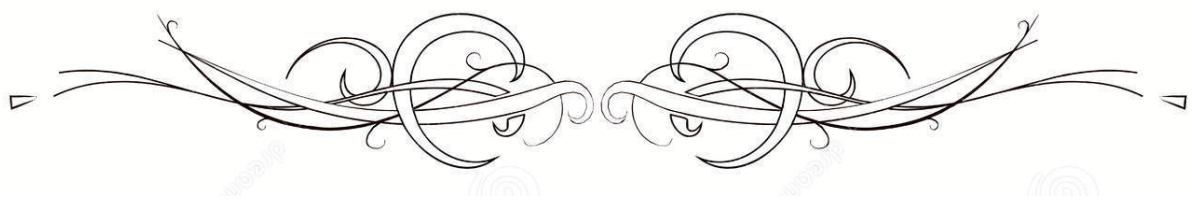
Ces limites peuvent poser un problème d'interprétation du résultat au clinicien. Cependant, ce problème d'interprétation peut-être fortement atténué par la juste prescription de cette analyse, une interprétation prudente des résultats en les confrontant au tableau clinique et radiologique et un dialogue clinico-biologique régulier.

III. Recommandations :

- ✓ Devant l'urgence diagnostique et thérapeutique chez les patients hospitalisés en services de réanimation, l'usage de la PCRm est d'un intérêt majeur, permettant de réduire le délai diagnostique, de préciser l'agent causal, la présence de co-infections et les résistances bactériennes.
- ✓ L'usage de la PCRm dans le diagnostic des pneumopathies nosocomiales permet de rationaliser les prescriptions d'antibiotiques et de réduire considérablement la durée d'hospitalisation ainsi que la mortalité en milieu de réanimation.
- ✓ Favoriser les lavages broncho alvéolaires en raison de la forte sensibilité et spécificité des techniques de biologie moléculaire sur ceux-ci.
- ✓ L'application judicieuse des mesures préventives doit se concevoir dans le cadre d'un programme de prévention qui intéresse tous les services hospitaliers.



CONCLUSION



Les pneumopathies nosocomiales sont la première cause d'infection nosocomiale en réanimation.

En dépit des nombreux progrès qui ont été effectués aussi bien en matière de diagnostic que de traitement, le pronostic des pneumonies nosocomiales reste sombre, essentiellement du fait de la gravité de la maladie sous-jacente.

Cette complication représente en effet la première cause de décès lié à l'infection nosocomiale et est à l'origine d'une prolongation de la durée du séjour hospitalier et d'un surcoût important.

Les bacilles à Gram négatif restent l'espèce la plus fréquemment isolée avec prédominance d'*Acinetobacter baumannii*

L'augmentation des taux de résistance des germes à la batterie d'antibiotiques qui est à notre disposition, complique la prise en charge des patients.

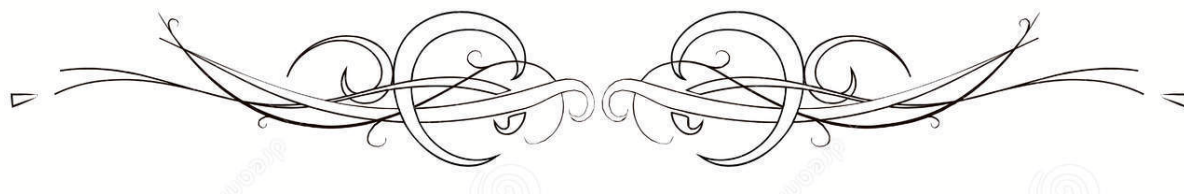
Ce constat alarmant de virulence et de multirésistance doit conduire les praticiens à recourir des techniques de diagnostic rapide permettant ainsi la rationalisation de l'utilisation des antibiotiques; ceci permettra de diminuer la pression de sélection exercée par une antibiothérapie à large spectre, parfois abusive et inadaptée.

Ainsi il est très important d'établir une surveillance régulière de l'antibiorésistance qui doit être généralisée au niveau de tous les centres de soins afin de définir les stratégies thérapeutiques et prophylactiques adaptées à l'épidémiologie locale.

Toutefois, même si le coût direct de l'analyse est élevé par rapport aux techniques conventionnelles, il est à rapporter au coût global de la prise en charge du patient. En prenant en considération l'ensemble des avantages et des limites du diagnostic moléculaire des pneumopathies nosocomiales, nous concluons que l'approche syndromique par le panel pneumoplus FilmArray® fait partie des méthodes les plus performantes sur le marché pour le diagnostic des pneumopathies nosocomiales, en permettant un diagnostic étiologique plus rapide et plus précis ainsi qu'une prise en charge optimisée des patients.

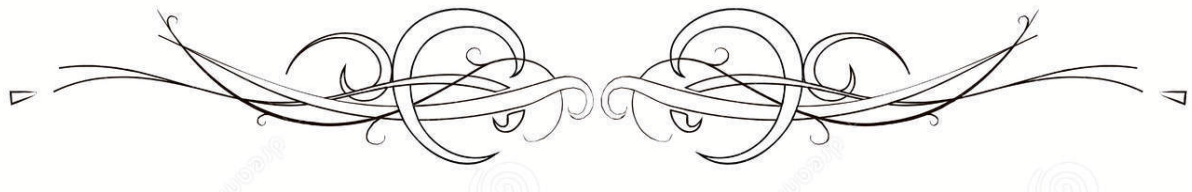


ANNEXES





RESUMES



Résumé :

Les pneumopathies nosocomiales par leur prévalence, leur gravité et les dépenses de santé qu'elles entraînent représentent un enjeu majeur de santé publique. Elles sont plus fréquentes chez les patients hospitalisés en réanimation ou unités de soins intensives. Une rapide identification des pathogènes en cause est cruciale pour diminuer le fardeau sanitaire. Le développement récent des nouveaux tests de diagnostic rapide par PCR multiplexe à visée syndromique, capables de détecter plusieurs pathogènes en quelques heures, a entraîné un changement de paradigme en microbiologie et en pratique clinique.

L'objectif de notre étude est d'évaluer l'apport de la biologie moléculaire dans le diagnostic étiologique précoce des pneumopathies nosocomiales en milieu de réanimation.

Ce travail est une étude rétrospective à visée descriptive, réalisé sur 82 prélèvements respiratoires provenant des patients hospitalisés en milieu de réanimation, au sein du laboratoire de microbiologie- virologie à l'hôpital Militaire Avicenne de Marrakech. Ce travail est étalé sur une période de 4ans, du 01 janvier 2018 au 31 décembre 2021.

Durant cette période d'étude, nous avons colligé 82 patients, une légère prédominance masculine a été notée (81,7%) avec un sex-ratio H/F de 5,3.

Les échantillons documentés durant cette période étaient en grande partie des LBA, représentant 69% de tous les prélèvements.

Le taux de positivité dans notre étude était de 78% pour la technique de biologie moléculaire(FilmArray) contre 65,8% pour la culture, une grande sensibilité et spécificité de 98% et 80% respectivement.

Le délai médian de rendu de résultat était de : 2 heures pour le panel pneumoplusFilmArray® contre 48 heures pour les méthodes conventionnelles.

Un taux de 38 % des mono infections a été constaté dans la population étudiée et de 62 % des co-infections.

l'Acinetobacter baumannii complex était le pathogène le plus fréquemment détecté, soit une proportion de 39 %.

Concernant les gènes de résistance, NDM était le gène le plus fréquemment retrouvé.

Les résultats de cette étude montrent que le panel FilmArray pneumoplus est adapté au diagnostic des pneumopathies nosocomiales, il est supérieur aux techniques conventionnelles en terme de performances diagnostiques et de rapidité permettant l'instauration d'un traitement, si nécessaire, dans les plus brefs délais. Toutefois, compte tenu de l'importance de l'antibiogramme, l'utilisation des tests moléculaires devrait être réalisée en complément de la microbiologie conventionnelle. Par ailleurs, les résultats devraient toujours s'interpréter en fonction du contexte clinique et en association avec l'ensemble des examens biologiques.

Abstract

Hospital acquired pneumonia represents a major public health issue by their prevalence and the health expenses they entail. They are more common seen in patients hospitalized in intensive care units. Rapid identification of the pathogens involved is crucial to reduce the health charge. The recent development of new syndromic multiplex PCR rapid diagnostic tests, capable of detecting several pathogens in a few hours, has led to a paradigm shift in microbiology and clinical practice.

The objective of our study is to evaluate the contribution of the Film-Array pneumoplus panel in the rapid diagnosis of hospital acquired pneumonia in intensive care unit.

This work is a retrospective study with a descriptive aim, which was realized on 82 respiratory samples taken from patients hospitalized in intensive care unit and carried out in the microbiology, virology and molecular biology laboratory at the Avicenne Military Hospital in Marrakech. This work is spread over a period of 04 years, from 01 January 2018 to 31 December 2021.

During this study period, we collected 82 patient, a slight male predominance was noted (81.7%) with an M/F sex ratio of 5.3.

The samples documented during this period were largely BAL, representing 69% of all samples.

The positivity rate in our study was 78% for the molecular biology technique (FilmArray) against 65.8% for culture, a high sensitivity and specificity of 98% and 80% respectively.

The median result delivery time was: 2 hours for the pneumoplus FilmArray® panel versus 48 hours for conventional methods.

A rate of 38% for single infections was observed in the population studied and 62% for co-infections.

Acinetobacter baumannii complex was the most frequently pathogen, with a proportion of 39%.

Concerning the resistance genes, NDM was the most frequently found gene.

The result of this study shows that the FilmArray pneumoplus panel is suitable for the diagnosis of hospital acquired pneumonia, it is superior to conventional techniques in terms of diagnostic performance and speed allowing the establishment of treatment, if necessary, as soon as possible. However, given the importance of the antibiogram, the use of molecular tests should be carried out in addition to conventional microbiology. Furthermore, the results should always be interpreted according to the clinical context and in association with all the biological examinations.

ملخص

تمثل الاعتلالات الرئوية في المستشفيات من حيث انتشارها وخطورتها والنفقات الصحية التي تنطوي عليها مشكلة صحية رئيسية.

وهي أكثر شيوعاً عند المرضى القاطنين في وحدات العناية المركزة. التعرف السريع على الجراثيم مسببات الأمراض المعنية أمر بالغ الأهمية لتقليل العبء الصحي. أدى التطور الأخير لاختبارات تشخيصية سريعة كالبولوجيا الجزيئية، القادرة على اكتشاف العديد من الجراثيم مسببات الأمراض في غضون ساعات قليلة، إلى تحول نموذجي في علم الأحياء الدقيقة والممارسة السريرية.

الهدف من دراستنا هو تقييم مساهمة البولوجيا الجزيئية في التشخيص المبكر للاعتلال الرئوي في المستشفيات في وحدة العناية المركزة

هذا العمل عبارة عن دراسة وصفية بأثر رجعي، أجريت على 82 عينة تنفسية من مرضى مقيمين في وحدة العناية المركزة، في مختبر علم الأحياء الدقيقة والفيروسات في مستشفى ابن سينا العسكري في مراكش. يمتد هذا العمل على فترة 4 سنوات، من 1 يناير 2018 إلى 31 ديسمبر 2021.

خلال فترة الدراسة، قمنا بجمع 82 مريضاً، ولوحظ وجود غلبة للذكور (81.7%) مع نسبة ذكور وإناث

5.3.

كانت العينات الموثقة خلال هذه الفترة إلى حد كبير BAL تمثل 69% من جميع العينات.

كانت نسبة الإيجابية في دراستنا 78% لتقنية البولوجيا الجزيئية (FilmArray) مقابل 65.8% لزراع

البكتيريا، وحساسية وخصوصية عالية 98% و 80% على التوالي.

كان متوسط وقت تسليم النتيجة: ساعتان للوحة pneumoplus FilmArray مقابل 48 ساعة للطرق

التقليدية.

لوحظ معدل 38% للعدوى المنفردة في العينات المدروسة و 62% للعدوى المرافقة.

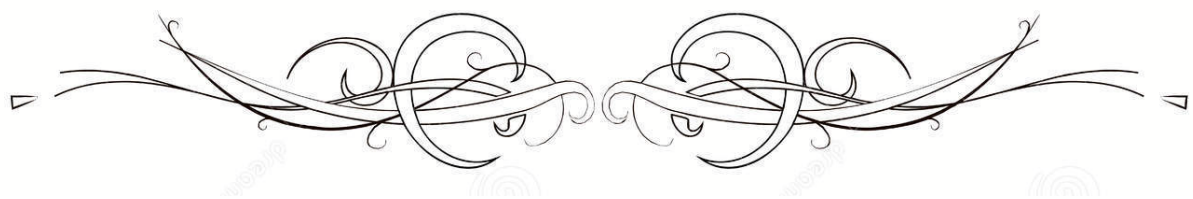
كان *Acinetobacter baumannii* هو البكتيريا الأكثر عزلاً، أي بنسبة 39٪.

فيما يتعلق بجينات المقاومة، كان NDM هو الجين الأكثر شيوعاً

تظهر نتائج هذه الدراسة أن لوحة *FilmArray pneumoplus* مناسبة لتشخيص الاعتلال الرئوي في المستشفيات، فهي تتفوق على التقنيات التقليدية من حيث الأداء التشخيصي والسرعة التي تسمح بإقامة العلاج، إذا لزم الأمر، في أسرع وقت ممكن. ومع ذلك، نظراً لأهمية المضاد الحيوي، يجب إجراء الاختبارات الجزيئية بالإضافة إلى علم الأحياء الدقيقة التقليدي. علاوة على ذلك، يجب دائماً تفسير النتائج وفقاً للسياق السريري وبالاقتران مع جميع الفحوصات البيولوجية.



BIBLIOGRAPHIE



1. **Shimi A, Touzani S, Elbakouri N, Bechri B, Derkaoui A, Khatouf M.**
Les pneumopathies nosocomiales en réanimation de CHU Hassan II de Fès. PAMJ 2015; 22:285 [Internet]. 2015 [cited 2022 Feb 8];22(285):285.
2. **Leone M, Bouadma L, Bouhemad B, Brissaud O, Dauterive S, Gibot S, et al.**
Hospital-acquired pneumonia in ICU. Anaesth Crit Care Pain Med. 2018 Feb 1;37(1):83-98.
3. **Modi AR, Kovacs CS.**
Hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia: Diagnosis, management, and prevention. Cleve Clin J Med [Internet]. 2020 Oct 1 [cited 2022 Feb 8];87(10):633-9.
4. **Donati SY, Papazian L.**
Pneumopathies nosocomiales acquises sous ventilation mécanique. EMC – Anesthésie-Réanimation [Internet]. 2008 Jan [cited 2022 Feb 8];5(3):1-16.
5. **Mécanismes de défense du système respiratoire –**
Troubles pulmonaires et des voies aériennes – Manuels MSD pour le grand public [Internet]. [cited 2022 Feb 8].
6. **PNEUMONIES DU PATIENT DE RÉANIMATION –**
La SFAR [Internet]. [cited 2022 Feb 8].
7. **Place de la ventilation non invasive dans les soins palliatifs et en fin de vie.**
– EM consulte [Internet]. [cited 2022 Feb 8].
8. **Accueil – Médecine Intensive Réanimation [Internet].**
[cited 2022 Feb 8].
9. **Fagon J-Y.**
Diagnostic des pneumopathies acquises sous ventilation mécanique Diagnosis of ventilator-associated pneumonia. 2006;
10. **Wunderink RG.**
Ventilator-Associated Pneumonia Radiologic Diagnosis of Subscription Information for. 2000; Available from: <http://chestjournal.orghttp://www.chestjournal.org/misc/reprints.shtml>
11. **Fàbregas N, Ewig S, Torres A, El-Ebiary M, Ramirez J, De la Bellacasa JP, et al.**
Clinical diagnosis of ventilator associated pneumonia revisited: comparative validation using immediate post-mortem lung biopsies. Thorax [Internet]. 1999 [cited 2022 Feb 8];54(10):867-73.

12. **Pneumonies nosocomiales : aspects pratiques de la prise en charge – EM consulte [Internet]. [cited 2022 Feb 8].**
Available from: <https://www.em-consulte.com/article/212458/pneumonies-nosocomialesc-aspects-pratiques-de-la-p>
13. **makao MN.**
Pneumonies nosocomiales acquises sous ventilation mécanique : prédiction du diagnostic et influence sur le pronostic. <http://www.theses.fr>. 2010 Nov 5;
14. **Nair GB, Niederman MS.**
Nosocomial pneumonia: lessons learned. *Crit Care Clin* [Internet]. 2013 Jul [cited 2022 Feb 8];29(3):521–46. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23830652/>
15. **Jaulhac B, de Martino S, Brun C Le.**
Chapitre 33 – Bactéries spiralées. Denis F, Ploy M-C, Martin C, Cattoir V, editors. *Bactériologie Médicale (Troisième Édition)* [Internet]. 2016 [cited 2022 Feb 8];433–61. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9782294746161000339>
16. **Goel V, Hogade SA, Karadesai SG.**
Ventilator associated pneumonia in a medical intensive care unit: Microbial aetiology, susceptibility patterns of isolated microorganisms and outcome. *Indian J Anaesth* [Internet]. 2012 [cited 2022 Feb 8];56(6):558–62. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23325941/>
17. **Gupta A, Agrawal A, Mehrotra S, Singh A, Malik S, Khanna A.**
Incidence, risk stratification, antibiogram of pathogens isolated and clinical outcome of ventilator associated pneumonia. *Indian J Crit Care Med* [Internet]. 2011 [cited 2022 Feb 8];15(2):96–101. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21814373/>
18. **Baranzelli A, Wallyn F, Nseir S.**
Infections bronchopulmonaires à *Stenotrophomonas maltophilia* et à *Acinetobacter baumannii*. *Rev Pneumol Clin*. 2013 Oct 1;69(5):250–9.
19. **Peleg AY, Seifert H, Paterson DL.**
Acinetobacter baumannii: emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 2008 Jul [cited 2022 Feb 8];21(3):538–82. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18625687/>

20. **Dossier Acinetobacter spp – Les bactéries du genre Acinetobacter revisitées : leur importance actuelle – EM consulte [Internet]. [cited 2022 Feb 8].**
Available from: <https://www.em-consulte.com/article/77709/dossier-acinetobacter-spp-les-bacteries-du-genre-a>
21. **Floret N, Bertrand X, Thouvez M, Talon D.**
Infections nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa* : origine exogène ou endogène de la bactérie responsable ? *Pathol Biol* [Internet]. 2009 Feb [cited 2022 Feb 8];57(1):9-12.
Available from: <https://www.em-consulte.com/article/200762/infections-nosocomiales-a-pseudomonas-aeruginosa-o>
22. **El bouamri MC, Arsalane L, Kamouni Y, Yahyaoui H, Bennouar N, Berraha M, et al.**
Profil actuel de résistance aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli* uropathogènes et conséquences thérapeutiques. *Progrès en Urol.* 2014 Dec 1;24(16):1058-62.
23. **Meyer E, Schwab F, Gastmeier P.**
Nosocomial methicillin resistant *Staphylococcus aureus* pneumonia – epidemiology and trends based on data of a network of 586 German ICUs (2005–2009). *Eur J Med Res* [Internet]. 2010 Nov 30 [cited 2022 Feb 8];15(12):514. Available from: </pmc/articles/PMC3352100/>
24. **Valour F, Chebib N, Gillet Y, Reix P, Laurent F, Chidiac C, et al.**
Infections broncho-pulmonaires à *Staphylococcus aureus*. *Rev Pneumol Clin* [Internet]. 2013 Dec [cited 2022 Feb 8];69(6):368-82. Available from: <https://www.em-consulte.com/article/857805/infections-broncho-pulmonaires-a-staphylococcus-au>
25. **Benouda A, Elhamzaoui S.**
Staphylococcus aureus : épidémiologie et prévalence des souches résistantes à la méthicilline (sarm) au Maroc. *Rev Tunisienne d'Infectiologie.* 2009;15-20.
26. **Tout savoir sur l'examen cyto bactériologique des crachats [Internet]. [cited 2022 Feb 8].**
Available from: <https://www.passeportsante.net/fr/Maux/examens-medicaux-operations/Fiche.aspx?doc=examen-cytobacteriologique-crachats>
27. **Prélèvement des sécrétions bronchopulmonaires [Internet]. [cited 2022 Feb 8].**
Available from: <https://microbiologiemedicale.fr/prelevement-secretions-bronchopulmonaires-crachat-bbp-lba/>
28. **Diagnostic microbiologique de la pneumonie [Internet]. [cited 2022 Feb 8].**
Available from: <https://www.revmed.ch/revue-medicale-suisse/2014/revue-medicale-suisse-450/diagnostic-microbiologique-de-la-pneumonie>

29. **Infections respiratoires basses: les pneumopathies [Internet]. [cited 2022 Feb 8].**
Available from: <https://diag-innov.biomerieux.fr/infections-respiratoires-basses-accelerer-diagnostic-bon-usage-antibiotiques/>
30. – **Swiss Laboratory Medicine pipette. Titel.**
31. **Bl E. The polymerase chain reaction.**
A new method of using molecular genetics for medical diagnosis. *N Engl J Med* [Internet]. 1990 [cited 2022 Feb 8];322(3):178-83. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2403656/>
32. **De A, Biologie LA, Dans M. (No Title).**
33. **Kett DH, Cano E, Quartin AA, Mangino JE, Zervos MJ, Peyrani P, et al.**
Implementation of guidelines for management of possible multidrug-resistant pneumonia in intensive care: an observational, multicentre cohort study. *Lancet Infect Dis* [Internet]. 2011 Mar [cited 2022 Feb 8];11(3):181-9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21256086/>
34. **Koenig SM, Truitt JD.**
Ventilator-associated pneumonia: diagnosis, treatment, and prevention. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 2006 Oct [cited 2022 Feb 8];19(4):637-57. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17041138/>
35. **Chidiac C, Cavallo JD, Cohen R, Dupon M, Galperine T, Garraffo R, et al.**
Update on a proper use of systemic fluoroquinolones in adult patients (ciprofloxacin, levofloxacin, moxifloxacin, norfloxacin, ofloxacin, pefloxacin. SPILF.). *Med Mal Infect* [Internet]. 2015 Sep 1 [cited 2022 Feb 8];45(9):348-73. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26432627/>
36. **Blanquer J, Aspa J, Anzueto A, Ferrer M, Gallego M, Rajas O, et al.**
SEPAR Guidelines for Nosocomial Pneumonia. *Arch Bronconeumol* [Internet]. 2011 Oct 1 [cited 2022 Feb 8];47(10):510-20. Available from: <https://www.archbronconeumol.org/en-separ-guidelines-for-nosocomial-pneumonia-articulo-S1579212911001005>
37. **Chastre J, Wolff M, Fagon JY, Chevret S, Thomas F, Wermert D, et al.**
Comparison of 8 vs 15 days of antibiotic therapy for ventilator-associated pneumonia in adults: a randomized trial. *JAMA* [Internet]. 2003 Nov 19 [cited 2022 Feb 8];290(19):2588-98. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14625336/>

38. **Yoo IY, Huh K, Shim HJ, Yun SA, Chung YN, Kang OK, et al.**
Evaluation of the BioFire FilmArray Pneumonia Panel for rapid detection of respiratory bacterial pathogens and antibiotic resistance genes in sputum and endotracheal aspirate specimens. *Int J Infect Dis* [Internet]. 2020 Jun 1 [cited 2022 Feb 4];95:326–31. Available from: <http://www.ijidonline.com/article/S1201971220301430/fulltext>
39. **Buchan BW, Windham S, Balada-Llasat J-M, Leber A, Harrington A, Relich R, et al.**
Practical Comparison of the BioFire FilmArray Pneumonia Panel to Routine Diagnostic Methods and Potential Impact on Antimicrobial Stewardship in Adult Hospitalized Patients with Lower Respiratory Tract Infections. *J Clin Microbiol*. 2020 Jun;58(7).
40. **Maataoui N, Chemali L, Patrier J, Tran Dinh A, Le Fèvre L, Lortat-Jacob B, et al.**
Impact of rapid multiplex PCR on management of antibiotic therapy in COVID-19-positive patients hospitalized in intensive care unit. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* *Off Publ Eur Soc Clin Microbiol*. 2021 Oct;40(10):2227–34.
41. **Ginocchio CC, Garcia-Mondragon C, Mauerhofer B, Rindlisbacher C, Forcelledo L, Fernández J, et al.**
Multinational evaluation of the BioFire® FilmArray® Pneumonia plus Panel as compared to standard of care testing. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* [Internet]. 2021 Aug 1 [cited 2022 Feb 5];40(8):1609–22. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33655440/>
42. **Merzougui L, Barhoumi T, Guizani T, Barhoumi H, Hannachi H, Turki E, et al.**
Les infections nosocomiales en milieu de réanimation: incidence annuelle et aspects cliniques au Service de Réanimation Polyvalente, Kairouan, Tunisie, 2014. *Pan Afr Med J* [Internet]. 2018 [cited 2022 Feb 4];30. Available from: </pmc/articles/PMC6201599/>
43. **Rzepecki V, Chlilek A, Roger C, Barbar S, Lefrant J, Muller L, et al.**
Intérêt du système FilmArray® Pneumonia Plus dans la prise en charge des pneumopathies en réanimation. *Médecine Mal Infect*. 2019 Jun 1;49(4):S63.
44. **Caméléna F, Poncin T, Dudoignon E, Salmona M, Le Goff J, Donay JL, et al.**
Rapid identification of bacteria from respiratory samples of patients hospitalized in intensive care units, with FilmArray Pneumonia Panel Plus. *Int J Infect Dis* [Internet]. 2021 Jul 1 [cited 2022 Feb 4];108:568–73. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34087488/>
45. **Zacharioudakis IM, Zervou FN, Dubrovskaya Y, Inglima K, See B, Agüero-Rosenfeld M.**
Evaluation of a Multiplex PCR Panel for the Microbiological Diagnosis of Pneumonia in Hospitalized Patients: Experience from an Academic Medical Center. *Int J Infect Dis* [Internet]. 2021 Mar 1 [cited 2022 Feb 4];104:354–60. Available from: <http://www.ijidonline.com/article/S1201971221000072/fulltext>

46. **Mitton B, Rule R, Said M.**
Laboratory evaluation of the BioFire FilmArray Pneumonia plus panel compared to conventional methods for the identification of bacteria in lower respiratory tract specimens: a prospective cross-sectional study from South Africa. *Diagn Microbiol Infect Dis* [Internet]. 2021 Feb 1 [cited 2022 Feb 4];99(2). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33130507/>
47. **Ginocchio CC, Garcia-Mondragon C, Mauerhofer B, Rindlisbacher C, Forcelledo L, Fernández J, et al.**
Multinational evaluation of the BioFire® FilmArray® Pneumonia plus Panel as compared to standard of care testing [Internet]. Vol. 40, *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. Springer; 2021 [cited 2022 Feb 5]. 1609 p. Available from: </pmc/articles/PMC7924818/>
48. **Murphy CN, Fowler R, Balada-Llasat JM, Carroll A, Stone H, Akerele O, et al.**
Multicenter Evaluation of the BioFire FilmArray Pneumonia/Pneumonia Plus Panel for Detection and Quantification of Agents of Lower Respiratory Tract Infection. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2020 Jul 1 [cited 2022 Feb 5];58(7). Available from: </pmc/articles/PMC7315029/>
49. **Arabi Y, Al-Shirawi N, Memish Z, Anzueto A.**
Ventilator-associated pneumonia in adults in developing countries: a systematic review. *Int J Infect Dis* [Internet]. 2008 Sep [cited 2022 Feb 6];12(5):505-12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18502674/>
50. **Vincent JL, Rello J, Marshall J, Silva E, Anzueto A, Martin CD, et al.**
International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA* [Internet]. 2009 Dec 2 [cited 2022 Feb 6];302(21):2323-9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19952319/>
51. **Restrepo MI, Peterson J, Fernandez JF, Qin Z, Fisher AC, Nicholson SC.**
Comparison of the bacterial etiology of early-onset and late-onset ventilator-associated pneumonia in subjects enrolled in 2 large clinical studies. *Respir Care* [Internet]. 2013 Jul [cited 2022 Feb 6];58(7):1220-5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23307825/>
52. **MARJANE, Yassine.**
La Pneumopathie acquise sous ventilation mécanique et les risques infectieux associés aux dispositifs d'intubation respiratoire en réanimation à l'HMIMV de Rabat. 2012 [cited 2022 Feb 6]; Available from: <http://ao.um5.ac.ma/xmlui/handle/123456789/1812>

53. **YOUNOUSSA S, FATAOU.**
PNEUMOPATHIES NOSOCOMIALES EN REANIMATION A L'hôpital militaire d'instruction mohammed V de RABAT (hmimv) incidence, epidemiologie et impact sur la morbite et mortalite. 2020 [cited 2022 Feb 6]; Available from: <http://ao.um5.ac.ma/xmlui/handle/123456789/18323>
54. **Stratégie sectorielle de santé 2012–2016. | UNEP Law and Environment Assistance Platform [Internet]. [cited 2022 Feb 7].**
Available from: <https://leap.unep.org/countries/ma/national-legislation/strategie-sectorielle-de-sante-2012-2016>

قسم الطب

أقسم بالله العظيم

أن أراقب الله في مهنتي.

وأن أصون حياة الإنسان في كافة أطوارها في كل الظروف
والأحوال باذلة وسعي في انقاذها من الهلاك والمرض
والألم والقلق.

وأن أحفظ للناس كرامتهم، وأستر عورتهم، وأكتم سرهم.
وأن أكون على الدوام من وسائل رحمة الله، باذلة رعايتي الطبية للقريب والبعيد،
للصالح والطالح، والصديق والعدو.

وأن أثابر على طلب العلم، وأسخره لنفع الإنسان لا لأذاه.
وأن أوقر من علمني، وأعلم من يصغرنني، وأكون أختاً لكل زميل في المهنة
الطبية متعاونين على البر والتقوى.

وأن تكون حياتي مصداق إيماني في سري وعلانيتي،

نقية مما يشينها تجاه الله ورسوله والمؤمنين.

والله على ما أقول شهيدا

مساهمة تقنية فيلماري في التشخيص المبكر للاعتلالات الرئوية المكتسبة في وحدات العناية المركزة

الأطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم 2022/05/19
من طرف

السيدة انتصار كيال

المزداة في 15/11/1996 بأسفي

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات الأساسية:

فيلماري- تشخيص مبكر- عدوى المستشفى الرئوية

اللجنة

الرئيس

س. زهير

السيد

أستاذ في علم البكتيريا و الفيروسات

المشرف

ل. أرسلان

السيدة

أستاذة في علم البكتيريا و الفيروسات

ي. قاموس

السيد

أستاذ مبرز في الإنعاش و التخدير

الحكام

ي. الكاموني

السيد

أستاذ مبرز في علم البكتيريا و الفيروسات