

## Nouveautés et perspectives thérapeutiques des pneumonies acquises sous ventilation mécanique à *Pseudomonas aeruginosa*

### New treatments in *Pseudomonas aeruginosa* ventilator-associated pneumonia

D. Roux · J.-D. Ricard

Reçu le 31 janvier 2013 ; accepté le 6 mars 2013  
© SRLF et Springer-Verlag France 2013

**Résumé** *Pseudomonas aeruginosa* est fréquemment responsable d'infections respiratoires acquises à l'hôpital, notamment chez les patients de réanimation. L'importante morbi-mortalité de ces infections est en partie liée aux difficultés thérapeutiques, en rapport avec une augmentation inéluctable de la résistance aux antibiotiques, évoluant nettement plus rapidement que la recherche dans ce domaine. Par conséquent, de nouvelles voies de recherche ont vu le jour afin de développer des nouveaux moyens de prévention et de traitement. Aux cotés d'anciennes molécules réémergentes du fait de leur efficacité persistante (telle que la colistine), de nouveaux antibiotiques récemment ou bientôt sur le marché et de nouveaux inhibiteurs luttant contre les mécanismes de résistance, l'administration locale des antibiotiques par aérosol semble un bon moyen d'améliorer l'efficacité clinique de ces molécules. Des études s'intéressent actuellement aux peptides antimicrobiens, aux pyocines ainsi qu'à la toxicité microbienne du monoxyde de carbone pour élargir la panoplie des molécules antimicrobiennes disponibles. Parallèlement à ces approches conventionnelles, des thérapeutiques visant à moduler le phénotype bactérien, par inhibition de l'adhésion afin de limiter la colonisation ou par inhibition du système bactérien de communication dénommé « quorum-sensing » pour limiter la virulence, sont en développement, l'utilisation des macrolides entrant dans ce dernier concept. La redécouverte de l'intérêt des bactériophages lytiques, virus spécifiques des bactéries induisant leur lyse, est récente dans les pays occidentaux malgré une utilisation à grande échelle dans les pays d'Europe de l'Est au décours de la Seconde Guerre mondiale. Enfin,

des éléments épidémiologiques et expérimentaux pourraient nous amener à nous intéresser davantage au rôle de la colonisation fongique des voies aériennes sur le développement d'une pneumonie bactérienne.

**Mots clés** *Pseudomonas aeruginosa* · Pneumonie acquise sous ventilation mécanique · Immunothérapie · Phagothérapie · *Candida albicans*

**Abstract** *Pseudomonas aeruginosa* is frequently responsible for hospital-acquired pneumonia, especially in intensive care unit (ICU) patients. A foreseeable increase in antibiotic resistance, evolving faster than development of new antibiotics, favors the high morbidity and mortality of these infections. While former molecules are reemerging due to their sustained efficacy like colistin, new antibiotics, new inhibitors of resistance as well as topical antibiotics by aerosol are currently developed to improve the available therapeutic options. Innovative research has emerged to develop alternatives for prevention and treatment of *P. aeruginosa* pneumonia. Antimicrobial peptides, carbon monoxide-releasing molecules, and pyocins should widen the field of antimicrobial molecules. New treatments aim to modulate *P. aeruginosa* phenotype by inhibiting bacterial adhesion and communication including macrolides to inhibit the quorum-sensing. Moreover, rediscovery of lytic bacteriophages, which are specific viruses inducing bacterial lysis, is recent in Western countries despite large-scale use in Eastern Europe following the Second World War. Bacteriophages may be suitable for the treatment of ventilator-associated pneumonia, especially if related to multidrug resistant *P. aeruginosa*. Finally, epidemiological and experimental data may lead us to focus on the role played by fungal colonization in the pathogenesis of bacterial pneumonia.

---

D. Roux (✉) · J.-D. Ricard  
INSERM U722, F-75018, Paris, France  
e-mail : damien.roux@lmr.aphp.fr

Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, UMRS-722,  
F-75018, Paris, France

APHP, service de réanimation médicochirurgicale,  
hôpital Louis-Mourier, 178 rue des Renouillers,  
F-92700, Colombes, France

**Keywords** *Pseudomonas aeruginosa* · Ventilator-associated pneumonia · Immunotherapy · Phage · *Candida albicans*

## Introduction

*Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie opportuniste fréquemment responsable d'infections des voies respiratoires. La mucoviscidose, les bronchopathies chroniques obstructives et la ventilation mécanique sont les principaux facteurs favorisant le développement d'une infection respiratoire à *P. aeruginosa* [1]. Cette bactérie est responsable d'environ 10 % de l'ensemble des infections nosocomiales et représente 20 à 30 % des bactéries isolées au cours des pneumonies acquises sous ventilation mécanique (PAVM) [2].

*P. aeruginosa* est un bacille à Gram négatif non fermentant, présent dans les sols, les plantes, ainsi que les eaux douces et salées. Très résistante à des conditions environnementales extrêmes (conditions anaérobies, températures variées [4-42°C] et survie avec un minimum de nutriments), cette bactérie persiste sur les surfaces inertes dans le milieu hospitalier et sur le matériel médical. Elle est naturellement résistante à de nombreux antibiotiques par divers mécanismes d'imperméabilité, d'efflux constitutifs ou inductibles, et enzymatiques [3]. *P. aeruginosa* présente aussi une grande capacité à acquérir de nouveaux mécanismes de résistance. Ce phénomène conduit à des infections fréquemment difficiles à traiter voire, dans certains cas, à une impasse thérapeutique [4]. Ces éléments concourent à faire des infections à *P. aeruginosa* des pathologies associées à une forte morbidité.

Depuis plus d'une décennie, le développement pharmacologique de nouvelles classes d'antibiotiques s'est considérablement ralenti [5] ; nous sommes donc entrés dans une ère post-antibiotique avec des possibilités limitées pour lutter contre les infections bactériennes dues à des microorganismes multi- voire pan-résistants [4,5]. D'autres approches anti-infectieuses possibles consistent à moduler l'expression des facteurs de l'hôte (réponse immunitaire) et des facteurs bactériens impliqués dans la physiopathologie de l'infection, incluant notamment les facteurs bactériens de virulence. Cette approche présente plusieurs avantages potentiels, y compris l'élargissement du spectre des cibles bactériennes, tout en limitant l'impact sur le microbiome, source majeure d'acquisition des résistances aux antibiotiques.

## Physiopathologie de l'infection à *P. aeruginosa*

Afin de mieux appréhender les données relatives à ces nouvelles cibles thérapeutiques des infections pulmonaires dues à *P. aeruginosa*, il est nécessaire de préciser les facteurs bactériens impliqués dans la physiopathologie de ces infections. Du fait d'une grande disparité dans les caractéristiques des souches de *P. aeruginosa* impliqués dans les PAVM et celles associées aux colonisations et infections chroniques des voies respiratoires des patients atteints de mucoviscidose, nous focaliserons cet article principale-

ment sur les infections pulmonaires aiguës beaucoup plus fréquentes en réanimation.

Une phase de colonisation des voies respiratoires, impliquant l'adhésion aux cellules épithéliales, est une étape obligatoire précédant l'infection. Le flagelle polaire, des pili et des lectines agissent comme des ligands [1,6]. Les lectines ont de surcroît la capacité à limiter la mobilité ciliaire de la muqueuse respiratoire [6]. Après cette phase de colonisation, l'expression du flagelle est interrompue et la production du biofilm est activée, favorisée par la sonde d'intubation [7]. La sensibilité aux antibiotiques des bactéries présentes au sein du biofilm diminue significativement et ce dernier peut être un facteur favorisant le risque d'échec thérapeutique et de récurrence [7]. *P. aeruginosa* a développé un système de coordination pour l'expression des gènes impliqués dans son adaptation à l'environnement appelé le *quorum-sensing* (QS) [8]. Le QS est un mécanisme global de régulation de gènes qui permet aux cellules bactériennes individuelles de communiquer et de coordonner leurs comportements au sein de la population bactérienne notamment en fonction de leur densité. Trois systèmes de QS ont été individualisés chez *P. aeruginosa* (*las*, *rhl* et *pqs*) et utilisent des auto-inducteurs (notamment les homosérine-lactones), des petites molécules diffusibles qui peuvent être détectées par les cellules bactériennes avoisinantes [8]. Ce mécanisme permet ainsi de moduler le phénotype bactérien en régulant la transcription d'au moins 6 % du génome bactérien [9]. Il est intéressant de noter que de multiples facteurs de virulence de *P. aeruginosa* sont régulés par le QS. Par ailleurs, de nombreux travaux suggèrent que les molécules de signalisation du QS de *P. aeruginosa* interfèrent avec les cellules eucaryotes. Les auto-inducteurs sont en effet capables de modifier les fonctions des cellules impliquées dans la réponse immunitaire de l'hôte comme des cellules dendritiques et les cellules épithéliales [10].

Le génome de *P. aeruginosa* encode de multiples facteurs de virulence. Parmi ceux-ci, le système de sécrétion de type III (SSTT) est un des déterminants majeurs de sa virulence [11]. Le SSTT, également sous le contrôle du QS [12], est un complexe composé de plus de vingt protéines formant une « aiguille » capable de transpercer la membrane des cellules eucaryotes. Ce système permet l'injection directe de cytotoxines, les effecteurs, dans le cytoplasme des cellules de l'hôte. Les effecteurs (ExoU, ExoS, ExoT ou ExoY) interfèrent avec la transduction du signal de la cellule ciblée et altèrent une multitude de processus cellulaires, entraînant des modifications importantes de la réponse immunitaire de l'hôte allant jusqu'à la lyse cellulaire. Le PcrV est une protéine structurelle du SSTT conservée dans la plupart des sérotypes de *P. aeruginosa* ; elle est directement impliquée dans l'injection des effecteurs [13]. De plus, le SSTT par lui-même peut entraîner la formation de pores et la mort de la cellule en l'absence d'injection d'exotoxines. Une étude

clinique a rapporté une mortalité six fois supérieure durant les infections aiguës à *P. aeruginosa* lorsque la souche bactérienne exprimait un SSTT [11].

De nombreux autres facteurs de virulence, sous le contrôle du QS, ont été décrits. L'invasion tissulaire par *P. aeruginosa* est favorisée par la production d'exotoxine A, d'élastase qui perturbe les jonctions cellulaires épithéliales et clive le collagène, des protéases alcalines, des hémolysines (phospholipase et lécithinase), des cytotoxines (leucocidine), des sidérophores (pyoverdine et pyochéline) qui permettent une meilleure captation du fer, et enfin de la pyocyanine [1].

Sur la base de ces éléments, nous allons détailler les évolutions récentes des nouveaux traitements ciblant les PAVM à *P. aeruginosa*. Après avoir détaillé quelques nouveautés au sein de la grande classe des antibiotiques, nous mettrons l'accent sur de nouvelles approches thérapeutiques en nous intéressant aux traitements visant à modifier la virulence bactérienne, aux peptides antibactériens, aux phages et à l'administration topique des antibiotiques. Puis, nous détaillerons des mesures préventives en nous focalisant notamment sur les vaccins et l'immunothérapie, et enfin nous discuterons l'impact sur le risque de PAVM de la colonisation fongique des voies aériennes.

## Antibiotiques et nouvelles molécules antimicrobiennes

Aux cotés des grandes familles d'antibiotiques largement utilisées en pratique clinique et dont le développement s'est considérablement ralenti, de nouvelles cibles ou de nouveaux types d'antimicrobiens tels que les peptides antimicrobiens, les donneurs de monoxyde de carbone ou les pyocines sont en cours de développement afin d'élargir le panel thérapeutique [14].

### Antibiotiques

Le traitement habituel des infections à *P. aeruginosa* repose sur les antibiotiques, avec une place de choix pour les bêta-lactamines, en association avec un aminoside ou une fluoroquinolone durant les premiers jours de traitement et jusqu'à obtention de l'antibiogramme. De nouvelles molécules de la classe des bêta-lactamines et des aminosides sont en cours de développement clinique [15]. La recherche de nouvelles cibles bactériennes est aussi à l'étude. Parallèlement, d'anciennes molécules antibiotiques sont à nouveau d'actualité, notamment la colistine en administration systémique ou topique.

### Bêta-lactamines

De nouvelles bêta-lactamines, tels que des nouvelles carbapénèmes ou une céphalosporine de cinquième génération

(ceftobiprole [16]), ont été développés. Une nouvelle monobactame (BAL30072), rattachée à un sidérophore afin d'augmenter son internalisation et limiter le risque de résistance par imperméabilité, présente une meilleure efficacité in vitro que l'aztréonam, notamment contre les souches productrices de carbapénémases [17]. Néanmoins, leur efficacité clinique et leur modalité thérapeutique ne sont pas encore parfaitement déterminées avec des résultats cliniques parfois discordants [18]. Les résistances acquises à ces nouvelles molécules viendront certainement limiter leur utilisation à l'instar de leurs homologues.

### Nouveaux inhibiteurs contre les mécanismes de résistance

- Inhibiteurs des bêta-lactamases : de nouvelles combinaisons entre des bêta-lactamines et des inhibiteurs de bêta-lactamases atteignent les phases 1 et 2 chez l'homme. Avibactam est un inhibiteur des bêta-lactamases non apparenté aux bêta-lactamines, ayant un mécanisme d'action différent des inhibiteurs habituels [19]. Il présente la particularité d'inhiber un large spectre de bêta-lactamases, notamment plusieurs types de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) ainsi qu'AmpC, la céphalosporinase chromosomique présente chez *P. aeruginosa* et les entérobactéries du groupe 3 qui peut présenter un phénotype déréprimé. Son association à la ceftazidime permet de récupérer une sensibilité chez une proportion importante de souches cliniques de *P. aeruginosa* résistant à la ceftazidime seule [20]. De même, une combinaison entre une nouvelle monobactame avec deux inhibiteurs de bêta-lactamase semblent apporter un bénéfice vis-à-vis des souches multirésistantes [21] ;
- inhibiteurs des pompes d'efflux : un des mécanismes de résistance parmi les plus conservés dans le monde bactérien et responsable d'une résistance croisée à plusieurs classes d'antibiotiques est lié aux mécanismes d'efflux. Une pompe d'efflux est une association de trois protéines traversant la membrane cytoplasmique et la membrane externe permettant d'expulser les antibiotiques à l'extérieur de la cellule bactérienne. *P. aeruginosa* possède dans son génome plusieurs pompes d'efflux qui peuvent être surexprimées. Les inhibiteurs de pompes d'efflux, en association avec les antibiotiques usuels, pourraient en améliorer leur efficacité tout en limitant l'émergence de mutants résistants [22]. Néanmoins, l'importante redondance des mécanismes d'efflux limite leur efficacité et explique vraisemblablement l'absence d'essai clinique publié.

### Colistine

À l'heure actuelle, certains isolats de *P. aeruginosa* multirésistants ne sont sensibles qu'aux polymyxines [23], un des rares peptides antimicrobiens mis sur le marché. La colistine

ou polymyxine E agit comme un détergent qui altère la membrane externe des bacilles à Gram négatif. Ce mécanisme d'action singulier apporte l'intérêt de limiter le risque de résistance croisée avec les antibiotiques usuels. Le maintien d'une bonne sensibilité chez de nombreuses souches multirésistances motive la restriction de son utilisation en seconde voire troisième ligne thérapeutique afin de limiter le risque d'émergence de mutants résistants. De bonnes réponses cliniques avec une tolérance satisfaisante chez des patients présentant une pneumonie à *P. aeruginosa* ont été rapportées avec la colistine par voie intraveineuse, malgré la sévérité des patients concernés [24]. Cependant, des cas de résistance à la colistine ont déjà été signalés chez *P. aeruginosa*, notamment après une exposition prolongée [4].

### Nouvelles cibles bactériennes

Actuellement sont en développement des molécules ciblant l'ADN gyrase et la topoisomérase IV, bloquant ainsi la synthèse de l'ADN et des ARN bactériens. Les sites reconnus par ces molécules sont indépendants des sites de fixation des fluoroquinolones, limitant donc le risque de résistance croisée. Si le spectre devrait être aussi large que pour les fluoroquinolones, aucune donnée n'est actuellement disponible sur *P. aeruginosa* [25,26].

Une molécule bloquant la synthèse du lipopolysaccharide (LPS) par inhibition de la protéine LpxC des bacilles à Gram négatif semble aussi être une piste séduisante [27].

### Aérosols

La délivrance topique des antibiotiques par aérosol pour le traitement des PAVM présente l'intérêt théorique de délivrer des concentrations élevées au site de l'infection, tout en limitant les concentrations sériques, limitant ainsi la toxicité systémique de molécules telles que la colistine ou les aminosides, et donc d'optimiser le rapport bénéfice-risque de ces molécules. Une étude clinique récente sur la nébulisation de colimycine lors de PAVM à *P. aeruginosa* ou *Acinetobacter baumannii* résistant à l'ensemble des bêta-lactamines rapporte une efficacité identique à celle de traitement par bêta-lactamines contre des souches sensibles [28]. La même équipe avait démontré une efficacité comparable entre la voie intraveineuse et par aérosol de l'association ceftazidime-amikacine pour des PAVM à *P. aeruginosa* [29]. La diminution d'acquisition de souches résistantes dans la flore digestive pourrait être l'un des intérêts majeurs de cette voie d'administration [29]. Antérieurement, l'administration par aérosol d'antibiotiques avait été principalement décrite dans des rapports de cas et des études descriptives [24], avec de bonnes réponses cliniques et microbiologiques [30]. La place des aérosols pour le traitement des PAVM reste encore à définir mais semble d'un intérêt croissant depuis l'utilisation des nouveaux nébuliseurs.

### Peptides antimicrobiens

Les peptides antimicrobiens sont des peptides cationiques de 20 à 40 acides aminés qui interagissent avec les charges négatives des membranes bactériennes afin d'éliminer les bactéries en quelques minutes. Le seul peptide antimicrobien actif sur *P. aeruginosa* actuellement sur le marché est la colistine (détaillée volontairement dans le chapitre « antibiotiques »). D'autres peptides antimicrobiens, tels que l'arenicin-3, des dérivés de la cathélicidine ou des peptidomimétiques [31], ont montré une excellente activité bactéricide contre des souches multirésistantes de *P. aeruginosa* [14], avec une efficacité notable dans un modèle murin d'infection systémique à *P. aeruginosa* [32]. Un progrès majeur rendu possible par l'utilisation de peptides à spectre antimicrobien large serait de cibler les bactéries pathogènes en y rattachant un site de fixation spécifique, résultant en une molécule chimérique nommée STAMP (*specifically-targeted antimicrobial peptides*) [33]. Cette technique novatrice aurait l'intérêt évident de limiter l'impact sur la flore microbienne non pathogène.

### Donneur de CO

Le monoxyde de carbone (CO) est connu pour agir comme un inhibiteur de la chaîne respiratoire de *P. aeruginosa*, un stratagème non utilisé par les antibiotiques existants. Le développement de molécules permettant une libération prolongée du CO ou CORM (*Carbon monoxide releasing molecule*) diminue sa toxicité et permet son utilisation in vivo. Ces CORMs possèdent des propriétés bactéricides in vitro et in vivo contre plusieurs souches de *P. aeruginosa* dont des souches multirésistantes [34].

### Pyocines

Les bactéries, notamment *P. aeruginosa*, produisent des bactériocines ou pyocines : des molécules ayant une activité antimicrobienne à spectre étroit permettant de rivaliser avec d'autres bactéries de la même espèce ou d'espèces différentes [35]. Des travaux sur la modification de la spécificité des pyocines pourraient en faire de nouvelles molécules antibiotiques à spectre suffisamment large pour avoir un intérêt thérapeutique mais suffisamment ciblé pour limiter l'impact sur la flore commensale [36].

### Traitement visant à modifier le phénotype bactérien

#### Inhibition de l'adhésion

L'inhibition de l'adhésion de *P. aeruginosa* a été proposée afin de limiter la phase initiale de colonisation. Cette

hypothèse a été testée in vitro notamment par une vaccination inhibant l'adhésion médiée par les pili [37]. Parallèlement, l'adhésion cellulaire liée à l'interaction entre les lectines produites par *P. aeruginosa* et le glycocalix à la surface des cellules épithéliales peut être inhibée par l'apport de sucres exogènes spécifiques (D-galactose pour la lectine PA-IL et fucose pour PA-III) [6] ou de peptides glycomimétiques [38]. Une application clinique humaine au cours de la mucoviscidose a validé ce concept thérapeutique [39].

### **Inhibition du quorum-sensing – macrolides**

#### ***Inhibition du quorum-sensing***

L'implication du QS dans de nombreux aspects de la physiopathologie de la pneumonie (adhésion, biofilm, régulation des facteurs de virulence, altération du système immunitaire de l'hôte...) en fait une cible anti-infectieuse majeure. Des analogues structuraux de l'homosérine lactone (les furanones halogénés) ainsi que des extraits d'ail ont montré des propriétés inhibitrices du QS [40,41]. Chez *P. aeruginosa*, les furanones halogénés diminuent la production d'exotoxines, répriment l'expression de gènes régulés par le QS, et augmentent la sensibilité des bactéries à la tobramycine au sein des biofilms in vitro [41]. Dans un modèle murin de pneumonie à *P. aeruginosa*, l'administration de furanones halogénés de synthèse favorisait la clairance pulmonaire de *P. aeruginosa* et améliorait la survie [42]. Cependant, la labilité de ces molécules in vivo n'autorise pas jusqu'à présent une application clinique humaine. Une étude clinique préliminaire utilisant des extraits d'ail a montré une diminution des concentrations d'auto-inducteurs et une tendance vers une amélioration du pronostic chez des enfants atteints de mucoviscidose [43]. Enfin, le triphényle est une molécule structurellement proche de l'homosérine lactone capable d'inhiber le QS. Sa stabilité en condition physiologique pourrait en faire un pilier des thérapeutiques visant à réduire la virulence bactérienne. Enfin, certains antibiotiques tels que l'azithromycine (détaillée ci-dessous), la ceftazidime et la ciprofloxacine ont aussi la capacité d'inhiber le QS [44].

#### ***Macrolides***

Selon les normes microbiologiques habituelles, *P. aeruginosa* est naturellement résistant aux macrolides. Cependant, les concentrations subinhibitrices de macrolides modifient son phénotype. Ils ont un effet inhibiteur sur l'assemblage des pili, contribuant ainsi à l'inhibition de l'adhésion cellulaire indépendante du flagelle. Ils modifient également la formation de la matrice du biofilm [45]. Dans ce contexte, une étude animale récente sur la pneumonie aiguë à *P. aeruginosa* a montré un effet bénéfique de l'azithromycine [46]. Récemment, Van Delden et al. ont effectué une étude contrô-

lée en double aveugle visant à réduire le risque de PAVM à *P. aeruginosa*. Les patients ventilés en réanimation présentant une colonisation des voies aériennes à *P. aeruginosa* recevaient de l'azithromycine ou un placebo pendant 20 jours au maximum. L'analyse de biologie moléculaire dans les aspirations trachéales montrait une réduction significative de l'expression des gènes dépendants du QS avec l'azithromycine [47]. Sur l'ensemble de l'effectif inclus, l'incidence des PAVM à *P. aeruginosa* n'était pas différente entre les deux groupes. Néanmoins, la prévalence de la colonisation avec une souche partiellement ou totalement déficiente pour le QS était importante (46/59, 78 %). Lorsque seuls les patients colonisés avec une souche de *P. aeruginosa* produisant un haut niveau de rhamnolipides (un facteur de virulence contrôlé par le QS) étaient inclus (N=5 seulement dans chaque groupe, 11,7 % de l'effectif global), l'incidence des PAVM à *P. aeruginosa* était réduite dans le groupe traité par l'azithromycine [48]. Cette étude a validé le concept d'une inhibition du QS dans l'infection aiguë pour une sous-population de patients et doit maintenant être confirmée par un essai clinique de plus grande envergure. Ces résultats prometteurs sont néanmoins à contrebalancer avec l'observation dans la même cohorte de patients d'une diminution sous azithromycine des souches mutées pour le QS avec en contrepartie un avantage sélectif en faveur des souches sauvages plus virulentes [47].

Par ailleurs, les macrolides ont une activité immunomodulatrice, diminuant le chimiotactisme, l'infiltration par les neutrophiles et la sécrétion de mucus [49], qui majore l'intérêt potentiel de leur utilisation dans l'infection pulmonaire aiguë.

### **Phages**

Les bactériophages, ou phages, sont des virus à ADN infectant exclusivement les bactéries. Ils sont présents dans tous les environnements incluant l'air, les sols et l'eau, et représentent l'entité vivante quantitativement la plus importante sur la planète. Après leur découverte par Félix d'Herelle à l'institut Pasteur en 1916, la première preuve d'efficacité contre une infection bactérienne fut apportée dès 1919 chez un enfant atteint de dysenterie sévère [50]. L'essor des antibiotiques a rapidement éliminé les phages de l'arsenal thérapeutique des pays occidentaux à l'inverse des pays de l'ex-URSS, notamment en Géorgie, où furent développés et cultivés de nombreux phages contre de multiples bactéries dont *P. aeruginosa* [50]. Au décours de la Seconde Guerre mondiale, de nombreux patients d'Europe de l'Est ont efficacement reçu ce type de traitement. Depuis l'émergence des multirésistances et de la difficulté à développer de nouveaux antibiotiques, les phages connaissent un net regain d'intérêt dans la communauté scientifique occidentale [51]. À l'inverse des antibiotiques, ils présentent l'intérêt majeur

d'être spécifique de l'hôte, la bactérie ciblée, et donc n'interagissent pas avec la flore commensale du patient traité. L'inconvénient de cette grande spécificité incombe à la nécessité d'une identification précise du germe responsable de l'infection. Si des mécanismes de résistance bactérien contre l'infection par un phage existe, ils sont néanmoins indépendants des mécanismes impliqués dans la résistance aux antibiotiques. De plus, ces résistances sont généralement associées à une diminution de la virulence et semblent donc moins fréquents que pour les antibiotiques [51]. Un autre avantage réside dans la facilité d'utilisation potentielle avec une seule dose nécessaire, le phage se répliquant au sein du patient en présence de son hôte bactérien [51]. La phagothérapie est basée sur l'utilisation de phages lysant les cellules bactériennes (phage à cycle lytique). Néanmoins, les phages peuvent aussi infecter les bactéries selon un cycle lysogénique, à savoir l'intégration du matériel génétique au sein du génome bactérien sans lyse de l'hôte. Le passage d'un cycle lytique en un cycle lysogénique peut vraisemblablement survenir *in vivo*. Ces cycles lysogéniques apportent la possibilité d'un transfert de gènes entre différentes souches bactériennes et amènent donc un risque secondaire de transfert de gènes de résistance [52].

Depuis une décennie, de nombreuses études ont confirmé l'intérêt de la phagothérapie dans différents modèles expérimentaux d'infections à *P. aeruginosa* [53]. Dans le contexte des infections respiratoires, Debarbieux et al. ont démontré l'intérêt des phages en instillation dans les voies aériennes, tant en prévention qu'en traitement curatif d'une pneumonie à *P. aeruginosa* [54,55]. Un traitement préventif par une instillation unique de phages quatre jours avant l'infection était capable de protéger l'ensemble des animaux dans un modèle murin de pneumonie létale due à une souche clinique de *P. aeruginosa* [55]. De plus, un traitement curatif réalisé deux heures après l'instillation bactérienne était aussi capable de protéger la majorité des souris dans ce modèle. Néanmoins, ce traitement curatif perdait en efficacité dès la 4<sup>e</sup> heure post-infection [54].

Parallèlement, une meilleure connaissance des mécanismes impliqués dans le cycle infectieux des phages a permis de caractériser des enzymes spécifiques impliquées dans leur activité lytique. Les endolysines sont des enzymes encodées par le génome du phage afin de lyser la bactérie et donc de libérer le phage de la cellule bactérienne pour finalement infecter les autres bactéries avoisinantes. Leur activité hydrolytique sur le peptidoglycane bactérien en font de très séduisantes molécules antibactériennes [56].

## Immunothérapie et vaccin

Devant les difficultés de développement des nouveaux antimicrobiens, la stimulation de l'immunité par les vaccins ou

l'immunothérapie présente un nouvel essor [57]. La capacité de *P. aeruginosa* à modifier son phénotype en fonction des variations de son environnement et les nombreux sérotypes impliqués dans les infections humaines rendent leur développement difficile. Néanmoins, il existe quelques antigènes largement conservés au sein de cette espèce bactérienne qui en font de bonnes cibles vaccinales. De nombreux vaccins et anticorps ciblant le lipopolysaccharide, l'alginate, le flagelle, les pili, des composants du système de sécrétion de type III et des protéines de la membrane externe ont été testés dans des études précliniques [58]. Toutefois, seuls quelques-uns ont atteint les phases cliniques et aucun d'entre eux n'a obtenu l'autorisation de commercialisation.

### Anticorps anti-PcrV

L'immunothérapie la plus avancée dans la prévention des PAVM à *P. aeruginosa* cible la protéine PcrV, indispensable au fonctionnement du SSTT. Comme indiqué plus haut, PcrV est une des protéines impliquée dans la formation de la structure de type « aiguille » du SSTT qui permet l'injection de protéines effectrices dans la cellule eucaryote. Ainsi, les anticorps dirigés contre PcrV permettent de préserver les fonctions phagocytaires des cellules immunitaires de l'hôte, de réduire l'inflammation au cours de l'infection aiguë et de diminuer la mortalité dans un modèle murin de pneumonie aiguë à *P. aeruginosa* [59]. Un essai clinique de phase 1/2, en utilisant un F(ab)<sub>2</sub> pégylé contre PcrV (KB001), a objectivé une tendance à une réduction de l'incidence des PAVM à *P. aeruginosa* chez les patients ventilés et colonisés à cette bactérie [60]. Dans cette étude, les patients ventilés présentant une colonisation à *P. aeruginosa* dans les voies respiratoires sans critère d'infection ( $\geq 10^3$  UFC/mL sur une aspiration trachéale ou  $\geq 10^2$  UFC/mL sur un lavage bronchoalvéolaire) étaient randomisés et recevaient soit un placebo (N=12) soit une dose du KB001 (3 ou 10 mg/kg, N=13 et 14 respectivement) par voie intraveineuse. L'incidence des PAVM à *P. aeruginosa* chez les patients colonisés sous ventilation mécanique était de 60 % dans le groupe placebo contre 33 % et 31 % dans les groupes traités par anti-PcrV (3 et 10 mg/kg, respectivement) [60].

### Anticorps anti-O11

Un autre anticorps a atteint la phase 2 chez des patients de réanimation. Le panobacumab (KBPA-101) est une IgM monoclonale spécifique du sérotype O11 de *P. aeruginosa* permettant l'opsonisation et une meilleure phagocytose des bactéries *in vitro*. Dans un modèle murin de pneumonie non létale, l'injection de cet anticorps juste avant l'instillation de *P. aeruginosa* accélérerait la clairance bactérienne et limitait la dissémination systémique [61]. L'étude de phase I a montré une longue demi-vie et l'absence d'immunogénicité, mais

aucune donnée n'a été fournie concernant la pénétration pulmonaire des IgM [61,62]. Nous attendons maintenant les résultats d'une phase II non comparative sur des patients de réanimation présentant une pneumonie nosocomiale due à ce sérotype particulier. Cependant, même si le sérotype 11 est actuellement l'un des plus fréquemment rencontrés dans les infections aiguës à *P. aeruginosa*, la spécificité de cet anticorps souligne la nécessité d'un test rapide pour préciser le sérotype en pratique quotidienne et le développement d'anticorps spécifiques d'autres sérotypes fréquemment rencontrés chez les patients ventilés.

### Anticorps anti-Psl

Un anticorps monoclonal dirigé contre un polysaccharide de surface Psl, polysaccharide indépendant du sérotype de *P. aeruginosa*, est protecteur dans différents modèles murins d'infection et contre différents sérotypes bactériens, ce qui pourrait en faire un candidat de choix si les résultats étaient confirmés chez l'homme [63].

### Candida

Outre les facteurs bactériens, les facteurs de l'hôte jouent également un rôle majeur dans le développement de la pneumonie à *P. aeruginosa*. Un concept récent de la physiopathologie des PAVM à *P. aeruginosa* implique la colonisation des voies aériennes par *Candida* sp. chez les patients ventilés. En effet, après quelques jours sous ventilation mécanique, les prélèvements respiratoires permettent fréquemment d'isoler une souche de *Candida*. Ces levures sont rarement responsables d'infection pulmonaire chez ces patients et l'existence même de la pneumonie à *Candida* chez les patients de réanimation semble être remise en question [64]. Récemment, des données cliniques et expérimentales ont souligné l'hypothèse d'un lien entre colonisation des voies aériennes par *Candida* sp. et pneumonie à *P. aeruginosa* [65,66]. De plus, dans une étude clinique rétrospective incluant les patients ventilés et colonisés à *Candida* sp., Nseir et al. ont trouvé une association entre un traitement antifongique et un risque réduit de colonisation trachéobronchique ou de PAVM à *P. aeruginosa* [67]. Nous avons confirmé cette hypothèse plus tard avec un modèle murin de colonisation fongique des voies aériennes et de pneumonie aiguë à *P. aeruginosa* [68]. Dans ce modèle, la colonisation des voies aériennes par *C. albicans* induisait une réponse Th1/Th17 et facilitait le développement d'une pneumonie à *P. aeruginosa*. Un traitement antifongique améliorait la clairance pulmonaire de *C. albicans* dans les poumons avec parallèlement une normalisation de l'IFN-gamma au sein des poumons. Enfin, chez les animaux colonisés, un traitement antifongique diminuait significativement le taux de

pneumonie à *P. aeruginosa* par rapport aux animaux non traités, permettant de revenir à l'incidence de la pneumonie à *P. aeruginosa* observée chez les animaux non colonisés [68]. Des données contradictoires ont été obtenues dans un modèle similaire développé chez la souris, avec un effet protecteur du *Candida* sur la pneumonie à *P. aeruginosa* [69]. Néanmoins, l'espèce de souris utilisée dans ce travail (Balb-c) est réputée pour développer une réponse immunitaire Th2, ce qui finalement tendrait à confirmer le rôle de la réponse Th1/Th17 observée avec notre modèle chez le rat [68] et chez l'homme d'une manière plus générale en réponse au *Candida* spp. [70].

### Conclusion

*P. aeruginosa* est la bactérie la plus fréquemment impliquée dans les pneumonies acquises à l'hôpital, notamment les PAVM. Ces infections sont responsables d'une morbidité et d'une mortalité importantes. Le défi clinique est lié à la fois à la résistance aux antibiotiques et à la virulence de cette bactérie. Certaines souches cliniques sont maintenant résistantes à la quasi-totalité des antibiotiques disponibles, motivant le développement de nouvelles approches thérapeutiques. L'immunothérapie, comme les anticorps anti-PcrV bloquant le SSTT, ou des molécules capables de modifier l'expression des facteurs de virulence sont proches d'atteindre la phase III des essais cliniques. De plus, de nouvelles molécules antimicrobiennes ou la délivrance topique sont en développement. Parallèlement aux traitements limitant la croissance et la virulence de *P. aeruginosa*, le traitement antifongique de la colonisation des voies aériennes par *Candida* pourrait également réduire l'incidence de PAVM chez les patients ventilés. Les PAVM à *P. aeruginosa* reste un défi pour les cliniciens mais ce nouvel arsenal thérapeutique devrait permettre de limiter la morbimortalité liée à ces infections chez les patients de réanimation.

**Conflit d'intérêt :** Les laboratoires des deux auteurs (INSERM U722 et Université Paris 7) ont reçu une aide financière du laboratoire pharmaceutique Pfizer.

### Références

1. Sadikot RT, Blackwell TS, Christman JW, Prince AS (2005) Pathogen-host interactions in *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 171:1209–23
2. Jones RN (2010) Microbial etiologies of hospital-acquired bacterial pneumonia and ventilator-associated bacterial pneumonia. *Clin Infect Dis* 51:S81–S87
3. Poole K (2011) *Pseudomonas aeruginosa*: Resistance to the max. *Front Microbiol* 2:65

4. Mentzelopoulos SD, Pratikaki M, Platsouka E, et al (2007) Prolonged use of carbapenems and colistin predisposes to ventilator-associated pneumonia by pandrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Intensive Care Med* 33:1524–32
5. Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS, et al (2009) Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 48:1–12
6. Adam EC, Mitchell BS, Schumacher DU, et al (1997) *Pseudomonas aeruginosa* II lectin stops human ciliary beating: therapeutic implications of fucose. *Am J Respir Crit Care Med* 155:2102–4
7. Gil-Perotin S, Ramirez P, Marti V, et al (2012) Implications of endotracheal tube biofilm in ventilator-associated pneumonia response: a state of concept. *Crit Care* 16:R93
8. Wagner VE, Frelinger JG, Barth RK, Iglewski BH (2006) Quorum sensing: dynamic response of *Pseudomonas aeruginosa* to external signals. *Trends Microbiol* 14:55–8
9. Schuster M, Lostroh CP, Ogi T, Greenberg EP (2003) Identification, timing, and signal specificity of *Pseudomonas aeruginosa* quorum-controlled genes: a transcriptome analysis. *J Bacteriol* 185:2066–79
10. Jahoor A, Patel R, Bryan A, et al (2008) Peroxisome proliferator-activated receptors mediate host cell proinflammatory responses to *Pseudomonas aeruginosa* autoinducer. *J Bacteriol* 190:4408–15
11. Hauser AR, Cobb E, Bodi M, et al (2002) Type III protein secretion is associated with poor clinical outcomes in patients with ventilator-associated pneumonia caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Crit Care Med* 30:521–8
12. Singh G, Wu B, Baek MS, et al (2010) Secretion of *Pseudomonas aeruginosa* type iii cytotoxins is dependent on *Pseudomonas* quinolone signal concentration. *Microb Pathog* 49:196–203
13. Lynch SV, Flanagan JL, Sawa T, et al (2010) Polymorphisms in the *Pseudomonas aeruginosa* type III secretion protein, pcrv – implications for anti-pcrv immunotherapy. *Microb Pathog* 48:197–204
14. Page MG, Heim J (2009) Prospects for the next anti-*Pseudomonas* drug. *Curr Opin Pharmacol* 9:558–65
15. Bush K (2012) Improving known classes of antibiotics: an optimistic approach for the future. *Curr Opin Pharmacol* 12:527–34
16. Walkty A, Decorby M, Nichol K, et al (2008) In vitro activity of ceftobiprole against clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* Obtained from Canadian Intensive Care Unit (ICU) Patients as part of the CAN-ICU Study. *J Antimicrob Chemother* 62:206–8
17. Mushtaq S, Warner M and Livermore D (2010) Activity of the siderophore monobactam BAL30072 against multidrug-resistant non-fermenters. *J Antimicrob Chemother* 65:266–70
18. Kollef MH, Chastre J, Clavel M, et al (2012) A randomized trial of 7-day doripenem versus 10-day imipenem-cilastatin for ventilator-associated pneumonia. *Crit Care* 16:R218
19. Ehmann DE, Jahić H, Ross PL, et al (2012) Avibactam is a covalent, reversible, non- $\beta$ -lactam  $\beta$ -lactamase inhibitor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109:11663–8
20. Walkty A, DeCorby M, Lagace-Wiens PRS, et al (2011) In vitro activity of ceftazidime combined with nxl104 versus *Pseudomonas aeruginosa* isolates obtained from patients in Canadian hospitals (Canward 2009 Study). *Antimicrob Agents Chemother* 55:2992–4
21. Livermore DM, Mushtaq S, Warner M (2010) Activity of BAL30376 (Monobactam BAL19764 + BAL29880 + Clavulanate) versus gram-negative bacteria with characterized resistance mechanisms. *J Antimicrob Chemother* 65:2382–95
22. Lomovskaya O, Warren MS, Lee A, et al (2001) Identification and characterization of inhibitors of multidrug resistance efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa*: Novel agents for combination therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 45:105–16
23. Falagas ME, Rafailidis PI, Matthaiou DK, et al (2008) Pandrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* infections: characteristics and outcome in a series of 28 patients. *Int J Antimicrob Agents* 32:450–4
24. Linden PK, Paterson DL (2006) Parenteral and inhaled colistin for treatment of ventilator-associated pneumonia. *Clin Infect Dis* 43 Suppl 2:S89–94
25. Grossman TH, Bartels DJ, Mullin S, et al (2007) Dual targeting of gyrb and pare by a novel aminobenzimidazole class of antibacterial compounds. *Antimicrob Agents Chemother* 51:657–66
26. Miller AA, Bundy GL, Mott JE, et al (2008) Discovery and characterization of qpt-1, the progenitor of a new class of bacterial topoisomerase inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother* 52:2806–12
27. McAllister LA, Montgomery JI, Abramite JA, et al (2012) Heterocyclic methylsulfone hydroxamic acid LpxC inhibitors as Gram-negative antibacterial agents. *Bioorg Med Chem Lett* 22:6832–8
28. Lu Q, Luo R, Bodin L, et al (2012) Efficacy of high-dose nebulized colistin in ventilator-associated pneumonia caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *Anesthesiology* 117:1335–47
29. Lu Q, Yang J, Liu Z, et al (2011) Nebulized ceftazidime and amikacin in ventilator-associated pneumonia caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Am J Respir Crit Care Med* 184:106–15
30. Kwa ALH, Loh C, Low JGH, et al (2005) Nebulized colistin in the treatment of pneumonia due to multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis* 41:754–7
31. Srinivas N, Jetter P, Ueberbacher BJ, et al (2010) Peptidomimetic antibiotics target outer-membrane biogenesis in *Pseudomonas aeruginosa*. *Science* 327:1010–3
32. Deslouches B, Gonzalez IA, DeAlmeida D, et al (2007) De novo-derived cationic antimicrobial peptide activity in a murine model of *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia. *J Antimicrob Chemother* 60:669–72
33. He J, Anderson MH, Shi W and Eckert R (2009) Design and activity of a ‘dual-targeted’ antimicrobial peptide. *Int J Antimicrob Agents* 33:532–7
34. Desmard M, Davidge KS, Bouvet O, et al (2009) A carbon monoxide-releasing molecule (CORM-3) exerts bactericidal activity against *Pseudomonas aeruginosa* and improves survival in an animal model of bacteraemia. *FASEB J* 23:1023–31
35. Michel-Briand Y, Baysse C (2002) The pyocins of *Pseudomonas aeruginosa*. *Biochimie* 84:499–510
36. Williams SR, Gebhart D, Martin DW, Scholl D (2008) Retargeting R-Type pyocins to generate novel bactericidal protein complexes. *Appl Environ Microbiol* 74:3868–76
37. Hsieh JC, Tham DM, Feng W, et al (2005) Intranasal immunization strategy to impede pilin-mediated binding of *Pseudomonas aeruginosa* to airway epithelial cells. *Infect Immun* 73:7705–17
38. Gustke H, Kleene R, Loers G, et al (2011) Inhibition of the bacterial lectins of *Pseudomonas aeruginosa* with monosaccharides and peptides. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 31:207–15
39. Hauber H-P, Schulz M, Pforte A, et al (2008) Inhalation with fucose and galactose for treatment of *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis patients. *Int J Med Sci* 5:371–6
40. Bjarnsholt T (2005) Garlic blocks quorum sensing and promotes rapid clearing of pulmonary *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Microbiology* 151:3873–80
41. Hentzer M, Wu H, Andersen JB, et al (2003) Attenuation of *Pseudomonas aeruginosa* virulence by quorum sensing inhibitors. *EMBO J* 22:3803–15
42. Wu H, Song Z, Hentzer M, et al (2004) Synthetic furanones inhibit quorum-sensing and enhance bacterial clearance in *Pseudomonas aeruginosa* lung infection in mice. *J Antimicrob Chemother* 53:1054–61
43. Smyth AR, Cifelli PM, Ortori CA, et al (2010) Garlic as an inhibitor of *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing in cystic



- fibrosis—a pilot randomized controlled trial. *Pediatr Pulmonol* 45:356–62
44. Skindersoe ME, Alhede M, Phipps R, et al (2008) Effects of antibiotics on quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 52:3648–63
  45. Wozniak DJ (2004) Effects of subinhibitory concentrations of macrolide antibiotics on *Pseudomonas aeruginosa*. *Chest* 125:62S–69S
  46. Kikuchi Y, Tateda K, Fuse ET, et al (2009) Hyperoxia exaggerates bacterial dissemination and lethality in *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. *Pulm Pharmacol Ther* 22:333–9
  47. Köhler T, Perron GG, Buckling A and Van Delden C (2010) Quorum-sensing inhibition selects for virulence and cooperation in *Pseudomonas aeruginosa*. *PLoS Pathogens* 6:e1000883
  48. Van Delden C, Köhler T, Brunner-Ferber F, et al (2012) Azithromycin to prevent *Pseudomonas aeruginosa* ventilator-associated pneumonia by inhibition of quorum sensing: a randomized controlled trial. *Intensive Care Med* 38:1118–25
  49. Feola DJ, Garvy BA, Cory TJ, et al (2010) Azithromycin alters macrophage phenotype and pulmonary compartmentalization during lung infection with *Pseudomonas*. *Antimicrob Agents Chemother* 54:2437–47
  50. Stone R (2013) Bacteriophage Therapy. Stalin's forgotten cure. *Science* 298:728–31
  51. Loc-Carrillo C and Abedon ST (2011) Pros and cons of phage therapy. *Bacteriophage* 1:111–4
  52. Fancello L, Desnues C, Raoult D and Rolain JM (2011) Bacteriophages and diffusion of genes encoding antimicrobial resistance in cystic fibrosis sputum microbiota. *J Antimicrob Chemother* 66:2448–54
  53. Sausseureau E and Debarbieux L (2012) Bacteriophages in the experimental treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections in Mice. *Adv Virus Res* 83:123–41
  54. Debarbieux L, Leduc D, Maura D, et al (2010) Bacteriophages can treat and prevent *Pseudomonas aeruginosa* lung infections. *J Infect Dis* 201:1096–104
  55. Morello E, Sausseureau E, Maura D, et al (2011) Pulmonary bacteriophage therapy on *Pseudomonas aeruginosa* cystic fibrosis strains: first steps towards treatment and prevention. *PLoS ONE* 6:e16963
  56. Borysowski J, Weber-Dabrowska B, Górski A (2006) Bacteriophage endolysins as a novel class of antibacterial agents. *Exp Biol Med* 231:366–77
  57. Roux D, Pier GB, Skurmik D (2012) Magic bullets for the 21<sup>st</sup> Century: The reemergence of immunotherapy for multi- and pan-resistant microbes. *J Antimicrob Chemother* 67:2785–7
  58. Doring G and Pier G (2008) Vaccines and immunotherapy against *Pseudomonas aeruginosa*. *Vaccine* 26:1011–24
  59. Sawa T, Yahr TL, Ohara M, et al (1999) Active and passive immunization with the *Pseudomonas* V antigen protects against type III intoxication and lung injury. *Nat Med* 5:392–8
  60. François B, Luyt C-E, Dugard A, et al (2012) Safety and pharmacokinetics of an anti-PcrV pegylated monoclonal antibody fragment in mechanically ventilated patients colonized with *Pseudomonas aeruginosa*. *Crit Care Med* 40:2320–6
  61. Horn MP, Zuercher AW, Imboden MA, et al (2010) Preclinical in vitro and in vivo characterization of the fully human monoclonal IgM antibody KBPA101 Specific for *Pseudomonas aeruginosa* serotype IATS-O11. *Antimicrob Agents Chemother* 54:2338–44
  62. Lu Q, Rouby JJ, Laterre PF, et al (2011) Pharmacokinetics and safety of panobacumab: specific adjunctive immunotherapy in critical patients with nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* O11 pneumonia. *J Antimicrob Chemother* 66:1110–6
  63. DiGiandomenico A, Warrener P, Hamilton M, et al (2012) Identification of broadly protective human antibodies to *Pseudomonas aeruginosa* exopolysaccharide Psl by phenotypic screening. *J Exp Med* 209:1273–87
  64. Ricard J-D and Roux D (2009) Candida pneumonia in the ICU: Myth or reality? *Intensive Care Med* 35:1500–2
  65. Azoulay E, Timsit J-F, Tafflet M, et al (2006) *Candida* colonization of the respiratory tract and subsequent *Pseudomonas* ventilator-associated pneumonia. *Chest* 129:110–7
  66. Roux D, Gaudry S, Dreyfuss D, et al (2009) *Candida albicans* Impairs macrophage function and facilitates *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia in rat. *Crit Care Med* 37:1062–7
  67. Nseir S, Jozefowicz E, Cavestri B, et al (2007) Impact of antifungal treatment on *Candida-Pseudomonas* interaction: A preliminary retrospective case-control study. *Intensive Care Med* 33:137–42
  68. Roux D, Gaudry S, Khoy-Ear L, et al (2013) Airway fungal colonization compromises the immune system allowing bacterial pneumonia to prevail. *Crit Care Med* 2013 ePub ahead of print
  69. Ader F, Jawhara S, Nseir S, et al (2011) Short term *Candida albicans* colonization reduces *Pseudomonas aeruginosa*-related lung injury and bacterial burden in a murine model. *Crit Care* 15:R150
  70. Conti HR, Gaffen SL (2010) Host responses to *Candida albicans*: Th17 cells and mucosal candidiasis. *Microbes Infect* 12:518–27