

VETAGRO SUP
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2015 - Thèse n° 089

***LA COLISTINE : DERNIERE LIGNE THERAPEUTIQUE CONTRE
LES BACTERIES MULTIRESISTANTES***

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 11 Décembre 2015
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

MUNOZ Gaëlle
Née le 9 Janvier 1990
à Lyon



VetAgro Sup



VETAGRO SUP
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2015 - Thèse n° 089

***LA COLISTINE : DERNIERE LIGNE THERAPEUTIQUE CONTRE
LES BACTERIES MULTIRESISTANTES***

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 11 Décembre 2015
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

MUNOZ Gaëlle
Née le 9 Janvier 1990
à Lyon



VetAgro Sup



LISTE DES ENSEIGNANTS DU CAMPUS VÉTÉINAIRE DE LYON

Mise à jour le 9 Juin 2015

Civilité	Nom	Prénom	Unités pédagogiques	Grade
M.	ALOGNINOUIWA	Théodore	UP Pathologie du bétail	Professeur
M.	ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	UP Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	ARCANGIOLI	Marie-Anne	UP Pathologie du bétail	Maître de conférences
M.	ARTOIS	Marc	UP Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	BARTHELEMY	Anthony	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Contractuel
Mme	BECKER	Claire	UP Pathologie du bétail	Maître de conférences
Mme	BELLUCO	Sara	UP Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Maître de conférences
Mme	BENAMOU-SMITH	Agnès	UP Equine	Maître de conférences
M.	BENOIT	Etienne	UP Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	BERNY	Philippe	UP Biologie fonctionnelle	Professeur
Mme	BERTHELET	Marie-Anne	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
Mme	BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	UP Biologie fonctionnelle	Professeur
Mme	BOULOCHER	Caroline	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	BOURDOISEAU	Gilles	UP Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	BOURGOIN	Gilles	UP Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	BRUYERE	Pierre	UP Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Maître de conférences
M.	BUFF	Samuel	UP Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Maître de conférences
M.	BURONFOSSE	Thierry	UP Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	CACHON	Thibaut	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	CADORE	Jean-Luc	UP Pathologie médicale des animaux de compagnie	Professeur
Mme	CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	UP Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	CAROZZO	Claude	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	CHABANNE	Luc	UP Pathologie médicale des animaux de compagnie	Professeur
Mme	CHALVET-MONFRAY	Karine	UP Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	COMMUN	Loïc	UP Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	DE BOYER DES ROCHES	Alice	UP Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	UP Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	DEMONT	Pierre	UP Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	DESJARDINS PESSON	Isabelle	UP Equine	Maître de conférences Contractuel
Mme	DJELOUADJI	Zorée	UP Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
Mme	ESCRIOU	Catherine	UP Pathologie médicale des animaux de compagnie	Maître de conférences
M.	FAU	Didier	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
Mme	FOURNEL	Corinne	UP Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Professeur
M.	FREYBURGER	Ludovic	UP Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	FRIKHA	Mohamed-Ridha	UP Pathologie du bétail	Maître de conférences
Mme	GILOT-FROMONT	Emmanuelle	UP Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	GONTHIER	Alain	UP Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
Mme	GRAIN	Françoise	UP Gestion des élevages	Professeur
M.	GRANCHER	Denis	UP Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	GREZEL	Delphine	UP Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	GUERIN	Pierre	UP Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Professeur
Mme	HUGONNARD	Marine	UP Pathologie médicale des animaux de compagnie	Maître de conférences
M.	JUNOT	Stéphane	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	KECK	Gérard	UP Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	KODJO	Angeli	UP Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	LAABERKI	Maria-Halima	UP Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	LACHERETZ	Antoine	UP Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	LAMBERT	Véronique	UP Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	LATTARD	Virginie	UP Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
Mme	LE GRAND	Dominique	UP Pathologie du bétail	Professeur
Mme	LEBLOND	Agnès	UP Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	UP Equine	Maître de conférences
M.	LEPAGE	Olivier	UP Equine	Professeur
Mme	LOUZIER	Vanessa	UP Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
M.	MARCHAL	Thierry	UP Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Professeur
M.	MOUNIER	Luc	UP Gestion des élevages	Maître de conférences
M.	PEPIN	Michel	UP Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	PIN	Didier	UP Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Maître de conférences
Mme	PONCE	Frédérique	UP Pathologie médicale des animaux de compagnie	Maître de conférences
Mme	PORTIER	Karine	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
Mme	POUZOT-NEVORET	Céline	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
Mme	PROUILLAC	Caroline	UP Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
Mme	REMY	Denise	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
Mme	RENE MARTELLET	Magalie	UP Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences stagiaire
M.	ROGER	Thierry	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
M.	SABATIER	Philippe	UP Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	SAWAYA	Serge	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	SCHRAMME	Serge	UP Equine	Professeur associé
Mme	SEGARD	Emilie	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Contractuel
Mme	SERGENTET	Delphine	UP Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
Mme	SONET	Juliette	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Contractuel
M.	THIEBAULT	Jean-Jacques	UP Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
M.	TORTEREAU	Antonin	UP Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Maître de conférences stagiaire
M.	VIGUIER	Eric	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
Mme	VIRIEUX-WATRELOT	Dorothée	UP Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Maître de conférences Contractuel
M.	ZENNER	Lionel	UP Santé Publique et Vétérinaire	Professeur

REMERCIEMENTS JURY

A Monsieur le Professeur Gérard LINA,

De la faculté de Médecine de Lyon

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse

Hommages respectueux

A Madame le Docteur Caroline PROUILLAC

De VetAgro Sup, campus vétérinaire de Lyon

Qui nous a fait l'honneur d'accepter d'encadrer ce travail de thèse, nous a conseillé, aussi bien pour la rédaction que pour toutes les démarches administratives, et nous a fait confiance tout au

long de son élaboration

Remerciements chaleureux

A Madame le Docteur Zorée DJELOUADJI

De VetAgro Sup, campus vétérinaire de Lyon

Qui a eu la gentillesse de nous conseiller pendant l'élaboration de ce travail de thèse et d'accepter de participer à notre jury de thèse

Sincères remerciements

REMERCIEMENTS FAMILLE

A mon Papounet,

Parce que malgré tous ses 'Je t'avais prévenu', il ne m'a jamais laissé tomber, moi, la petite princesse capricieuse qui n'en fait qu'à sa tête. Parce que l'on n'est pas très expressif, je profite de ce moment que tu attendais autant que moi, sinon plus, pour te remercier pour tout ce que tu as fait pour moi, pour m'avoir permis de réaliser mes rêves. Je t'aime.

A ma maman,

Malgré que tu aies essayé de m'engraisser avec des financiers à la framboise pendant ma thèse, merci pour tout. Fièvre que tu sois prêt de moi pour ce grand jour. Je t'aime.

A mes grands-parents,

Pour avoir toujours été là, de ma naissance jusqu'à aujourd'hui, et j'espère pour encore longtemps. Pour m'avoir soutenu dans tous mes choix, les bons comme les mauvais. Tellement fière que vous soyez là pour me voir réaliser mon rêve de devenir vétérinaire. Vous êtes à jamais gravés dans mon cœur et dans mon âme.

A mon frère Loïck,

Pour m'avoir enquiquiné pendant presque 21 ans ! Et surtout, pour m'avoir sauvé ma thèse en récupérant toutes les données de mon ordi crashé et avoir numéroté mes pages avec brio ! Merci au meilleur des petits frères (et des informaticiens) !

A ma sœur de cœur, Marylène,

A ma plus belle rencontre de l'ENVL, à ma confidente, my Princess Sister (Db power !!), ma sœur de Twingo, ma conseillère de poney (Bébé Tornade !!). Parce que même si cette dernière année, nous avons été séparées, nous sommes restées soudées comme Winnie et Bourriquet ! Toujours à la bourre, nous allons y arriver et devenir ensemble Docteurs Vétérinaires ! Je sais que la distance ne nous éloignera pas et je serai présente à toutes les prochaines étapes de ta vie <3

A mes deux meilleures amies, Charlotte et Elsa,

Pour toutes ces années que nous avons partagé ensemble, pour nos coup de blues, nos galères mais aussi pour tous nos bons moments et nos délires. Pour m'avoir aidé à traverser ces huit années, m'avoir écouté, conseillé et reboosté quand il le fallait. Cette victoire, parce qu'être docteur c'est est une, c'est aussi un peu la vôtre ! Mêmes séparées par la distance, je ne vous oublierai jamais <3

A Claire et Emilie, mes deux compatriotes du groupe de la Loose,

Pour avoir partagés nos galères de clinique, qui deviendront pour la plupart de bons souvenirs ! Pour tous ces poneys, vaches, rottweilers et chats méchants que nous avons eu à affronter et qui nous ont rapprochés. Parce que dans un groupe de râleuses, il faut aussi de la sagesse (ou pas !), merci à toi Claire, et de la zénitude, merci à toi Emilie.

A Pascale,

Pour être une belle-maman au top, à toujours s'inquiéter pour moi. Pour m'avoir accueilli mieux que je ne pouvais l'imaginer, avec toute sa gentillesse. Merci.

Et pour finir, à l'homme de ma vie, Mickaël,

Parce que ces quelques lignes à la fin de cette page ne suffiront pas à te remercier pour ton soutien indéfectible malgré mes crises de larmes, de doute et de fainéantise ! Parce que cette étape marque un tournant dans ma vie ... mais aussi dans la tienne. Parce que ce titre de Docteur, je le partage avec toi de tout mon cœur. 'Cause I give you all of me, and you give me all of you. Je t'aime <3

TABLE DES MATIERES

TABLE DES FIGURES	8
TABLE DES TABLEAUX	8
LISTE DES ABREVIATIONS	9
INTRODUCTION	10
PARTIE I : L'EMERGENCE DE BACTERIES A GRAM NEGATIF MULTIRESISTANTES	11
PARTIE II : LA COLISTINE : CONNAISSANCES ACTUELLES ET UTILISATION CLINIQUE .	17
I. Pharmacie chimique et pharmacologie	17
A. Pharmacie chimique	17
1. Les différentes formulations.....	17
2. Structure chimique.....	18
B. Activité antibactérienne	20
1. Mécanisme d'action.....	20
2. Spectre d'activité	22
3. Les tests de sensibilité à la colistine.....	23
a. Les techniques de référence.....	23
b. Fiabilité des méthodes « alternatives » par rapport aux techniques de référence.....	24
C. Pharmacologie	26
1. Etudes pharmacodynamiques	26
2. Etudes pharmacocinétiques	27
II. Utilisation clinique	33
A. En Médecine humaine	33
1. Efficacité et toxicité associées à l'utilisation clinique de la colistine	33
a. Evaluation de la toxicité de la colistine.....	33
b. Evaluation de l'efficacité clinique de la colistine	37
2. Les différentes utilisations cliniques de la colistine	38
a. Traitements des infections respiratoires	39
b. Traitement des méningites nosocomiales postopératoires	41
c. Traitement du sepsis	44
d. Traitement des ostéomyélites et des arthrites septiques	45
e. Traitement des infections du tractus urinaire	47
f. Utilisation de la colistine en pédiatrie.....	48
g. Utilisation de la colistine en polythérapie.....	48
B. En Médecine vétérinaire	53
1. Utilisation chez les animaux de production.....	53
2. Toxicité de la colistine chez les animaux	55

3. Utilisation chez les carnivores domestiques	56
PARTIE III : L'EMERGENCE DE BACTERIES A GRAM NEGATIF RESISTANTES A LA COLISTINE.....	60
I. Mise en évidence d'isolats cliniques résistants à la colistine.....	60
A. <i>Acinetobacter baumannii</i>	60
B. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	62
C. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	62
D. <i>Escherichia coli</i>	64
E. <i>Salmonella enterica</i>	64
II. Mécanismes de résistance	66
A. Résistance acquise à la colistine chez les Enterobacteriaceae	67
1. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	67
2. <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium	70
3. <i>Escherichia coli</i>	71
B. Résistance acquise à la colistine chez les bacilles non fermentaires.....	72
1. <i>Acinetobacter baumannii</i>	72
2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	75
III. Alternatives thérapeutiques contre les bactéries à Gram négatif résistantes à la colistine et perspectives d'avenir.....	78
A. Alternatives thérapeutiques.....	78
B. Perspectives d'avenir	80
CONCLUSION.....	82
Bibliographie.....	83

TABLE DES FIGURES

Figure 1: Structure de la colistine (a) et du CMS (b)	19
Figure 2: Architecture de la paroi cellulaire d'une bactérie à Gram négatif	20
Figure 3: Section d'une bactérie <i>P. Aeruginosa</i> montrant les altérations de la cellule après l'administration de colistine A- Cellule non traitée C- Cellule traitée avec du CMS (250µg/mL pendant 30 min).....	21
Figure 4: Mécanisme de résistance à la colistine chez les Enterobacteriaceae	68
Figure 5: Morphologie et topographie des souches <i>A. baumannii</i> sensibles (A,B,C) et résistantes (D,E,F) à la colistine	74

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1: Les deux principales formulations parentérales de CMS	18
Tableau 2: Sensibilité à la colistine des bactéries à Gram négatif les plus communes cliniquement	22
Tableau 3: Dosages du CMS et ajustements en fonction des dysfonctions rénales	31
Tableau 4: Etudes récentes rapportant la toxicité liée à l'utilisation de la colistine	35
Tableau 5: Facteurs de risque de la néphrotoxicité liée à l'administration de colistine	36
Tableau 6: Etudes récentes rapportant l'efficacité clinique de la colistine.....	38
Tableau 7: Cas de méningites postopératoires dues à des bactéries à Gram négatif traitées avec de la colistine	43
Tableau 8: Formulations commerciales par voie orale disponibles en France	53
Tableau 9: Formulations commerciales par voie intramammaire ou intra-utérine disponibles en France	54
Tableau 10: Formulations commerciales par voie injectable disponibles en France	55

LISTE DES ABREVIATIONS

A. baumannii : *Acinetobacter baumannii*

AINS : Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

AUC : Area Under the Curve (Aire sous la courbe)

BLSE : β -Lactamases à Spectre Étendu

C3G/C4G : Céphalosporines de 3^{ème} et 4^{ème} Générations

CBA : Colistin Base Activity

CL / CL_R : Clairance totale / Clairance rénale

CLSI : Clinical and Laboratory Standards Institute

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CMS : Colistine Méthane Sulfonate

CPM : Concentration de Prévention des Mutations

CPS : Polysaccharides Capsulaires

DAB : Acide α - γ -diaminobutyrique

E. coli : *Escherichia coli*

EPA : Effet post-antibiotique

EUCAST : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

HPLC : Chromatographie Liquide Haute Performance

IM : Intramusculaire

IS : Séquence d'Insertion

ITH : Intrathécale

ITV : Intraventriculaire

IRA : Insuffisance Rénale Aiguë

IV : Intraveineuse

K. pneumoniae : *Klebsiella pneumoniae*

KPC : Klebsiella Pneumoniae Carbapenemase

L-Ara4N : 4-Amino-4-déoxy-L-Arabinose

LBA : Lavage Broncho-Alvéolaire

LCR : Liquide Céphalo-Rachidien

LPS : Lipopolysaccharide

MBL : Métallo- β -Lactamases

MUI : Million d'Unités Internationales

NDM : New Delhi Metallo- β -Lactamase

P. aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*

PK : Pharmacocinétique

PD : Pharmacodynamique

PEtN : PhosphoEthanolamine

PVA : Pneumonie sous Ventilation Assistée

SDC : Système à Deux Composants

S. enterica : *Salmonella enterica*

SNC : Système Nerveux Central

TAVM : Trachéobronchites Acquisées sous Ventilation Mécanique

UFC : Unité Formant une Colonie

Ugd : UDP- glucose déshydrogénase

USI : Unité(s) de Soins Intensifs

XDR : Extensively Drug Resistant

INTRODUCTION

Les polymyxines, un groupe d'antibiotiques polypeptiques constitué de 5 composants chimiquement différents (Polymyxines A-E), ont été découvertes en 1947. Seules les polymyxines B et E (aussi appelée colistine) sont utilisées en pratique clinique. La polymyxine B par voie parentérale étant très peu disponible à travers le monde (Etats-Unis, Brésil et Singapour) du fait, en partie, de sa toxicité majeure, l'utilisation des polymyxines dans la majeure partie du monde se limite à celle de la colistine.

Les polymyxines sont les premiers antibiotiques découverts avec une activité significative contre les bactéries à Gram négatif, incluant *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*. L'administration systémique de la colistine a largement été utilisée pour le traitement des infections dues aux bactéries à Gram négatif pendant deux décennies (années 1960 et 1970). Cependant, de nombreux effets toxiques (néphrotoxicité et neurotoxicité principalement) ayant été rapportés, cet antibiotique a été progressivement abandonné dans les années 1980 au profit d'antibiotiques moins toxiques tels que les aminoglycosides. La colistine reste cependant l'antibiotique de choix pour la décontamination digestive sélective, ainsi que pour la prévention et le traitement des infections pulmonaires chez les patients atteints de mucoviscidose, chez qui elle est administrée par voie intraveineuse et/ou en aérosolthérapie.

Les deux dernières décennies ont vu un déclin marqué dans la découverte et le développement de nouvelles classes d'antibiotiques, avec en parallèle une augmentation spectaculaire de la résistance aux antibiotiques actuellement disponibles, incluant les carbapénèmes (β -lactamines utilisées comme dernière ligne thérapeutique contre les maladies nosocomiales sévères). En effet, une préoccupation majeure de santé publique internationale réside aujourd'hui dans l'émergence et la propagation rapide d'infections causées par des bactéries à Gram négatif multirésistantes (c'est-à-dire résistantes à au moins trois classes d'antibiotiques), et plus particulièrement *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae* contre lesquels la colistine est souvent le seul antibiotique actif. Ces bactéries sont à l'origine d'infections nosocomiales souvent sévères (touchant particulièrement les patients critiques dans les Unités de Soins Intensifs (USI), les centres des grands brûlés, et les patients immunodéprimés) avec un taux de mortalité élevé, et pour lesquelles le traitement à la colistine est considéré comme une « thérapie de dernier recours ».

De ce fait, une optimisation de l'utilisation de la colistine (posologie/mode d'administration en fonction du patient et de la souche bactérienne identifiée), est nécessaire afin de retarder la propagation de bactéries « pan-résistantes », c'est-à-dire résistantes à tous les antibiotiques connus.

PARTIE I : L'EMERGENCE DE BACTERIES A GRAM NEGATIF MULTIRESISTANTES

L'émergence de bactéries à Gram négatif multirésistantes est alarmante dans le monde. Les bactéries sont dites multirésistantes aux antibiotiques lorsque, du fait de l'accumulation des résistances acquises, elles ne sont plus sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotiques habituellement actifs en thérapeutique. Les bactéries telles que *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae* sont la cause la plus courante d'infections nosocomiales sévères chez les patients hospitalisés dans les USI. Ces pathogènes multirésistants ont récemment été surnommés les pathogènes « ESKAPE » (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterobacter* spp) reflétant leur capacité à « échapper » aux agents antibactériens.

En effet, la résistance aux carbapénèmes des Enterobacteriaceae, mais également des souches *A. baumannii* et *P. aeruginosa* (conférée par la production de carbapénémases, notamment de type NDM (New Delhi Metallo- β -Lactamase)) est un problème émergent. En effet, depuis 2009, l'émergence et la dissémination d'isolats porteurs d'un gène plasmidique NDM ont été rapportés sur tous les continents, excepté l'Antarctique (1). Une étude menée par Kumarasamy *et al.* (2009) s'intéressant à la prévalence de souches Enterobacteriaceae multirésistantes parmi 3521 isolats (Chennai, Inde) a mis en évidence 75 *E. Coli*, 60 *Klebsiella* spp et 6 autres Enterobacteriaceae résistantes aux carbapénèmes dont 44 sont porteuses du gène NDM-1 (2).

➤ **Emergence de souches *Acinetobacter baumannii* multirésistantes**

A. baumannii est un pathogène nosocomial associé à un large panel d'infections, incluant les infections du système respiratoire, du tractus urinaire, des sites chirurgicaux, les septicémies et les méningites. La propagation de ce microorganisme entre les différents patients d'un centre hospitalier est difficile à contrôler du fait de sa capacité à persister longtemps dans l'environnement.

Les facteurs de risques associés à une colonisation ou une infection par *A. baumannii* multirésistant sont : une durée d'hospitalisation prolongée, un placement sous ventilation mécanique, une exposition prolongée à des agents antimicrobiens, une procédure invasive ou chirurgicale récente et une maladie sévère sous-jacente (3). La majorité de ces facteurs sont réunis chez les patients en USI ; ce qui explique la forte prévalence d'infections nosocomiales dues à ce pathogène dans ce type de service de soin.

Plusieurs caractéristiques d'*A. baumannii* lui confèrent des prédispositions à l'acquisition de résistance aux antibiotiques. Notamment, les canaux porines présents dans la membrane externe sont plus petits et moins nombreux que chez les autres bactéries à Gram négatif, entraînant ainsi une diminution de la perméabilité membranaire et donc une augmentation de la résistance aux antibiotiques (3).

A. Baumannii est considéré comme multirésistant lorsqu'il présente une résistance à au moins deux classes d'antibiotiques sur les cinq classes suivantes : céphalosporines, carbapénèmes, ampicilline/sulbactam, fluoroquinolones et aminoglycosides (3).

Les carbapénémases (enzymes hydrolysant les carbapénèmes et conférant donc une résistance à cette famille d'antibiotiques) décrites chez *A. baumannii* incluent les métallo- β -lactamases (dont NDM-1) et les enzymes type OXA (OXA-58 et OXA-23 principalement) (4). Les infections dues à *A. baumannii* résistant aux carbapénèmes sont associées à une mortalité élevée et le phénotype XDR (Extensively Drug Resistant, sensible uniquement à la colistine, à la tigécycline et à un (ou plus) aminoglycoside) est très répandu parmi ces souches (4). En 2014, Mezzatesta *et al.* mettent en évidence une bonne activité *in vitro* de la colistine contre *A. Baumannii* (clone ST2 produisant la carbapénémases OXA-23) (4).

Dans les USI, il a été rapporté que 30% des isolats cliniques *A. baumannii* sont résistants à au moins 3 classes d'antibiotiques, incluant souvent les fluoroquinolones et les carbapénèmes (5).

➤ **Emergence de souches *Klebsiella pneumoniae* multirésistantes**

K. pneumoniae est une bactérie à Gram négatif commune, de distribution mondiale, provoquant principalement des pneumonies nosocomiales (dont le taux de mortalité atteint souvent 50%) et communautaires. Elle est également responsable de 9% des infections nosocomiales du tractus urinaire. Elle touche, pour la plupart, des patients immunodéprimés et atteints de maladies concomitantes (6). En médecine vétérinaire, le rôle étiologique de *K. pneumoniae* a été démontré dans les mammites chez la vache laitière, les métrites et les avortements chez la jument et les infections respiratoires et des poches gutturales chez le cheval.

En 2009, Kumarasamy *et al.* s'intéressent à la prévalence de souches Enterobacteriaceae multirésistantes et identifient 47 isolats parmi 198 (Haryana, Inde), soit 24%, comme étant résistant aux carbapénèmes dont 13% sont des *K. pneumoniae* porteurs du gène NDM-1 (2).

Le mécanisme de résistance aux β -lactamines chez *K. pneumoniae* repose sur la production d'enzymes, les β -lactamases dont les BLSE (β -Lactamases à Spectre Etendu), et les carbapénémases

(codées notamment par le gène NDM-1), inactivant les antibiotiques appartenant à cette famille. De plus, une modification des ADN topoisomérases par mutation chromosomique est responsable de la résistance aux quinolones chez *K. pneumoniae*.

L'augmentation de la prévalence de *Klebsiella pneumoniae* productrice de carbapénémases (type KPC: *Klebsiella Pneumoniae Carbapenemase*) est un problème grave dans le monde avec une prévalence atteignant 12% en Italie en 2012 (contre 9% en 2009) (4). En 2014, Mezzatesta *et al.* mettent en évidence la présence de deux clones *K. pneumoniae* produisant l'enzyme KPC-3, ST147 et ST395 précédemment identifiée au Pays-Bas et au Canada ainsi qu'en Uruguay respectivement. Elle prouve ainsi la propagation de *K. pneumoniae* résistante aux carbapénèmes (4). Dans un même temps, de nombreux isolats cliniques *Klebsiella pneumoniae* productrice de carbapénémases ont été associés à une seule « Séquence Type » ST258, une lignée clonale responsable d'épidémies de grande envergure dans différentes régions des Etats-Unis, d'Israël, de Grèce et d'autres pays européens (7).

En médecine vétérinaire, des isolats cliniques de *K. pneumoniae* résistants aux carbapénèmes ont également été identifiés. En effet, des souches *K. pneumoniae* productrice de carbapénémases type OXA-48, de même nature clonale ST15, ont été isolées chez 6 chiens provenant d'une même clinique en Allemagne (8).

➤ **Emergence de souches *Pseudomonas aeruginosa* multirésistantes**

Les infections pulmonaires chroniques à *P. aeruginosa* sont une préoccupation clinique majeure, en particulier pour les patients atteints de mucoviscidose mais également une menace pour la santé publique. De nombreux antibiotiques ciblant les pseudomonas sont actuellement utilisés pour le traitement des infections bronchiques, incluant la pipéracilline/tazobactam, la ceftazidime, la tobramycine, la gentamicine, l'amikacine, la ciprofloxacine, l'imipénème et la cilastatine (appartenant principalement aux familles des β -lactamines, des aminosides, des fluoroquinolones et des carbapénèmes). Cependant, la prévalence de la résistance à ces différents agents est en augmentation ces dernières années. La surveillance appliquée de 1997 à 2000 aux Etats-Unis a montré qu'environ 16% des souches *P. aeruginosa* isolées cliniquement sont résistantes à au moins trois des anti-pseudomonas core (c'est-à-dire amikacine, gentamicine, ciprofloxacine, imipénème, ceftazidime et pipéracilline) et 1% est résistant à tous ces antibiotiques (9). Des épidémies à *P. aeruginosa* résistant à tous les antibiotiques des familles des β -lactamines, des aminosides et des fluoroquinolones ont été rapportées chez des patients atteints de mucoviscidose, ainsi que dans les unités des grands brûlés et les centres de cancérologie (9).

Les carbapénémases décrites chez *P. aeruginosa* incluent les métallo- β -lactamases (MBL) et sont responsables, avec la modification de la porine OprD par mutation génétique, de la résistance aux carbapénèmes chez ce pathogène (10) (11). De plus, des mutations sur les gènes *gyrA* et *parC* induisent une résistance aux fluoroquinolones (12).

Les données publiées par le National Nosocomial Infection Surveillance System américain rapportent des taux de la résistance à l'imipénème et aux quinolones chez *P. aeruginosa* s'élevant respectivement à 21,1% et 29,5% (13). Pour les isolats identifiés dans les USI, les taux de résistance sont souvent plus élevés (jusqu'à 51.6% pour la ciprofloxacine, 38% pour l'imipénème) (13). Selon des études de surveillance multicentrique, la proportion de souches *A. baumannii* résistantes à l'imipénème serait de 85% dans les USI en Grèce (taux de résistance le plus élevé d'Europe selon l'European Antimicrobial Resistance Surveillance System) et de 48% chez les patients hospitalisés en Espagne et en Turquie (13).

Une étude basée sur le clone SP/ST 277 brésilien *P. aeruginosa* sensible uniquement à la colistine (porteur du gène *bla_{SPM-1}*) met en évidence son potentiel épidémique voire pandémique via sa propagation du Brésil en Europe (14).

P. aeruginosa est également un pathogène opportuniste chez l'animal, causant notamment des otites chez les chiens, des mammites chez les bovins et des endométrioses chez les chevaux. La population des *P. aeruginosa* chez l'homme est distincte de celle identifiée dans l'environnement et chez l'animal. Cependant, cinq clones multirésistants ayant été associés à des épidémies humaines ont également été identifiés chez des chiens et des chevaux en France (15).

➤ **Emergence de souches *Escherichia Coli* multirésistantes**

E. coli est la bactérie commensale la plus fréquente du tractus gastro-intestinal chez l'homme et l'animal. Elle est également pathogène et responsable de nombreuses infections bactériennes. Les animaux sont potentiellement le réservoir de nombreuses zoonoses, incluant celles causées par les *E. coli* productrices de BLSE, pouvant être transmises à l'homme par contact direct ou via la chaîne alimentaire (16). Ces infections se traduisent chez l'homme par des diarrhées et des colites hémorragiques et sont associées à taux de mortalité élevée (mortalité de 16% au 30^{ème} jour) en médecine humaine (17). En médecine vétérinaire, *E. coli* est principalement responsable d'infections intestinales, de septicémies chez les jeunes animaux et les volailles, de mammites cliniques chez la vache laitière et d'infections du tractus génito-urinaire chez le chien et chez le porc.

Les premières souches animales de colibacilles résistantes au ceftiofur ont été décrites aux Etats-Unis en 1999. En 2002, 14 % des souches d'*E. Coli* isolées de mammites chez la vache y étaient résistantes. En 2004, leur prévalence dans des échantillons cliniques atteignait 26 % chez le cheval, 25% chez le chat, 16% chez le chien, 9,6% chez les bovins et 5,6% chez le porc (National Antimicrobial Resistance Monitoring System). Les principaux mécanismes de résistance sont une céphalosporinase plasmidique (CMY-2, qui a diffusé rapidement), l'hyper-expression de la céphalosporinase chromosomique AmpC suite à des mutations et des BLSE de type CTX-M (codées par des plasmides de multirésistance qui peuvent se disséminer rapidement) (16) (18). Ces plasmides de résistance sont similaires à ceux identifiés chez l'homme (19).

En 2014, en France, le Réseau d'épidémiologie et de surveillance de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes animales (Résapath) indique que le taux de résistance le plus élevée aux céphalosporines de troisième et quatrième générations (C3G et C4G) dans les infections animales se situe autour de 8 à 9% et se retrouve chez les veaux, le chiens, le chat et les équidés. Dans les autres espèces, il est égal ou inférieur à 5%, notamment chez les poules et les poulets (5,1%), les porcs (2,6%) et les dindes (0,7%) (19). De plus, la prévalence chez des animaux sains est élevée : elle est estimée, en France, entre 2005 et 2006 à 5,8% (dont 4,1% de BLSE) dans des prélèvements fécaux chez les bovins.

Concernant la résistance aux fluoroquinolones, les taux de résistance sont globalement plus élevés que ceux aux C3G/C4G : supérieur à 20% chez les bovins, supérieur à 15% chez le chien et supérieur à 10% chez le porc et environ 5% chez les volailles et les équidés.

De même que chez les autres Enterobacteriaceae, la résistance aux carbapénèmes chez *E. coli* repose sur la production de carbapénémases de type NDM. Des isolats cliniques *E. coli* productrices de NDM-1 ou de NDM-5 ont été identifiés chez des patients humains (NDM-6 et NDM-7 également) (1) (18) (20) et des animaux domestiqués (21), notamment des chiens, sur différents continents.

➤ **Emergence de souches *Salmonella* multirésistantes**

Salmonella est l'une des causes les plus fréquentes de maladies bactériennes d'origine alimentaire, avec des dizaines de millions de cas humains se produisant dans le monde chaque année. Dans l'Union Européenne, les salmonelles sont responsables de la seconde maladie zoonotique chez l'homme, avec un total de 92 916 cas en 2014. La majorité des infections sont causées par les sérovars Enteritidis et Typhimurium (16). En France, *Salmonella* constitue la première cause de toxi-infections d'origine alimentaire, se traduisant par une diarrhée fébrile 12 à 24h après la contamination. En médecine vétérinaire, différentes formes de salmonelloses sont décrites, incluant des formes

intestinales avec des diarrhées souvent hémorragiques, des septicémies chez les veaux, les poulains et les volailles et des formes génitales avec des avortements chez les ruminants et les équidés.

Les mécanismes de résistance aux β -lactamines chez *Salmonella*, et notamment aux C3G/4G, sont identiques à ceux identifiés chez *E. coli* et incluent la production de BLSE et de céphalosporinases (codées par les gènes plasmidiques AmpC et CMY-2) (16). Par ailleurs, le transfert de plasmides codant pour des BLSE ou des céphalosporinases à partir d'*E. coli* vers *Salmonella enterica* subsp *enterica* a été démontré. De plus, la transmission horizontale de plasmides porteurs du gène CMY-2 entre différents sérovars provenant de porcs, d'environnement d'élevages porcins et de cas humains a été observée. Ce résultat suggère que les environnements d'élevages porcins, et par extension d'élevages d'animaux de production, pourraient être un réservoir de souches *Salmonella* productrices de BLSE pouvant transmettre des déterminants de résistance aux animaux de productions et aux humains en contact direct (22).

En France, contrairement à *E. coli*, les phénotypes BLSE ou céphalosporinases hyperproduites n'ont jamais été détectés chez les salmonelles selon des données issues du Résapath jusqu'en 2009, où une souche de *Salmonella* Typhimurium multirésistante et porteuse d'un gène plasmidique codant pour une BLSE a été identifiée. Ce profil reste cependant exceptionnel, et *Salmonella* reste généralement sensible aux C3G/C4G (19). Deux études menées au Portugal en 2012 et 2014 mettent en évidence une augmentation du taux de résistance aux C3G de 0,45% à 1,9% chez des souches de *Salmonella* isolées chez des porcs, des volailles, de l'alimentation animale et des produits alimentaires d'origine animale (16) (23). De plus, la proportion de souches *Salmonella* multirésistantes (c'est-à-dire résistantes à au moins 3 classes d'antibiotiques) s'élève à 20%. Cependant, le taux de multirésistance des souches *Salmonella* humaines (résistantes a minima aux C3G et aux fluoroquinolones) reste relativement plus faible et varie de 5,4 à 8% (24) (25).

De nombreux isolats d'*A. Baumannii*, de *P. aeruginosa*, de *K. Pneumoniae* et d'*E. coli* résistants aux carbapénèmes et de nombreuses souches *E. coli* et *Salmonella* productrices de BLSE sont multirésistants. Les infections dues à ces bactéries sont donc difficiles à traiter du fait des options thérapeutiques limitées et mènent à une reconsidération de la colistine en tant que « thérapie de dernier recours ».

PARTIE II : LA COLISTINE : CONNAISSANCES ACTUELLES ET UTILISATION CLINIQUE

La colistine a été découverte en 1949 au Japon par Kayoma *et al.* où elle était synthétisée par *Bacillus polymyxa* subsp. *colistinus*. Elle est initialement utilisée en thérapeutique au Japon et en Europe dans les années 1950 et aux Etats-Unis sous forme de Colistine Méthane Sulfonate (CMS) en 1959 pour le traitement des infections dues à des bactéries à Gram négatif (9) (26). La colistine est également employée sous forme de solutions cutanées ou ophtalmiques, de suspension auriculaire ou par voie intramammaire (27).

I. Pharmacie chimique et pharmacologie

A. Pharmacie chimique

1. Les différentes formulations

Il existe deux formes de colistine disponibles: le sulfate de colistine et le CMS qui est la formulation parentérale disponible dans le commerce, du fait de sa toxicité moindre. Le CMS est une prodrogue inactive de la colistine (28) ; en solution aqueuse, celui-ci s'hydrolyse spontanément en colistine (forme active) (29).

Deux formulations de CMS sont disponibles commercialement en médecine humaine. La Colomycin Injection® est fabriquée et utilisée en Europe, et s'exprime en unités internationales (500000 UI, 1 ou 2 MUI par flacon). Une unité internationale est définie comme la concentration minimale inhibant la croissance d'*E. Coli* 95 I.S.M. dans 1 mL de bouillon à un pH de 7,2. La Coly-Mycin M Parenteral® est fabriquée et utilisée aux Etats-Unis, et conditionnée en flacon contenant 150 mg de CBA (Colistin Base Activity) (29). En médecine vétérinaire, la grande majorité des formulations contiennent de la colistine sulfate et s'expriment en unités internationales.

L'existence de ces deux conventions a une importance majeure lors de l'élaboration des doses thérapeutiques et de leur comparaison aux données cliniques obtenues dans les différentes régions du monde (différence pas toujours prise en compte dans les travaux publiés), et peut être une source de confusion pour les cliniciens (30) (31). De plus, les doses recommandées diffèrent selon le fabricant (Tableau 1) (32) (33) et peuvent conduire à un « sous-dosage » en CMS avec l'utilisation de la Colomycin Injection® (33).

Tableau 1: Les deux principales formulations parentérales de CMS

	Colomycin Injection®	Coly-Mycin M Parenteral®
Fabricant	Dumex-Alpha A/S (Danemark)	Parkedale Pharmaceuticals (Etats-Unis)
Expression du contenu d'un flacon	500000 UI, 1 MUI ou 2 MUI (avec environ 12500 UI/mg)	150 mg de CBA
Quantité de CMS contenu dans un flacon	40 mg, 80 mg ou 160 mg	Environ 400 mg
Dose recommandée (pour les patients avec une fonction rénale « normale »	<u>Patients ≤ 60kg</u> : 50000-75000 UI/kg/j divisés en 3 prises soit 4-6 mg de CMS/kg/j <u>Patients > 60kg</u> : 1-2 MUI TID soit 80-160 mg de CMS TID soit 240-480 mg de CMS/j	2,5-5 mg/kg/j de CBA divisés en 2 à 4 prises soit 6,67-13,3 mg de CMS/kg/j soit 480-80 mg de CMS/j (pour un patient de 60kg)
Dose journalière maximale recommandée par le fabricant	480 mg de CMS/j (pour un patient de 60kg)	800 mg de CMS/j (pour un patient de 60kg)

Comprendre la relation entre les deux conventions apparaît donc comme essentiel. Un MUI équivaut à environ 30 mg de CBA qui correspondent à environ 80 mg de CMS. Ainsi, un nombre spécifique en mg de CBA équivaut à 2,7 fois ce nombre en mg de CMS. Ces deux façons d'exprimer la dose de colistine en mg peut entraîner des erreurs de médication préjudiciables pour la santé des patients. Ce type de situation a déjà été documenté : un patient ayant reçu une dose de CMS 2,7 fois plus élevée que celle prévue a développé une insuffisance rénale aiguë (IRA) entraînant sa mort (34).

Etablir un consensus international concernant l'expression de la dose de colistine semble alors essentiel (30) (31).

2. Structure chimique

Pour comprendre le mécanisme de l'activité antibactérienne de la colistine, il est essentiel de connaître sa structure chimique. La colistine est un acyl-décapeptide (Figure 1a) constitué de :

- un hexapeptide cyclique formé de quatre molécules d'acide α - γ -diaminobutyrique (DAB), de deux molécules de D-leucine et d'une molécule de L-thréonine.
- une chaîne latérale linéaire formée de molécules d'acide α - γ -diaminobutyrique liées entre elles, d'une molécule de L-thréonine et portant, sur la fonction amine libre du dernier acide DAB, un acide gras saturé.

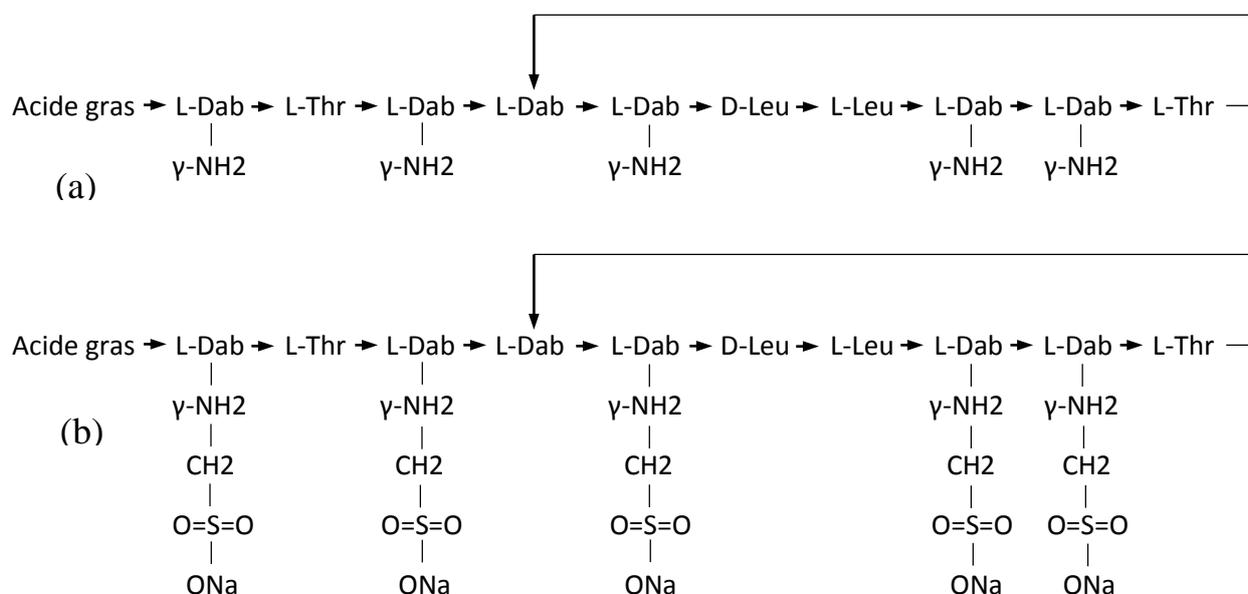


Figure 1: Structure de la colistine (a) et du CMS (b)

Acide gras : méthyl-6-octanoïque pour la colistine A et méthyl-6-heptanoïque pour la colistine B – Thr : Thréonine – Leu : Leucine

Au moins 30 composants ont été isolés à partir de la colistine dont 13 sont identifiés. Les deux composants majeurs sont la colistine A (polymyxine E₁) et la colistine B (polymyxine E₂) qui diffèrent uniquement dans la nature de l'acide gras saturé terminal : l'acide méthyl-6-octanoïque pour la colistine A et l'acide méthyl-6-heptanoïque pour la colistine B. La proportion colistine A/B dans les flacons varie selon les fournisseurs pharmaceutiques et les différents lots (9).

Du fait de la présence des 5 groupements γ -amines libres des DAB, la colistine est un cation au pH physiologique. De plus, la colistine est une molécule hétéropolaire ; avec une partie apolaire, la chaîne alkyle terminale et une partie polaire, la partie peptidique de la molécule. Cette structure lui confère des propriétés tensio-actives (dénaturation des membranes bactériennes). La portion hydrophile (partie peptidique) lui confère une légère hydrosolubilité (ayant pour conséquence une distribution extracellulaire) et la portion lipophile (chaîne alkyle) lui confère une affinité pour les phospholipides membranaires. Ce caractère amphiphile permet à la colistine de se lier de manière non spécifique à de nombreuses surfaces (35). La colistine possède également un caractère basique (pKa d'environ 10) ; elle se présente donc sous forme de sels et sous forme ionisée à plus de 99% au pH physiologique (9).

Le CMS est préparé à partir de la colistine par la réaction des groupements γ -amines libres des DAB avec le formaldéhyde suivi du bisulfite de sodium (Figure 1b). Ainsi, au pH physiologique, le CMS est un anion. Il est important de comprendre que le CMS n'est pas un sel de colistine mais une

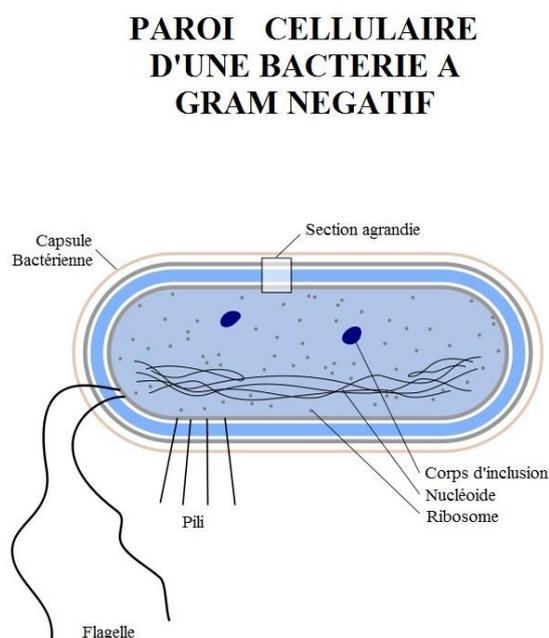
entité chimique à part entière (35). En solution aqueuse, celui-ci est hydrolysé et forme un mélange complexe de dérivés partiellement sulfométhylés, dont la colistine (9).

B. Activité antibactérienne

1. Mécanisme d'action

La majorité des études concernant le mécanisme de l'activité antibactérienne des polymyxines ont été menées avec la polymyxine B. La colistine ayant une structure chimique similaire à celle de

la polymyxine B, le mécanisme sera considéré comme identique.



Comprendre ce mécanisme requiert au préalable de connaître l'architecture de la membrane externe des bactéries à Gram négatif (Figure 2). En effet, celle-ci constitue une barrière imperméable à diverses substances nocives, tels que les antibiotiques. La colistine exerce son action antibactérienne via une interaction directe avec le lipopolysaccharide (LPS), constituant de la membrane externe des bactéries à Gram négatif (36).

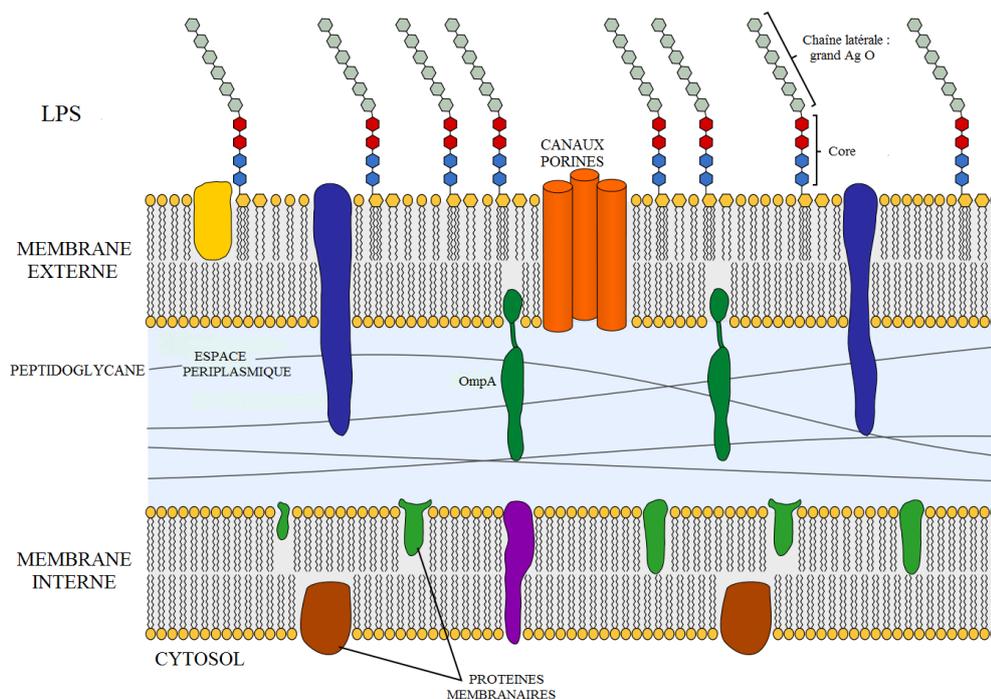


Figure 2: Architecture de la paroi cellulaire d'une bactérie à Gram négatif

Le site peptidique polycationique de la colistine se fixe par des liaisons électrostatiques sur les sites anioniques du LPS (PO_4^-) en déplaçant les ions Ca^{2+} et Mg^{2+} , qui assurent avec les protéines, la cohésion et l'intégrité de la membrane externe de la paroi des bactéries à Gram négatif. La partie hydrophobe de la molécule (partie peptidique) interagit ensuite avec le lipide A du LPS, et l'insertion de la molécule dans la membrane externe provoque sa déstabilisation. Ultérieurement, la colistine, toujours en raison de ses propriétés cationiques, se fixe sur les groupements phosphates des phospholipides de la membrane cytoplasmique. Il y a alors un arrêt de la respiration, une augmentation de la perméabilité membranaire, une fuite des constituants cellulaires, une libération d'enzymes lytiques aboutissant à la lyse cellulaire. Avec l'utilisation du microscope électronique, Falagas et Kasiakou ont mis en évidence une membrane cytoplasmique partiellement endommagée par laquelle s'échappe du matériel cytoplasmique libéré sous formes fibreuses (Figure 3) (26).

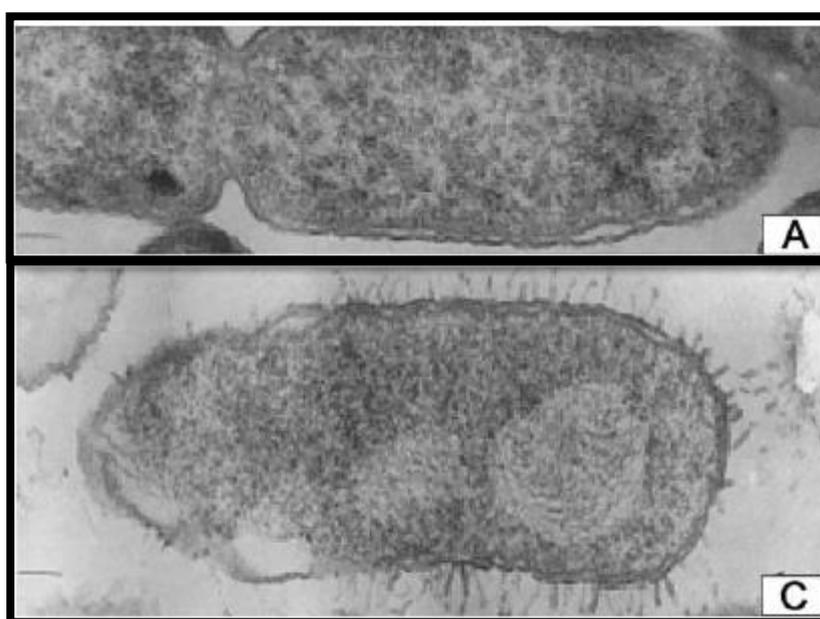


Figure 3: Section d'une bactérie P. Aeruginosa montrant les altérations de la cellule après l'administration de colistine A- Cellule non traitée C- Cellule traitée avec du CMS (250µg/mL pendant 30 min)

La colistine possède également une activité anti-endotoxine. L'endotoxine des bactéries à Gram négatif correspond au lipide A du LPS. En se liant au lipide A par sa partie hydrophobe, la colistine neutralise le LPS et son action endotoxinique (37).

La colistine a une plus forte affinité pour la membrane cytoplasmique des bactéries à Gram négatif que pour celle des cellules eucaryotes en raison de sa richesse en phosphatidyléthanolamine. *In vitro*, son activité est inhibée en présence d'ions Ca^{2+} et Mg^{2+} à des concentrations proches des valeurs physiologiques (9).

Le mécanisme exact par lequel la colistine induit la mort de la cellule bactérienne reste inconnu, et de nombreuses cibles cellulaires ont été évoquées (29).

Une étude récente a mis en évidence une inhibition de l'enzyme respiratoire NADH-quinone oxydoréductase de type II (NDH-2) par la colistine chez 2 souches de *K. pneumoniae* et une souche de *A. baumannii* ; ce qui pourrait représenter un second mode d'action de la colistine contre les bactéries à Gram négatif (38). Cependant, des études supplémentaires sont nécessaires afin de déterminer le rôle des enzymes respiratoires dans la mort cellulaire bactérienne induite par les polymyxines.

2. Spectre d'activité

La colistine possède un spectre d'activité étroit limité aux bacilles à Gram négatif. En effet, elle possède une excellente activité bactéricide contre la plupart des bacilles aérobies à Gram négatif, incluant *Acinetobacter* spp (CMI₉₀ ≤ 2 µg/mL), *P. aeruginosa* (CMI₉₀ ≤ 2 µg/mL), *Klebsiella* spp (CMI₉₀ ≤ 2 µg/mL), *Enterobacter* spp, *Escherichia coli* (CMI₉₀ ≤ 1 µg/mL) (35), *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Citrobacter* spp (Tableau 2), *Yersinia pseudotuberculosis*, *Morganella morganii*, et *Haemophilus influenzae*. Elle possède également une bonne activité *in vitro* contre *Stenotrophomonas maltophilia* et est potentiellement active contre certaines espèces de mycobactéries incluant *Mycobacterium xenopi*, *Mycobacterium intracellulare*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium phlei*, et *Mycobacterium smegmatis* (26).

Tableau 2: Sensibilité à la colistine des bactéries à Gram négatif les plus communes cliniquement

Réf	Année	Méthodes	Espèces	CMI ₅₀ (µg/ml)	CMI ₉₀ (µg/ml)	Sensibilité (%)
(35)	2006 à 2009	Microdilution en bouillon	<i>Acinetobacter</i> spp. (4686)	≤ 0.5	1	98.6
			<i>E. coli</i> (17035)	≤ 0.5	≤ 0.5	99.8
			<i>Klebsiella</i> spp. (9774)	≤ 0.5	≤ 0.5	98.5
			<i>P. aeruginosa</i> (9130)	1	1	99.6
(9)	2001	Dilution en Bouillon	<i>S. maltophilia</i>	≤ 1	32	-
			<i>B. cepacia</i>	>128	>128	-

Les concentrations critiques établies pour *P. aeruginosa* et *A. baumannii* sont respectivement ≤ 4 et ≤ 2 µg/mL selon l'EUCAST et ≤ 2 µg/mL pour les deux bactéries selon le CLSI (29).

Cependant, *Pseudomonas mallei*, *Burkholderia cepacia*, *Proteus* spp, *Providencia* spp, *Serratia* spp, *Edwardsiella* spp et *Brucella* spp sont tous résistants à la colistine de manière intrinsèque. De

plus, la colistine ne possède aucune activité contre les coques aérobies à Gram positif et négatif, les bacilles aérobies à Gram positif, toutes les bactéries anaérobies, les champignons et les parasites (26).

3. Les tests de sensibilité à la colistine

Il a été montré que le CMS est une prodrogue inactive de la colistine. L'utilisation du CMS est donc inappropriée pour effectuer les mesures de Concentration Minimale Inhibitrice (CMI), étant donné que l'activité antibactérienne est due uniquement à la colistine formée et non au CMS lui-même (28). En effet, la CMI traduit l'effet bactériostatique d'un antibiotique sur une souche bactérienne donnée ; elle équivaut à la plus faible concentration d'antibiotique capable d'inhiber toute croissance, visible à l'œil nu, de la souche à étudier, dans des conditions standards. La CMI obtenue est ensuite comparée à des concentrations critiques (déterminées par des comités ; l'EUCAST en Europe et le CLSI aux Etats-Unis) afin de catégoriser la souche bactérienne (Sensible, Intermédiaire ou Résistante).

a. Les techniques de référence

Les techniques de référence pour la mesure de la CMI pour la colistine sont des techniques de dilution en bouillon prioritairement, ou sur milieu gélosé. Elles consistent à mettre un inoculum bactérien standardisé au contact de concentrations croissantes d'antibiotiques selon une progression géométrique de raison 2.

En milieu liquide, l'inoculum bactérien est distribué dans une série de tubes (méthode de macrodilution) ou de cupules (méthode de microdilution) contenant l'antibiotique (bouillon de Mueller-Henton). Après incubation, la CMI est indiquée par le tube ou la cupule qui contient la plus faible concentration d'antibiotique où aucune croissance n'est visible.

En milieu solide, l'antibiotique est incorporé dans un milieu gélosé coulé en boîtes de Petri. La surface de la gélose estensemencée avec un inoculum des souches à étudier. Après incubation, la CMI de chaque souche est déterminée par l'inhibition de la croissance sur le milieu contenant la plus faible concentration d'antibiotique. Cette technique permet également de déterminer la CMI₉₀ et la CMI₅₀ (concentration qui inhibe la croissance de 90% et 50 % des cellules d'une souche bactérienne respectivement). Cependant, du fait de sa capacité à se lier de manière non spécifique à de nombreuses surfaces, la diffusion de la colistine dans la gélose serait limitée (CMI significativement plus élevées avec la méthode de dilution en milieu gélosé) (34). Cet effet pourrait être réduit par l'ajout d'un

surfactant, type polysorbate 80, à la gélose (CMI obtenues plus faible après l'ajout de polysorbate 80) (39). L'ajout de surfactant n'est actuellement pas standardisé par le CLSI (34).

Ces deux techniques de référence ont une excellente concordance entre elles (40), mais elles sont, dans la pratique courante, onéreuses, chronophages et laborieuses (41). De nombreux laboratoires utilisent donc des méthodes alternatives telles que la méthode de diffusion sur disques, la technique des E-test® et le système Vitek2® (39).

b. Fiabilité des méthodes « alternatives » par rapport aux techniques de référence

➤ Méthode de diffusion sur disques

La méthode de diffusion sur disque reste la technique la plus utilisée dans les laboratoires cliniques de microbiologie (42). Il n'existe cependant aucun critère d'interprétation déterminé par les comités pour la colistine excepté pour *P. aeruginosa* (CLSI, 2007).

Des disques de papier buvard, imprégnés de l'antibiotique à tester, sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier. Dès l'application des disques, les antibiotiques diffusent de manière uniforme si bien que leurs concentrations sont inversement proportionnelles à la distance du disque. Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture. À la limite des zones d'inhibition, il existe dans la gélose des concentrations d'antibiotiques correspondant aux CMI qui ne peuvent être chiffrées directement. Il existe une relation, appelée droite de concordance ou droite de régression, entre les diamètres des zones d'inhibition et les \log_2 des CMI mesurées par les techniques de dilution, établie par des laboratoires spécialisés travaillant dans des conditions standardisées.

Les différentes études révèlent une concordance bonne (concordance de 98,5% avec la technique de microdilution en bouillon sur 281 bactéries à Gram négatif multirésistant (40)) à faible (concordance de 46,5% avec la technique de dilution en milieu gélosé sur 151 isolats porcins *E. Coli* (43)) avec les méthodes de dilution.

En revanche, la majorité des études s'accordent à dire que, contrairement aux résultats obtenus avec l'une ou l'autre des méthodes de référence, la répartition des isolats bactériens testés n'est pas bimodale (répartition Sensible ou Résistant) avec une grande proportion des isolats catégorisée comme Intermédiaires avec la technique de diffusion sur disques. De plus, le taux de résultats « faussement Sensibles » est pour la plupart $> 1,5 \%$ (43) (44) ; ce qui est considéré comme inacceptable du point de vue de la fiabilité du test.

La technique de diffusion sur disques apparaît donc comme peu fiable et devrait être confirmée par une méthode de dilution, spécialement dans les cas où la colistine est utilisée comme traitement d'une infection systémique sévère.

➤ **Technique E-test® et système automatisé Vitek2®**

La mesure de la sensibilité aux antibiotiques par la technique E-test® repose sur l'utilisation de bandelettes imprégnées d'un gradient exponentiel d'antibiotique (30 concentrations). Il s'agit d'une méthode qualitative qui permet la détermination de la CMI d'un antibiotique par diffusion en milieu gélosé. La lecture de la CMI est manuelle, et nécessite donc une bonne formation des opérateurs. Elle peut être également automatisée par trois types d'appareil, dont le Vitek2®. Dans ce cas, seules 3 ou 4 concentrations d'antibiotiques sont utilisées avec les différentes cartes, la machine extrapole donc la CMI par rapport à la gamme de concentrations testée. Le résultat est donc interprété en catégorie thérapeutique (Sensible, Intermédiaire ou Résistant) (45).

Les différentes études révèlent des résultats variables concernant la fiabilité de la technique E-test®. En effet, la majorité des essais met en évidence une bonne concordance entre les méthodes de dilution et la technique E-test®, qui varie de 81 à 98,2% (40) (41) (42) (46) avec des taux de résultats « faussement Sensibles » et « faussement Résistants » acceptables (40) (41) (43) excepté pour une étude mettent en évidence des taux inacceptables pour des isolats *P. aeruginosa* (46).

Une étude menée sur des isolats *A. baumannii*, *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae* met en évidence une faible concordance entre la technique E-test® et la technique de microdilution en bouillon avec des taux de résultats « faussement Sensibles » et « faussement Résistants » inacceptables (32% et 4,7% respectivement). De plus, les CMI obtenues avec la technique E-test® sont significativement plus élevées pour les CMI < 4 mg/L et plus faibles pour les CMI > 4 mg/L (c'est-à-dire pour les isolats résistants) (39). Un phénomène similaire a été rapporté en fonction de la souche bactérienne testée : Nhung *et al.* mettent en évidence des CMI significativement plus élevées avec la technique E-test® pour les isolats *P. aeruginosa* et plus faible pour les isolats *A. baumannii* et les Enterobacteriaceae (41).

La technique E-test® apparaît donc plus fiable pour certaines souches bactériennes (*E. coli*) que pour d'autres (*P. aeruginosa*); elle doit donc être utilisée avec précaution en pratique. Il s'agit cependant d'une méthode relativement rapide et peu coûteuse, et qui permet la détection des isolats hétérorésistants (42).

En revanche, plusieurs études récentes s'accordent sur le fait que le système Vitek2® est un test non fiable pour détecter la résistance à la colistine chez les bacilles à Gram négatifs : concordance de

82% avec la méthode de dilution en milieu gélosé sur 172 bactéries à Gram négatifs, avec un taux de résultats « faussement Sensibles » de 18% (46).

C. Pharmacologie

Pour comprendre la pharmacocinétique (PK) et la pharmacodynamique (PD) de la colistine, il est essentiel de prendre en compte le fait que le CMS est instable et qu'il se convertit lentement en colistine *in vivo* mais également *in vitro* dans les solutions tampons et les échantillons microbiologiques. De ce fait, les concentrations en colistine sont surestimées en cas de conversion significative du CMS en colistine après la collecte des échantillons ; ce qui conduit à des analyses pharmacologiques inexactes (35).

1. Etudes pharmacodynamiques

Le CMS étant une prodrogue inactive de la colistine, les études de pharmacodynamie utilisant le CMS ne sont donc pas valides.

➤ Cinétique statique et dynamique de bactéricidie *in vitro*

La colistine a montré un effet bactéricide concentration-dépendant rapide contre *A. baumannii*, *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae* dans les études de bactéricidie statique. Cependant, l'analyse des profils de populations bactériennes révèle l'existence d'une faible proportion de bactéries résistantes dans de nombreux isolats cliniques d'*A. baumannii*, de *P. aeruginosa* et de *K. pneumoniae*. Lors de l'exposition à la colistine, les cellules sensibles sont détruites et la sous-population résistante est amplifiée jusqu'à obtenir dans certains cas, 100% de bactéries restantes capables de croître sur une gélose contenant 10µg/mL (pour une concentration critique de 4µg/mL) (35) (47).

Il y a seulement un nombre restreint d'études de bactéricidie dynamique *in vitro* de la colistine contre les bactéries à Gram négatif. Bergen *et al.* ont examiné l'impact de trois posologies différentes en CMS (même dose journalière mais en une, deux ou trois prises quotidiennes), par voie intraveineuse (IV), contre deux souches de *P. aeruginosa*. Aucune différence de l'effet bactéricide n'est observée. En revanche, il semblerait que l'administration en 3 prises quotidiennes soit celle la plus efficace pour retarder l'émergence de souches résistantes à la colistine (35).

L'effet post-antibiotique (EPA) correspond à l'inhibition durable de la croissance bactérienne après élimination quasi-totale de l'antibiotique.

Un très modeste EPA est observée avec la colistine contre *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae* à des concentrations élevées (32 x CMI). Une étude sur l'EPA de la colistine (exposition pendant 20 min) contre *A. baumannii* ATCC 19606 et 5 isolats cliniques a mis en évidence un EPA modeste (0,3-3,5h) voir négatif (les bactéries traitées avec la colistine ont une croissance plus rapide après retrait de la molécule que celle des bactéries non traitées).

➤ Modèle PK/PD

Bergen *et al.* sont les premiers à avoir employé un modèle PK/PD *in vitro* pour démontrer que $fAUC/MIC$ est l'index le plus prédictif de l'activité antibactérienne de la colistine contre *P. aeruginosa* (48). Dudhani *et al.* utilisent des modèles *in vivo* d'infections musculaire -de la cuisse- et pulmonaires chez des souris neutropéniques pour identifier l'index PK/PD le plus prédictif de l'activité antibactérienne de la colistine contre *A. baumannii*, *P. aeruginosa*. En accord avec les études PK/PD, $fAUC/CMI$ révèle la meilleure corrélation avec l'activité de la colistine contre les deux pathogènes dans les deux modèles (49). $fAUC/CMI$ correspond à l'aire sous la courbe (AUC) lorsque la concentration en colistine en fonction du temps est supérieure à la CMI. Cependant, une variabilité entre les deux sites d'infections est observée : les valeurs de $fAUC/CMI$ nécessaires pour obtenir une diminution de $2\log_{10}$ UFC/mL (Unité Formant une Colonie/mL) de la charge bactérienne sont plus élevées pour le modèle d'infection pulmonaire (36,9-45,9) que celles pour le modèle d'infection musculaire (27,6-36,1). Cette variabilité traduit un comportement bactérien différent suivant le site de l'infection et/ou une différence de biodisponibilité de la colistine selon le site infecté (49). De plus, l'étude de $fAUC/CMI$ indique que la concentration moyenne en colistine à l'équilibre (durant la phase de maintenance) est plus importante que la réalisation d'un pic de concentration plasmatique obtenue par une dose plus élevée administrée moins fréquemment (47) (49).

2. Etudes pharmacocinétiques

➤ Etudes PK précliniques chez le rat

Chez le rat, de nombreuses études PK concernant la colistine et le CMS révèle que la méthode de Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC) est capable de distinguer la concentration de la colistine de celle du CMS (50). Après l'administration d'un bolus IV de sulfate de colistine (1 mg/kg), la clairance totale (CL) de la colistine est de $5,2 \pm 0,4$ mL/kg/min et est associée à une clairance rénale (CL_R) de $0,010 \pm 0,008$ mL/kg/min, valeur très inférieure à celle du taux de filtration glomérulaire (2,3 mL/kg/min). Seul $0,13 \pm 0,009$ % de la dose de colistine administrée est retrouvé

dans les urines après 12h (50). Ce résultat traduit une importante réabsorption rénale de la colistine ainsi qu'une élimination de celle-ci par voie non-rénale principalement.

Après l'administration d'un bolus IV de CMS (15 mg/kg), une conversion du CMS en colistine est observée. La CL du CMS est de 11,7 mL/kg/min et la CL_R est de 7,2 ± 2,2, mL/kg/min (supérieur au taux de filtration glomérulaire 5,2 mL/kg/min), indiquant une sécrétion tubulaire importante du CMS dans les urines. Après 24h, 61,1 ± 14,4% de la dose totale de CMS est retrouvée dans les urines, dont la moitié est présente sous forme de colistine. Cependant, les études PK révèlent que seulement 7% du CMS est converti en colistine systémique. Considérant la faible conversion systémique du CMS en colistine, l'importante réabsorption tubulaire rénale de celle-ci et la capacité du CMS à s'hydrolyser en colistine en milieu aqueux (dont l'urine), la concentration urinaire élevée en colistine mise en évidence après l'administration de CMS est très probablement due à la conversion du CMS dans les cellules tubulaires rénales, la vessie ou dans les échantillons d'urine (51). La demi-vie de la colistine formée est approximativement égale à deux fois celle du CMS administrée et similaire à celle de la colistine sulfate (55,7 ± 19,3 min et 23,6 ± 3,9 min respectivement), suggérant une rapide conversion du CMS en colistine et que l'élimination de celle-ci n'est pas limitée par sa formation à partir du CMS (51).

➤ **Etudes PK cliniques chez l'homme**

Les résultats PK des anciennes études (menées approximativement avant 2001) concernant la colistine/CMS ont été obtenus avec des essais microbiologiques ne permettant pas de distinguer les deux entités chimiques (47). Les études citées ci-dessous ont été conduites avec des méthodes, telles que la HPLC, permettant de mesurer séparément et quantitativement les concentrations en colistine et CMS respectives.

Etant donné l'augmentation de l'utilisation de la colistine en tant que « thérapie de la dernière chance » chez les patients critiques atteints d'infections à bactéries à Gram négatif, comprendre sa PK est primordiale pour optimiser les dosages en fonction du patient, de la voie d'administration et de la souche bactérienne incriminée.

Le sulfate de colistine et le CMS sont très peu absorbés par le tractus intestinal des adultes, les surfaces muqueuses et par les surfaces enflammées ou brûlées. Cependant, une absorption intestinale a été observée chez les veaux nouveau-nés (<48h) et les nourrissons (9).

Concernant l'administration de la colistine en aérosolthérapie, de très faibles concentrations plasmatiques en colistine (< 0,064 mg/L) ont été détectées chez 5 patients atteints de mucoviscidose après nébulisation de 160 mg de CMS. De façon similaire, de faibles concentrations systémiques (<

0,159 mg/L) ont été observée chez 5 patients atteints de mucoviscidose et 6 volontaires sains après inhalation de 25 mg de sulfate de colistine (34). Ces résultats ont été confirmés dans des études plus récentes, indiquant une faible toxicité systémique du CMS en inhalation/nébulisation.

Après l'administration IV de CMS (1,88 à 8,44 MUI/j – 56 à 253 mg CBA/j) chez 5 patients critiques, la concentration en colistine formée dans le LCR (liquide céphalo-rachidien) varie entre 0,041 et 0,099 µg/mL ; révélant que l'administration IV de CMS n'est pas adapté au traitement des méningites (35). En effet, la pénétration de la colistine dans le LCR après une administration IV de CMS est seulement de 5% de la concentration sérique totale en colistine (52).

Imberti *et al.* ont étudié l'état d'équilibre PK de la colistine chez 13 patients atteints de pneumonie sous ventilation assistée (PVA ou pneumonie nosocomiale) due à bactéries à Gram négatif. Après l'administration de 2 MUI (soit 65 mg de colistine base) en IV toutes les 8 heures, la concentration plasmatique maximale en colistine à l'état d'équilibre, C_{maxEq} , est de $2,21 \pm 1,08$ µg/mL 1 heure après l'administration avec une demi-vie apparente de $5,9 \pm 2,6$ h. Cette étude suggère que l'administration IV de 2 MUI de CMS toutes les 8 heures entraîne l'obtention de concentrations plasmatiques en colistine subinhibitrices (53). Ce résultat est confirmé par de nombreuses autres publications, notamment, deux études successives qui regroupent 28 patients (fonctionnement rénal variable avec des clairances de la créatinine entre 24 et 214 mL/kg/min) recevant 1 à 3 MUI de CMS (90 mg CBA) toutes les 8 heures. L'analyse PK combinée de ces deux études a estimé la CL du CMS à 13,1 L/h, sa demi-vie à 2,2 h et celle de la colistine formée à 18,5 h. L'analyse des résultats met en évidence une exposition des patients à une concentration plasmatique en colistine subinhibitrice pendant 2 à 3 jours, avant l'obtention de l'état d'équilibre (35) (36) (47). Même avec une C_{maxEq} moyenne de 2,3 µg/mL (sans prendre en compte la liaison aux protéines plasmatiques), une fraction importante des patients a une concentration plasmatique en colistine inférieure à la concentration critique de 2 µg/mL (35) (47). En se basant sur ces considérations, un dosage du CMS au cours de l'antibiothérapie associé à la mise en place d'une dose de charge sont nécessaires (35) (36).

Le nombre d'études PK sur le CMS/colistine est très limité chez les patients en thérapie de remplacement rénal. Une étude récente a montré une clairance extracorporelle efficace du CMS et de la colistine (54). En se basant sur les résultats PK, les auteurs suggèrent des doses de charge et de maintenance pour les patients en hémodialyse intermittente et ceux en thérapie de remplacement rénal continu, ainsi que les doses supplémentaires après une session de dialyse.

Une étude PK récente est menée sur 105 patients critiques avec une large gamme de fonctionnement rénal (clairance de la créatinine de 3 à 169 mL/min/1,73 m², 4 patients en dialyse intermittente et 4 en thérapie de remplacement rénal continu) recevant quotidiennement 200 mg CBA

en moyenne. Pour la première fois, la clairance de la créatinine est identifiée comme une importante covariable de la CL du CMS (éliminé principalement par voie rénale) et de la clairance apparente de la colistine (éliminée principalement par voie non-rénale) (35). Avec le déclin de la fonction rénale, une large fraction du CMS est convertie en colistine ; ce qui explique la diminution apparente de la CL de la colistine formée avec la diminution de clairance de la créatinine. En se basant sur les résultats PK de cette étude, les auteurs ont proposé différentes doses de maintien en accord avec le fonctionnement rénal du patient afin d'obtenir une concentration moyenne en colistine à l'état d'équilibre supérieure à la concentration critique (35). Il est important de noter qu'avec les dosages recommandés, il est difficile d'atteindre des concentrations en colistine formée suffisantes avec le CMS utilisé en monothérapie, spécifiquement chez les patients avec un fonctionnement rénal moyen à bon. Le fait que la néphrotoxicité est un facteur limitant de l'utilisation du CMS en IV doit également être souligné. L'utilisation du CMS en polythérapie semble être nécessaire, en particulier pour les souches avec une CMI > 1 µg/mL isolées de patients avec une clairance de la créatinine > 70 mL/min/ 1,73 m² (35) (36) (47) (55).

Le CMS est principalement éliminé par voie rénale, alors que la colistine formée *in vivo* est inefficacement éliminée par cette voie. Chez un patient avec une fonction rénale normale, seule une très petite fraction du CMS est convertie en colistine. Sans administration d'une dose de charge, l'accumulation lente de la colistine formée dans le plasma peut entraîner une exposition suboptimale pendant les 2 à 3 premiers jours de la thérapie, aboutissant à l'émergence de résistance (35) (47).

➤ **Dosages recommandés d'après les études cliniques PK**

Comme vu précédemment, en l'absence de dose de charge, la concentration sérique en colistine met 2 à 3 jours pour atteindre un état d'équilibre. Ce laps de temps avant d'obtenir une antibiothérapie efficace est associée à une mortalité plus élevée ; ce qui justifie l'initiation du traitement avec une dose de charge (55). Les études PK/PD supportent cette stratégie et aucune augmentation de la toxicité n'est observée avec l'utilisation d'une dose de charge. Dalfino *et al.* ont démontré l'efficacité et l'innocuité de cette stratégie avec l'utilisation d'une dose de charge en colistine (9 MUI de CMS) suivie d'une thérapie de maintien (4,5 MUI toutes les 12h) pour le traitement de patients atteints de PVA ou de septicémies (Tableau 3) (56).

Les doses recommandées ont été établies pour un poids idéal. Les données concernant l'adaptation des doses chez les patients obèses sont très limitées. Il a été démontré que ni la dose journalière, ni la dose cumulative de colistine n'est corrélée à l'incidence de la néphrotoxicité chez les patients en surpoids ou obèses. Cependant, les doses journalières utilisées dans cette étude sont plus faibles que celles suggérées par les études PK de 2011 (55). En revanche, certaines données

suggèrent que l'utilisation de la colistine chez les patients obèses avec un dosage basé sur le poids réel, entraînerait une augmentation du risque d'IRA (57). Ainsi, en l'absence de donnée fiable concernant l'adaptation des doses chez les patients obèses ou en surpoids, il est judicieux d'utiliser le poids idéal dans le calcul des posologies.

Même si l'élimination rénale de la colistine est très limitée, sa prodrogue le CMS, est principalement éliminée par les reins. Ainsi, l'utilisation de la colistine chez les patients insuffisants rénaux nécessite un ajustement des doses. D'après les études PK publiées par Garonzik *et al.*, l'antibiothérapie est initiée par une dose de charge, même en cas d'insuffisance rénale (Tableau 3). Pour tenir compte du dysfonctionnement rénal, le dosage recommandé inclue une diminution de la dose et/ou une augmentation de l'intervalle d'administration (58). Pour les patients nécessitant une thérapie de remplacement rénal (intermittent ou permanent), les doses recommandées de CMS sont établies afin d'atteindre une concentration sérique en colistine de 1 µg/mL (Tableau 3). Une session d'hémodialyse réduit considérablement les concentrations sériques en colistine et en CMS ; ainsi une dose additionnelle correspondant à 130-150% de la dose de maintenance est administrée après chaque session (Tableau 3) (58).

*Tableau 3: Dosages du CMS et ajustements en fonction des dysfonctions rénales
CL_{CR} : clairance de la créatinine*

Dose de charge		Doses de maintenance			Hémodialyse (HD)	Thérapie de Remplacement Rénal Continu
Fonction rénale					Intermittente	
CL _{CR} (mL/min)		≥ 50	> 20 – 50	≤ 20		
CMS MUI (mg/kg CBA)	9 MUI (5mg/kg)	4,5 MUI/ 12h (2,5 mg/kg)	4,5 MUI/ 24h (2,5 mg/kg)	4,5 MUI/ 48h (2,5 mg/kg)	0,9 MUI (30mg) Jours sans HD	2 MUI (67 mg)
					1,5 MUI (50mg) Après session HD	

La colistine est en aérosolthérapie à 1 MUI/j pour les patients ≤ 40 kg et 2 MUI/j pour les patients > 40 kg est utilisée comme thérapie adjuvante dans le traitement des pneumonies dues à des bactéries à Gram négatifs (37).

➤ Quelques données PK cliniques chez l'animal

Chez l'animal, les études PK concernant la colistine/CMS sont relativement anciennes (avant 2001) et le dosage de la colistine est effectué par des techniques microbiologiques. Seules celles utilisant la colistine sulfate sont donc valides. Chez le veau, l'administration IV de 25 000 UI/kg de colistine sulfate est caractérisée par un volume de distribution de 1,02 L/kg, une clairance totale de 0,15 L/h/kg et un temps de demi-vie de 4,52 h. L'administration par voie IM permet d'obtenir une concentration plasmatique maximale de 1,1 µg/mL en un temps moyen de 0,5 h. La demi-vie est de

6,47 h et ne diffère pas significativement de celle par voie IV. De plus, l'administration répétée par voie IM de 25 000 UI/kg toutes les 12h pendant 3 jours permettrait de maintenir un effet bactéricide et de diminuer les risques de néphrotoxicité et de neurotoxicité (59).

II. Utilisation clinique

A. En Médecine humaine

1. Efficacité et toxicité associées à l'utilisation clinique de la colistine

a. Evaluation de la toxicité de la colistine

Les deux principaux effets toxiques liés à l'utilisation de la colistine sont la néphrotoxicité et la neurotoxicité. D'autres effets secondaires plus rares sont rapportés suite à l'administration du CMS. En effet, environ 2% des patients développent une réaction allergique (éosinophilie, éruptions cutanées maculaires et urticaire) (32) (60). Des cas d'ototoxicité (utilisation de topiques auriculaires), de fièvre et de perturbations gastro-intestinales ont également été décrits (27).

De plus, les effets adverses liés à l'administration de colistine en aérosolthérapie sont une irritation de la gorge, une toux, une bronchoconstriction (même chez les patients sans antécédent d'asthme bronchique ou d'atopie) et une oppression thoracique. La bronchoconstriction est due à la stimulation chimique, la libération d'histamine, l'irritation de la « mousse » produite par la nébulisation et de l'hyperosmolarité dans les voies respiratoires. Ce phénomène conduit le plus souvent à l'arrêt (temporaire ou non) de la médication, l'administration de bronchodilateurs (qui peuvent aussi être administrés de manière préventive) et à la mise en place d'une oxygénothérapie. Il est important de souligner que les solutions de colistine destinées à l'aérosolthérapie doivent être administrées directement après leur préparation (60).

La toxicité du CMS observée dans les premières études cliniques est en partie imputable au défaut de données PK/PD et toxicodynamiques et à son utilisation à des doses inappropriées (confusion potentielle due à l'existence de deux conventions concernant l'expression de l'unité des différentes formulations) (33).

➤ Néphrotoxicité

La colistine peut induire un effet toxique direct dose-dépendant sur les reins, qui conduit à une nécrose tubulaire rénale et une insuffisance rénale, se manifestant par une augmentation de la créatinémie et de l'urémie associée à une diminution de la clairance de la créatinine. Une hématurie, une protéinurie et une cylindrurie voire une anurie (en cas d'IRA sévère) peuvent également être observées. Lorsque l'administration de colistine est associée à un dysfonctionnement rénal, l'arrêt précoce de la médication est nécessaire. Une fluidothérapie adaptée de façon à maintenir une valeur

de pression veineuse centrale raisonnable, un monitoring des électrolytiques sériques et une diurèse rapide par l'administration de mannitol doivent alors être mis en place (27) (60).

La majorité des premières études révèlent une incidence élevée de la néphrotoxicité (mais la plupart ne définissent pas cette notion). En particulier, trois études s'intéressant à l'administration IV de CMS en tant que traitement d'infections dues à des bactéries à Gram négatif (regroupant respectivement 48, 23 et 8 patients) ont mis en évidence une augmentation prolongée de l'urémie (+ 50 mg/dL en moyenne) dans 10% des cas, la mise en place d'une thérapie de remplacement rénal chez 26,1% des patients, une augmentation de la créatinémie (+ 0,2 à 2mg/dL) et une diminution de la clairance de la créatinine (- 16,5 à 38 mL/min) dans 50% des cas (60).

Les données des études récentes ne corroborent pas l'incidence élevée de la néphrotoxicité induite par la colistine précédemment rapportée. La définition de la néphrotoxicité est basée sur l'augmentation de la créatinémie, la diminution de la clairance de la créatinine par rapport aux valeurs basales, et la nécessité de la mise en place d'une thérapie de remplacement rénal ; elle n'est cependant pas standardisée entre les différentes publications. Les études contemporaines mettent également en évidence une néphrotoxicité de la colistine moindre en comparaison avec celle des aminoglycosides, de la tobramycine (33) et de l'imipenème seul (61) ou en association avec la cilastatine (60).

En termes d'incidence de la néphrotoxicité associée à l'administration de colistine, les valeurs diffèrent selon les études (Tableau 4). On observe une incidence variant de 9 à 43% mais associée à des doses journalières et des durées de traitement également très variables (Tableau 4). En particulier, Dalfino *et al.* (2012) présentent des données concernant l'incidence d'IRA chez 28 patients critiques traités avec des doses en CMS établies en accord avec les études PK/PD (dose de charge de 9 MUI puis dose de maintenance de 4,5 MUI/12h avec une augmentation de l'intervalle d'administration en fonction de la clairance de la créatinine). Malgré l'administration de doses élevées à intervalle étendu, l'incidence d'IRA s'élève à 17,9%. De plus, l'IRA est relativement modérée, réversible à l'arrêt du traitement et ne nécessitant ni l'arrêt de la médication, ni la mise en place d'une hémodialyse (56). Dans une étude rétrospective analysant la toxicité associée à une antibiothérapie prolongée (CMS IV à 4,4 MUI/j en moyenne pendant une durée > 4 semaines chez 17 patients hospitalisés en USI), une augmentation significative de 0,25 mg/dL de la valeur moyenne de la créatinémie est observée au cours du traitement ($p < 0,001$) avec un retour à la normale après l'arrêt du traitement. Seul un patient voit sa créatinémie augmenter de plus de 50% au cours du traitement. Ainsi, Falagas *et al.* (2006) ne mettent en évidence aucun impact de la durée du traitement (et donc de la dose cumulée de CMS) sur l'incidence de la néphrotoxicité (61) ; résultat confirmé par d'autres publications (62).

Tableau 4: Etudes récentes rapportant la toxicité liée à l'utilisation de la colistine

ND : Non décrit - CL_{CR} : clairance de la créatinine

Réf	Etude (nombre de cas)	Dose journalière moyenne en CMS IV	Durée moyenne du traitement	Néphrotoxicité	Neurotoxicité
(61)	Rétrospective (19)	4,4 MUI/j	43,4 j	ND	Symptômes de polyneuropathie le 25 ^e j puis amélioration progressive (1/19)
(63)	Rétrospective (115)	4,5 MUI/j (et adaptation en fonction de CL _{CR})	10,5 j	14 % (2/115 nécessitant une hémodialyse)	3,5 % - altération du statut mental (1/115) et crise focale des extrémités (2/115)
(56)	Prospective (28)	Dose de charge 9 MUI puis 4,5 MUI/12h (et adaptation en fonction de CL _{CR})	11,8 j	17,8 % IRA	Aucune néphrotoxicité observée
(64)	Prospective (15)	2,5 MUI/j (max 4,5 MUI/j)	32,7 j	40% toxicité rénale sévère à modérée	Aucune néphrotoxicité observée
(65)	Rétrospective (78)	5 MUI/12h	ND	30,8 %	Aucune néphrotoxicité observée
(66)	Rétrospective (24)	1 à 2 MUI/8h	14 j	12,5 %	Aucune néphrotoxicité observée
(67)	Prospective (200)	6 à 9 MUI (1 à 2 MUI en cas d'hémodialyse)	10 j (médiane)	12,5 %	Aucune néphrotoxicité observée
(68)	Prospective (21)	5,5 MUI	17,7 j	14,1 %	Aucune néphrotoxicité observée
(69)	Rétrospective (47)	ND	11,8 j	31,9 %	Aucune néphrotoxicité observée
(70)	Rétrospective (36)	≥ 9 MUI/j	ND	38,9 %	Aucune néphrotoxicité observée
(62)	Rétrospective (126)	8 à 10,5 MUI/j	ND	43 % (dont 78 % pendant la 1 ^e semaine)	Aucune néphrotoxicité observée
(71)	Rétrospective (43)	3 MUI/8h	18,6 j	18,6 %	Aucune néphrotoxicité observée
(72)	Rétrospective (78)	5,5 MUI/j	9,3 j	9 %	Aucune néphrotoxicité observée

Il est important de souligner qu'une proportion importante des patients inclus dans ces études reçoit d'autres agents néphrotoxiques co-administrés avec la colistine. L'incidence de la néphrotoxicité rapportée n'est donc pas totalement imputable à l'administration de colistine. En effet, les facteurs de risques de la néphrotoxicité liée à l'utilisation de la colistine incluent l'âge avancé des patients (57) (73) (71), l'obésité (57), la préexistence d'un dysfonctionnement rénal (71), l'hypoalbuminémie (57) (69), des doses élevées (> 9MUI) en CMS (62) (70) (73) et l'administration concomitante d'agents néphrotoxiques, notamment les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

(69), les vasopresseurs (57), les aminoglycosides (74), la vancomycine (73) et la rifampicine (62) (Tableau 5) (57).

Tableau 5: Facteurs de risque de la néphrotoxicité liée à l'administration de colistine

Exposition à la colistine	Administration concomitante d'autres agents néphrotoxiques	Facteurs liés au patient
Durée de l'antibiothérapie	AINS	Obésité
Dose journalière	Vasopresseurs	Préexistence d'un dysfonctionnement rénal
Dose cumulative	Aminoglycosides	Age
	Vancomycine	Diabète
	Rifampicine	Hypertension
		Hypoalbuminémie
		Hyperbilirubinémie

➤ **Neurotoxicité**

Les effets neurotoxiques incluent une paresthésie faciale et périphérique, des migraines, de l'ataxie, des vertiges, des troubles visuels, de la confusion, une surdité partielle, une faiblesse des membres inférieurs et une instabilité vasomotrice. La colistine peut également provoquer un blocage neuromusculaire réversible conduisant à une apnée (33) (60). Dans ce cas, un arrêt immédiat de la médication (colistine et les éventuels autres agents neurotoxiques) ainsi que la mise en place d'une ventilation assistée sont nécessaires.

L'incidence de la neurotoxicité liée à l'utilisation de la colistine rapportée dans les premières études est bien moindre que celle de la néphrotoxicité. Le principal effet secondaire neurotoxique est la paresthésie, avec une incidence de 27% et de 7,3% chez les patient recevant du CMS en IV et en intramusculaire (IM) respectivement (60). De plus, entre 1964 et 1973, la littérature rapporte au moins 8 cas d'épisodes d'apnée respiratoire corrélés à l'administration IM de colistine. En revanche, aucune étude récente, menée chez des patients critiques atteints d'infections nosocomiales dues à des bactéries à Gram négatif multirésistantes et recevant des doses élevées de colistine, ne rapporte d'effet neurotoxique sévère (apnée, blocage neuromusculaire) corrélé à l'administration de colistine (27) (60). Des effets neurotoxiques modérés sont observés dans deux études suite à l'administration de CMS (4,5 MUI et 4,4 MUI pendant une durée moyenne de 10,5 et 43,4 jours respectivement) : un cas d'altération du statut mental (63), deux cas de crise focale des extrémités (63) et un cas de polyneuropathie (61); quatre cas dont les symptômes ont rétrocedé lors de la poursuite du traitement ou à l'arrêt de celui-ci à la fin de l'antibiothérapie.

Les facteurs de risque qui peuvent engendrer le développement d'une neurotoxicité incluent l'hypoxie et la co-administration de la colistine avec des myorelaxants, des narcoleptiques/sédatifs/anesthésiants ou des corticoïdes. De plus, la neurotoxicité semble être genre-

dépendante (femmes plus touchées que les hommes), ce qui n'est pas le cas de la néphrotoxicité. Des antécédents d'insuffisance rénale ou de myasthénie augmentent le risque de développer un blocage neuromusculaire et une paralysie respiratoire (60).

Il est clair que le CMS et la colistine sont potentiellement néphrotoxiques et neurotoxiques, et une surveillance étroite est recommandée au cours du traitement. Il est à noter que, quel que soit le type de toxicité observé, celle-ci est généralement réversible à l'arrêt de la médication (33).

b. Evaluation de l'efficacité clinique de la colistine

L'efficacité clinique de la colistine en fonction de ces diverses utilisations (traitement des PVA, des méningites postopératoires, ...) sera abordée dans la partie suivante. Elle sera ici étudiée en termes d'amélioration/guérison clinique (amélioration/disparition des symptômes cliniques) et de guérison bactériologique (éradication des isolats bactériens à Gram négatif dans les cultures de suivi).

Une méta-analyse comparant l'efficacité et l'innocuité de la colistine à celles d'autres antibiotiques pour le traitement d'infections pulmonaires dues à *P. aeruginosa* et *A. baumannii* (regroupant 9 études indépendantes soit 411 patients traités avec de la colistine et 529 traités avec d'autres antibiotiques) n'a mis en évidence aucune différence significative d'efficacité et de mortalité entre les deux groupes de patients (75). Ceci confirme les résultats démontrant une efficacité et une mortalité similaire lors de l'utilisation de la colistine ou de l'imipénème pour le traitement des PVA (33) (67).

La majorité des études récentes mettent en évidence une bonne efficacité de la colistine pour le traitement des infections dues à des bactéries à Gram négatif multirésistantes avec des taux d'amélioration/guérison clinique variant de 51,2 à 93% et des taux de guérison bactériologique variant de 41 à 94,9% (des cas de réponse clinique positive) (Tableau 6). En revanche, les taux de mortalité rapportés varient de 7 à 47,6% (Tableau 5). Ces valeurs élevées sont à mettre en relation avec la sévérité et les options thérapeutiques très limitées des infections dues à des bactéries multirésistantes voire pan-résistantes et à la comorbidité très importante (choc septique, hémodialyse (IRA), diabète, cardiopathies, processus tumoraux notamment).

Tableau 6: Etudes récentes rapportant l'efficacité clinique de la colistine

ND : Non décrit - CL_{CR} : clairance de la créatinine

Réf	Etude (nombre de cas)	Dose journalière moyenne en CMS IV	Durée moyenne du traitement	Amélioration clinique	Guérison clinique	Guérison bactériologique	Mortalité
(61)	Rétrospective (19)	4,4 MUI/j	43,4 j	52,6 %	21,1 %	ND	41,2 %
(63)	Rétrospective (115)	4,5 MUI/j (et adaptation en fonction de CL _{CR})	10,5 j	51,2 %		41 %	27,8 %
(56)	Prospective (28)	Dose de charge 9 MUI puis 4,5 MUI/12h (et adaptation en fonction de CL _{CR})	11,8 j	82,1 %		73,9 %	35,7 %
(64)	Prospective (15)	2,5 MUI/j (max 4,5 MUI/j)	32,7 j	93 % (dont 60 % de guérison à long terme)		ND	7 %
(65)	Rétrospective (78)	5 MUI/12h	ND	81,2 %		94,9 %	46,2 %
(66)	Rétrospective (24)	1 à 2 MUI/8h	14 j	69,2 % (1 MUI/8h) 72,7 % (2 MUI/8h)		62,5 %	33 %
(68)	Prospective (21)	5,5 MUI	17,7 j	23,8 %	28,6 %	ND	47,6 %
(71)	Rétrospective (43)	3 MUI/8h	18,6 j	74,4 %		ND	27,9 %
(72)	Rétrospective (78)	5,5 MUI/j	9,3 j	76,9 %		ND	26,8 %

L'administration de CMS en IV apparaît donc comme une option thérapeutique efficace et relativement sûre pour le traitement des infections sévères causées par des bactéries à Gram négatif multirésistantes.

2. Les différentes utilisations cliniques de la colistine

La colistine est administrée via différentes voies selon son indication. La colistine est principalement utilisée par voie IV mais également en aérosolthérapie et par voie intrathécale et, dans une moindre mesure, en topique pour les infections cutanées, oculaires et auriculaires, et par voie orale pour la décontamination digestive sélective (ayant pour but de réduire, dans la lumière intestinale, la concentration bactérienne de bacilles à Gram négatif, tels que les entérobactéries et *P. aeruginosa*, qui présentent un risque infectieux potentiel important). Son utilisation est réservée aux traitements des infections nosocomiales dues à des bactéries à Gram négatif résistantes aux carbapénèmes et sensibles à la colistine (vérification *in vitro* par un test de sensibilité) dont les

principaux représentants sont *P. aeruginosa* et *A. baumannii*, ou en cas d'échec thérapeutique suite à la mise en place d'un autre antibiotique.

a. Traitements des infections respiratoires

Les pneumonies sous ventilation assistée (PAV) et les trachéobronchites acquises sous ventilation mécanique (TAVM) restent les infections nosocomiales les plus fréquentes dans les USI, affectant 8 à 28 % des patients sous ventilation mécanique. Elles sont associées à une augmentation nette de la mortalité et de la durée d'hospitalisation, en particulier lorsqu'elles sont causées par des bactéries à Gram négatif multirésistantes dont *A. baumannii* et *P. aeruginosa* sont les principaux représentants (76) (77).

La première indication de la colistine par voie systémique était la prévention et le traitement des infections pulmonaires chez les patients atteints de mucoviscidose. Une incidence de la néphrotoxicité faible est observée (3 à 5%) mais une incidence de la neurotoxicité très élevée est rapportée (29 à 52%) lors de l'utilisation du CMS IV pour le traitement et la prévention des infections pulmonaires nosocomiales dues à *P. aeruginosa* chez les patients atteints de mucoviscidose. De ce fait, le CMS par inhalation est devenu le traitement de choix de ces pathologies. La colonisation bactérienne chronique des principales voies aériennes conduisant à des exacerbations infectieuses répétées est une cause majeure de morbidité et de mortalité. Les études menées chez les patients chroniquement colonisés par *P. aeruginosa* n'ont montré aucun bénéfice conséquent de l'utilisation de la colistine en aérosolthérapie. En revanche, son administration précoce dès la mise en évidence d'une colonisation a montré un délai dans l'installation d'infections chroniques et une réduction du nombre de patients atteints (78).

De nombreuses études suggèrent que la colistine est un agent antimicrobien efficace et sûr pour le traitement des VAP à des germes à Gram négatif multirésistants. Notamment, une méta-analyse publiée récemment a comparé l'efficacité et l'innocuité de la colistine à celles des β -lactamines, et s'est également focalisée sur les avantages éventuels de la colistine systémique combinée à son utilisation en aérosolthérapie pour le traitement des VAP dues à des bactéries à Gram négatif multirésistantes. Cette étude regroupe 2 essais contrôlés randomisés (ECR), 4 études cas-témoins et 8 études de cohorte, soit 1167 patients. Elle ne met en évidence aucune différence significative en termes de guérison clinique, d'éradication bactériologique, de mortalité et de néphrotoxicité entre l'administration de β -lactamines et celle du CMS IV. L'utilisation de la colistine systémique combinée à l'aérosolthérapie permet d'obtenir un taux de guérison clinique supérieur à celui obtenu avec l'administration de CMS IV avec une incidence de la néphrotoxicité similaire. En revanche,

cette thérapie n'apporte aucun avantage significatif concernant la guérison bactériologique et la mortalité (76). Ainsi, la colistine apparaît aussi efficace que les β -lactamines et son utilisation en aérosolthérapie semble être un traitement adjuvant bénéfique à l'administration systémique pour le traitement des PAV à germes à Gram négatif multirésistants. Ce dernier résultat est confirmé par une étude prospective publiée en 2013 regroupant 40 patients atteints de PAV dues à des bactéries multirésistantes traités avec de la colistine IV seule (1 à 2 MUI toutes les 6 à 8h) ou associée à la colistine inhalée (2 MUI toutes les 12h). En effet, les résultats obtenus sont significativement en faveur de la thérapie combinée en termes de guérison clinique (78% vs. 58,3%) et de mortalité (28% vs. 41%) (79).

Au vu de ces publications et du fait de la faible pénétration de la colistine administrée par voie systémique dans le tissu pulmonaire, son efficacité pour le traitement des VAP à germes à Gram négatif multirésistants peut être remise en cause. En effet, les études PK mettent en évidence des concentrations en colistine indétectables dans les prélèvements des LBA après l'administration de CMS IV (55). L'aérosolthérapie antibactérienne est une stratégie utilisée afin d'augmenter l'exposition à l'antibiotique au site de l'infection chez les patients atteints de PAV et de TAVM. En effet, l'administration de 2 MUI de CMS en inhalation permet d'atteindre en une heure, un pic de concentration en colistine dans les sécrétions bronchiques dix fois supérieures aux CMI de *P. aeruginosa* et *A. baumannii*. Par la suite, cette concentration décroît et se maintient à 4 μ g/mL en moyenne dans les sécrétions bronchiques 12h après l'administration ; elle est associée à une faible concentration plasmatique en colistine (80).

Malgré les multiples études observationnelles évaluant l'efficacité de la colistine sur les résultats cliniques, il n'y a actuellement aucune étude cas-témoin comparant les résultats chez les patients traités avec et sans la colistine inhalée. En 2008, Falagas *et al.* publient une série de cas concernant 5 patients atteints de pneumonies nosocomiales dues à des bactéries à Gram négatif sensibles uniquement à la colistine traités par aérosolthérapie (colistine inhalée à 1 à 2 MUI toutes les 6 à 8h pendant 6 à 11 jours associée à l'administration d'antimicrobiens inactifs contre les germes isolés). Dans le cas de ces patients ayant des antécédents de lésions cérébrales ou d'insuffisance rénale, l'administration systémique de colistine est fortement déconseillée. Un résultat clinique favorable est obtenu chez 4 patients (80%) (81).

Un nombre limité d'études concernant l'efficacité d'une antibiothérapie pour le traitement des TAVM est disponible. Dans une série de cas, Athanassa *et al.* (2011) ont évalué la pertinence de l'utilisation de la colistine inhalée en monothérapie chez les patients atteints de TAVM à germes à Gram négatif sensibles uniquement à la colistine. Cette étude regroupe 12 patients ayant reçu de la

colistine en aérosolthérapie à 1 MUI toutes les 8h pendant 7 jours. Une guérison clinique et une guérison bactériologique sont obtenues dans 75 et 67% des cas respectivement. Les 3 patients en échec thérapeutique ont reçu par la suite du CMS IV pendant 5 à 15 jours avant d'obtenir une réponse clinique positive. Ainsi, la colistine en aérosolthérapie semble efficace dans le traitement des TAVM dues à des bactéries à Gram négatif sensibles uniquement à la colistine (77). D'avantages d'investigations sont cependant nécessaires afin d'évaluer l'efficacité de ce traitement et de pouvoir ainsi réduire l'administration systémique de colistine.

La majorité des études observationnelles suggèrent que la colistine en aérosolthérapie peut être considérée comme un traitement adjuvant efficace à l'administration systémique de colistine dans le traitement des VAP dues à des bactéries à Gram négatif multirésistantes chez les patients critiques. Des essais contrôlés randomisés ou des études cas-témoins comprenant un nombre plus conséquent de patients sont néanmoins nécessaires afin de confirmer cette observation (82). De plus, l'optimisation de l'aérosolthérapie nécessite la prise en compte de nombreux facteurs tels le type de nébuliseur (déterminant la taille des particules inhalées), la position du patient et la sévérité de l'obstruction des voies respiratoires (83).

Bien que l'utilisation du CMS en aérosolthérapie n'est pas approuvée par la FDA (Food and Drug Administration) (84), les guidelines publiées par l'American Thoracic Society et l'Infectious Diseases Society of America notent que « les antibiotiques en aérosolthérapie peuvent être considérés comme une thérapie adjuvante chez les patients atteints d'infections à germes à Gram négatifs multirésistants ne répondant pas au traitement systémique » (81) et les doses recommandées sont de 1 MUI (< 40 kg) à 2 MUI (> 40 kg) toutes les 12h et de 2 MUI toutes les 8h pour les infections pulmonaires sévères récurrentes (83).

b. Traitement des méningites nosocomiales postopératoires

A. baumannii (et dans une moindre mesure, *P. aeruginosa*) peut être responsable d'infections nosocomiales sévères du système nerveux central (SNC) telles que des méningites et des ventriculites, en particulier chez les patients ayant subi une procédure neurochirurgicale ou un traumatisme crânien (85) (86). De plus, ces infections sont associées à un taux de mortalité élevé d'environ 33% (87). Les carbapénèmes et la ceftazidime étaient respectivement considérés comme les traitements de choix de ces infections. Cependant, du fait de l'augmentation d'isolats multirésistants (taux de résistance des souches *A. baumannii* résistantes aux carbapénèmes supérieur à 40% (88)), les options thérapeutiques sont limitées. La colistine est, dans ces cas, généralement

utilisée par voie IV, bien que les concentrations adéquates en colistine ne soient pas atteintes dans le LCR du fait de la faible pénétration de la molécule à travers la barrière hémato-encéphalique (seulement 5 à 11% de la concentration sérique en colistine est retrouvée dans le LCR). Par conséquent, l'administration de colistine par voie intrathécale (ITH) ou intraventriculaire (ITV) peut être utilisée seule ou en tant que thérapie adjuvante à l'administration IV. L'administration intrathécale (ou intrarachidienne ou spinale) correspond à une injection entre l'arachnoïde et la pie-mère. Ces deux voies d'administration locale nécessitent la mise en place d'un drain ventriculaire externe ou d'une dérivation lombaire externe (pour la voie intrathécale uniquement) ou l'externalisation d'une dérivation ventriculo-péritonéale (88).

Deux études systémiques récentes ont étudiés l'efficacité et l'innocuité de la colistine par voie systémique associée ou non à une administration locale ITH/ITV pour le traitement de méningites/ventriculites postopératoires dues à *A. baumannii* multirésistant. Elles regroupent respectivement 83 et 33 épisodes de méningites/ventriculites. La dose journalière médiane en CMS ITV/ITH est de 10 mg en une ou deux administration (1,6 à 40 mg/j) et la durée médiane de traitement est de 18,3 et 20 jours respectivement. La durée médiane de traitement concernant l'administration IV de CMS est de 23 jours dans la première étude (88) et non précisée dans la deuxième (87). Une guérison bactériologique (cultures effectuées sur le LCR stériles) et clinique est obtenue dans 89% et 100% des cas respectivement en seulement 4 jours (médiane). Deux cas de rechute sont observés dans chacune des études ; deux après l'arrêt de la médication et deux suite à la réduction de la dose de colistine administrée. Respectivement, 17 et 5 patients sont décédés dont 9 des suites de leur méningite/ventriculite dans la première étude. La toxicité associée à l'administration locale de la colistine est rapportée dans 11% et 15% des cas respectivement. Huit épisodes de méningite/ventriculite iatrogènes réversibles et 4 épisodes de crises convulsives répondant aux anticonvulsivants sont rapportés et entraînent l'arrêt de la médication dans 3 cas et la diminution de la posologie dans 5 cas (87) (88).

Ainsi, l'administration locale de colistine par voie ITH/ITV (associée ou non à une administration systémique) apparaît comme option thérapeutique efficace dans le traitement des méningites/ventriculites dues à *A. baumannii* multirésistant. Ce traitement est bien toléré même si les études rapportent des cas de méningite/ventriculite iatrogènes (et dans une moindre mesure, des crises convulsives). Celles-ci ont une symptomatologie et une cytologie de LCR identiques aux méningites/ventriculites bactériennes excepté que le prélèvement de LCR est stérile (89).

Ces résultats sont confirmés par les études de cas (Tableau 7) qui démontrent également une efficacité de l'administration locale de colistine par voie ITH/ITV (associée ou non à une

administration systémique) pour le traitement des méningites nosocomiales à *P. aeruginosa* (86) et *Enterobacter cloacae* subsp *cloacae* (90) multirésistants.

Tableau 7: Cas de méningites postopératoires dues à des bactéries à Gram négatif traitées avec de la colistine

Réf	Diagnostic primaire	Sensibilité <i>A. baumannii</i>	Traitement	Résultats Stérilisation du LCR Résolution de la fièvre
(89)	HSA	Colistine Tigécycline	CMS IVT Dose de charge 40 mg puis 10 à 20 mg/24h ou /48h pendant une période médiane de 17 jours via un drain ventriculaire externe + CMS IV MUI/8h ou 4,5 MUI/12h	LCR le 2 ^e jour ¹ Afébrile le 2 ^e jour
(89)	Traumatisme crânien	Colistine Tigécycline		LCR le 5 ^e jour ¹ Afébrile le 8 ^e jour
(89)	HIP	Colistine Tigécycline		LCR le 3 ^e jour ¹ Afébrile le 3 ^e jour
(89)	HSA	Colistine Gentamicine		LCR le 2 ^e jour ¹ Afébrile le 3 ^e jour
(89)	HSA	Colistine Amikacine		LCR le 2 ^e jour ¹ Afébrile le 2 ^e jour
(89)	HSA	Colistine Tobramycine		LCR après 24h ¹ Afébrile le 5 ^e jour
(89)	Traumatisme crânien	Colistine	CMS ITH 10 mg/j pendant 10 jours	LCR le 5 ^e jour ¹ Afébrile le 2 ^e jour
(87)	Traumatisme crânien	Colistine	+ CMS IV 7,5 MUI/8h pendant 20 jours	LCR le 4 ^e jour ¹ Afébrile le 4 ^e jour
(91)	Rupture d'anévrisme	Colistine	CMS ITV 10 mg/j pendant 3 jours puis 20 mg/j pendant 17 jours + CMS IV 7,5 MUI/8h pendant 26 jours	LCR le 15 ^e jour ¹
(92)	HSA	Colistine	CMS ITH 5 mg/j le 1 ^e jour puis 10 mg/kg pendant 21 jours	LCR le 2 ^e jour ¹
(90)	Astrocytome	Colistine ³ Tigécycline Fosfomycine	CMS IV 2 MUI/12h + Rifampicine IV 400 mg/j pendant 6 jours Puis CMS ITV 10 mg/j pendant 10 jours	LCR le 8 ^e jour ¹ Afébrile le 8 ^e jour
(86)	HSA	Colistine ⁴ Combinaison Ceftazidime/ Amikacine	CMS IV 1 MUI/8h + Ceftazidime IV 2 g/8h + Amikacine IV 500 mg/12h + CMS ITH pendant 13 jours	LCR après quelques jours ²

¹ Guérison à long terme ² Surinfection à *Enterococcus faecalis*

³ Germe isolé: *Enterobacter cloacae* subsp. *cloacae* ⁴ Germe isolé: *P. aeruginosa*

HSA: Hémorragie sous-arachnoïdienne HIP: Hémorragie intra-parenchymateuse

Mairi *et al.* ont démontré l'intérêt de l'association des voies systémiques et ITH/ITV dans l'administration de la colistine pour le traitement des méningites nosocomiales. La concentration en colistine dans le LCR a été mesurée chez 5 patients sans infection du SNC et 7 patients atteints de ventriculite traités avec du CMS IV en monothérapie (n = 3) ou en polythérapie avec du CMS IVT (n = 4). La concentration maximale en colistine à l'état d'équilibre dans le LCR est obtenue de

manière significativement plus élevée avec la polythérapie, suggérant une efficacité supérieure de celle-ci (93).

Les données précédentes illustrent parfaitement le rôle de l'administration de la colistine par voie ITV/ITH en tant que « thérapie de sauvetage » pour le traitement des méningites/ventriculites nosocomiales dues à des bactéries à Gram négatifs multirésistantes (et sensibles aux antibiotiques diffusant faiblement dans le LCR tels que les aminosides et la tigécycline et/ou uniquement à la colistine). Ainsi, la colistine par voie ITV/ITH apparaît comme le traitement de choix chez les patients atteints de méningite/ventriculite suite à une intervention neurochirurgicale avec une colonisation par des germes à Gram négatif multirésistants ou de manière empirique dans les unités relevant une prévalence élevée de germes nosocomiaux résistants aux carbapénèmes. Cependant, aucune donnée ne définit les dosages et la durée de traitement de la colistine par voie IVT/ITH. Les guidelines, publiées par l'IDSA (Infectious Diseases Society of America) en 2004, recommandent une dose journalière de 10 mg (soit 125 000 UI) de CMS par voie ITV (89).

c. Traitement du sepsis

Le sepsis, défini comme la réponse systémique de l'hôte aux micro-organismes, est une condition liée à un syndrome de réponse inflammatoire systémique qui donne lieu à un dysfonctionnement des organes cibles (tube digestif, foie, poumon) à distance du site de l'infection primaire. Sepsis et choc septique sont des complications communes dans les USI, avec une incidence annuelle estimée à 750 000 cas associée à un taux de mortalité de 25 à 80% aux Etats-Unis (94).

Markou *et al.* (2003) utilisent la colistine par voie IV (CMS IV 3 MUI/8h pour une durée moyenne de 13,5 jours) pour le traitement de sepsis dus à des germes à Gram négatif multirésistants, chez 24 patients. Une réponse clinique favorable est observée dans 73% des cas et une incidence de la néphrotoxicité de 14,3% est rapportée (dont un patient nécessitant une thérapie de remplacement rénal continu) (95).

Bien que tous les micro-organismes puissent être associés au sepsis et au choc septique, la principale étiologie est représentée par les bactéries à Gram négatif. Le sepsis à germes à Gram négatif est médié par les macrophages et les monocytes, et est causé par la production excessive de plusieurs cytokines en réponse au LPS, plutôt que par la toxicité du LPS en lui-même. Le LPS déclenche la libération de cytokines telles que le TNF (Tumor Necrosis Factor) et les interleukines 1 et 6, et active le système du complément et les facteurs de coagulation. De plus, des niveaux d'activité en LPS élevés sont associés à de faibles résultats cliniques (94).

Comme vu précédemment, la colistine est administrée en IV sous forme de CMS, qui est une prodrogue inactive de la colistine ayant une demi-vie plasmatique courte ; ce qui nécessite une administration relativement fréquente.

Nanjo *et al.* (2013) utilisent un modèle murin de sepsis induit par des endotoxines (injection intrapéritonéale de LPS) afin de comparer l'efficacité et la toxicité de microsphères contenant de la colistine sulfate injectées par voie sous-cutanée à celle de la colistine sulfate administrée par voie sous-cutanée également. L'avantage de ces microsphères réside dans le fait qu'elles permettent une libération lente et prolongée de colistine. Deux lots de souris reçoivent 1 mg de colistine sulfate sous forme de microsphères ou de solution injectable. Le lot « témoin » est composé de souris infectées ayant été injectées avec des microsphères « vides ». Aucune toxicité n'est observée durant la phase expérimentale (24h) suite à l'administration de colistine sulfate. En revanche, les souris témoins présentent une fréquence respiratoire anormalement faible et une réduction de l'activité à 12h post-injections. Ce qui illustre l'efficacité de la colistine sulfate. La libération prolongée de colistine par les microsphères est mise en évidence par une concentration plasmatique en colistine significativement plus élevée comparée à celle obtenue avec l'injection sous-cutanée simple à 12 et 24h post-injections; le contraire étant observé 3h après l'initiation du protocole. De plus, l'administration de microsphères provoque une diminution plus importante de la concentration en cytokines étudiées (TNF et interleukines 1 et 6) à 12h post-injections (94).

Cette étude démontre donc la libération prolongée de la colistine *in vivo* et la pertinence de l'utilisation de la colistine sulfate en microsphères dans le traitement des sepsis induit par des endotoxines. Elle offre des avantages en termes d'effets systémiques anti-endotoxines prolongés et de fréquence d'administration réduite. En revanche, son activité est moindre dans les 3 à 12 premières heures et une dose de charge faible de CMS IV pourrait être utilisée en combinaison. Le CMS étant une prodrogue inactive de la colistine et nécessitant une hydrolyse préalable à son activité, le sulfate de colistine est préféré pour être inséré dans les microsphères. En effet, celui-ci possède une activité antibactérienne directe et l'ajustement du taux de libération est donc plus aisé en jouant sur sa concentration à l'intérieur des microsphères (94).

d. Traitement des ostéomyélites et des arthrites septiques

Les infections liées à des implants sont généralement dues à *Staphylococcus* spp. L'agent infectieux est inoculé durant l'implantation de la prothèse ou présent lors d'une bactériémie transitoire à la surface de l'implant sur lequel il adhère et croît en formant un biofilm (96).

P. aeruginosa et *A. baumannii* sont responsables d'une proportion importante d'infections nosocomiales telles que les PVA, les infections du tractus urinaire ou les septicémies, mais ils sont aussi cause d'ostéomyélites, d'arthrites septiques et d'infections liées à des implants (96).

Par le passé, l'utilisation de la colistine par voie systémique pour le traitement des ostéomyélites et des arthrites septiques était anecdotique, du fait de sa faible diffusion dans le tissu osseux. L'émergence d'isolats multirésistants amène à reconsidérer la place de la colistine pour le traitement de ces infections.

Crane *et al.* (2009) ont utilisés un modèle d'ostéomyélite murin à *A. baumannii* sensible uniquement à la colistine afin d'évaluer son efficacité locale à l'aide d'une suspension de microsphères polymères microscopiques synthétiques en Polyméthylméthacrylate (PMMA) imprégnés de colistine et son efficacité par voie parentérale. Deux lots de souris infectées traités avec des PMMA imprégnés de colistine (1 mg de colistine sulfate, insérés lors de la même intervention chirurgicale que les broches contenant l'inoculum bactérien) ou du CMS par voie IM (à environ 10 mg/kg/j) pendant 7 jours (1^e injection effectuée le jour de l'intervention) et un lot « témoin » de souris infectées avec des PMMA sans antibiotique ont été employées. Après l'euthanasie des souris le 19^e jour, la charge bactérienne et l'incidence de l'infection -évaluée par RTQ-PCR utilisant des amorces spécifiques du gène de la topoisomérase parC d'*A. baumannii*- ont été déterminées. Le taux d'infection des souris avec les PMMA imprégnés de colistine (33%) est significativement plus faible que celui des souris « témoins » (75%) et des souris ayant reçu la colistine par voie systémique (71%). En revanche, aucune différence n'est mise en évidence entre ces deux derniers. Ainsi, selon ce modèle d'ostéomyélite murin à *A. baumannii*, l'administration prophylactique locale de colistine, mais non par voie parentérale, est capable prévenir les ostéomyélites à *A. baumannii* (97).

Le cas d'une arthroplastie totale du genou infectée par un autre germe à Gram négatif multirésistant, *P. aeruginosa*, traitée avec succès (guérison clinique et bactériologique) par la mise en place successive à 6 semaines d'intervalle de deux spacers (implant temporaire) en ciment orthopédique imprégné de colistine, corrobore ce résultat. L'intervalle de remplacement des implants est spécifique à chaque patient et doit tenir compte de la virulence du pathogène, de la comorbidité et de l'efficacité du premier implant mise en place. Chez les patients immunodéprimés ou infectés par un germe multirésistant, le protocole traditionnel est de 6 semaines. Dans ces cas, il est préférable de réaliser un débridement, des rinçages successifs et des prélèvements pour culture bactérienne avec l'insertion du nouvel de l'implant imprégné d'antibiotique. La colistine est utilisée, seule ou en association avec de l'érythromycine, imprégnée dans le ciment PMMA orthopédique, en prophylaxie

ou pour traitement des ostéomyélites, des arthrites septiques et des infections liées à des implants dues à des bactéries à Gram négatif multirésistantes (96).

En revanche, contrairement aux résultats obtenus avec le modèle d'ostéomyélite murin, une étude rétrospective menée sur 19 patients atteints d'infections ostéo-articulaires dues à *P. aeruginosa* et *Enterobacter* spp. multirésistants, met en évidence un taux de rémission de l'infection de 73,7% avec un traitement prolongé (durée médiane de traitement de 81 jours) à la colistine (50 000UI/kg/j de CMS IV). En se focalisant sur les infections liées à un implant, ce taux de rémission est cependant plus faible et s'élève à 58,3%. Les auteurs en concluent qu'une dose de 50 000UI/kg/j de CMS IV pendant une durée prolongée permet d'obtenir un taux de guérison satisfaisant des infections ostéo-articulaires à germes à Gram négatif multirésistants, avec une tolérance acceptable chez les patients ayant une fonction rénale normale. Dans le cas d'infections liées à des implants, cette dose peut être augmentée à 75 000UI/kg/j en prenant soin de mettre en place une fluidothérapie adaptée et de limiter l'utilisation concomitante d'autres agents néphrotoxiques (98). L'évaluation de l'efficacité de la colistine combinée à un autre antibiotique peut également être intéressante dans ce cas.

e. Traitement des infections du tractus urinaire

Les infections du tractus urinaire représentent un site préférentiel d'infections nosocomiales dans les ISU. En effet, dans les études s'intéressant à l'efficacité et la toxicité du CMS par voie IV (Partie I, II, A, 1), 7 à 12,5% des infections étudiées sont localisées au niveau du tractus urinaire. Celles-ci sont majoritairement favorisées par la mise en place d'une sonde urinaire chez plus de 80% des patients hospitalisés. Les pathogènes les plus fréquemment isolés sont *P. aeruginosa* et *A. baumannii* multirésistants. Le traitement de choix de ces infections du tractus urinaire à germes à Gram négatif multirésistants reste l'administration de CMS en IV.

Cependant, dans les cas où la néphrotoxicité parentérale du CMS est trop importante, son administration par irrigation urinaire semble être une bonne alternative thérapeutique. Cette situation est illustrée par le cas présenté par Volkow-Fernandez *et al.* (2012) Il s'agit d'un patient admis pour la résection d'un leiomyosarcome rétropéritonéal invasif et la néphrectomie du rein droit. Celui-ci a reçu de nombreux antibiotiques néphrotoxiques sur une période prolongée (incluant le CMS et la tigécycline) et présente une infection urinaire persistante à *A. baumannii* multirésistant. Le CMS est administré via un cathéter d'irrigation urinaire pendant 7 jours. Aucune toxicité ni effet secondaire n'est rapporté et les examens bactériologiques réalisés à la fin du traitement et 10 jours plus tard sont négatifs (99).

Malgré la fréquence relativement élevée d'infections du tractus urinaire dues à *A. baumannii* multirésistant, aucune information n'est disponible concernant l'utilisation intravésicale du CMS.

f. Utilisation de la colistine en pédiatrie

L'utilisation de la colistine chez les enfants, y-compris les nourrissons, est possible. Les données PK/PD disponibles, y-compris celles sur les doses recommandées, sont inadaptées à l'utilisation en pédiatrie. Les études publiées sur l'utilisation de la colistine chez les enfants sont des séries de cas, dont les patients pédiatriques sont, pour la plupart, atteints de mucoviscidose. Falagas *et al.* publient en 2009, une revue systématique concernant l'utilisation systémique de la colistine chez des enfants non-atteints de mucoviscidose. Cette publication regroupe 25 séries de cas, soit 271 enfants dont seulement 17 sont évalués dans des études publiées après 1977. Un taux de guérison/amélioration de plus de 90% est rapporté. L'incidence de la néphrotoxicité est de 2,8% et aucune neurotoxicité n'est rapportée (81). Les indications de l'utilisation de la colistine incluent le sepsis, les méningites, les pneumonies et les pyélonéphrites. Une série de cas récente concernant l'utilisation de la colistine par voie inhalée pour le traitement de PVA et de trachéobronchites dues à *A. baumannii* et *P. aeruginosa* multirésistants chez des patients pédiatriques et nouveau-nés, a mis en évidence une efficacité et une innocuité satisfaisantes de ce traitement (2). Dans une étude prospective récente publiée en 2009, Rosanova *et al.* s'intéressent à l'efficacité et l'innocuité de la colistine (5 mg/kg/j de CMS IV pendant 25 jours en moyenne) pour le traitement d'infections sévères dues à *Acinetobacter* spp. et *Pseudomonas* spp. multirésistants chez des 45 patients pédiatriques (moyenne d'âge de 68 mois) brûlés. Suite à la mise en place de l'antibiothérapie, le résultat est favorable dans 98% des cas et aucune néphrotoxicité (augmentation de la créatinémie) ni aucune neurotoxicité n'est rapportée (100).

Les études et séries de cas récentes montrent une efficacité et une innocuité satisfaisante de la colistine dans le traitement des infections à germes à Gram négatif multirésistants chez les patients pédiatriques critiques. D'avantages d'études avec un nombre conséquent de patients et des groupes de contrôle sont nécessaires afin de confirmer ces résultats.

g. Utilisation de la colistine en polythérapie

Les études PK/PD concernant la colistine suggèrent que, pour de nombreux patients, attendre la concentration plasmatique adéquate en colistine, c'est-à-dire supérieure à la CMI du germe identifié, avec les doses recommandées (calculées pour atteindre une concentration plasmatique de 1 µg/mL chez les insuffisants rénaux) est difficile (34). Dans ce cas, l'utilisation de la colistine en

monothérapie aboutit à une exposition en antibiotique suboptimale et favorise l'apparition de résistance (amplification sélective des sous-populations résistantes à la colistine au sein d'une souche hétéro-résistante) (35). Ainsi, la colistine en monothérapie apparaît peu efficace, en particulier pour le traitement des infections à germes à Gram négatifs dont la CMI est proche de la concentration critique (2 µg/mL).

L'utilisation de la colistine en polythérapie, c'est-à-dire combinée à un ou plusieurs autres antibiotiques, pourrait être une alternative thérapeutique afin de pallier à ces inconvénients. La polythérapie est très fréquemment utilisée de façon empirique (et notamment dans les études citées précédemment) mais son efficacité clinique est difficile à juger. Un nombre limité d'études cliniques ont évalué prospectivement l'efficacité de la colistine en polythérapie dont la majorité ont été conduites *in vitro*.

➤ **Etudes de bactéricidie *in vitro***

De nombreuses études *in vitro* ont employé l'analyse de la bactéricidie pour évaluer l'efficacité de la colistine en polythérapie. Il est important de souligner que le CMS étant une prodrogue inactive de la colistine, son utilisation dans les protocoles *in vitro* est invalide. Bien que de nombreux antibiotiques aient été combinés avec la colistine, la rifampicine et les carbapénèmes sont les plus fréquemment utilisés. Les principaux pathogènes étudiés sont *P. aeruginosa*, *A. baumannii* et *K. pneumoniae* (35). Sauf précision, on parle de synergie lorsque la charge bactérienne avec la polythérapie est $\geq 2\log_{10}$ UFC/mL plus faible que celle avec la colistine en monothérapie.

Jernigan *et al.* (2012) ont évalué l'activité de la colistine (1 µg/mL) en association avec le doripénème (8 µg/mL), la gentamicine (2 µg/mL) ou la doxycycline (2 µg/mL) contre 12 *K. pneumoniae* productrices de carbapénémases. Avec la polythérapie colistine/doripénème, une synergie est observée dans 50% des cas (charge bactérienne inférieure de 2,02 à 6,02 \log_{10} UFC/mL). En revanche, lorsque la colistine est associée à la doxycycline ou à la gentamicine une synergie n'est rapportée que dans 1 et 3 cas sur 12 respectivement. La polythérapie colistine/doripénème est donc la plus active *K. pneumoniae* productrice de carbapénémases (101). Hong *et al.* (2013) confirment ce résultat en obtenant une synergie de 42, 50 et 67% avec la colistine combinée à l'ertapénème, au doripénème ou à l'association ertapénème/doripénème respectivement, contre 12 *K. pneumoniae* productrices de carbapénémases (102). Dans une autre étude, une polythérapie avec des concentrations suboptimales en mérépénème (0,06 à 8 µg/mL) et en colistine (0,12 à 1 µg/mL) a montré une synergie contre 13 isolats *P. aeruginosa* sur 51 (25%) en 24h, tandis que l'association

colistine/méropénème à des concentrations plus élevée (0,06 à 8 µg/mL et 0,03 à 64 µg/mL respectivement) a montré une synergie dans 96% des cas (84).

L'activité synergique de la polythérapie colistine/rifampicine contre *A. baumannii* multirésistant a été démontrée dans modèle PK/PD *in vitro*. La colistine en monothérapie (0,5, 2 ou 5 µg/mL) entraîne un effet bactéricide rapide avec un niveau de charge bactérienne indétectable 1 à 2h après l'initiation de la thérapie. Aux deux plus faibles concentrations, une recroissance bactérienne (équivalente aux valeurs initiales) est observée en 24h. En revanche, la colistine à 5 µg/mL aboutit à une recroissance bactérienne d'environ $2\log_{10}$ et $5\log_{10}$ UFC/mL en 48 et 72h respectivement. La combinaison colistine (0,5, 2 ou 5 µg/mL) et rifampicine (5 µg/mL) est synergique avec une amélioration de l'effet bactéricide et un retard de l'apparition d'une recroissance bactérienne (absence de détection de bactérie viable pendant au moins 48 à 72h) (103). Une autre étude s'intéressant à l'activité antibactérienne *in vitro* de la colistine combinée à la rifampicine contre 12 isolats *A. baumannii* résistants aux carbapénèmes a également mis en évidence une synergie dans 26,7% des cas et une amélioration de l'activité bactéricide contre tous les isolats (104).

Concernant la polythérapie colistine/tigécycline, les études de bactéricidie statique ont mis en évidence une synergie mais celle-ci n'a pas été confirmée par les méthodes cinétiques. En effet, Albur *et al.* (2012) n'ont montré aucune modification de l'effet bactéricide avec l'association colistine/tigécycline comparée à la colistine en monothérapie, contre 8 souches Enterobacteriaceae productrices de NDM-1. De plus, un antagonisme a été mis en évidence à des faibles concentrations (105).

Récemment, de nouvelles combinaisons ont été étudiées en associant la colistine avec des antibiotiques à spectre réduit aux bactéries à Gram positif tels que les glycopeptides et les lipopeptides (106). La synergie entre la colistine et la vancomycine (glycopeptide) contre *A. baumannii* multirésistant (5 souches épidémiques) est décrite pour la première fois par Gordon *et al.* Par la méthode E-test®, les CMI de la vancomycine sont > 256 µg/mL avec la gélose non supplémentée et entre 48 et $< 0,016$ µg/mL en présence de colistine. L'étude des courbes de bactériodie révèle un effet bactéricide suivi d'une recroissance bactérienne 4h après. La polythérapie est également bactéricide mais permet également de supprimer le phénomène de recroissance bactérienne pendant les 48h de l'incubation excepté pour un isolat (106). Une étude similaire menée par Galani *et al.* évalue l'efficacité *in vitro* de la polythérapie colistine/daptomycine (lipopeptide) contre 10 isolats *A. baumannii* multirésistants. En présence de colistine (0,25 à 1 x CMI), la CMI de la daptomycine est divisée par 4 à 128. Une synergie entre la colistine et la daptomycine (10 µg/mL) est observée chez 2, 7 et 9 isolats sur 10 lorsque la concentration de la colistine est de 0,25 x CMI, 0,5 x CMI et 1 x

CMI respectivement. De plus, la polythérapie est bactéricide contre 9 isolats à 24h d'incubation alors que la colistine en monothérapie est bactéricide contre seulement 2 isolats sur 10 (107).

➤ Etudes cliniques

Un nombre limité d'études cliniques évaluant l'utilisation de la colistine en polythérapie est disponible dont la majorité sont des études rétrospectives observationnelles et peu d'entre elles comportent un groupe de contrôle.

Deux études récentes observationnelles suggèrent que la polythérapie CMS/rifampicine est un traitement efficace et sûr contre les infections sévères dues à *A. baumannii* multirésistant. Dans une série de cas prospective, Motaouakkil *et al.* étudient la réponse bactériologique chez 26 patients critiques (16 PVA, 9 bactériémies et 1 méningite dues à *A. baumannii* multirésistant) traités avec du CMS (CMS en aérosolthérapie 1 MUI toutes les 8h, CMS IV 2MUI toutes les 8h et CMS ITH 10 mg/j pendant 15 et 21 jours respectivement) associée à de la rifampicine IV (10 mg/kg toutes les 12h). Une guérison bactériologique est obtenue chez tous les patients avec des cultures de sécrétions bronchiques (prélevées par LBA), sanguines et de LCR négatives en 10, 3 et 2 jours respectivement (108). Dans une étude rétrospective, Song *et al.* (2008) évaluent l'efficacité et l'innocuité de la combinaison colistine/rifampicine chez 10 patients atteints de PVA dues à *A. baumannii* multirésistant (sensible uniquement à la colistine). Après le traitement CMS IV (5 MUI toutes les 12h) associé à la rifampicine IV (600 mg/j) pendant 7 à 11 jours, un résultat clinique favorable est obtenu dans 70% et une guérison bactériologique est observée dans 60% des cas, sans aucune néphrotoxicité rapportée (109).

Dans une étude rétrospective prospective menée chez 107 patients atteints de bactériémie à *A. baumannii* multirésistants, l'efficacité et la néphrotoxicité de la colistine en monothérapie (14 patients) ou en association avec du méropénème (57 patients), pour le traitement d'infections dues à des bactéries à Gram négatif multirésistantes, ont été évaluées. Les deux groupes étaient similaires en termes démographiques et de comorbidités. Aucune différence significative n'a été mise en évidence quant à la réponse clinique (guérison ou amélioration) de l'infection (87,5% vs. 68,4%) et l'incidence de la néphrotoxicité (0% vs 7%). En revanche, un taux de mortalité significativement plus faible est obtenu avec la colistine en monothérapie (0% vs. 36,8) (27). Des résultats similaires sont rapportés par Falagas *et al.* (2010) dans une étude regroupant 258 patients atteints d'infections à germes à Gram négatifs multirésistants. Le taux de guérison de l'infection est similaire avec la colistine en monothérapie ou associée au méropénème (83,3%) mais est significativement inférieur avec la combinaison colistine et autres antibiotiques (61,3%) (110).

De même, une étude rétrospective regroupant 103 patients infectés par des bactéries à Gram négatif dont 61 traités avec de la colistine en monothérapie et 42 traités avec de la colistine associée à la vancomycine, aucune différence significative en terme de résultat et de néphrotoxicité n'a été mise en évidence entre les deux groupes (111).

Les synergies démontrées par les études de bactéricidie *in vitro* ne sont pas confirmées par les études cliniques, qui ne mettent en évidence aucun bénéfice clinique de l'utilisation de la colistine en polythérapie. Cependant, il doit être souligné que, du fait des considérations pratiques et éthiques, la limitation majeure des études cliniques concernant la polythérapie est un groupe de contrôle ne recevant ce traitement. De plus, la majorité de ces études est rétrospective et aucune donnée PK confirmant les concentrations en colistine formée et en second antibiotique au site de l'infection n'est disponible. S'ajoute le fait que le nombre de patients est limité et qu'il existe une variabilité dans les définitions des résultats (guérison clinique ou mortalité), dans les dosages utilisés et dans les méthodes de détermination de la sensibilité (E-test® ou méthodes de dilution) (35) (84). Ainsi, le bénéfice de la colistine en polythérapie comparée à la monothérapie devra être mieux démontré par l'intermédiaire d'essais contrôlés randomisés (ECR) utilisant notamment les doses appropriées en colistine et autres antibiotiques et limitant la co-administration d'antibiotiques s'ajoutant à la polythérapie. Deux larges ECR (un en Europe et l'autre aux Etats-Unis) sont actuellement en cours afin de comparer la colistine en monothérapie à la colistine combinée aux carbapénèmes (34).

La colistine, administrée sous forme de CMS, est donc utilisée comme « thérapie de sauvetage » contre les infections nosocomiales dues à des bactéries multirésistantes (sensibles uniquement à la colistine), en particulier *A. baumannii* et *P. aeruginosa*. Son efficacité est cependant limitée par la difficulté à atteindre des concentrations bactéricides au site de l'infection et par l'existence de souches hétéro-résistantes.

B. En Médecine vétérinaire

1. Utilisation chez les animaux de production

➤ Administration par voie orale

En médecine vétérinaire, la colistine est principalement utilisée par voie orale (sous forme de solution buvable, de pâte orale ou encore de comprimés) en tant qu'antibiotique de première intention pour le traitement des infections digestives à germes sensibles à la colistine tels que *E. coli* et *Salmonella* chez les jeunes animaux de production (porcs, volailles et veaux majoritairement, mais aussi agneaux et chevreaux) et les équidés (poulains) (112) (113).

Tableau 8: Formulations commerciales par voie orale disponibles en France

Formulations par voie orale	Espèces cibles	Indications
Acti Coli® 2 MUI/mL Cofacoli® Milicoli® Sogecoli® Colipate® Colistine sulfate 2 MUI/ml® Acti Coli® B Biorepas® Enterogram® Colivet® PO 11 Colistine 100®	Veaux, agneaux, porcins, lapins et volailles	Traitement et métaphylaxie des infections gastro-intestinales dues à des <i>E. coli</i> non invasifs sensibles à la colistine
Colibolus®	Veaux	Traitement des infections digestives dues à des germes sensibles à la colistine (colibacillose à <i>E. coli</i> K99).
Colistine 200CB® Colistine 400CB® Colistine 400 F® Concentrat® VO 49-1 Colistine Concentrat® VO 49-2 Colistine	Agneaux, chevreaux, porcins, lapins et volailles	Traitement et prévention en milieu infecté des infections digestives dues aux <i>E. coli</i> sensibles à la colistine.
Colidiaryl® Colisultrix® Enterogel® Intestivo® NP8® Septotryl® Colistine	Poulains, veaux, agneaux, chevreaux, porcins, lapins et volailles	Traitements des infections gastro-intestinales sensibles à la colistine et à l'érythromycine ou au triméthoprime ou au sulfaguandine ou à la néomycine ou à la sulfaméthoxyridazine ou à la sulfadiméthoxine.
Phadilact®	Bovins, ovins, caprins et volailles	Traitement et prévention des infections digestives dues à des germes sensibles à la colistine et à l'ampicilline.

La dose recommandée est de 50 000 UI/kg de colistine sulfate toutes les 12h (112) (114) pendant 7 jours au maximum (115). Elle peut être administrée en monothérapie mais la moitié des formulations disponibles en France la combinent avec un autre antibiotique tel que l'érythromycine, le triméthoprime, la sulfaguandine, la néomycine, la sulfaméthoxyridazine et à la sulfadiméthoxine (Tableau 8) (114). La colistine par voie en polythérapie est donc utilisée quasi-exclusivement de manière empirique. Elle est également administrée sous forme de prémélange

médicamenteux dans la prévention de ces pathologies en milieu infecté chez les porcins, les poulets et les veaux principalement (excepté en Amérique du Nord) (112) mais également chez les autres espèces de volailles, les agneaux et les lapins dans une moindre mesure. En effet, selon la Commission Européenne, les médicaments vétérinaires contenant de la colistine pour l'utilisation par voie orale chez les animaux de production, sont largement utilisés dans pratiquement tous les États membres de l'UE (15 États). Les formulations orales, comprenant notamment des prémélanges et des poudres (dans l'eau de boisson ou l'aliment d'allaitement) sont autorisées, principalement pour une administration groupée ou de masse pour le traitement et la prévention de différentes maladies gastro-intestinales dues à *E. coli* (115).

➤ **Administration par voie intramammaire**

La seconde utilisation de la colistine, après le traitement par voie orale des colibacilloses, est pour le traitement des mammites colibacillaires chez la vache laitière, sous forme de colistine sulfate associée à la cloxacilline en Europe (114) (Tableau 9) et combinée à la pénicilline G et à la dihydrostreptomycine en Amérique du Nord (112).

Tableau 9: Formulations commerciales par voie intramammaire ou intra-utérine disponibles en France

Formulations commerciales	Espèces cibles	Indications
Suspensions intramammaires		
Coliclox® Mammitel® Masticoli®	Bovins	Traitement des mammites cliniques à germes sensibles : colibacilles, streptocoques, staphylocoques.
Suspension intra-utérine		
Metrijectyl®	Bovins	Traitement des métrites, endométrites et pyomètres dus à des germes sensibles à la colistine et à l'ampicilline.

➤ **Administration par voie injectable**

L'administration par voie injectable est indiquée pour le traitement des septicémies du jeune et de l'adulte, des infections digestives sévères, des pneumonies et pleuropneumonies, des infections post-partum, des infections urinaires, des plaies infectées, des abcès, et des infections post-opératoires dues à des germes sensibles à la colistine (Tableau 10) (114) mais elle est minoritaire en terme d'utilisation chez les animaux de production du fait de sa néphrotoxicité, de sa neurotoxicité liée à sa capacité à induire un blocage neuromusculaire pouvant entraîner une détresse respiratoire (112). Une dose de CMS à 5 mg/kg est très néphrotoxique chez les bovins. En revanche, une dose de 2,5 mg/kg entraîne des effets néfastes minimales (112). Elle peut être administrée en monothérapie ou

combinée à l'amoxicilline, la pénicilline ou la rifampicine (Tableau 10), et est principalement utilisée sous la forme de suspension injectable chez les bovins.

Tableau 10: Formulations commerciales par voie injectable disponibles en France

Solutions injectables	Espèces cibles	Indications
Belcopeni® 5 (CMS)	Equins, bovins, porcins, ovins, caprins, chiens et chats	Traitement des infections généralisées du jeune et de l'adulte, des pneumonies et pleuropneumonies, des infections post-partum, des infections urinaires, des plaies infectées, des abcès, et des infections postopératoires sensibles à la colistine et à la pénicilline.
Allegrocine® Ampicoline® Ampidexalone® Ampimycine Dex® Colampi® Colicilline® Multibio® Sodibio®	Equins, bovins, ovins, caprins, porcins, chiens et chats	Traitement des septicémies, des infections digestives, des infections respiratoires, et des infections génito-urinaires dues à des germes sensibles à la colistine et à l'ampicilline.
Sodicoly®	Veaux, agneaux, porcs, volailles et lapin	Affections à germes sensibles à la colistine.
Belcomycine® S	Equins, bovins, ovins, caprins et porcins	Traitement des infections à germes à Gram négatif sensibles à la colistine (en particulier les entérites septicémiques des jeunes, les septicémies colibacillaires et les polyarthrites infectieuses).
Potencil®	Equins, bovins, ovins, caprins, porcins, chiens et chats	Traitement des infections digestives, respiratoires ou urogénitales dues à des germes sensibles à l'association colistine/amoxicilline chez les chiens et les chats. Traitements des infections respiratoires dues à des germes à Gram+ ou à des <i>Pasteurella</i> , des infections digestives et septicémies dues aux entérobactéries, et des omphalophlébites.
Solucol® Virgocilline®	Bovins, équins, ovins, porcins, lapins et volailles	Traitements des infections septicémiques dues à des bactéries à Gram négatif sensibles à la colistine.

2. Toxicité de la colistine chez les animaux

Il existe actuellement peu de données concernant la toxicité de la colistine chez les animaux. Elle est bien tolérée après administration orale ou locale. En revanche, son utilisation par voie systémique peut entraîner, comme en médecine humaine, une néphrotoxicité, une neurotoxicité et un blocage neuromusculaire. En effet, une dose de 62 500 UI/kg chez des vaches est hautement néphrotoxique, alors qu'une dose de 31 250 UI/kg provoque des effets néphrotoxiques négligeables (112).

3. Utilisation chez les carnivores domestiques

Chez les carnivores domestiques, la colistine est utilisée pour le traitement local des kératites, des conjonctivites et des otites externes dues à des bactéries à Gram négatif sensibles à la colistine. Ces traitements topiques sont utilisés hors AMM en Amérique du Nord et proviennent de la pharmacopée humaine (Colymycin S Otic® et Colistimethate Sodium 1,2 mg/mL Ophthalmic Solution®).

En revanche, en France, aucune formulation commerciale oculaire ou auriculaire contenant de la colistine n'est disponible, que ce soit en médecine humaine ou vétérinaire. Les formulations ayant cette indication contiennent de la polymyxine B.

Seulement trois formulations commerciales contenant de la colistine par voie injectable possèdent une AMM pour les chiens et les chats en France (Tableau 10). La colistine peut être administrée par voie IV, IM ou sous-cutanée à une dose de 25 000 UI/kg toutes les 12h, sous forme de CMS combinée à la pénicilline ou de colistine sulfate combinée à l'ampicilline (Tableau 9) (114). La polythérapie est donc également utilisée de façon empirique chez les carnivores domestiques.

L'utilisation de la colistine par voie injectable chez les carnivores domestiques est très limitée du fait de sa néphrotoxicité, et est similaire à celle chez les patients critiques en médecine humaine : infections à germes à Gram négatif multirésistants sensible uniquement à la colistine (après réalisation d'un antibiogramme). Du fait du manque d'études sur l'utilisation systémique de la colistine chez les carnivores domestiques, celle-ci sera illustrée par deux cas cliniques concernant respectivement un chien et un chat admis au service des soins intensifs de VetagroSup, Lyon, et ayant développé une infection due à une bactérie à Gram négatif multirésistante.

➤ Infection postopératoire en neurochirurgie, sepsis et infection du tractus urinaire dus à des germes à Gram négatif multirésistants chez un chien mâle de 1,5 an

Iron est un chien Berger Australien non castré de 1,5 an admis au service des soins intensifs de VetagroSup, pour une fracture vertébrale en L4 et un pneumothorax suite à un accident de la voie publique. Il présente à son admission un abattement, une paralysie des membres pelviens associée à une perte de la sensibilité douloureuse profonde du membre postérieur droit et une incontinence urinaire.

Une stabilisation vertébrale par plaque et vis et minihémi laminectomie à gauche en L4 sont réalisées et une antibioprophylaxie est mise en place (amoxicilline/acide clavulanique à 20 mg/kg IV toutes les 8h). Suite à l'intervention chirurgicale, Iron retrouve une sensibilité douloureuse sur les

deux membres pelviens et présente une contraction spastique de ceux-ci. Un protocole de physiothérapie est alors mis en place. L'incontinence urinaire se résout 22 jours après l'intervention.

Huit jours après l'intervention, Iron présente une hyperthermie et un abattement, et une collection liquidienne de taille importante associée à une inflammation est observée au regard du site opératoire. Un nettoyage chirurgical de la zone associé à la pose d'un drain aspiratif sous-cutané et un prélèvement bactériologique sont alors réalisés. L'examen bactériologique et la réalisation de l'antibiogramme mettent en évidence *Enterobacter cloacae*, sensible uniquement à la colistine et au florfénicol. Une antibiothérapie locale avec de la colistine sulfate 150 000 UI toutes les 12h via le drain (fermé pendant 4h) est alors entreprise pendant 13 jours (après vérification des paramètres rénaux). Aucune néphrotoxicité n'est observée au cours du traitement. Iron est normotherme 7 jours après l'initiation de la colistine.

Quatre jours après l'arrêt du traitement, Iron présente une récurrence avec un sepsis sévère. Un examen bactériologique est réalisé sur prélèvement urinaire et met en évidence *K. pneumoniae* productrice de BLSE résistante à toutes les β -lactamines, à l'exception de l'association amoxicilline/acide clavulanique. Néanmoins, l'efficacité *in vivo* pour cette molécule sur une souche possédant une BLSE n'est pas documentée en médecine vétérinaire. Elle est sensible à la colistine, au florfénicol et à la marbofloxacine. La souche présente cependant une sensibilité diminuée aux fluoroquinolones. Il existe donc un risque élevé de sélection *in vivo* de mutants résistants aux fluoroquinolones. Une antibiothérapie avec du thiamphénicol 40 mg/kg IV (Thiophénicol® hors AMM) toutes les 8h est alors mise en place, suivie d'un relai par voie orale. Suite à l'apparition de troubles digestifs ne rétrocedant pas au traitement symptomatique, l'antibiothérapie initiale est arrêtée au bout de 10 jours et remplacée par l'association amoxicilline/acide clavulanique à 20mg/kg toutes les 8h par voie orale poursuivie pendant 10 semaines. L'hyperthermie se résout 10 jours après la mise en place de l'amoxicilline/acide clavulanique.

Lors du contrôle postopératoire à 4 mois et arrêt de l'antibiothérapie, la culture bactérienne sur prélèvement urinaire est stérile et Iron présente une évolution favorable du statut neurologique avec récupération de la motricité des membres pelviens malgré une persistance d'un déficit proprioceptif du membre pelvien droit associée à une hyperextension avec fibrose musculaire.

Ainsi, l'administration locale de colistine a permis la résolution d'une infection postopératoire à *Enterobacter cloacae* multirésistant suite à une intervention neurochirurgicale. De plus, son utilisation en IV relayée par l'administration d'amoxicilline/acide clavulanique par voie orale a permis la résolution du sepsis et la guérison bactériologique d'une infection du tractus urinaire à *K. pneumoniae* productrices de BLSE.

➤ **Infection chronique du tractus urinaire à *A. baumannii* multirésistant suite à une maladie du haut appareil urinaire félin traitée chirurgicalement chez un chat mâle castré de 4,5 ans**

Fakir est un chat Persan mâle castré de 4,5 ans admis au service des soins intensifs de VetagroSup, pour une insuffisance rénale (azotémie marquée) évoluant depuis 3 semaines. Une lithiase urétérale bilatérale obstructive à droite et sub-obstructive à gauche à l'origine d'une insuffisance rénale post-rénale est diagnostiquée et traitée chirurgicalement par d'urétérectomie et urétéro-néo-cystostomie droite et pose d'un stent au niveau de l'uretère droit, permettant une nette diminution de l'azotémie qui revient à des valeurs subnormales malgré la persistance d'un phénomène sub-obstructif au niveau des deux reins. Une antibioprofylaxie (amoxicilline/acide clavulanique à 20 mg/kg IV toutes les 12h) est instaurée pendant 5 jours puis Fakir est rendu à ses propriétaires.

Trois semaines après l'intervention chirurgicale, Fakir présente une dégradation biochimique et clinique avec une incontinence urinaire et une anorexie. Une hydronéphrose modérée persistante du rein droit et une hydronéphrose majeure du rein gauche avec calculs pyéliqués et urétéraux à gauches sont mises en évidence. Un SUB (Subcutaneous Ureteral Bypass System) au niveau du rein gauche sous néphroscopie est alors mis en place, permettant une résolution de l'hydronéphrose bilatérale et la normalisation des paramètres biochimiques rénaux. L'examen cytologique des urines révèle la présence de bacilles en quantité importante malgré la mise en place d'une antibioprofylaxie (amoxicilline/acide clavulanique à 20 mg/kg IV toutes les 12h) et la culture bactérienne met en évidence *A. baumannii* multirésistant sensible uniquement à la colistine et à la kanamycine 30µg (aminoside néphrotoxique ne possédant pas d'AMM vétérinaire). L'administration de CMS (Belcopeni®5 25 000 UI/kg toutes les 12h) par voie IM est alors débutée et poursuivie pendant 6 semaines chez les propriétaires. Une discrète azotémie persistante est observée au cours du traitement probablement due à l'IRC présentée par Fakir.

Six semaines après l'initialisation de l'antibiothérapie, la culture bactérienne sur prélèvement urinaire (lors du rinçage du SUB) met de nouveau en évidence *A. baumannii* multirésistant sensible uniquement à la colistine mais un arrêt de la médication est décidé.

Quinze jours après l'arrêt de l'antibiothérapie, Fakir est présenté au service des soins intensifs pour abattement, dysorexie et pollakiurie évoluant depuis 2 jours. Une cystite infectieuse est diagnostiquée avec la nouvelle mise en évidence d'*A. baumannii* multirésistant sensible uniquement à la colistine en nombre plus important que lors de la dernière analyse (10^7 vs 10^4 UFC/mL). Cinq lavages vésicaux quotidiens successifs associée à l'administration intravésicale de colistine sulfate sont réalisés et l'administration de CMS (Belcopeni®5 25 000 UI/kg toutes les 12h) par voie IM est

de nouveau mise en place pendant 1 mois. A l'arrêt de l'antibiothérapie, la culture bactérienne est toujours positive pour le même germe.

Ainsi, l'administration de colistine a permis une résolution des symptômes cliniques de la cystite infectieuse (excepté un épisode de pollakiurie de quelques jours survenu 3,5 mois après l'arrêt définitif de la colistine), sans signe significatif de néphrotoxicité associé, malgré la persistance chronique urinaire d'*A. baumannii* multirésistant. La question de la dissémination dans le milieu extérieur de ce pathogène multirésistant reste une préoccupation non négligeable.

PARTIE III : L'EMERGENCE DE BACTERIES A GRAM NEGATIF RESISTANTES A LA COLISTINE

Durant la dernière décennie, l'augmentation des infections dues à des bactéries à Gram négatif multirésistantes chez les patients critiques a réintroduit la colistine dans la pratique clinique dans de nombreux cas, en tant que seul antibiotique actif contre ces pathogènes, tels que *A. baumannii*, *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae* résistants aux carbapénèmes. Cependant, une préoccupation importante concerne l'existence de souches hétéro-résistantes (c'est-à-dire l'existence d'une sous-population résistante au sein d'une souche sensible) identifiées chez de nombreux germes à Gram négatif tels qu'*A. baumannii*. En effet, il a été démontré que l'administration de la colistine en monothérapie contre des souches hétéro-résistantes peut entraîner une amplification sélective des sous-populations résistantes et donc l'émergence de souches pan-résistantes, c'est-à-dire résistants à tous les antibiotiques disponibles, y compris la colistine (103) (116).

I. Mise en évidence d'isolats cliniques résistants à la colistine

La concentration de prévention des mutations (CPM = CMI de la sous-population résistante à l'antibiotique testé) correspond à la concentration minimale d'antibiotique prévenant la sélection de mutants résistants en présence d'un fort inoculum bactérien ($10^9/10^{10}$ UFC/mL). La CPM de la colistine a été déterminée chez des souches *A. baumannii*, *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae* sensibles à la colistine et celles-ci sont bien supérieures (32 à > 128 µg/mL, ≥ 64 µg/mL et > 128 µg/mL respectivement) à la concentration plasmatique obtenue après l'administration de CMS aux posologies recommandées (117) (118). Ces résultats aident à expliquer l'émergence d'isolats cliniques résistants à la colistine.

La résistance à la colistine varie selon les différentes parties du monde et les conditions de son utilisation. Les situations typiques dans lesquelles la colistine est largement utilisée incluent les patients atteints de mucoviscidose et ceux hospitalisés dans les USI. Depuis les deux dernières décennies, il y a de nombreux rapports concernant le taux de résistance à la colistine (116).

A. *Acinetobacter baumannii*

Bien que la colistine soit souvent considérée comme un traitement efficace contre *A. baumannii*, le nombre d'études rapportant l'émergence de souches résistants à cet antibiotique est à la hausse.

Celles-ci révèlent des taux de résistance variables ainsi que l'occurrence de souches hétéro-résistantes (119).

Dans une étude, 214 souches d'*A. baumannii* ont été collectées dans deux hôpitaux coréens. La méthode de microdilution en bouillon a mis en évidence un taux de résistance à la colistine de 27,9% avec des CMI > 16 µg/mL et des CMI₉₀ de 32 µg/mL. Ces 214 isolats ont ensuite été répartis dans 3 sous-groupes polygéniques. Dans les sous-groupes II et III, la plupart des isolats sont résistants à la colistine (64,8% et 88,9% respectivement) mais ils sont généralement sensibles aux antibiotiques conventionnels tels que les carbapénèmes, les β-lactamines et la ciprofloxacine. En revanche, le sous-groupe I présente un faible taux de résistance à la colistine (7%) avec une augmentation de la résistance aux autres antibiotiques (120). De plus, en utilisant le typage par séquençage multilocus (MLST), le même groupe d'étude a montré que la plupart des isolats cliniques résistants à la colistine en Corée apparaissait et se disséminait de façon indépendante (121).

Une étude menée dans le Nord de l'Inde sur 224 souches *A. baumannii* isolées chez des patients d'infections nosocomiales du tractus urinaire a mis en évidence un taux de résistance à la colistine de 3,5% (122).

Le programme de surveillance antimicrobienne SENTRY (programme de surveillance international présent dans plus de 30 pays et contrôlant la présence et la sensibilité aux antibiotiques des bactéries pathogènes responsables d'infections nosocomiales) rapporte un taux de résistance à la colistine chez *A. baumannii* inférieur à 5% avec cependant une variabilité selon les régions du monde. En Amérique du Nord, le taux de résistance à la colistine est inférieur à 5,5% tout comme en Europe où il est inférieur à 6%, à l'exception d'une étude en Bulgarie rapportant un taux de 16,7%. En Amérique du Sud (Brésil et Chili) et en Asie, le taux de résistance à la colistine est chez *A. baumannii* est légèrement plus élevé (jusqu'à 9%) mais certaines études en Turquie et en Corée rapportent cependant des taux alarmants de 27,5 et 27,9% respectivement (116).

On parle d'hétéro-résistance lorsqu'une sous-population montre une sensibilité réduite à la colistine sans que la CMI de celle-ci ne soit altérée. Ainsi, la détermination de la CMI ne permet pas d'identifier seule ces sous-populations résistantes. L'hétéro-résistance a été observée chez les isolats cliniques *A. baumannii* jusqu'à 90% (123). Ces sous-populations résistantes contribuent significativement à la recroissance bactérienne et augmentent le développement de la résistance à la colistine. En effet, après l'exposition à la colistine (in vitro ou dans un modèle PK/PD in vitro), une augmentation de la proportion de la sous-population résistante est observée (124) (125). Ces résultats in vitro sont confirmés in vivo par une étude évaluant l'hétéro-résistance d'isolats cliniques *A. baumannii* chez des patients précédemment exposés ou non à la colistine. En effet, celle-ci met en

évidence que la proportion de cellules hétéro-résistantes est significativement plus élevée parmi les isolats cliniques des patients précédemment traités (126). Cependant, le mécanisme moléculaire sous-jacent doit encore être élucidé, et sa compréhension est primordiale du fait de la signification clinique de l'hétéro-résistance à la colistine (116) (123).

B. *Pseudomonas aeruginosa*

Le taux de mortalité élevé associé à *P. aeruginosa* est en partie lié à ses nombreux mécanismes de résistance, avec de nombreux isolats cliniques pan-résistants à tous les antibiotiques approuvés par la FDA. Les infections et la résistance dues à *P. aeruginosa* sont encore plus préoccupantes chez les patients atteints de mucoviscidose, en tant que pathogène prédominant en terme de colonisation et possédant le taux de résistance le plus élevé (119).

Parmi 385 souches de *P. aeruginosa* isolées chez 57 patients atteints de mucoviscidose, seuls 34,9% des souches mucoïdes (capables de former une matrice autour des bactéries, servant d'ancrage avec leur environnement et leur permettant de se protéger des défenses immunitaires de l'hôte) et 51,9% des souches non mucoïdes sont sensibles à la colistine avec des CMI < 0,5 µg/mL. De plus, le modèle de distribution des CMI met en évidence deux populations (CMI très faibles ou très élevées), ce qui peut être indicatif de l'émergence de résistance (119).

Le programme de surveillance antimicrobienne SENTRY rapporte un taux de résistance à la colistine chez *P. aeruginosa* inférieur à 5% avec cependant une variabilité selon les régions du monde. En Amérique du Nord, le taux de résistance à la colistine est inférieur à 5,5%. En Amérique du Sud (Brésil et Chili), en Asie et en Afrique, le taux de résistance à la colistine chez *P. aeruginosa* est légèrement plus élevé (jusqu'à 9%) mais certaines études à Singapour, en Inde et au Zimbabwe rapportent cependant des taux préoccupants de 33, 38,3 et 53 % respectivement. En Europe, *P. aeruginosa* est le pathogène avec le taux de résistance à la colistine le plus élevé (jusqu'à 40,2% dans une étude en Espagne) et la plupart des études concerne des isolats cliniques chez des patients atteints de mucoviscidose (16 à 40% en Ecosse, 6,7 à 58% en Allemagne) (116).

C. *Klebsiella pneumoniae*

La résistance à la colistine a été rapportée chez des souches *K. pneumoniae*, et notamment, chez celles productrices de carbapénémases. En effet, des cas d'infections dues à *K. pneumoniae* productrices de carbapénémases ST258 résistante à la colistine ont été mis en évidence aux Etats-

Unis (127) et en Espagne (7). De plus, un cas autochtone d'infection nosocomiale due à une souche *K. pneumoniae* NDM-1 a été rapporté en France (128). Les souches *K. pneumoniae* résistantes à la colistine sont associées à un taux de mortalité global variant de 20 à 100% et à un taux de mortalité relative à l'infection de 25 à 71% (129).

De plus, une étude menée sur 14 patients contaminés par *K. pneumoniae* productrice de KPC-2 a mis en évidence une augmentation significative de 19% du taux de résistance à la colistine suite à une décontamination digestive sélective (colistine sulfate à 1 MUI toutes les 6h pendant 7 jours) (130). Ce résultat est assez préoccupant du fait que la proportion de patients critiques dans les USI colonisés par des isolats intestinaux *K. pneumoniae* est relativement élevée. En effet, dans une étude s'intéressant aux colonisations par des bactéries à Gram négatif chez 150 patients critiques, 52 % sont colonisés par des germes à Gram négatif résistants à la colistine dont 20% sont des isolats *K. pneumoniae* (avec comme site de colonisation préférentiel le tractus digestif à 75%) (131).

Dans la grande majorité des études, les isolats cliniques *K. pneumoniae* résistants à la colistine sont apparentés au niveau clonal suggérant leur dissémination clonale et leur transmission horizontale. La résistance à la colistine se développerait chez des isolats *K. pneumoniae* initialement sensibles sous la pression de sélection provoquée par l'utilisation de cet antibiotique. Ces isolats résistants se transmettraient ensuite horizontalement aux autres patients (131) (132) (133). Une seule étude (en Corée du Sud) a mis en évidence l'émergence d'isolats cliniques de *K. pneumoniae* résistants à la colistine non clonaux chez des patients atteints de bactériémie, suggérant que la résistance à la colistine chez *K. pneumoniae* apparaît de manière indépendante et non par propagation clonale (134).

Le programme de surveillance antimicrobienne SENTRY rapporte un taux de résistance à la colistine chez *K. pneumoniae* de 6,5% avec cependant une variabilité selon les régions du monde. En Nigeria, le taux de résistance à la colistine est inférieur à 10%. En revanche, en Amérique du Nord et en Europe, les études rapportent des taux de résistance à la colistine chez *K. pneumoniae* plus élevés : entre 9 et 27% aux Etats-Unis, 17% en Roumanie et entre 15,3 et 27,6% en Grèce (116).

L'hétéro-résistance chez *K. pneumoniae* a été rapportée mais seulement dans un nombre limité d'études (129). En Grèce, une étude a mis en évidence une incidence de l'hétéro-résistance de 75% chez 16 souches cliniques *K. pneumoniae* productrices de carbapénémases (135).

D. *Escherichia coli*

L'utilisation des souches commensales d'*E. coli* intestinales comme indicateur de la présence de la résistance dans la flore bactérienne est considérée comme un élément clé dans les programmes de surveillance chez les animaux de production. La prévalence de la résistance est considérée comme un marqueur de la pression de sélection exercée par l'utilisation des antibiotiques chez ces animaux. Deux études européennes (française et polonaise) décrivant la résistance antibactérienne chez les souches commensales d'*E. coli* ont mis en évidence une prévalence de la résistance à la colistine de 0,5 et 0,9% chez les porcelets et chez les volailles, les bovins et les porcs respectivement (136) (137). Le taux de résistance à la colistine chez les isolats cliniques d'*E. coli* mis en évidence chez les porcelets atteints de diarrhées ou de maladie de l'œdème est cependant plus élevé avec des valeurs de 6,3 et 6,7% en Espagne et au Brésil respectivement (138) (139).

Bien que la majorité des isolats cliniques *E. coli* résistants à la colistine aient été mis en évidence chez des animaux de production, une étude américaine a rapporté deux cas d'isolats cliniques *E. coli* résistants à la colistine dans un hôpital New-yorkais en mars 2009 et mai 2010 chez un patient atteint de cellulite bactérienne et chez un autre atteint de pneumonie et de bactériémie. Ces souches ont été isolées à partir de prélèvements urinaires et leur CMI de la colistine est de 16 et 32 µg/mL respectivement (140). En revanche, à l'heure actuelle, aucune donnée n'indique une propagation de la résistance à la colistine des animaux de production aux patients humains, ou vice versa, que ce soit chez les souches *E. Coli* ou *Salmonella*. En effet, la transmission de la résistance portée par des éléments génétiques mobiles, tels que les plasmides, inter-bactérienne ou bien de l'animal à l'homme, n'a pas été rapportée (115).

E. *Salmonella enterica*

Jusqu'en 2014, aucune étude ne rapporte d'isolats cliniques de *S. enterica* résistants à la colistine en médecine humaine, probablement du fait que la colistine n'est pas l'antibiotique de choix pour le traitement des infections dues à ces pathogènes. En revanche, la résistance à la colistine in vivo a été observée chez les porcs et les volailles (123). Une étude au Brésil évaluant la résistance à la colistine chez des isolats cliniques de *S. enterica* porcins (responsables d'entérocrites) a mis en évidence un taux de mutants de 21% (26/124) avec des CMI de la colistine variant de 4 à 8 µg/mL (dilution en milieu gélosé). Ces mutants *S. enterica* résistants à la colistine sont de différents sérovars, suggérant que la large utilisation de cet antibiotique chez les porcs ait entraîné la sélection de souches résistance indépendamment du sérotype (139). De plus, certaines de ces souches pourraient être transmises

horizontalement aux humains (123). Effectivement, en 2015, des isolats cliniques fécaux de *S. enterica* subsp. *enterica* sérotype Newport ont été identifiés comme résistants à la colistine chez des pèlerins ayant atteint la Mecque à partir de Marseille (141).

II. Mécanismes de résistance

Les bactéries sont généralement capables de développer différentes stratégies pour se protéger des stimuli environnementaux néfastes, incluant l'exposition aux polymyxines dont la colistine. La résistance à la colistine implique des mécanismes adaptatifs et mutationnels, avec une résistance croisée complète existant entre la colistine et les autres polymyxines (119). La membrane externe est une barrière perméable protégeant les bactéries à Gram négatif des agents toxiques tels que les antibiotiques. Le point clé de l'activité antibactérienne de la colistine est l'interaction électrostatique entre les groupements Dab chargés positivement de la colistine et les groupements phosphate du lipide A du LPS (142).

Les stratégies adaptatives des bactéries à gram négatif incluent donc l'altération de leur LPS qui constitue en effet la première cible de la colistine. De telles altérations peuvent être obtenues par modifications covalentes de lipide A via l'addition de la phosphoéthanolamine (PEtN) et de la 4-amino-4-déoxy-L-arabinose (L-Ara4N) sur les groupements phosphate du lipide A (116) (123) et par acylation/désacylation (143). D'autres stratégies incluent l'utilisation de pompes d'efflux et la formation d'une capsule.

La modification la plus commune du LPS est la substitution cationique des groupements phosphates par la L-Ara4N, ce qui annule la charge négative du lipide A (143). Et la seconde modification est l'addition de la PEtN qui diminue la charge nette de -1,5 à -1. La modification via la L-Ara4N est donc la plus effective puisqu'elle modifie la nature de la charge du LPS. La charge résultante positive du LPS réduit la liaison à la colistine, entraînant la résistance à cet antibiotique (123).

L'activation du système à deux composants (SDC) impliquant PhoP/PhoQ et PmrA/PmrB est déclenchée par des stimuli environnementaux ou des mutations spécifiques dans le SDC entraînant leur activation constitutive et la surexpression de gènes modifiant le LPS (123).

L'activation du SDC PmrA/PmrB induit une régulation positive sur les opérons (unité d'ADN fonctionnelle regroupant des gènes qui opèrent sous le signal d'un même promoteur, une section d'ADN qui déclenche leur transcription) *pmrCAM* et *arnBCADTEF-pmrE*, médiateurs de la synthèse et du transfert sur le lipide A de la PEtN et de la L-Ara4N respectivement. Le SDC PhoP/PhoQ est connu pour contribuer à la résistance aux polymyxines en activant indirectement le SDC PmrA/PmrB via PmrD, excepté chez plusieurs bactéries telles qu'*E. Coli*. Une fois activé, le PmrA phosphorylé se lie au promoteur de l'opéron *arnBCADTEF*, augmentant la reconnaissance et la liaison à l'ARN polymérase, ce conduit à une régulation positive de l'opéron (123).

A. Résistance acquise à la colistine chez les Enterobacteriaceae

1. Klebsiella pneumoniae

➤ Les modifications du LPS médiées par les SDC

Il existe de nombreuses études concernant le mécanisme de résistance aux polymyxines chez *K. pneumoniae*. Chez des souches *K. pneumoniae* résistantes aux polymyxines, les groupements phosphates du lipide A contiennent 5 fois plus de L-Ara4N que les souches sensibles. Cette altération de la composition de la membrane externe est connue pour diminuer la charge négative de la membrane externe chez *K. pneumoniae*, entraînant une diminution de l'interaction entre cette membrane et les polymyxines. La caractérisation moléculaire des modifications structurales du LPS a mis en évidence l'implication des SDC PhoP/PhoQ et PmrA/PmrB et leur régulation positive chez *K. pneumoniae* lors de l'exposition aux polymyxines, suggérant ainsi que ces systèmes sont impliqués dans le mécanisme de résistance aux polymyxines de cette bactérie. L'un des principaux mécanismes de résistance implique des mutations des SDC PhoP/PhoQ et PmrA/PmrB. Cependant, l'activation du SDC PmrA/PmrB dépend également des stimuli externes tels qu'une faible concentration en Mg^{2+} , une concentration élevée en Fe^{3+} ou en Al^{3+} , ou un pH légèrement acide, et entraîne la phosphorylation de PmrA (144). De faibles concentrations en Mg^{2+} ont également un impact sur l'activation du SDC PhoP/PhoQ (119) (145). Des mutations dans ces SDC entraînent leur surexpression constitutive qui active les opérons *pmrCAB* et *arnBCADTEF* via le SDC PmrA/PmrB, additionnant le PEtN et la L-Ara4N sur les groupements 1-phosphate et 4-phosphate du lipide A respectivement (119) (123). Ces modifications cationiques des groupements phosphate du LPS sont responsables de leur liaison réduite aux polymyxines. En outre, l'activation du système PhoP/PhoQ entraîne la phosphorylation de PhoP conduisant à la régulation positive de PmrD. Celui-ci se lie à PmrA et prolonge son état sous sa forme phosphorylée, activant subséquentement les opérons *pmrCAB* et *arnBCADTEF* (Figure 4) (123) (145). L'activation constitutive du système PmrA/PmrB peut être causée par des mutations faux-sens de *pmrA* ou *pmrB*, entraînant par conséquent une régulation positive de *pmrC* et de l'opéron *arnBCADTEF*, conduisant à la synthèse et à l'addition de PEtN et L-ara4N respectivement sur le lipide A (123) (146). Récemment, diverses occurrences de ces mutations ont été identifiées sur les gènes *pmrA* et *pmrB* à partir d'isolats *K. pneumoniae* cliniques et non-cliniques résistant aux polymyxines. Dans toutes ces études, les CMI de la colistine varient de 4 à 32 $\mu\text{g/mL}$ (E-test®) (146) (147). Des mutations similaires sur les mêmes loci ont également été observées chez *Salmonella* et *Enterobacter aerogenes* résistants à la colistine (avec une CMI de 32 $\mu\text{g/mL}$). Cependant, des mutations similaires ont été observées sur *pmrA* et *pmrB* sans être responsables de résistance aux polymyxines.

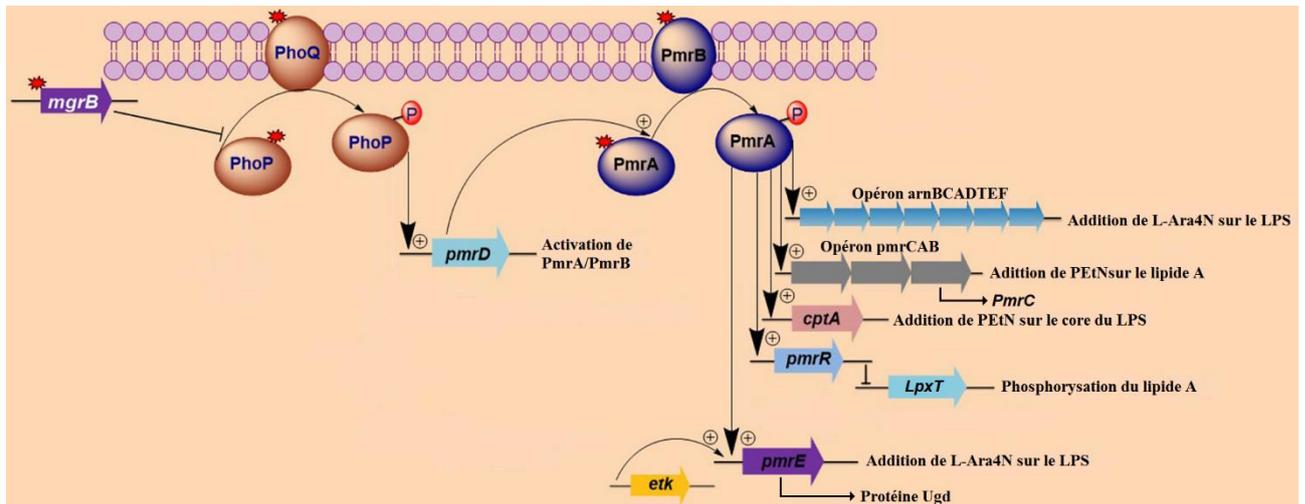


Figure 4: Mécanisme de résistance à la colistine chez les Enterobacteriaceae

Deux analyses génomiques comparatives en Italie et en Espagne ont démontré que la résistance à la colistine chez des isolats clinique *K. pneumoniae* était due à l'inactivation insertionnelle du gène *mgrB* après exposition à l'antibiotique (146). Les CMI rapportées pour ces isolats se situent entre 4 et 64 µg/mL (E-test®) (147). De plus, Cannatelli *et al.* ont montré que l'inactivation insertionnelle de *mgrB* pourrait être sélectionnée, à une fréquence relativement élevée, par l'exposition à la colistine et serait associée à l'expression de la résistance à la colistine (148). Le gène *mgrB* est un gène conservé de 141 nucléotides de long codant pour une courte protéine transmembranaire de 47 acides aminés exerçant un rétrocontrôle négatif sur le système régulateur PhoP/PhoQ (148). Il exercerait ce rétrocontrôle en inhibant l'activité kinase de PhoQ et /ou en stimulant son activité phosphatase, entraînant la suppression de la phosphorylation de PhoP et donc la répression des gènes régulés par ce dernier (Figure 4) (123) (148). En accord avec ce mécanisme, la délétion du gène *mgrB* chez *E. coli* a été observée comme conduisant à la régulation positive des gènes régulés par PhoP (148). De nombreuses mutations sur le gène *mgrB* ont récemment été décrites chez divers isolats *K. pneumoniae* cliniques et non-cliniques résistants à la colistine (144), incluant l'insertion de la séquence IS5-like et d'autres séquences (IS1F-like et ISKpn14) dans une moindre mesure, entraînant l'inactivation du gène (146) (149) (147). Un élément IS5-like initialement localisé sur le plasmide transposé sur le chromosome et inactivant le gène *mgrB* a été observé (146) (147). D'autres altérations du gène *mgrB* ont été rapportées incluant une mutation non-sens entraînant la synthèse d'une protéine transmembranaire tronquée et des mutations faux-sens entraînant la substitution d'acides aminés (147); celles-ci entraînent la régulation positive du SDC PhoP/PhoQ et, subséquentment, de l'opéron *arnBCADTEF* additionnant la L-Ara4N au lipide A (décrit chez *K. pneumoniae* et *E. coli* résistantes à la colistine) (148).

La régulation positive de l'opéron *arnBCADTEF* est généralement attribuée au PmrA phosphorylé, lui-même activé par PmrD, lui-même activé par la phosphorylation de PhoP résultant de l'altération de MgrB (Figure 4). Il a été cependant démontré que PhoP phosphorylé pouvait également activer directement l'opéron *arnBCADTEF* chez *K. pneumoniae* indépendamment des protéines activés PmrD et PmrA (123).

Les mutations sur le gène *mgrB* entraîne une résistance aux polymyxines plus élevée chez *K. pneumoniae* comparée à celle résultant des mutations des SDC. Cette observation démontre que *mgrB* joue un rôle important dans la résistance aux polymyxines chez *K. pneumoniae* (146).

En plus de l'activation de l'opéron *arnBCADTEF* par le PmrA phosphorylé du SDC PmrA/PmrB, la protéine Ugd (UDP- glucose déshydrogénase) joue également un rôle dans la synthèse et l'addition de L-Ara4N au lipide A (150). L'Ugd appartient au groupe des enzymes NAD oxydoréductases et catalyse, lorsqu'elle est phosphorylée, la conversion de l'UDP-glucose en UDP-acide glucuronique, matière initiale pour la synthèse de L-Ara4N médiée par l'opéron *arnBCADTEF* (123) (150).

➤ **Rôle de la capsule dans la résistance aux polymyxines**

K. pneumoniae est capable d'apporter des polysaccharides capsulaires (CPS) à sa surface. Les CPS libérés sont capables de piéger et de se lier aux polymyxines, réduisant de ce fait la quantité d'antibiotique atteignant la surface de la cellule bactérienne, et plus particulièrement la cible, conduisant à une augmentation de la résistance aux polymyxines (116) (123). Ce mécanisme est basé sur une interaction électrostatique entre la colistine cationique et les CPS anioniques (142). La protéine Ugd phosphorylée joue un double rôle dans la synthèse des CPS et de la L-Ara4N (123).

➤ **Importance de la myristoylation du lipide A dans la résistance aux polymyxines chez *K. pneumoniae*, *Salmonella* et *E. Coli***

La myristoylation du lipide A correspond à la deuxième acylation tardive de celui-ci. Chez *K. pneumoniae*, le gène *IpxM* code pour une enzyme impliqué dans la myristoylation du lipide A entraînant la formation d'un lipide A hexa-acylé. Les mutants *K. pneumoniae* *IpxM* produisant principalement des lipides A penta-acylés (c'est-à-dire à qui il manque la dernière acylation) ont montré une sensibilité 8 à 16 fois plus importante que les souches sauvages produisant des lipides A hexa-acylés. De manière similaire, un degré plus élevé d'acylation a été observé chez les souches *K. pneumoniae* résistantes aux polymyxines. Il a été démontré que la seconde acylation du lipide A est primordiale pour l'addition de la L-Ara4N (mais pas de la PEtN) aux groupements phosphate du

lipide A et pour la résistance aux polymyxines chez *K. pneumoniae*, *Salmonella* et *E. Coli* (avec des observations similaires à celles rapportées chez *K. pneumoniae*) (123).

2. *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium*

➤ Les modifications du LPS médiées par les SDC

S. enterica serovar *Typhimurium* a été utilisée en tant que modèle bactérien dans de nombreuses études visant à élucider les mécanismes de résistance aux peptides antimicrobiens cationique incluant les polymyxines. Le mécanisme impliquant les SDC PhoP/PhoQ et PmrA/PmrB est très similaire à celui chez *K. pneumoniae* (123) et met en jeu diverses mutations dans ces systèmes entraînant leur surexpression constitutive. Le SDC PhoP/PhoQ peut également être activé de manière adaptative par des concentrations sublétales en colistine (151). Après avoir été phosphorylé par PmrB, PmrA se lie au site transcriptionnel des opérons *pmrCAB* et *arnBCADTEF* et de *Ugd*, activant leur transcription. Les protéines encodées par ces gènes modifient le LPS de façon covalente par addition de PEtN et de L-Ara4N sur le lipide A respectivement (152). De plus, chez *S. Typhimurium*, la partie core du LPS peut être modifiée par une PEtN via le gène *cptA*. *arnBCADTEF*, *pmrCAB* et *cptA* sont tous régulés par *pmrA* chez *Salmonella* (alors que PhoP peut réguler directement l'opéron *arnBCADTEF* chez *K. pneumoniae*) (Figure 4) (123). Une analyse génétique extensive de *pmrA/pmrB*, chez des mutants spontanément résistants à la colistine, a identifié au total 27 mutations faux-sens indépendantes dans les gènes *pmrA* et *pmrB* qui entraînent toutes une régulation positive de l'opéron *arnBCADTEF* (152). Les CMI de la colistine chez les mutants spontanés sont 20 à 30 fois supérieures à la CMI des souches sensibles (152). Le gène *pmrB* de l'histidine kinase semble être le site le plus fréquent pour les mutations bactériennes par rapport au gène régulateur *pmrA* (152). Cependant, toutes les mutations de PmrA/PmrB n'entraînent pas leur activation constitutive, ni la résistance aux polymyxines chez plusieurs sérotypes de *Salmonella* (123).

En ce qui concerne la résistance aux polymyxines, la modification du LPS par la L-Ara4N confère un niveau de résistance plus élevée que celles par la PEtN. En termes de modifications du LPS entraînant une résistance aux polymyxines chez *S. Typhimurium*, l'opéron *arnBCADTEF* est donc le plus important suivi par *pmrCAB* et *cptA* (123).

De plus, le groupement 1-phosphate du lipide A peut être phosphorylé par LpxT et former un groupement 1-diphosphate (1-PP). Cette altération augmente la charge négative du lipide A et réduit l'efficacité de la modification par la PEtN. Ceci peut donc augmenter la sensibilité globale de *S. Typhimurium* aux polymyxines. Cependant, l'activité LpxT est inhibée par l'activation de PmrA via

pmrR (Pmr régulateur) chez *S. Typhimurium*, ce qui augmente encore la résistance aux polymyxines (123).

➤ **« Coût » biologique de la résistance à la colistine**

La résistance aux antibiotiques cause généralement des perturbations dans les processus cellulaires, aboutissant souvent à des effets délétères sur le fitness cellulaire, quantifiables par le changement des paramètres de fitness tels que la virulence et les taux de croissance et de transmission. Les données théoriques et expérimentales ont démontré que le coût biologique de la résistance est un déterminant majeur du taux de développement de la résistance. Connaître l'impact de la résistance sur le fitness cellulaire apparaît alors important afin de prédire le développement de la résistance dans les différentes situations cliniques et d'évaluer l'effet des moyens mis en œuvre pour réduire l'antibiorésistance (152). En utilisant un modèle murin, Sun *et al.* ont évalué l'effet sur le fitness cellulaire *in vivo* des mutations sur *pmrA* et *pmrB* chez *S. Typhimurium*. Ils ont montré que l'absence de coût de fitness *in vivo* des mutations sur *pmrAB* associée à un taux élevé de mutations suggère que les mutants avec une sensibilité réduite à la colistine peuvent être sélectionnés lors des différentes applications cliniques (152).

3. *Escherichia coli*

Comme détaillé précédemment, chez *E. coli* résistant aux polymyxines, le lipide A est modifié par la L-Ara4N et par la PEtN, dans une moindre mesure. La molécule de PEtN est additionnée via une liaison glycosidique au groupement diphosphate via l'activation de l'opéron *pmrCAB* par le PmrA phosphorylé du SDC PmrA/PmrB, tandis que la L-Ara4N est liée au groupement 4-phosphate via l'activation de l'opéron *arnBCADTEF* par *pmrA* (153). Ces modifications covalentes neutralisent les charges négatives du lipide A, conférant la résistance à la colistine (154).

Comme chez *K. pneumoniae*, l'Ugd phosphorylé joue un rôle dans la synthèse et l'addition de L-Ara4N au lipide A. Chez *E. coli*, la phosphorylation de la protéine Ugd par la tyrosine kinase Etk augmente l'activité déshydrogénase de la protéine Ugd, entraînant une augmentation de la synthèse d'UDP-acide glucuronique, molécule initiale dans la synthèse de L-Ara4N (153). De nombreuses études suggèrent qu'Ugd n'est pas directement activé par PmrA et qu'il serait possible qu'Etk soit le principal activateur d'Ugd (123).

B. Résistance acquise à la colistine chez les bacilles non fermentaires

1. *Acinetobacter baumannii*

Deux mécanismes primaires de la résistance aux polymyxines ont été décrits chez *A. baumannii* : la modification du lipide A du LPS via l'addition de la PEtN, résultant de mutations du SDC PmrA/PmrB, et la perte complète du LPS dues à des mutations ou à l'inactivation des gènes de la synthèse du LPS par insertion de séquences (155).

➤ Modification du LPS médiée par l'opéron PmrCAB

A. baumannii ne possède pas la machine génétique nécessaire à la synthèse de L-Ara4N (dont PhoP/PhoQ) (156). Cependant, il possède un orthologue de l'opéron PmrCAB conduisant à l'addition de PEtN au lipide A. De manière similaire aux bactéries entériques, le SDC PmrA/PmrB a été relié au phénomène de résistance à la colistine chez cette bactérie (157). Les mutations sur *pmrA* et/ou *pmrB* induisent l'expression constitutive de PmrA (5), l'autorégulation du promoteur de l'opéron *pmrCAB* entraînant l'expression de *pmrC*, qui modifie les groupements 1-phosphate et 4-phosphate du lipide A du LPS hepta-acylé avec la PEtN (158). Des mutations faux-sens et des insertions/délétions sur le locus *pmrAB* ont été observées chez des isolats cliniques et des isolats sélectionnés in vitro résistants à la colistine entraînant une résistance à la colistine chez *A. baumannii*. Les mutations sur *pmrB* ont été rapportées dans différents domaines alors qu'une seule mutation a été identifiée sur *pmrA* ; *pmrB* est donc le gène le plus fréquemment muté chez *A. baumannii*, comme chez les bactéries entériques (157). La modification du LPS par l'addition de PEtN est associée à un niveau modéré de résistance à la colistine (158) avec des CMI variant de 4 à 256 µg/mL avec la technique E-test® (123) et de 4 à 128 µg/mL avec la technique de microdilution en bouillon (159). De plus, des conditions environnementales particulières, telles qu'une faible concentration en Mg²⁺ ou un pH acide, peuvent également entraîner l'activation du SDC PmrA/PmrB (5) (158).

➤ Modification du LPS par addition d'une galactosamine

Une unique glycosylation du lipide A par l'addition d'une galactosamine sur le groupement 1-phosphate du lipide a été identifiée récemment chez des souches *A. baumannii* résistantes. Cette unique modification est similaire à celle médiée par l'addition de L-Ara4N chez les bactéries entériques résistantes à la colistine et pourrait jouer un rôle équivalent dans la résistance à la colistine chez *A. baumannii* (160) Des isolats cliniques possédant les modifications liées à la PEtN et la

galactosamine ont été observés avec des CMI de la colistine variant de 1,5 à 48 µg/mL (E-Test®) (123).

➤ **Résistance à la colistine médiée par la perte du LPS**

Chez les souches *A. baumannii* résistantes à la colistine, des mutations sur les trois premiers gènes (*IpxA*, *IpxC* et *IpxD*) de la voie de synthèse du lipide A ont été rapportées, incluant la substitution ou la délétion d'un nucléotide et l'insertion d'un élément ISAbal1, conduisant à la perte complète du LPS. L'absence de LPS chez ces souches résistantes est attribuable à leur incapacité à synthétiser le lipide A par l'inactivation des gènes *IpxA*, *IpxC* et *IpxD*. Etant donné que le lipide A est la cible initiale de la colistine, son absence conduit à la perte du site ciblé par la colistine et à un niveau élevé de résistance chez *A. baumannii*, avec des CMI de la colistine > 128 µg/mL (microdilution en bouillon) (161) (162). Moffatt *et al.* ont également démontré que la résistance médiée par la perte du LPS conduisait à une augmentation de la sensibilité aux autres antibiotiques. Ce résultat pourrait être exploité en polythérapie en combinant la colistine à un second antibiotique efficace contre les cellules *A. baumannii* résistantes à la colistine par perte du LPS (161).

➤ **Altérations morphologiques de la cellule**

Grâce à la microscopie à force atomique, une différence de morphologie et topographie a été mise en évidence entre les souches *A. baumannii* résistantes à la colistine et les souches sensibles à la colistine (119). Soon *et al.* ont étudié ces deux caractéristiques chez souches *A. baumannii* résistantes et des souches sensibles à la colistine à différentes phases de la croissance bactérienne (début et milieu de la phase exponentielle et phase stationnaire). Comparées aux bactéries sensibles en forme de bâtonnets pendant la phase exponentielle, avec un nombre important de pili présents à toutes les phases, les cellules résistantes sont sphériques durant les deux premières phases et présentent à leur surface des pili de longueur et en nombre réduits (Figure 5) (163). De plus, elles possèdent une texture de surface plus fine (Figure 5) et une hétérogénéité cellulaire plus importante durant la phase stationnaire (163) En effet, durant cette phase, les bactéries sensibles de forme allongée sont présentes en plus grande proportion. Après le traitement avec de la colistine (4 et 32 µg/mL), les dommages observés sur la membrane externe des cellules sensibles et des cellules résistantes à la colistine sont similaires, suggérant que la capacité de la colistine à interagir avec la membrane externe est maintenue même chez *A. baumannii* résistant à la colistine (163). D'avantage d'études examinant les mécanismes génétiques associés à ces différences morphologiques et topographiques sont nécessaires afin de mieux comprendre la résistance de la colistine.

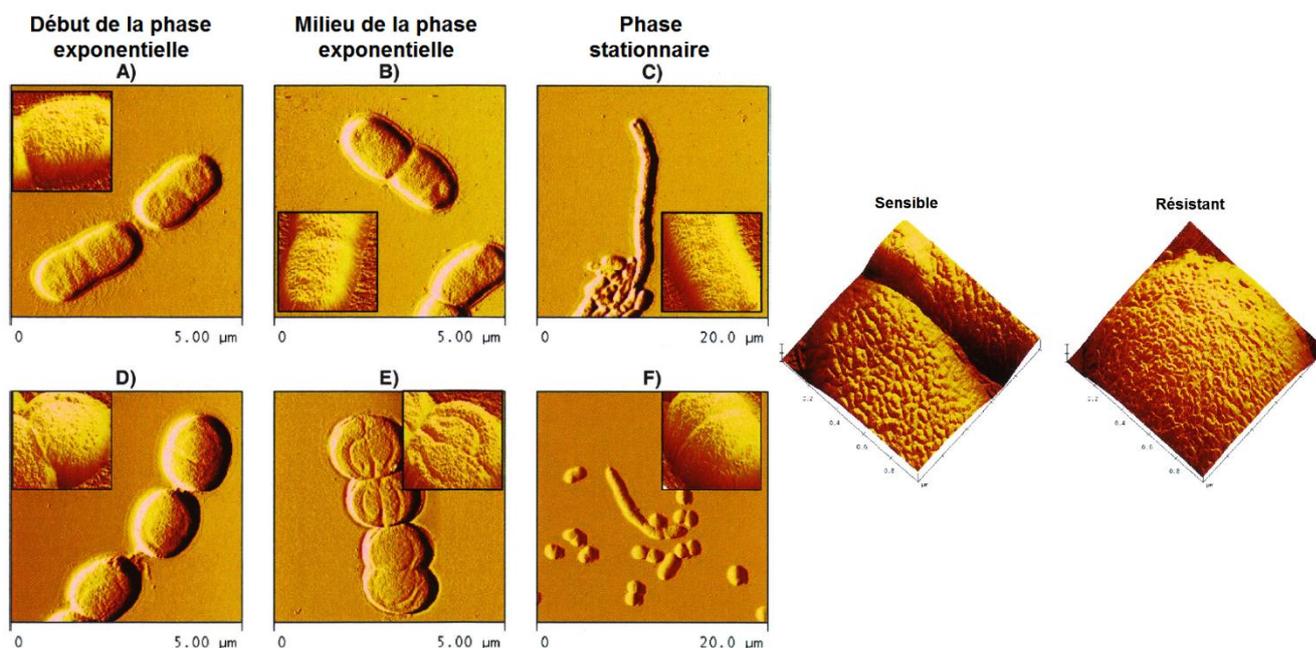


Figure 5: Morphologie et topographie des souches *A. baumannii* sensibles (A,B,C) et résistantes (D,E,F) à la colistine

➤ « Coût » biologique de la résistance à la colistine

Le développement de la résistance à la colistine chez *A. baumannii* peut entraîner un coût de la valeur adaptative (fitness cellulaire = compétitivité) chez ces pathogènes. Ce phénomène est observé chez des isolats résistants *in vivo* et *in vitro* et inclue une moindre croissance, des capacités de colonisation, de transmission et un pouvoir pathogène réduits (155). De plus, Lopez-Rojas et al. ont rapporté que les souches *A. baumannii* résistantes à la colistine présentent une valeur adaptative réduite et une diminution de la virulence en terme de mortalité et de survie dans modèle murin de sepsis péritonéal (164). Ce résultat explique en partie la faible incidence et la propagation limitée d'isolats cliniques *A. baumannii* résistants à la colistine (164). Il existe cependant de nombreux facteurs pouvant influencer la capacité infectieuse des isolats cliniques (notamment des mutations compensatoires permettant de rétablir leur compétitivité), propageant l'émergence de souches résistantes à la colistine capables d'induire des infections sévères (165).

Beceiro *et al.* ont mis en évidence un coût biologique plus significatif chez les mutants Ipx (perte du LPS) comparé aux mutants pmrA/pmrB (modification du LPS par addition de la PEtN) *A. baumannii* résistants à la colistine. Ceci peut notamment s'expliquer par le fait que suite à la perte du LPS, la cellule doit moduler la composition et la structure de sa membrane externe (155).

➤ Réversion de la résistance à la colistine

La réversion du phénotype résistant à la colistine au phénotype sensible a été observée chez *A. Baumannii*. La réversion peut se produire par une mutation compensatoire sur un endroit différent du locus *pmrAB* neutralisant l'hyperactivation du SDC causée par la première mutation. Il est aussi possible que le gène mutant *pmrAB* puisse revenir à sa forme initiale non mutée, réversant ainsi la résistance à la colistine (166). Cependant, les mutations compensatoires n'ont pas été observées chez tous les révertants dont certains présentent une persistance de la mutation sur *pmrB*. Ces résultats suggèrent la possible implication d'un ou plusieurs gènes non identifiés sur le locus *pmrAB* dans le mécanisme de la résistance à la colistine et sa réversion chez de nombreuses souches résistantes à cet antibiotique (123).

2. *Pseudomonas aeruginosa*

Le mécanisme de résistance aux polymyxines chez *P. aeruginosa* est très similaire à celui observé chez les Enterobacteriaceae. Contrairement à *A. baumannii*, *P. aeruginosa* possède les deux SDC PmrA/PmrB et PhoP/PhoQ qui régulent chacun de manière séparée l'opéron *arnBCADTEF*. Actuellement, 5 SDC ont été décrits comme ayant un rôle dans la résistance à la colistine chez *P. aeruginosa* (PmrA/PmrB, PhoP/PhoQ, ParR/ParS, ColR/ColS et CprR/CprS) (123).

➤ Modifications du LPS médiées par les SDC PmrA/PmrB et PhoP/PhoQ

Le mécanisme principal de la résistance aux polymyxines chez *P. aeruginosa* est la modification constitutive de son LPS par l'addition de L-Ara4N médiée par les SDC PmrA/PmrB et PhoP/PhoQ. La stimulation constitutive de ces systèmes de régulation est généralement induite par des mutations (167) (168). En outre, leur stimulation adaptative peut être induite par une faible concentration en Mg^{2+} . De même que chez les bactéries entériques, la synthèse et le transfert de la L-Ara4N sur le lipide A du LPS sont médiés par l'opéron *arnBCADTEF* et le gène *pmrE* codant pour la protéine Ugd (151).

Chez *P. aeruginosa*, les mutations responsables de l'activation PhoP/PhoQ sont situées sur le gène *phoQ* (168). De nombreuses souches *P. aeruginosa* résistantes aux polymyxines possédant une mutation sur le gène *pmrB* ont été reportées. De plus, de nombreux isolats résistants possèdent une double mutation sur le gène *pmrB* et ces mutants sont associés à un haut niveau de résistance à la colistine (CMI > 512 $\mu\text{g/mL}$) (169). En revanche, une seule étude rapporte une mutation sur *pmrA* responsable de résistance (123). Il a été récemment rapporté que les mutations sur *pmrB* associées à

celles sur *phoQ* entraînent une résistance plus élevée comparée à une mutation unique sur l'un ou l'autre gène (123).

En termes de modifications du lipide A chez les souches *P. aeruginosa* résistantes, une relation absolue apparaît entre la résistance à la colistine et l'addition de L-Ara4N. Il semble qu'il y ait une large variation structurale du lipide A chez *P. aeruginosa* résistant en termes de présence de lipide A penta-acylé ou hexa-acylé, contrairement aux bactéries entériques chez qui un degré élevé d'acylation est nécessaire à l'addition de L-Ara4N au lipide A (123).

La réversion du phénotype résistant au phénotype sensible aux polymyxines parmi les mutants *pmrA/pmrB* ou *phoP/phoQ* a été observée après une suppression de la pression de sélection due à la présence de l'antibiotique (123) (169). Le mécanisme impliqué serait le suivant : une mutation additionnelle sur *phoP* ou la troncature du gène *phoQ* via une seconde mutation. Cependant, il y a une forte possibilité qu'il y ait d'autre(s) gène(s) agissant en tant que suppresseurs secondaires quand ils sont altérés, car de nombreuses souches sensibles possèdent des mutations sur *phoQ* induites par les polymyxines associées au type sauvage *phoP* (123).

➤ **Les SDC ColR/ColS et CprR/CprS**

Les SDC régulateurs ColR/ColS et CprR/CprS ont également été identifiés comme responsables de résistance chez *P. aeruginosa* de façon directe ou indirecte. Des mutations dans ces deux systèmes contribuent à un niveau élevé de résistance chez les isolats mutants *phoQ*. L'implication de ColR/ColS et CprR/CprS dans la résistance aux polymyxines pourrait survenir via l'interaction avec le système de régulation PhoP/PhoQ, améliorant l'activité de PhoQ et les modifications via la L-Ara4N, entraînant un niveau élevé de résistance. Cette interaction pourrait être initiée par la présence de mutations sur ColR/ColS et CprR/CprS (170). Alternativement, Gutu *et al.* ont suggéré les systèmes ColR/ColS et CprR/CprS pourraient réguler d'autres gènes impliqués dans la résistance aux polymyxines associés à la médiation des modifications par la L-Ara4N via le mutant *phoQ* (170).

➤ **La résistance adaptative chez *P. aeruginosa* et le SDC ParR/ParS**

La résistance adaptative décrit un phénomène autorégulé caractérisé par l'induction rapide de résistance à un antibiotique en sa présence, et par la réversion au phénotype sensible en son absence. Ce type de résistance est instable ; en présence continue de l'antibiotique, la résistance est améliorée et prolongée. Elle doit être distinguée de la résistance génétique qui est stable (mutations) (151).

Des concentrations suboptimales en colistine peuvent induire l'expression de l'opéron *arnBCADTEF* chez *P. aeruginosa*. Cependant, ni PmrA/PmrB ni PhoP/PhoQ n'apparaît essentiel à cette régulation positive (171). Fernandez *et al.* ont montré que le SDC ParR/ParS régule positivement l'opéron *arnBCADTEF* indépendamment de PmrA/PmrB et PhoP/PhoQ en présence de peptides antimicrobiens, augmentant ainsi la résistance (171). Le SDC CprR/CprS a également été impliqué dans la résistance adaptative aux polymyxines et aux autres agents peptidiques (123).

➤ **Rôle des pompes d'efflux dans la résistance à la colistine**

Les pompes d'efflux jouent un rôle important dans la résistance aux polymyxines chez les bactéries à Gram négatif mais également à Gram positif. La pompe d'efflux MexAB-OprM chez *P. aeruginosa* a été proposée pour lui conférer une tolérance vis-à-vis de la colistine, due à l'augmentation de l'expression MexAB-OprM suite à l'exposition à cette molécule (142) (151). Une étude a rapporté que les mutants KpnEF sont davantage sensibles à plusieurs antibiotiques, y compris la colistine, et affiche une CMI divisée par 2 comparées aux souches sauvages *K. pneumoniae* (123). De plus, la pompe d'efflux AcrAB est également associée à la résistance aux polymyxines chez *E. coli* (142).

➤ **Rôle de la protéine OprH**

Il a été montré que la surexpression protéine OprH de la membrane externe peut entraîner une résistance aux polymyxines chez *P. aeruginosa* (142). Cette surexpression est induite par un milieu pauvre en Mg^{2+} via l'activation du SDC PhoP/PhoQ ou une mutation sur le gène *phoP* (119) (151). La résistance aux polymyxines médiée par la protéine OprH s'explique par le fait que l'OprH est une protéine basique se liant aux sites cationiques divalents du LPS, rendant ces sites indisponibles pour la liaison aux polymyxines. Cependant, il a également été suggéré que la surexpression d'OprH n'était pas suffisante pour induire, seule, la résistance aux polymyxines (123).

III. Alternatives thérapeutiques contre les bactéries à Gram négatif résistantes à la colistine et perspectives d'avenir

A. Alternatives thérapeutiques

➤ La polythérapie

La colistine en polythérapie est la première alternative thérapeutique mise en œuvre pour lutter contre les germes à Gram négatif pan-résistants. Les études s'intéressant à l'efficacité et à la synergie de la colistine combinée à un (ou plusieurs) autre(s) antibiotique(s), contre des souches d'*A. baumannii*, de *P. aeruginosa* et de *K. pneumoniae* résistantes à la colistine, sont des études *in vitro* de bactéricidie. Les quelques publications *in vivo*, qui sont rapportées à ce jour, concernent uniquement des recueils de cas cliniques.

La polythérapie la plus étudiée est celle associant la colistine à un carbapénème. Une étude réalisée par Bergen *et al.* et conduite sur 2 inoculas (10^6 et 10^8 UFC/mL) pendant 48h, utilise la combinaison colistine/imipénème contre 3 isolats *P. aeruginosa* résistants à cette polymyxine (CMI > 128 µg/mL). Des concentrations de 1, 4 et 32 µg/mL sont employées pour la colistine et des concentrations de 1, 8 et 32 µg/mL pour l'imipénème. Une synergie est observée à 24h pour 9 et 8 combinaisons sur les inoculas 10^6 et 10^8 UFC/mL respectivement et à 48h pour 5 et 7 combinaisons (35). Plus récemment, le même groupe d'étude a investigué l'effet bactéricide de la colistine combinée au doripénème sur un isolat clinique *P. aeruginosa* résistant à la colistine en utilisant un modèle PK/PD (inocula de 10^6 et 10^8 UFC/mL, correspondant à la densité bactérienne retrouvée dans de nombreuses infections). Les 4 combinaisons étudiées présentent des concentrations cliniquement atteignables au niveau plasmatique (0,5 et 2 µg/mL pour la colistine et pics de concentration à 2,5 et 25 µg/mL toutes les 8h pour le doripénème). Les combinaisons contenant du doripénème à 25 µg/mL entraînent l'éradication de l'isolat *P. aeruginosa* à 10^6 UFC/mL et une réduction de la recroissance bactérienne de l'inoculum le plus élevé (172). L'effet bactéricide de ces 4 combinaisons colistine/doripénème a également été analysé dans un modèle PK/PD identique contre un isolat clinique *K. pneumoniae* résistant à la colistine. Seule la combinaison contenant la colistine à 2 µg/mL et le doripénème à 25 µg/mL entraîne une amélioration de l'effet bactéricide (augmentation de 3 à $6,5 \log_{10}$ UFC/mL à 24 et 72h respectivement) contre *K. pneumoniae* à 10^6 UFC/mL en comparaison avec la monothérapie. A partir de 50h après l'initiation de cette polythérapie, aucune bactérie viable n'est détectée (173). Ces résultats *in vitro* sont en faveur de l'utilisation de la polythérapie colistine/doripénème en tant qu'alternative thérapeutique contre les bactéries à Gram négatif résistantes à la colistine. Des investigations supplémentaires *in vivo* (modèles animaux et patients) sont cependant nécessaires.

Une publication de 2015 rapporte le cas d'un patient atteint de bactériémie due à *K. pneumoniae* pan-résistante traitée avec succès par une polythérapie regroupant l'association ertapénème (1g/j)/doripénème (2g/j) pendant 14 jours combinée à la colistine (dose de charge 6 MUI puis 4,5 MUI /12h) pendant les 7 premiers jours. Malgré l'arrêt de la colistine 7 jours après l'initiation de l'antibiothérapie suite à l'apparition d'une neurotoxicité (hallucinations visuelles), une guérison bactériologique est obtenue. Ce résultat suggère que le rôle important de la colistine se situerait principalement à l'initiation de l'antibiothérapie ; ce qui permettrait de réduire le temps d'exposition à la colistine et donc le risque de toxicité. Ce cas clinique est complété par l'étude de la bactéricidie de la combinaison colistine/ertapénème/doripénème sur un inoculum *K. pneumoniae* pan-résistant (CMI de 32, 128 et 256 µg/mL respectivement) à 10⁵ UFC/mL. Cette combinaison montre un effet bactéricide rapide (synergie et effet bactéricide à 8h associés à une absence de recroissance bactérienne à 24h) même à des concentrations subinhibitrices (0,5 et 1 x CMI). Le mécanisme de la synergie colistine/carbapénèmes suspecté repose sur l'augmentation de la perméabilité de la membrane externe par la colistine, favorisant l'obtention de concentrations intracellulaires inhibitrices en carbapénèmes (174).

Dans un modèle PK/PD regroupant 2 inocula d'*A. baumannii* résistant à la colistine à 10⁶ et 10⁸ UFC/mL, la colistine à 0,5, 2 et 5 µg/mL combinée à la rifampicine à 5 µg/mL a montré une synergie dans 92% (3 combinaisons à 6, 24, 48 et 72h après l'initiation de l'exposition aux antibiotiques) et 88% des cas (colistine à 2 et 5 µg/mL à 6, 24, 48 et 72h) et un effet bactéricide de 2,5 à 7,5log₁₀ et de 2,5 à 5log₁₀ UFC/mL pour les inocula à 10⁶ et 10⁸ UFC/mL respectivement (175). Tascini *et al.* ont également démontré la synergie *in vitro* de la polythérapie colistine/rifampicine contre des isolats *K. pneumoniae* résistants à la colistine (129).

Une synergie *in vitro* et un effet bactéricide rapide de la polythérapie colistine/rifampicine ont également été mis en évidence contre des souches *A. baumannii*, *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae* sélectionnées *in vitro* résistantes à la colistine et des isolats cliniques *A. baumannii* résistants à la colistine (176) (177). Cependant, les concentrations testées en antibiotiques sont bien supérieures à celles réalisables *in vivo* et la valeur clinique de cette combinaison est limitée du fait du risque élevé de néphrotoxicité.

➤ Les peptides antimicrobiens eucaryotes

Ces peptides cationiques sont des protéines de petite taille (composées de 12 à 50 acides aminés) chargées positivement au pH physiologique. Ce sont des éléments omniprésents dans la réponse immunitaire innée chez de nombreuses espèces invertébrées, végétales et animales. Ils possèdent un

profil de structure et de charge similaire à la colistine et leur principal mécanisme d'action repose sur la perturbation des membranes cellulaires. Les étapes finales aboutissant à la mort du pathogène sont cependant différentes, entraînant une sensibilité à certains de ces peptides des souches *A. baumannii* résistantes à la colistine (178). En effet, une analyse de l'activité *in vitro* de 15 peptides antimicrobiens contre des souches *A. baumannii* sensibles à la colistine et des souches résistantes a mis en évidence une bonne activité de la mélittine et du mastoparan contre ces deux types de souches. Les courbes de bactéricidie ont également montré une activité bactéricide du mastoparan à partir d'une concentration égale à 4 fois la CMI contre les souches *A. baumannii* résistantes à la colistine (179). Dans deux précédentes études, des peptides hybrides cécropine A-mélittine présentent des CMI variant de 2 à 8 µg/mL et possèdent une activité bactéricide rapide (selon les courbes de bactéricidie) contre des isolats cliniques *A. baumannii* résistants à la colistine (178) (180). Ces résultats sont en faveur d'une possible utilisation du mastoparan et des hybrides cécropine A-mélittine, et par extension des autres peptides antimicrobiens possédant des caractéristiques similaires, comme alternative thérapeutique pour les infections dues à *A. baumannii* pan-résistant.

De plus, la synergie de la combinaison peptides/β-lactamines a été démontrée ; celle-ci pourrait permettre de réduire le risque d'induire des résistances aux peptides antimicrobiens (178) (180). De même, l'association S-thanatine/colistine a montré une synergie *in vitro* et *in vivo* contre des souches multirésistantes *P. aeruginosa* sensibles à la colistine; elle permettrait surtout de prévenir l'apparition de souches résistantes à la colistine à la suite de l'antibiothérapie (181).

B. Perspectives d'avenir

➤ Nouveaux inhibiteurs de β-lactamases

Les β-lactamases, en particulier les MBL (Métallo-β-Lactamases), jouent un rôle important dans l'émergence de la résistance aux carbapénèmes chez *A. baumannii*. Leurs structures et leurs mécanismes sont dépendants du zinc, cofacteur de nombreuses réactions enzymatiques. De nouveaux agents capables de se lier au site enzymatique de l'ion Zn²⁺, conduisant à l'inactivation de l'enzyme, peuvent être une thérapie prometteuse contre ce pathogène. Il existe cependant des différences architecturales du site actif entre les différents types de MBL, rendant difficile le développement d'un inhibiteur efficace contre toutes ces enzymes. De plus, il existe des enzymes mammifères homologues au MBL, augmentant le risque d'une toxicité significative. Malgré cela, le développement de ces inhibiteurs est en cours de recherche (3).

➤ Inhibiteurs de pompes d'efflux

Les études *in vitro* ont permis d'identifier plusieurs inhibiteurs de pompes d'efflux tels que des végétaux alcaloïdes et certains composés synthétiques. Leur action permettrait de maintenir une concentration efficace en antibiotique au niveau bactérien. Cependant, il existe une grande variabilité des pompes à efflux chez les bactéries à Gram négatif, entraînant une régulation positive compensatoire des pompes non inhibées. De plus, les inhibiteurs de pompes d'efflux testés actuellement ont montré une toxicité notable (3).

➤ Nouvelle génération de lipopeptides-polymyxines

En se basant sur l'analyse de la relation structure-fonction des mécanismes d'action et de résistance des polymyxines, Velkov *et al.* ont créé la première génération de lipopeptides-polymyxines en modifiant leur structure par l'ajout de groupements lipidiques sur les D- et L-Leucine en position 6 et 7 de la colistine, augmentant ainsi les interactions hydrophobes avec le lipide A du LPS. Ces lipopeptides ont montré une activité très prometteuse contre des souches résistantes aux polymyxines. En particulier, ils possèdent des CMI de 2 à 8 µg/mL contre des souches *A. baumannii*, *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae* résistantes à la colistine (CMI de la colistine > 128 µg/mL). Dans les études de cinétique de bactéricidie, le lipopeptide FADDI-003 à 16 µg/mL (soit 4 x CMI) présente un effet bactéricide de 6log₁₀ contre un isolat clinique *P. aeruginosa* résistant à la colistine et aucune cellule viable n'est détectée 2h après le début de l'exposition à l'antimicrobien. De plus, l'utilisation du microscope électronique à transmission durant l'exposition au lipopeptide met en évidence des images de lyse cellulaire similaires à celles obtenues après traitement à la colistine de bactéries à Gram négatif sensibles, avec l'apparition de vésicules et de protrusions à la surface de la membrane externe de l'isolat clinique *P. aeruginosa* résistant à la colistine. En outre, l'efficacité *in vivo* du lipopeptide FADDI-002 contre cet isolat clinique a été démontrée dans un modèle murin d'infection pulmonaire. Concernant la néphrotoxicité de ces lipopeptides-polymyxines, aucune lésion rénale macroscopique n'a été observée après traitement des souris et seule une légère dilatation et dégénération tubulaire a été mise en évidence au niveau microscopique (lésions rénales trop modestes pour être gradées en comparaison aux lésions de grade I observées après traitement à la colistine) (182). Ces résultats sont encourageants et soutiennent la poursuite du développement de ces lipopeptides-polymyxines comme agents thérapeutiques contre les bactéries à Gram négatif pan-résistantes.

CONCLUSION

L'augmentation de l'antibiorésistance, notamment chez les pathogènes nosocomiaux à Gram négatif tels que *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*, a conduit à une majoration du taux de mortalité et des coûts des soins dans les USI. La colistine est considérée comme la dernière ligne thérapeutique contre ses bactéries multirésistantes. Malheureusement, son utilisation importante pour le traitement des infections causées par ces trois pathogènes, et souvent à des doses suboptimales, a été endiguée par l'émergence de résistance à la colistine.

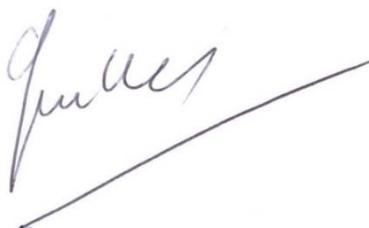
Selon la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF), la colistine est un antibiotique occupant une place à part du fait de sa fréquence de mutants élevée dont le type de résistance induit peut conduire à un échec thérapeutique et de son profil pharmacocinétique pouvant favoriser, parfois de façon prolongée, la présence de concentrations subinhibitrices in situ. Etant donné l'absence de nouveaux antibiotiques efficaces contre les bactéries à Gram négatifs pan-résistantes et proches d'une approbation réglementaire, l'utilisation de la colistine doit être strictement encadrée afin de limiter l'émergence de nouvelles souches résistantes et leur propagation. Sa prescription doit être limitée et relever uniquement de l'avis d'un médecin référent après la réalisation d'un antibiogramme et de l'identification éventuelles des souches hétéro-résistantes. Ses posologies doivent être adaptées suite à la mesure des concentrations sériques par spectrométrie de masse ou HPLC et son utilisation dans les décontaminations digestives sélectives devrait être limitée (sinon proscrite) et ainsi que son utilisation en médecine vétérinaire.

Thèse de : Melle MUNOZ Gaëlle

Le Professeur responsable
VetAgro Sup campus vétérinaire



Le Président de la thèse



Le Directeur général
VetAgro Sup

Par Délégation
Dr. L. FREYBURGER
Directeur de l'Enseignement
et de la Vie-Étudiante
VetAgro Sup Campus Vétérinaire

Vu et permis d'imprimer

Lyon, le 24 NOV. 2015

Pour le Président de l'Université,
Le Président du Comité de Coordination des Études
Médicales,
Professeur F.N GILLY



Bibliographie

1. **RAHMAN M., SHUKLA S.K., PRASAD K.N., OVEJERO C.M., PATI B.K., TRIPATHI A. et al.** (2014) Prevalence and molecular characterisation of New Delhi metallo- β -lactamases NDM-1, NDM-5, NDM-6 and NDM-7 in multidrug-resistant Enterobacteriaceae from India. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Vol. 44 (1), pp. 30-37.
2. **DHARIWAL A.K., TULLU M.S.** (2013) Colistin: Re-emergence of the 'forgotten' antimicrobial agent. *Journal of Postgraduate Medicine*, Vol. 59 (3), pp. 208-215.
3. **SINGH H., THANGARAJ P., CHAKRABARTI A.** (2013) Acinetobacter baumannii: A Brief Account of Mechanisms of Multidrug Resistance and Current and Future Therapeutic Management. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, Vol. 7 (11), pp. 2602-2605.
4. **MEZZATESTA M.L.** (2014) Carbapenem and multidrug resistance in Gram-negative bacteria in a single centre in Italy: Considerations on in vitro assay of active drugs. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Vol. 44 (2), pp. 112-116.
5. **ADAMS M.D., NICKEL G.C., BAJAKSOUZIAN S., LAVENDER H., MURTHY A.R., JACOBS M.R., BONOMO R.A.** (2009) Resistance to Colistin in Acinetobacter baumannii Associated with Mutations in the PmrAB Two-Component System. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 53 (9), pp. 3628-3634.
6. **MELOT B., COLOT J., GUERRIER G.** (2015) Bacteremic community-acquired infections due to Klebsiella pneumoniae: clinical and microbiological presentation in New Caledonia, 2008-2013. *International Journal of Infectious Diseases*, Vol. 41, pp. 29-31.
7. **VALENTIN-MARTIN A., VALVERDE-DE FRANCISCO A., BOSQUE-VALLA M., CANTON- MORENO R.** (2013) First report of colistin-resistant KPC-2 producing ST258-Klebsiella pneumoniae in Spain. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, Vol. 31 (7), pp. 489-491.
8. **STOLLE I., PRENGER- BERNINGHOFF E., STAMM I., SCHEUFEN S., HASSDENTEUFEL E., GUENTHER S. et al.** (2013) Emergence of OXA-48 carbapenemase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae in dogs. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, Vol. 68 (12), pp. 2802-2808.
9. **LI J., NATION R.L., MILNE R.W., TURNIDGE J.D., COULTHARD K.** (2005) Evaluation of colistin as an agent against multi-resistant Gram-negative bacteria. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Vol. 25 (1), pp. 11-25.
10. **POBIEGA M., MACIAG J., CHMIELARCZYK A., ROMANISZYN D., POMORSKA-WESOŁOWSKA M., ZIOLKOWSKI G. et al.** (2015) Molecular characterization of carbapenem-resistant Pseudomonas aeruginosa strains isolated from patients with urinary tract infections in Southern Poland. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, Vol. 83 (3), pp. 295-297.
11. **RICHARDOT C., PLESIAT P., FOURNIER D., MONLEZUN L., BROUTIN I., Llanes C.** (2015) Carbapenem resistance in cystic fibrosis strains of Pseudomonas aeruginosa as a result of amino acid substitutions in porin OprD. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Vol. 45 (5), pp. 529-532.
12. **MATSUMOTO M., SHIGEMURA K., SHIRAKAWA T., NAKANO Y., MIYAKE H., TANAKA K. et al.** (2012) Mutations in the gyrA and parC genes and in vitro activities of fluoroquinolones in 114 clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa derived from urinary tract infections and their rapid detection by denaturing high-performance liquid chromatography. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Vol. 40 (5), pp. 440-444.

13. **GIAMARELLOU H.** (2010) Multidrug-resistant Gram-negative bacteria: how to treat and for how long. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Vol. 36, pp. 50-54.
14. **LOURENCO DA FONSECA E., DOS SANTOS FREITAS F., VICENTE A.C.P.** (2010) The Colistin-Only-Sensitive Brazilian *Pseudomonas aeruginosa* Clone SP (Sequence Type 277) is spread worldwide. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 54 (6), p. 2743.
15. **HAENNI M., HOCQUET D., PONSIN C., CHOLLEY P., GUYEUX C., MADEC J.Y., BERTRAND Y.** (2015) Population structure and antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* from animal infections in France. *BMC Veterinary Research*, Vol. 11 (1), p. 9.
16. **CLEMENTE L., MANAGEIRO V., JONES-DIAS D., CORREIA I., THEMUDO P., ALBUQUERQUE T. et al.** (2015) Antimicrobial susceptibility and oxymino- β -lactam resistance mechanisms in *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* isolates from different animal sources. *Research in Microbiology*, Vol. 166 (7), pp. 574-583.
17. **EMILE C.** (2014) Infections à bactéries multirésistantes : quel traitement ? *OptionBio*, (513), pp. 18-20.
18. **BAROUD M., DANDACHE I., ARAJ G.F., WAKIM R., KANJ S., KANAFI Z., et al.** (2013) Underlying mechanisms of carbapenem resistance in extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* isolates at a tertiary care centre in Lebanon: role of OXA-48 and NDM-1 carbapenemases. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Vol. 41 (1), pp. 75-79.
19. **Réseau d'épidémiologie de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes animales.** (2015) Bilan annuel 2014. Disponible sur : https://www.resapath.anses.fr/resapath_uploadfiles/files/Documents/2014%20RESAPATH%20Rapport%20Annuel.pdf
20. **ZHANG LP, XUE WC, MENG DY.** (2015) First report of New Delhi metallo- β -lactamase 5 (NDM-5)-producing *Escherichia coli* from blood cultures of three leukemia patients. *International Journal of Infectious Diseases*. Disponible sur : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1201971215002404>
21. **YOUSFI M., MAIRI A., BAKOUR S., TOUATI A., HASSISSEN L., HADJADJ L., ROLAIN J.M.** (2015) First report of NDM-5-producing *Escherichia coli* ST1284 isolated from dog in Bejaia, Algeria. *New Microbes and New Infections*, Vol. 8, pp. 17-18.
22. **KEELARA S., THAKUR S.** (2014) Dissemination of plasmid-encoded AmpC β -lactamases in antimicrobial resistant *Salmonella* serotypes originating from humans, pigs and the swine environment. *Veterinary Microbiology*, Vol. 173, pp. 76-83.
23. **CLEMENTE L., MANAGEIRO V., FERREIRA E., JONES-DIAS D., CORREIA I., THEMUDO P. et al.** (2013) Occurrence of extended-spectrum β -lactamases among isolates of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* from food-producing animals and food products, in Portugal. *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 167, pp. 221-228.
24. **KAO C.Y., CHEN C.A., LIU Y.F., WU H.M., CHIOU C.S., YAN J.J., WU J.J.** (2015) Molecular characterization of antimicrobial susceptibility of *Salmonella* isolates: First identification of a plasmid carrying *qnrD* or *oqxAB* in Taiwan. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. Disponible sur : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1684118215007537>
25. **SINGH C.L., CARIAPPA C.M.P.** (2015) Blood culture isolates and antibiogram of *Salmonella*: Experience of a tertiary care hospital. *Medical Journal Armed Forces India*. Disponible sur : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377123715001331>

26. **FALAGAS M.E., KASIAKOU S.K.** (2005) Colistin: The Revival of Polymyxins for the Management of Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacterial Infections. *Clinical Infectious Diseases*, Vol. 40 (9), pp. 1333-1341.
27. **MICHALOPOULOS A., FALAGAS M.E.** (2008) Colistin and Polymyxin B in Critical Care. *Critical Care Clinics*, Vol. 24, pp. 377-391.
28. **BERGEN P.J., LI J., RAYNER C.R., NATION R.L.** (2006) Colistin Methanesulfonate Is an Inactive Prodrug of Colistin against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 50 (6), pp. 1953-1958.
29. **YAHAV H., FARBMAN L., LEIBOVICI L., PAUL M.** (2012) Colistin: new lessons on an old antibiotic. *Clinical Microbiology and Infection*, Vol. 18 (1), pp. 18-29.
30. **LI J., NATION R.L., TURNIDGE J.D.** (2006) Defining the Dosage Units for Colistin Methanesulfonate: Urgent Need for International Harmonization. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 50 (12), pp. 4231-4232.
31. **FALAGAS M.E., KASIAKOU S.K.** (2006) Use of International Units When Dosing Colistin Will Help Decrease Confusion Related to Various Formulation of the Drug around the World. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 50 (6), pp. 2274-2275.
32. **LANDMAN D., GEORGESCU C., MARTIN D.A., QUALE J.** (2008) Polymyxins Revisited. *Clinical Microbiology Reviews*, Vol. 21 (3), pp. 449-465.
33. **LI J., NATION R.L., TURNIDGE J.D., MILNE R.W., COULTHARD K., RAYNER C.R., PATERSON D.L.** (2006) Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *The Lancet Infectious Diseases*, Vol. 6 (9), pp. 589-601.
34. **NATION R.L., LI J., CARS O., COUET W., DUDLEY M.N., KAYE K.S. et al.** (2015) Framework for optimisation of the clinical use of colistin and polymyxin B: the Prato polymyxin consensus. *The Lancet Infectious Diseases*, Vol. 15 (2), pp. 225-234.
35. **BERGEN P.J., LANDERSDORFER C.B., ZHANG J., ZHAO M., LEE H.J., NATION R.L., LI J.** (2012) Pharmacokinetics and pharmacodynamics of 'old' polymyxins: what is new? *Diagnostic microbiology and infectious disease*, Vol. 74 (3), pp. 213-223.
36. **VELKOV T., ROBERTS K.D., NATION R.L., THOMPSON P.E., LI J.** (2013) Pharmacology of polymyxins: new insights into an 'old' class of antibiotics. *Future microbiology*, Vol. 8 (6), pp. 1-20.
37. **GUPTA S., GOVIL D., KAKAR P.N., PRAKASH O., ARORA D., DAS S. et al.** (2009) Colistin and polymyxin B: A re-emergence. *Indian J Crit Care Med*, Vol. 13 (2), pp. 49-53.
38. **ZAKUAN Z.D., AKTER J., SIVANESAN S., ROBERTS K.D., THOMPSON P.E., NATION R.L. et al.** (2014) A secondary mode of action of polymyxins against Gram-negative bacteria involves the inhibition of NADH-quinone oxidoreductase activity. *The Journal of antibiotics*, Vol. 67 (2), pp. 147-151.
39. **HINDLER J.A., HUMPHRIES R.M.** (2013) Colistin MIC Variability by Method for Contemporary Clinical Isolates of Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacilli. *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 51 (6), pp. 1678-1684.
40. **BEHERA B., MATHUR P., DAS A., KAPIL A., GUPTA B., BHOI S. et al.** (2010) Evaluation of susceptibility testing methods for polymyxin. *International Journal of Infectious Diseases*, Vol. 14 (7), pp. 596-601.
41. **NHUNG P.H., MIYOSHI-AKIYAMA T., PHUONG D.M., SHIMADA K., ANH N.Q., BINH N.G. et al.** (2015) Evaluation of the E-test method for detecting colistin susceptibility of multidrug-resistant Gram-negative isolates in Vietnam. *Journal of Infection and Chemotherapy*, Vol. 21 (8), pp. 617-619.

42. **GALANI I., KONTOPIDOU F., SOULI M., REKATSINA P.D., KORATZANIS E., DELIOLANIS J., GIAMARELLOU H.** (2008) Colistin susceptibility testing by Etest and disk diffusion methods. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Vol. 31 (5), pp. 434-439.
43. **BOYEN F., VANGROENWEGHE F., BUTAYE P., DE GRAEF E., CASTRYCK F., HEYLEN P. et al.** (2010) Disk prediffusion is a reliable method for testing colistin susceptibility in porcine *E. coli* strains. *Vet Microbiol*, Vol. 144 (3), pp. 359-362.
44. **GALES A.C., REIS A.O., JONES R.N.** (2001) Contemporary Assessment of Antimicrobial Susceptibility Testing Methods for Polymyxin B and Colistin: Review of Available Interpretative Criteria and Quality Control Guidelines. *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 39 (1), pp. 183-190.
45. **KLEIN J.P., GORSY T.** (2014) Vérification des performances d'une méthode : l'étude de la sensibilité aux antibiotiques par la technique des E-test®. *Revue Francophone des Laboratoires*, Vol. 2014 (461), pp. 47-58.
46. **TAN T.Y., NG S.Y.** (2007) Comparison of Etest, Vitek and agar dilution for susceptibility testing of colistin. *Clinical Microbiology and Infection*, Vol. 13 (5), pp. 541-544.
47. **BERGEN J.P., LANDERSDORFER C.B., LEE H.J., LI J., NATION R.L.** (2012) 'Old' antibiotics for emerging multidrug-resistant bacteria. *Current opinion in infectious diseases*, Vol. 25 (6), pp. 626-633.
48. **BERGEN P.J., LI J., NATION R.L., TURNIDGE J.D., COULTHARD K., MILNE R.W.** (2008) Comparison of Once-, Twice- and Thrice-daily Dosing of Colistin on Antibacterial Effect and Emergence of Resistance: Studies with *Pseudomonas aeruginosa* in an in vitro Pharmacodynamic Model. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, Vol. 61, pp. 636-642.
49. **DUDHANI R.V., TURNIDGE J.D., COULTHARD K., MILNE R.W., RAYNER C.R., LI J., NATION R.L.** (2010) Elucidation of the Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Determinant of Colistin Activity against *Pseudomonas aeruginosa* in Murine Thigh and Lung Infection Models. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 54 (3), pp. 1117-1124.
50. **LI J., MILNE R.W., NATION R.L., TURNIDGE J.D., SMEATON T.C., COULTHARD K.** (2003) Use of High-Performance Liquid Chromatography To Study the Pharmacokinetics of Colistin Sulfate in Rats following Intravenous Administration. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 47(5), pp. 1766-1770.
51. **LI J., MILNE R.W., NATION R.L., TURNIDGE J.D., SMEATON T.C., COULTHARD K.** (2004) Pharmacokinetics of colistin methanesulphonate and colistin in rats following an intravenous dose of colistin methanesulphonate. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, Vol. 53(5), pp. 837-840.
52. **MARKANTONIS S.L., MARKOU N., FOUSTERI M., SAKELLARIDIS N., KARATZAS S., ALAMANOS I. et al.** (2009) Penetration of Colistin into Cerebrospinal Fluid. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 53 (11), pp. 4907-4910.
53. **IMBERTI R., CUSATO M., VILLANI P., CARNEVALE L., LOTTI G.A., LANGER M., REGAZZI M.** (2010) Steady-state pharmacokinetics and BAL concentration of colistin in critically ill patients after IV colistin methanesulfonate administration. *Chest*, Vol. 138 (6), pp. 1333-1339.
54. **LI J., RAYNER C.R., NATION R.L., DEANS R., BOOTS R., WIDDECOMBE N. et al.** (2015) Pharmacokinetics of Colistin Methanesulfonate and Colistin in a Critically Ill Patient Receiving Continuous Venovenous Hemodiafiltration. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 59 (12), pp. 4814-4815.
55. **KASSAMALI Z., JAIN R., DANZIGUER L.H.** (2015) An Update on the arsenal for multidrug-resistant *Acinetobacter* infections: Polymyxin antibiotics. *International Journal of Infectious Diseases*, Vol. 30, pp. 125-132.

56. **DALFINO L., PUNTILLO F., MOSCA A., MONNO R., SPADA M.L., COPPOLECCHIA S. et al.** (2012) High-Dose, Extended-Interval Colistin Administration in Critically Ill Patients: Is This the Right Dosing Strategy? A Preliminary Study. *Clinical Infectious Diseases*, Vol. 54 (12), pp. 1720-1726.
57. **JUSTO J.A., BOSSO J.A.** (2015) Adverse Reactions Associated with Systemic Polymyxin Therapy. *Pharmacotherapy*, Vol. 35 (1), pp. 28-33.
58. **GARONZIK S.M., LI J., THAMLIKIKUL V., PATERSON D.L., SHOHAM S., JACOB J. et al.** (2011) Population Pharmacokinetics of Colistin Methanesulfonate and Formed Colistin in Critically Ill Patients from a Multicenter Study Provide Dosing Suggestions for Various Categories of Patients. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 55 (7), pp. 3284-3294.
59. **RENARD L., SANDERS P., LAURENTIE M.** (1991) Pharmacocinétique de la colistine sulfate administrée par voies intraveineuse et intramusculaire chez le veau. *Annales de Recherches Vétérinaires*, Vol. 22, pp. 387-394.
60. **FALAGAS M.E., KASIAKOU S.K.** (2006) Toxicity of polymyxins: a systematic review of the evidence from old and recent studies. *Critical Care*, Vol. 10 (1), pp. 1-13.
61. **FALAGAS M.E., RIZOS M., BLIZIOTIS I.A., RELLOS K., KASIAKOU S.K., MICHALOPOULOS A.** (2005) Toxicity after prolonged (more than four weeks) administration of intravenous colistin. *BMC Infectious Diseases*, Vol. 5, pp. 1-8.
62. **POGUE J.M., LEE J., MARCHAIM D., YEE V., ZHAO J.J., CHOPRA T. et al.** (2011) Incidence of and Risk Factors for Colistin-Associated nephrotoxicity in a large Academic Health System. *Clinical Infectious Diseases*, Vol. 53 (9), pp. 879-884.
63. **CHENG C.Y., SHENG W.H., WANG J.T., CHEN Y.C., CHANG S.C.** (2010) Safety and efficacy of intravenous colistin (colistin methanesulphonate) for severe multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Vol. 35 (3), pp. 297-300.
64. **NASNAS R., SALIBA G., HALLAK P.** (2009) The revival of colistin: An old antibiotic for the 21st century. *Pathologie Biologie*, Vol. 57 (3), pp. 229-235.
65. **KOONANACHAI P., TIENGRIM S., KIRATISIN P., THAMLIKITKUL V.** (2006) Efficacy and safety of colistin (colistimethate sodium) for therapy of infections caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in Siriraj Hospital, Bangkok, Thailand. *International Journal of Infectious Diseases*, Vol. 11 (5), pp. 402-406.
66. **YILMAZ G.R., BASTUG A.T., BUT A., YILDIZ S., YETKIN M.A., KANYILMAZ D. et al.** (2013) Clinical and microbiological efficacy and toxicity of colistin in patients infected with multidrug-resistant gram-negative pathogens. *Journal of Infection and Chemotherapy*, Vol. 19 (1), pp. 57-62.
67. **PAUL M., BISHARA J., LEVCOVICH A., CHOWERS M., GOLDBERG E., SINGER P. et al.** (2010) Effectiveness and safety of colistin - prospective comparative cohort study. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, Vol. 65, pp. 1019-1027.
68. **FALAGAS ME, FRAGOULIS KN, KASIAKOU SK, SERMAIDIS GJ, MICHALOPOULOS A.** (2005) Nephrotoxicity of intravenous colistin: a prospective evaluation. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Vol. 26 (6), pp. 504-507.
69. **KIM J., LEE K.H., YOO S., PAI H.** (2009) Clinical characteristics and risk factors of colistin-induced nephrotoxicity. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Vol. 34 (5), pp. 434-438.

70. **TUON F.F., RIGATTO M.H., LOPES C.K., KAMEI L.K., ROCHA J.L., ZAVASCKI A.P.** (2014) Risk factors for acute kidney injury in patients treated with polymyxin B or colistin methanesulfonate sodium. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Vol. 43 (4), pp. 349-352.
71. **MICHALOPOULOS A.S., TSIODRAS S., RELLOS K., MENTZELOPOULOS S., FALAGAS M.E.** (2005) Colistin treatment in patients with ICU-acquired infections caused by multiresistant Gram-negative bacteria: the renaissance of an old antibiotic. *Clinical Microbiology and Infection*, Vol. 11 (2), pp. 115-121.
72. **KALLEL H., BAHLOUL M., HERGAFI L., AKROUT M., KETATA W., CHELLY H. et al.** (2006) Colistin as a salvage therapy for nosocomial infections caused by multidrug-resistant bacteria in the ICU. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Vol. 28 (4), pp. 366-369.
73. **RATTANAUMPAWAN P., UNGPRASERT P., THAMLIKITKUL V.** (2011) Risk factors for colistin-associated nephrotoxicity. *Journal of Infection*, Vol. 62 (2), pp. 187-190.
74. **HONORE P.M., JACOBS R., DE WAELE E., VAN GORP V., SPAPEN H.D.** (2014) Colistin pharmacokinetics/pharmacodynamics and acute kidney injury: A difficult but reasonable marriage. *Indian Journal of Critical Care Medicine*, Vol. 18 (7), pp. 415-416.
75. **ZHANG H., ZHANG Q.** (2014) Clinical efficacy and safety of colistin treatment in patients with pulmonary infection caused by *Pseudomonas aeruginosa* or *Acinetobacter baumannii*: a meta-analysis. *Archives of Medical Science*, Vol. 11 (1), pp. 34-42.
76. **GU W.J., WANG F., TANG L., BAKKER J., LIU J.C.** (2014) Colistin for the treatment of ventilator-associated pneumonia caused by multidrug-resistant Gram-negative bacteria: A systematic review and meta-analysis. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Vol. 44 (6), pp. 477-485.
77. **ATHANASSA Z.E., MYRIANTHEFS P.M., BOUTZOUKA E.G., TSAKRIS A., BALTOPOULOS G.J.** (2011) Monotherapy with inhaled colistin for the treatment of patients with ventilator-associated tracheobronchitis due to polymyxin-only-susceptible Gram-negative bacteria. *Journal of Hospital Infection*, Vol. 78 (4), pp. 335-336.
78. **BERINGER P.** (2001) The clinical use of colistin in patients with cystic fibrosis. *Current Opinion in Pulmonary Medicine*, Vol. 7, pp. 434-440.
79. **AMIN M., RASHAD A., FOUAD A., AZEEM A.A.** (2013) Re-emerging of colistin for treatment of nosocomial pneumonia due to gram negative multi-drug resistant pathogens in critically ill patients. *Egyptian Journal of Chest Diseases and Tuberculosis*, Vol. 62 (3), pp. 447-451.
80. **PEREZ-PEDRERO M.J., SANCHEZ-CASADO M., RODRIGUEZ-VILLAR S.** (2011) Nebulized colistin treatment of multi-resistant *Acinetobacter baumannii* pulmonary infection in critical ill patients. *Medicina Intensiva (English Edition)*, Vol. 35 (4) pp. 226-231.
81. **FALAGAS M.E., SIEMPOS I.I., RAFAILIDIS P.I., IONNIDOU E., MICHALOPOULOS A.** (2009) Inhaled colistin as monotherapy for multidrug-resistant gram (-) nosocomial pneumonia: A case series. *Respiratory Medicine*, Vol. 103 (5), pp. 707-713.
82. **LIN C.C., LIU T.C., KUO C.F., LIU C.P., LEE C.M.** (2010) Aerosolized Colistin for the Treatment of Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* Pneumonia: Experience in a Tertiary Care Hospital in Northern Taiwan. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, Vol. 43 (4), pp. 323-331.
83. **GURJAR M.** (2015) Colistin for lung infection: an update. *Journal of Intensive Care*, Vol. 3 (1)
84. **NATION R.L., LI J.** (2009) Colistin in the 21st Century. *Current opinion in infectious diseases*, Vol. 22 (6), pp. 535-543.

85. **KATRAGKOU A., ROILIDES E.** (2005) Successful Treatment of Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* Central Nervous System Infections with Colistin. *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 43 (9), pp. 4916-4917.
86. **SCHINA M., SPYRIDIS E., DAOUKAKIS M., MERTZANOS E., KORFIAS S.** (2006) Successful treatment of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* meningitis with intravenous and intrathecal colistin. *International Journal of Infectious Diseases*, Vol. 10 (2), pp. 178-179.
87. **CASCIO A., CONTI A., SINARDI L., IARIA C., ANGILERI F.F., STASSI G. et al.** (2010) Post-neurosurgical multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* meningitis successfully treated with intrathecal colistin. A new case and a systematic review of the literature. *International Journal of Infectious Diseases*, Vol. 14 (7), pp. 572-579.
88. **KARAIKOS I., GALANI L., BAZIACA F., GIAMARELLOU H.** (2013) Intraventricular and intrathecal colistin as the last therapeutic resort for the treatment of multidrug-resistant and extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* ventriculitis and meningitis: a literature review. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Vol. 41 (6), pp. 499-508.
89. **KARAIKOS I., GALANI L., BAZIACA F., KATSOUDA E., IOANNIDIS I., ANDREOU A. et al.** (2013) Successful treatment of extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* ventriculitis and meningitis with intraventricular colistin after application of a loading dose: a case series. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Vol. 41 (5), pp. 480-483.
90. **CASCIO A., MEZZATESTA M.L., ODIERNA A., DI BERNARDO F., BARBERI G., IARIA C. et al.** (2014) Extended-spectrum beta-lactamase-producing and carbapenemase-producing *Enterobacter cloacae* ventriculitis successfully treated with intraventricular colistin. *International Journal of Infectious Diseases*, Vol. 20, pp. 66-67.
91. **PARAMYTHIOTOU E., KARAKITSOS D., AGGELOPOULOU H., SIOUTOS P., SAMONIS G., KARABANIS A.** (2007) Post-surgical meningitis due to multiresistant *Acinetobacter baumannii*. Effective treatment with intravenous and/or intraventricular colistin and therapeutic dilemmas. *Médecine et Maladies Infectieuses*, Vol. 37(2), pp. 124-125.
92. **VASEN W., DESMERY P., ILUTOVICH S., DI MARTINO A., MITRE I.S., ARGENTINA B.M.** (2000) Intrathecal Use of Colistin. *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 38 (9), p. 3523.
93. **MAIRI Z., MARKANTONIS S.L., MARIZOZA F., PARIS Z., PANIDIS D., MARIOS K. et al.** (2005) Combined Intravenous and Intraventricular Administration of Colistin Methane Sulphonate in Critically ill Patients with CNS Infection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 49 (8), pp. 3136-3146.
94. **NANJO Y., ISHII Y., KIMURA S., FUKAMI T., MIZOGUCHI M., SUZUKI T. et al.** (2013) Effects of slow-releasing colistin microspheres on endotoxin-induced sepsis. *Journal of Infection and Chemotherapy*, Vol. 19 (4), pp. 683-690.
95. **MARKOU N., APOSTOLAKOS H., KOUMOUDIYOU C., ATHANASIOU M., KOUTSOUKOU A., ALAMANOS I., GREGORAKOS L.** (2003) Intravenous colistin in the treatment of sepsis from multiresistant Gram-negative bacilli in critically ill patients. *Critical Care*, Vol. 5 (7), pp. 78-83.
96. **PAPAGELOPOULOS P.J., MAVROGENIS A.F., GIANNITSIOTI E., KIKILAS A., KANELLAKOPOULOU K., SOUCACOS P.N.** (2007) Management of a Multidrug-Resistant *Pseudomonas Aeruginosa* Infected Total Knee Arthroplasty Using Colistin. A Case Report and Review of the Literature. *The Journal of Arthroplasty*, Vol. 22 (3), pp. 457-463.

97. **CRANE D.P., GROMOV K., LI D., SOBALLE K., WAHNS C., BUCHNER H. et al.** (2009) Efficacy of Colistin Impregnated Beads to Prevent Multi-drug Resistant *A. baumannii* Implant-Associated Osteomyelitis. *Journal of orthopaedic research*, Vol. 27 (8), pp. 1008-1015.
98. **VALOUR F., DUTRONC H., DINH A., CAZORLA C., PAVESE P., LESENS O., UCKAY I.** (2013) Difficult-to-treat Gram-negative bone and joint infections: efficacy and safety of prolonged intravenous colistin. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Vol. 41 (2), pp. 197-199.
99. **VOLKOW-FERNANDEZ P., FRANCO RODRIGUEZ C., CORNEJO-JUAREZ P.** (2012) Intravesical colistin irrigation to treat multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* urinary tract infection: a case report. *Journal of Medical Case Reports*, (6), p. 426.
100. **ROSANOVA M., EPELBAUM C., NOMAN A., VILLASBOAS M., ALVAREZ V., BERBERIAN G. et al.** (2009) Use of Colistin in a Pediatric Burn Unit in Argentina. *Journal of Burn Care and Research*, Vol. 30 (4), pp. 612-615
101. **JERNIGAN M.G., PRESS E.G., NGUYEN M.H., CLANCY C.J., SHIELDS R.K.** (2012) The Combination of Doripenem and Colistin Is Bactericidal and Synergistic against Colistin-Resistant, Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 56 (6), pp. 3395-3398.
102. **HONG J.H., CLANCY C.J., CHENG S., SHIELDS R.K., CHEN L., DOI Y. et al.** (2013) Characterization of Porin Expression in *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase (KPC)-Producing *K. pneumoniae* Identifies Isolates Most Susceptible to the Combination of Colistin and Carbapenems. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 57 (5), pp. 2147-2153.
103. **LEE H.J., BERGEN P.J., BULITTA J.B., TSUJI B., FORREST A., NATION R.L., LI J.** (2013) Synergistic Activity of Colistin and Rifampin Combination against Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* in an In Vitro Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 57 (8), pp. 3738-3745.
104. **KONGSANAE K., NAENNA P., DHIRAPUTRA C., LEELARASAMEE A., PONGPECH P.** (2012) In vitro antimicrobial activity of colistin in combination with rifampicin against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *International Journal of Infectious Diseases*, Vol. 16, pp. 421-422.
105. **ALBUR M., NOEL A., BOWKER K., MACGOWAN A.** (2012) Bactericidal Activity of Multiple Combinations of Tigecycline and Colistin against NDM-1-Producing Enterobacteriaceae. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 56 (6), pp. 3441-3443.
106. **CLAEYS K.C., FIORVENTO A.D., RYBAK M.J.** (2014) A Review of Novel Combinations of Colistin and Lipopeptide or Glycopeptide Antibiotics for the Treatment of Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *Infectious Diseases and Therapy*, Vol. 3 (2), pp. 69-81.
107. **GALANI I., ORLANDOU K., MORAITOU H., PETRIKKOS G., SOULI M.** (2014) Colistin/daptomycin: an unconventional antimicrobial combination synergistic in vitro against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Vol. 43 (4), pp. 370-374.
108. **MOTAOUAKKIL S., CHARRA B., HACHIMI A., NEJMI H., BENSLAMA A., ELMDAGHRI N. et al.** (2006) Colistin and rifampicin in the treatment of nosocomial infections from multiresistant *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Infection*, Vol. 53 (4), pp. 274-278.
109. **SONG J.Y., LEE J., HEO J.Y., NOH J.Y., KIM W.J., CHEONG H.J., HWANG I.S.** (2008) Colistin and rifampicin combination in the treatment of ventilator-associated pneumonia caused by carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Vol. 32 (3), pp. 281-284.

110. **FALAGAS M.E., RAFAILIDIS P.I., IOANNIDOU E., ALEXIOU V.G., MATTHAIYOU D.K., KARAGEORGOPOULOS D.E. et al.** (2010) Colistin Therapy for Microbiologically Documented Multidrug-resistant Gram-negative Bacterial Infections: a Retrospective Cohort Study of 258 Patients. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Vol. 35 (2), pp. 194-199.
111. **PETROSILLO N., GIANNELLA M., ANTONELLI M., ANTONINI M., BARSIC B., BELANCIC L. et al.** (2014) Clinical Experience of Colistin-Glycopeptide Combination in Critically Ill Patients Infected with Gram-Negative Bacteria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 58 (2), pp. 851-858.
112. **GIGUERE S., PRESCOTT J.F., DOWLING P.M.** (2013) Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine. *John Wiley & Sons*, 683 p.
113. **GUARDABASSI L., JENSEN L.B., KRUSE H.** (2008) Guide to Antimicrobial use in animals. *Blackwell Publishing*, 223 p.
114. **FAUCHIER N.** (2013) *Med'Vet. Paris : MED'COM*, 2243 p.
115. **Commission Européenne.** Colistin Oral - Art. 35 - Annexes - FR. Disponible sur : http://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2015/20150316130649/anx_130649_fr.pdf
116. **FALAGAS M.E., RAFAILIDIS P.I., MATTHAIYOU D.K.** (2010) Resistance to polymyxins: Mechanisms, frequency and treatment options. *Drug Resistance Updates*, Vol. 13 (4), pp. 132-138.
117. **CAI Y., LI R., LIANG B., BAI N., LIU Y., WANG R.** (2010) In Vitro Antimicrobial Activity and Mutant Prevention Concentration of Colistin against *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 54 (9), pp. 3998-3999.
118. **CHOI M.J., PARK Y.K., PECK K.R., KO K.S.** (2013) Mutant prevention concentrations of colistin used in combination with other antimicrobial agents against *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, Vol. 44 (5), pp. 475-476
119. **LIM L.M., LY N., ANDERSON D., YANG J.C., MACANDER L., JARKOWSKI A. et al.** (2010) Resurgence of Colistin: A Review of Resistance, Toxicity, Pharmacodynamics, and Dosing. *Pharmacotherapy*, Vol. 30 (12), pp. 1279-1291.
120. **KO K.S., SUH J.Y., KWON K.T., JUNG S.I., PARK K.H., KANG C.I. et al.** (2007) High rates of resistance to colistin and polymyxin B in subgroups of *Acinetobacter baumannii* isolates from Korea. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, Vol. 60, pp. 1163-1167.
121. **PARK Y.K., JUNG S.I., PARK K.H., CHEONG H.S., PECK K.R., SONG J.H., KO K.S.** (2009) Independent emergence of colistin-resistant *Acinetobacter* spp. isolates from Korea. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, Vol. 64 (1), pp. 43-51.
122. **TANEJA N., SINGH G., SINGH M., SHARMA M.** (2011) Emergence of tigecycline & colistin resistant *Acinetobacter baumannii* in patients with complicated urinary tract infections in north India. *The Indian Journal of Medical Research*, Vol. 133 (6), pp. 681-684.
123. **OLAITAN A.O., MORAND S., ROLAIN J.M.** (2014) Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria. *Frontiers in Microbiology*, Vol. 5 (Art. 643), 18 p.
124. **LI J., RAYNER C.R., NATION R.L., OWEN R.J., SPELMAN D., TAN K.E., LIOLIOS L.** (2006) Heteroresistance to Colistin in Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 50 (9), pp. 2946-2950.
125. **TAN C.H., LI J., NATION R.L.** (2007) Activity of Colistin against Heteroresistant *Acinetobacter baumannii* and Emergence of Resistance in an In Vitro Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 51 (9), pp. 3413-3415.

126. **HAWLEY J.S., MURRAY C.K., JORGENSEN J.H.** (2008) Colistin Heteroresistance in *Acinetobacter* and Its Association with Previous Colistin Therapy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 52 (1), pp. 351-352.
127. **BOGDANOVICH T., ADAMS-HADUCH J.M., TIAN G.B., NGUYEN M.H., KWAK E.J., MUTO C.A., DOI Y.** (2011) Colistin-Resistant, *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase (KPC)–Producing *Klebsiella pneumoniae* Belonging to the International Epidemic Clone ST258. *Clinical Infectious Diseases*, Vol. 53 (4), pp. 373-376.
128. **ARPIN C., NOURY P., BORAUD D., COULANGE L., MANETTI A., ANDRE C. et al.** (2012) NDM-1-Producing *Klebsiella pneumoniae* Resistant to Colistin in a French Community Patient without History of Foreign Travel. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 56 (6), pp. 3432-3434.
129. **AH Y.M., KIM A.J., LEE J.Y.** (2014) Colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Vol. 44 (1), pp. 8-15.
130. **LUBBERT C., FAUCHEUX S., BECKER-RUX D., LAUDI S., DURRBECK A., BUSCH T. et al.** (2013) Rapid emergence of secondary resistance to gentamicin and colistin following selective digestive decontamination in patients with KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae*: a single-centre experience. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Vol. 42 (6), pp. 565-570.
131. **KONTOPIDOU F., PLACHOURAS D., PAPADOMICHELAKIS E., KOUKOS G., GALANI I., POULAKOU G. et al.** (2011) Colonization and infection by colistin-resistant Gram-negative bacteria in a cohort of critically ill patients. *Clinical Microbiology and Infection*, Vol. 17 (11), pp. 9-11.
132. **ZARKOTOU O., POURNARAS S., VOULGARI E., CHRYSOS G., PREKATES A., VOUSINAS D. et al.** (2010) Risk Factors and Outcomes Associated with Acquisition of Colistin-Resistant KPC-Producing *Klebsiella pneumoniae*: a Matched Case-Control Study. *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 48 (6), pp. 2271-2274.
133. **KONTOPOULOU K., PROTONOTARIOU E., VASILAKOS K., KRITI M., KOTELI A., ANTONIADOU E., SOFIANOU D.** (2010) Hospital outbreak caused by *Klebsiella pneumoniae* producing KPC-2 β -lactamase resistant to colistin. *Journal of Hospital Infection*, Vol. 76 (1), pp. 70-73.
134. **SUH J.Y., SON J.S., CHUNG D.R., PECK K.R., KO K.S., SONG J.H.** (2010) Nonclonal Emergence of Colistin-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Isolates from Blood Samples in South Korea. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 54 (1), pp. 560-562.
135. **MELETIS G., TZAMPAZ E., SIANOU E., TZAVARAS I., SOFIANOU D.** (2011) Colistin heteroresistance in carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. Disponible sur : <http://jac.oxfordjournals.org/content/early/2011/01/24/jac.dkr007>
136. **BELLOC C., NAM LAM D., LAVAL A.** (2008) Low occurrence of colistin-resistant *Escherichia coli* in faecal content of pigs in French commercial herds. *Méd. Vét.*, Vol. 159 (12), pp. 634-637.
137. **WASYL D., HOSZOWSKI A., ZAJAC M., SZULOWSKI K.** (2013) Antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli* isolated from animals at slaughter. *Frontiers in Microbiology*, Vol. 4 (Art. 221), 12 p.
138. **MATEU E., MARTIN M.** (2000) Antimicrobial resistance in enteric porcine *Escherichia coli* strains in Spain. *The Veterinary Record*, Vol. 146, pp. 703-705.
139. **MORALES A.S., DE ARAUJO J.F., DE MOURA GOMES V.T., REIS COSTA A.T., DOS PRAZERES RODRIGUES D., PORFIDA FERREIRA T.S. et al.** (2012) Colistin Resistance in *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* Strains Isolated from Swine in Brazil. *The Scientific World Journal*. Disponible sur : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3432351/>
140. **URBAN C., TIRUVURY H., MARIANO N., COLON-URBAN R., RAHAL J.J.** (2011) Polymyxin-Resistant Clinical Isolates of *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 55 (1), pp. 388-389.

141. **OLAITAN A.O., DIA N.M., GAUTRET P., BENKOUITEN S., BELHOUCHE K., DRALI T. et al.** (2015) Acquisition of extended-spectrum cephalosporin- and colistin-resistant *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype Newport by pilgrims during Hajj. *International Journal of Antimicrobial Agents*. Disponible sur : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924857915000667>
142. **YU Z., QIN W., LIN J., FANG S., QIU J.** (2015) Antibacterial Mechanisms of Polymyxin and Bacterial Resistance. *BioMed Research International*. Disponible sur : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4312571/>
143. **LEE M., SOUSA M.** (2014) Structural Basis for Substrate Specificity in ArnB. A Key Enzyme in the Polymyxin Resistance Pathway of Gram-Negative Bacteria. *Biochemistry*, Vol. 53 (4), pp. 796-805.
144. **CANNATELLI A., DI PILATO V., GIANI T., ARENA F., AMBRETTI S., GAIBANI P. et al.** (2014) In Vivo Evolution to Colistin Resistance by PmrB Sensor Kinase Mutation in KPC-Producing *Klebsiella pneumoniae* Is Associated with Low-Dosage Colistin Treatment. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 58 (8), pp. 4399-4403.
145. **VELKOV T., DERIS Z.Z., HUANG J.X., AZAD M.A., BUTLER M., SIVANESAN S. et al.** (2014) Surface changes and polymyxin interactions with a resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Innate immunity*, Vol. 20 (4), pp. 350-363.
146. **OLAITAN A.O., DIENE S.M., KEMPF M., BERRAZEG M., BAKOUR S., GUPTA S.K. et al.** (2014) Worldwide emergence of colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae* from healthy humans and patients in Lao PDR, Thailand, Israel, Nigeria and France owing to inactivation of the PhoP/PhoQ regulator mgrB: an epidemiological and molecular study. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Vol. 44 (6), pp. 500-507.
147. **CANNATELLI A., GIANI T., D'ANDREA M.M., DI PILATO V., ARENA F., CONTE V. et al.** (2014) MgrB Inactivation Is a Common Mechanism of Colistin Resistance in KPC-Producing *Klebsiella pneumoniae* of Clinical Origin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 58 (10), pp. 5696-5703.
148. **CANNATELLI A., D'ANDREA M.M., GIANI T., DI PILATO V., ARENA F., AMBRETTI S. et al.** (2013) In Vivo Emergence of Colistin Resistance in *Klebsiella pneumoniae* Producing KPC-Type Carbapenemases Mediated by Insertional Inactivation of the PhoQ/PhoP mgrB Regulator. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 57 (11), pp. 5521-5526.
149. **JAYOL A., POIREL L., VILLEGAS M.V., NORDMANN P.** (2015) Modulation of mgrB gene expression as a source of colistin resistance in *Klebsiella oxytoca*. *International Journal of Antimicrobial Agents*. Disponible sur : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924857915001090>
150. **CHEN Y.Y., KO T.P., LIN C.H., CHEN W.H., WANG A.H.J.** (2011) Conformational change upon product binding to *Klebsiella pneumoniae* UDP-glucose dehydrogenase: A possible inhibition mechanism for the key enzyme in polymyxin resistance. *Journal of Structural Biology*, Vol. 175 (3), pp. 300-310.
151. **SKIADA A., MARKOGIANNAKIS A., PLACHOURAS D., DAIKOS G.L.** (2011) Adaptive resistance to cationic compounds in *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Vol. 37 (3), pp. 187-193.
152. **SUN S., NEGREA A., RHEN M., ANDRESSON D.I.** (2009) Genetic Analysis of Colistin Resistance in *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 53 (6), pp. 2298-2305.
153. **LACOUR S., DOUBLET P., OBADIA B., COZZONE A.J., GRANGEASSE C.** (2006) A novel role for protein-tyrosine kinase Etk from *Escherichia coli* K-12 related to polymyxin resistance. *Research in Microbiology*, Vol. 157 (7), pp. 637-641.

154. **BREAREALE S.D., RIBEIRO A.A., MCCLERREN A.L., RAETZ C.R.H.** (2005) A Formyltransferase Required for Polymyxin Resistance in *Escherichia coli* and the Modification of Lipid A with 4-Amino-4-deoxy-l-arabinose IDENTIFICATION AND FUNCTION OF UDP-4-DEOXY-4-FORMAMIDO-l-ARABINOSE. *Journal of Biological Chemistry*, Vol. 280 (14), pp. 14154-14167.
155. **BECEIRO A., MORENO A., FERNANDEZ N., VALLEJO J.A., ARANDA J., ADLER B. et al.** (2014) Biological Cost of Different Mechanisms of Colistin Resistance and Their Impact on Virulence in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 58 (1), pp. 518-526.
156. **PARK Y.K., CHOI J.Y., SHIN D., KO S.K.** (2011) Correlation between overexpression and amino acid substitution of the PmrAB locus and colistin resistance in *Acinetobacter baumannii*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Vol. 37 (6), pp. 525-530.
157. **ARROYO L.A., HERRERA C.M., FERNANDEZ L., HANKINS J.V., TRENT M.S., HANCOCK R.E.W.** (2011) The pmrCAB Operon Mediates Polymyxin Resistance in *Acinetobacter baumannii* ATCC 17978 and Clinical Isolates through Phosphoethanolamine Modification of Lipid A. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 55 (8), pp. 3743-3751.
158. **BECEIRO A., LLOBET E., ARANDA J., BENGOCHEA J.A., DOUMITH M., HORNSEY M. et al.** (2011) Phosphoethanolamine Modification of Lipid A in Colistin-Resistant Variants of *Acinetobacter baumannii* Mediated by the pmrAB Two-Component Regulatory System. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 55 (7), pp. 3370-3379.
159. **NAKSENA P., PROMBHUL S., PELLETIER M., ERNST R., TRIBUDDHARAT C., THAIPISUTTIKUL I.** (2012) Determination of colistin resistance mechanism of *Acinetobacter baumannii* isolated in Siriraj Hospital, Thailand. *International Journal of Infectious Diseases*, Vol. 16, pp. 433-434.
160. **PELLETIER M.R., CASELLA L.G., JONES J.W., ADAMS M.D., ZURAWSKI D.V., HAZLETT K.R.O. et al.** (2013) Unique Structural Modifications Are Present in the Lipopolysaccharide from Colistin-Resistant Strains of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 57 (10), pp. 4831-4840.
161. **MOFFATT J.H., HARPER M., HARRISON P., HALE J.D., VINOGRADOV E., SEEMAN T. et al.** (2010) Colistin Resistance in *Acinetobacter baumannii* Is Mediated by Complete Loss of Lipopolysaccharide Production. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 54 (12), pp. 4971-4977.
162. **MOFFATT J.H., HARPER M., ADLER B., NATION R.L., LI J., BOYCE J.D.** (2011) Insertion Sequence ISAba11 Is Involved in Colistin Resistance and Loss of Lipopolysaccharide in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 55 (6), pp. 3022-3024.
163. **SOON R.L., NATION R.L., HARTLEY P.G., LARSON I., LI J.** (2009) Atomic Force Microscopy Investigation of the Morphology and Topography of Colistin-Heteroresistant *Acinetobacter baumannii* Strains as a Function of Growth Phase and in Response to Colistin Treatment. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 53 (12), pp. 4979-4986.
164. **LOPEZ-ROJAS R., DOMINGUEZ-HERRERA J., MCCONNELL M.J., DOCOBO-PEREZ F., SMANI Y., FERNANDEZ-REYES M. et al.** (2011) Impaired Virulence and In Vivo Fitness of Colistin-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *The Journal of Infectious Diseases*, Vol. 203 (4), pp. 545-548.
165. **LOPEZ-ROJAS R., MCCONNELL M.J., JIMENEZ-MEJIAS M.E., DOMINGUEZ-HERRERA J., FERNANDEZ-CUENCA F., PACHON J.** (2013) Colistin Resistance in a Clinical *Acinetobacter baumannii* Strain Appearing after Colistin Treatment: Effect on Virulence and Bacterial Fitness. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 57 (9), pp. 4587-4589.

166. **DURANTE-MANGONI E., DEL FRANCO M., ANDINI R., BERNARDO M., GIANNOULI M., ZARRILLI R.** (2015) Emergence of colistin resistance without loss of fitness and virulence after prolonged colistin administration in a patient with extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. Disponible sur : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0732889315001030>
167. **LEE J.Y., KO S.K.** (2014) Mutations and expression of PmrAB and PhoPQ related with colistin resistance in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, Vol. 78 (3), pp. 271-276.
168. **MILLER A.K., BRANNON M.K., STEVENS L., JOHANSEN H.K., SELGRADE S.E., MILLER S.I. et al.** (2011) PhoQ Mutations Promote Lipid A Modification and Polymyxin Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* Found in Colistin-Treated Cystic Fibrosis Patients. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 55 (12), pp. 5761-5769.
169. **MOSKOWITZ S.M., BRANNON M.K., DASGUPTA N., PIER M., SGAMBATI N., MILLER A.K., et al.** (2012) PmrB Mutations Promote Polymyxin Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Colistin-Treated Cystic Fibrosis Patients. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 56 (2), pp. 1019-1030.
170. **GUTU A.D., SGAMBATI N., STRASBOURGER P., BRANNON M.K., JACOBS M.A., HAUGEN E. et al.** (2013) Polymyxin Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* phoQ Mutants Is Dependent on Additional Two-Component Regulatory Systems. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 57 (5), pp. 2204-2215.
171. **FERNANDEZ L., GOODERHAM W.J., BAINS M., MACPHEE J.B., WIEGAND I., HANCOCK R.E.W.** (2010) Adaptive Resistance to the “Last Hope” Antibiotics Polymyxin B and Colistin in *Pseudomonas aeruginosa* Is Mediated by the Novel Two-Component Regulatory System ParR-ParS. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 54 (8), pp. 3372-3382.
172. **BERGEN P.J., TSUJI B.T., BULITTA J.B., FORREST A., JACOB J., SIDJABAT H.E. et al.** (2011) Synergistic Killing of Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* at Multiple Inocula by Colistin Combined with Doripenem in an In Vitro Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 55 (12), pp. 5685-5695.
173. **DERIS Z.Z., YU H.H., DAVIS K., SOON R.L., JACOB J., KU C.K. et al.** (2012) The Combination of Colistin and Doripenem Is Synergistic against *Klebsiella pneumoniae* at Multiple Inocula and Suppresses Colistin Resistance in an In Vitro Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 56 (10), pp. 5103-5112.
174. *Therapeutic strategy for pandrug-resistant Klebsiella pneumoniae severe infections: short-course treatment with colistin increases the in vivo and in vitro activity of double carbapenem regimen.* **OLIVA A., MASCELLINO M.T., CIPOLLA A., D'ABRAMO A., DE ROSA A., SAVINELLI S. et al.** 2015, *International Journal of Infectious Diseases*, Vol. 33, pp. 132-134.
175. **LEE H.J., BERGEN P.J., BULITTA J.B., TSUJI B., FORREST A., NATION R.L., LI J.** (2013) Synergistic Activity of Colistin and Rifampin Combination against Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* in an In Vitro Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 57 (8), pp. 3738-3745.
176. **VIDAILLAC C., BENICHOUL L., DUVAL R.E.** (2012) In Vitro Synergy of Colistin Combinations against Colistin-Resistant *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Klebsiella pneumoniae* Isolates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 56 (9), pp. 4856-4861.
177. **PERCIN D., AKYOL S., KALIN G.** (2014) In vitro synergism of combinations of colistin with selected antibiotics against colistin-resistant *Acinetobacter baumannii*. *GMS Hygiene and Infection Control*, Vol. 9 (2), 5 p.

178. SAUGAR J.M., RODRIGUEZ-HERNANDEZ M.J., DE LA TORRE B.G., PACHON-IBANEZ M.E., FERNANDEZ-REYES M., ANDREU D. et al. (2006) Activity of Cecropin A-Melittin Hybrid Peptides against Colistin-Resistant Clinical Strains of *Acinetobacter baumannii*: Molecular Basis for the Differential Mechanisms of Action. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 50 (4), pp. 1251-1256.
179. VILA-FARRES X., GARCIA DE LA MARIA C., LOPEZ-ROJAS R., PACHON J., GIRALT E., VILA J. (2012) In vitro activity of several antimicrobial peptides against colistin-susceptible and colistin-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Clinical Microbiology and Infection*, Vol. 18 (4), pp. 383-387.
180. RODRIGUEZ-HERNANDEZ M.J., SAUGAR J., DOCOBO-PEREZ F., DE LA TORRE B.G., PACHON-IBANEZ M.E., GARCIA-CURIEL A. et al. (2006) Studies on the antimicrobial activity of cecropin A-melittin hybrid peptides in colistin-resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, Vol. 58, pp. 95-100.
181. CIRIONI O., WU G., LI L., ORLANDO F., SILVESTRI C., GHISELLI R. et al. (2011) S-thanatin in vitro prevents colistin resistance and improves its efficacy in an animal model of *Pseudomonas aeruginosa* sepsis. *Peptides*, Vol. 32 (4), pp. 697-701.
182. VELKOV T., ROBERTS K.D., NATION R.L., WANG J., THOMPSON P.E., LI J. (2014) Teaching 'Old' Polymyxins New Tricks: New-Generation Lipopeptides Targeting Gram-Negative 'Superbugs'. *ACS Chemical Biology*, Vol. 9 (5), pp. 1172-1177.

NOM Prénom : MUNOZ Gaëlle

**TITRE : LA COLISTINE : DERNIERE LIGNE THERAPEUTIQUE
CONTRE LES BACTERIES MULTIRESISTANTES**

Thèse d'Etat de Doctorat Vétérinaire : Lyon, le 11 Décembre 2015

RESUME:

La colistine, appartenant à la famille des polymyxines et découverte en 1959, est un antibiotique à spectre étroit, actif contre la plupart des bactéries à Gram négatif. Du fait de sa néphrotoxicité élevée, elle a été progressivement abandonnée au profit d'antibiotiques moins toxiques tels que les aminoglycosides et les carbapénèmes. Durant la dernière décennie, l'augmentation des infections dues à des bactéries à Gram négatif multirésistantes chez les patients critiques a réintroduit la colistine dans la pratique clinique dans de nombreux cas, en tant que seul antibiotique actif contre ces pathogènes, tels que *A. baumannii*, *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae* résistants aux carbapénèmes. En pratique vétérinaire, elle reste principalement utilisée par voie orale sur de larges populations d'animaux de production pour le traitement des colibacilloses. Cependant, des isolats cliniques pan-résistants, c'est-à-dire résistants à tous les antibiotiques disponibles, y compris la colistine, ont été identifiés, aussi bien dans les USI qu'en médecine vétérinaire.

MOTS CLES :

- Colistine
- Bactéries
- Résistance aux antibiotiques
- Toxicologie

JURY :

Président :	Monsieur le Professeur Gérard LINA
1er Assesseur :	Madame le Docteur Caroline PROUILLAC
2ème Assesseur :	Madame le Docteur Zorée DJELOUADJI

DATE DE SOUTENANCE : 11 Décembre 2015

ADRESSE DE L'AUTEUR :

24 rue Jacques Jarnieux
69270 Couzon au Mont d'Or