



Impact d'une politique proactive de surveillance et de gestion des risques infectieux dans un centre hospitalo-universitaire parisien sur la diffusion des Bactéries Multi-Résistantes aux antibiotiques

Patrick Grohs

► To cite this version:

Patrick Grohs. Impact d'une politique proactive de surveillance et de gestion des risques infectieux dans un centre hospitalo-universitaire parisien sur la diffusion des Bactéries Multi-Résistantes aux antibiotiques. Santé. Université Paris-Est, 2017. Français. NNT : 2017PESC1070 . tel-01791618

HAL Id: tel-01791618

<https://theses.hal.science/tel-01791618>

Submitted on 14 May 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



THESE DE DOCTORAT

Ecole doctorale de Santé publique : ED 420

Spécialité : épidémiologie

Présentée et soutenue par Patrick GROHS

Le 20/12/2017

**IMPACT D'UNE POLITIQUE PROACTIVE DE SURVEILLANCE
ET DE GESTION DES RISQUES INFECTIEUX
DANS UN CENTRE HOSPITALO-UNIVERSITAIRE PARISIEN,
SUR LA DIFFUSION DES BACTERIES MULTI-RESISTANTES
AUX ANTIBIOTIQUES**

Directeur de Thèse : Pr Jérôme SALOMON

UMR 1181 Pharmaco épidémiologie des maladies infectieuses

Président : Pr Pascal ASTAGNEAU

**Rapporteurs : Dr Laurence ARMAND-LEFEVRE
Pr Jean-Ralph ZAHAR**

**Examineurs : Dr Victoire DE LASTOURS
Pr Jean-Christophe LUCET**

REMERCIEMENTS

Alors que j'arrive à l'automne de ma carrière professionnelle, cette thèse me permet de faire le bilan de presque vingt ans de recherche et d'ingénierie en biologie médicale. Durant toutes ces années, j'ai eu la chance de côtoyer des professionnels exceptionnels, dont chacun, à sa façon, a forgé un aspect de ma pensée scientifique.

Mon premier est un microbiologiste qui, lorsque j'étais technicien de laboratoire, m'a donné envie de comprendre ce qui se cache derrière une boîte d'antibiogramme, que celle-ci ne se résume pas à des résultats R, S, I, mais que d'innombrables mécanismes de résistances coexistent en son sein. Il est un des moteurs qui m'a poussé à faire un DEA en 1998. Phrase culte de Laurent Raskine : « ce qui est rare... est rare ».

Mon second est un professeur de microbiologie qui m'a enseigné les fondamentaux de la recherche. Il a transformé un cerveau formaté pour l'exécution, en système autonome de réflexion. Le résultat final a probablement débordé son ambition de départ, notamment quand je me suis penché sur des thématiques dont il était peu friand. Je lui dois beaucoup. Phrase culte de Laurent Gutmann : « tu ne lis pas assez, tu ne fais pas l'effort ».

Mon troisième est une microbiologiste rigoureuse, ou la rigueur incarnée en biologiste, voire une pensée rigoriste de la science. Sa conception de la recherche, différente de celle de Laurent, a complété ma formation, et ses domaines de compétence variés sont une source inépuisable d'information. Nous partageons la même appétence pour la polyvalence et la transversalité. Phrase culte d'Isabelle Podglajen : « t'es sur ? ...t'as bien vérifié ? ».

Mon quatrième est un professeur en infectiologie. Avec lui, un antibiotique n'est plus une pastille sur une gélose, ni une molécule hydrolysée par une enzyme, mais un anti-infectieux qui soigne un patient, et dont il faut préserver l'efficacité pour les générations futures. Jean-Luc Mainardi, chantre du bon usage des antibiotiques, m'a inculqué cette valence fondamentale entre efficacité de traitement individuel et écologie collective.

Mon cinquième est un hygiéniste, dont le dynamisme m'a laissé penser que le volontarisme était capable d'implémenter n'importe quelle politique de santé publique sur l'hôpital. Avec le temps, mon enthousiasme primitif a été rattrapé par les contingences médico-économiques et humaines, mais je n'oublie pas que le volontarisme de Guillaume Kac a été un élément clé de ma nomination officielle comme ingénieur.

Mon sixième est un pneumologue, né président du CLIN, et qui, probablement, le sera toujours à son départ à la retraite. Sa pondération et sa diplomatie, compléments utiles à la tornade Kaquesque, m'ont apporté une vision politique de l'hôpital. Guy Meyer, en m'aidant à structurer mon projet hospitalier d'épidémiologie et en défendant ma candidature auprès de la direction a, lui aussi, été un appui puissant pour ma nomination.

Mon septième, dernier arrivé dans la famille des « gens qui comptent », est infectiologue et lui aussi président d'un CLIN. D'un management soft et efficace, il a su tenir compte de la spécificité de mon parcours pour me laisser une grande latitude d'écriture dans ce manuscrit. Avec Jérôme Salomon, la relation de confiance, dont j'ai besoin pour m'exprimer pleinement, a été rapide, naturelle, et promet de fructueuses collaborations futures.

Mon tout est un milieu réactionnel dans lequel ont été déposés un volume de recherche fondamentale, un volume d'expertise de matériels et réactifs de laboratoire, un volume d'informatique, un volume d'hygiène hospitalière, et un volume de maîtrise de la consommation d'antibiotique, qsp 10 volumes de BMR. Le produit réactionnel est, au final, un matériau composite qui remercie chaleureusement tous ces manipulateurs.

Mon respect pour eux ne cible pas uniquement leur expertise professionnelle. Sans qualités humaines associées, la compétence n'est rien d'autre que de la technicité. Pour l'ensemble des savoirs qu'ils m'ont transmis, et pour l'affection qu'on a pu partager, je leur exprime ma sincère gratitude.

J'ai croisés et croise encore de nombreux autres professionnels avec qui je partage ce gout pour la résistance aux antibiotiques et qui continuent, pour certains, à m'enrichir encore aujourd'hui. Je ne peux pas tous les citer, mais je tiens à inclure Emmanuelle Varon et Didier Veil dans ces remerciements, pour toutes ces années de synergique collaboration, et les connaissances qu'ils m'ont transmises.

Pour finir, je tiens à remercier tous les membres du jury qui ont accepté d'évaluer ce travail, en particulier les deux rapporteurs, Laurence Armand-Lefèvre et Jean-Ralph Zahar, pour le temps passé à la correction de ce document.

DEDICACE

Cette thèse est dédiée à ma femme Cécile, qui est la plus à même de comprendre ce que représente cet exercice pour moi, dans toute sa dimension émotionnelle et psychologique. Sans elle, son amour, et son soutien indéfectible quoi que j'entreprenne, cette thèse n'aurait jamais vu le jour.

Cette thèse est tout aussi dédiée à mes enfants Marie et Jonathan, ainsi qu'à ma sœur Nathalie, car sans eux, je ne suis rien. Et si je suis particulièrement fier de ce qu'ils sont devenus tous les trois, il me semble important qu'en retour, ils aient le droit d'être fier de leur père.

Je la dédie également à mes parents, partis trop tôt quand je n'étais qu'un embryon d'adulte, et qui n'auront jamais vu ce que les graines semées pendant l'enfance ont donné comme plante aujourd'hui.

Je souhaite enfin dédier ce travail à tous ceux qui auraient bien voulu... mais qui n'ont pas pu. Parce qu'on leur a toujours fait croire qu'ils en étaient incapables, parce qu'ils ne savaient pas que c'était possible, parce qu'ils n'ont pas croisé les bonnes personnes, parce que la famille passait avant le reste, parce que l'environnement affectif n'était pas contenant, parce qu'il n'y avait jamais de bon moment, parce que c'était trop tard, parce que financièrement c'était compliqué ...

Parce que tout le monde n'a pas la chance d'avoir une fois dans sa vie le bon alignement de planètes, et, s'il se présente, de le reconnaître et de le saisir,

Ce travail est dédié à tous ceux qui n'ont pas eu de deuxième chance.

TABLE DES MATIERES

1	GLOSSAIRE DES ABREVIATIONS ET ACRONYMES.....	7
2	LISTE DES FIGURES.....	9
3	INTRODUCTION.....	10
4	CONTEXTE SCIENTIFIQUE GENERAL	12
4.1	Histoire des antibiotiques et de l'émergence de la résistance.....	12
4.1.1	La microbiologie, science relativement récente.....	12
4.1.2	L'antibiotique, ce médicament miracle.....	14
4.1.3	Origine des résistances bactériennes aux antibiotiques	15
4.1.4	Explosion des résistances ces dernières années	17
4.1.5	Une industrie pharmaceutique moins investie dans la recherche d'anti infectieux .	19
4.1.6	La réaction des sociétés savantes	21
4.2	Pression de sélection : pourquoi le bon usage des antibiotiques	22
4.2.1	Relation entre consommation et antibio-résistance	22
4.2.2	Antibiotiques et chaine alimentaire.....	24
4.2.3	Recommandations officielles.....	26
4.2.4	Indicateurs de suivi : JTE/1000j, ICATB	28
4.3	Hygiène hospitalière : prévention du risque infectieux	31
4.3.1	Histoire de l'hygiène : l'autre révolution de l'infectieux.....	31
4.3.2	Précautions standard : l'hygiène des mains	33
4.3.3	Précautions complémentaires contact (PCC).....	34
4.3.4	Mesures spécifiques pour la gestion du risque infectieux lié aux BHRe.....	36
4.3.5	Indicateurs : taux de résistance, incidence BMR, SHA L/1000j,	38
4.3.6	Outils informatiques : alerte BMR/BHR	43
4.3.7	Effectifs des équipes de soins	43
4.3.8	Décontamination et méthode du "search and kill"	44
4.3.9	Perception des BMR par les équipes médicales.....	46
4.4	Le laboratoire de bactériologie : rôle central dans la détection des BMR.....	48
4.4.1	De la collecte de l'échantillon biologique à l'antibiogramme	48
4.4.2	Différents types de BMR surveillées	51
4.4.3	Mécanismes moléculaires de la résistance aux antibiotiques	54
4.4.4	Techniques de laboratoire	56
4.4.5	Production de données épidémiologiques, surveillance, alerte.....	57
4.5	Epidémiologie des BMR/BHRe d'intérêt national.....	58
4.5.1	<i>S. aureus</i> résistant à la méticilline (SARM).....	58
4.5.2	Entérocoques Résistants à la Vancomycine (ERV).	60

4.5.3	Entérobactéries productrices de BLSE.	62
4.5.4	Entérobactéries productrices de carbapénèmase (EPC).....	64
5	CONTEXTE LOCAL : GESTION DU RISQUE INFECTIEUX A L'HEGP	66
5.1	L'HEGP, hôpital neuf totalement informatisé.....	67
5.2	L'unité mobile de microbiologie clinique (UMMC)	68
5.3	Particularité locale des conditions d'application des PCC	69
6	MON TRAVAIL DANS LA GESTION DU RISQUE INFECTIEUX.....	70
6.1	Paramétrage de la base de données d'épidémiologie	71
6.1.1	Le stockage des données épidémiologiques.....	71
6.1.2	Catégories de résistance	72
6.1.3	Sélection du type de prélèvement inclus dans les requêtes.....	73
6.1.4	Sélection du type de patient inclus dans les requêtes.....	74
6.1.5	Etude n° 1 : gestion des souches redondantes (Annexe n°1).....	75
6.1.6	Etude n°2 : durée de la période d'étude (Annexe n°2)	77
6.2	Mise en place du réseau de surveillance de la résistance	78
6.2.1	Exploitation des données	78
6.2.2	Distribution de listings de surveillance.....	79
6.2.3	Communication.....	79
6.3	Lutte contre la transmission croisée des BMR	81
6.3.1	Etude n°3 : alerte informatique BMR (Article n°1 de la thèse)	81
6.3.2	Choix des BMR à intégrer à l'alerte informatique.....	90
6.3.3	Etude n°4 : transmissions croisées à E coli-BLSE (Annexe n°3).....	92
6.3.4	Etude n° 5 : multi-résistance du SARM (Annexe n°4).....	94
6.3.5	Etude n° 6 : pression de colonisation SARM (Article n°2 de la thèse).....	95
6.3.6	Etude n°7 : politique de dépistage des EBLSE (Article n°3 de la thèse).....	103
6.4	Etude n°8 : lutte contre la sélection des HP-CASE (Article n°4 de la thèse).....	114
6.5	Etude n°9 : optimisation de la détection des EBLSE (Article n°5 de la thèse)	120
7	DISCUSSION	126
8	CONCLUSION, PERSPECTIVES.....	139
9	BIBLIOGRAPHIE DE LA THESE	143
10	ETUDES PERSONNELLES PUBLIEES ET PRESENTEES	154
11	ANNEXES : ETUDES PERSONNELLES CITEES NON INTEGREES DANS LE CORPUS DE LA THESE	155
12	AUTRES PUBLICATIONS DE L'AUTEUR.....	171

1 GLOSSAIRE DES ABREVIATIONS ET ACRONYMES

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

ANSM : Agence Nationale de Sécurité des Médicaments et produits de santé

ANSP : Agence Nationale de Santé Publique

AP-HP : Assistance Publique-Hôpitaux de Paris

BDD-BMR : Base De Données des patients porteurs de BMR

BDD-E : Base De Données Epidémiologique

BHRe : Bactérie Hautement Résistante aux Antibiotiques émergente ou à risque épidémique

BMR : Bactérie Multi-résistante aux Antibiotiques

C3G : Céphalosporine de troisième Génération

CASFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

(US) CDC : US Centers for Disease Control and Prevention

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CLIN : Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales

CLSI : Clinical and Laboratory Standards Institute

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

Coli-BLSE : Isolat d'*Escherichia coli* hébergeant une BLSE

COMAI : Commission des Anti-Infectieux

CPIAS : Centre de Prévention des Infections Associées aux Soins (anciennement Centre de Coordination de Lutte contre les Infections Nosocomiales, CCLIN)

EBLSE : Entérobactérie productrice de Béta-lactamase à Spectre Etendu

ECDC : European Centre for Disease Prevention and Control

EMR : Entérobactérie Multi-résistante aux antibiotiques (EBLSE et/ou HP-CASE)

EOHH : Equipe Opérationnelle en Hygiène hospitalière

EPC : Entérobactérie Productrice de Carbapénèmase

ER : Ecouvillonnage rectal

ERV : Entérocoque Résistant à la Vancomycine

EUCAST : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

FDA : Food and Drug Administration

FHA : Friction Hydro-Alcoolique

GHU : Groupe Hospitalier Universitaire

HAS : Haute Autorité de Santé

HEGP : Hôpital Européen Georges Pompidou

HP-CASE : Souche d'entérobactérie Hyper-Productrice de Céphalosporinase

JH : Journées d'Hospitalisation

KPC : *Klebsiella pneumoniae* productrice de carbapénémase

MLSb : Macrolides-Lincosamides-Streptogramines B

NCCLS : National Committee for Clinical Laboratory Standards

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ONERBA : Observatoire National de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques

PCC : Précautions Complémentaires Contact

PLP : Protéines de Liaison à la Pénicilline

RAISIN : Réseau d'Alerte, d'Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales

SARM : *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méricilline

SFHH : Société Française d'Hygiène Hospitalière

SHA : Solution Hydro-Alcoolique

SIL : Système Informatique de Laboratoire

UMMC : Unité Mobile de Microbiologie Clinique

VPN : Valeur Prédictive Négative

VPP : Valeur Prédictive Positive

2 LISTE DES FIGURES

1. Galerie de portraits de précurseurs majeurs de la microbiologie et de l'hygiène	13
2. Distribution de la consommation d'antibiotiques en 2016 à l'HEGP	29
3. Consommation globale des antibiotiques à l'HEGP de 2002 à 2016	29
4. Niveaux de mesures recommandés pour maîtriser la transmission croisée	36
5. Evaluation de l'importance du SARM à l'HEGP selon l'indicateur utilisé	40
6. Consommation globale de SHA à l'HEGP entre 2002 et 2016	41
7. Distribution 2016 par service des consommations de SHA à l'HEGP	42
8. Mécanismes de résistance impactant l'activité des bêta-lactamines	55
9. Prévalence Européenne des souches de SARM selon le pays	60
10. Antibiogramme de <i>S. aureus</i> résistant à la méticilline	60
11. Prévalence des souches d'ERV en Europe selon le pays	61
12. Antibiogramme d' <i>E. faecium</i> résistant à la vancomycine	61
13. Incidences SARM et BLSE de 2002 à 2015 en France	63
14. Antibiogramme d' <i>E. coli</i> producteur de BLSE	63
15. Prévalence Européenne des souches de KPC selon le pays	64
16. Episodes impliquant des EPC en France entre 2004 et 2015	65
17. Antibiogramme de KPC	66
18. Rapport de surveillance de la résistance aux antibiotiques à l'HEGP	80
19. Schémas du système informatique d'alerte BMR à l'HEGP	82
20. Tableau synoptique des patients porteurs d'une souche d' <i>E. coli</i> BLSE	92
21. Génotypage des souches d' <i>E. coli</i> BLSE	93
22. Incidence par service des patients porteurs de BLSE à l'HEGP	103
23. Incidence SARM et consommations d'antibiotiques et de SHA à l'HEGP	130
24. Incidences SARM et BLSE de 2001 à 2016 à l'HEGP	132
25. Résistance aux C3G et consommation des carbapénèmes à l'HEGP	135
26. Nombre de patients colonisés et infectés par une EPC à l'HEGP	135

3 INTRODUCTION

Ce travail de thèse s'inscrit dans un contexte général d'augmentation de la résistance bactérienne aux antibiotiques, et d'implantation de politiques hospitalières interventionnistes pour limiter la diffusion des souches bactériennes multi-résistantes aux antibiotiques (BMR). Il a été initié en 2000 alors que le *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) affichait une densité d'incidence élevée en France (0,79 en 2002 pour 1000 journées d'hospitalisation (JH) (1). Il s'est poursuivi jusqu'à ce jour en lien avec l'explosion de l'incidence des Entérobactéries porteuses de bêta-lactamase à spectre étendu (EBLSE) (0,16/1000JH en 2002 vs 0,81 en 2015) (1), et continue aujourd'hui pour limiter la diffusion des Bactéries Hautement Résistantes aux antibiotiques et émergentes (BHRe) *i.e* les entérobactéries productrices de carbapénémase (EPC) et les entérocoques résistants à la vancomycine (ERV).

L'Hôpital Européen Georges Pompidou (HEGP) a ouvert ses portes en 2000 peu de temps après la parution des premières recommandations de 1998, qui préconisaient un ensemble de mesures ayant pour but d'éviter « *la transmission d'un agent infectieux, connu ou présumé, à des individus non infectés et non porteurs mais réceptifs* » (2). L'HEGP a profité d'une architecture neuve intégrant 85% de chambres à lit unique, d'outils informatiques performants, et de professionnels motivés, pour appliquer dès l'ouverture les recommandations préconisées pour maîtriser la transmission croisée des BMR, et mettre en place une politique de bon usage des antibiotiques. En tant que responsable du réseau de surveillance de la résistance bactérienne sur le Groupe Hospitalier Universitaire (GHU) Paris-ouest, qui inclut les centres hospitaliers HEGP, Corentin Celton, et Vaugirard-Gabriel Pallez, j'ai participé à la lutte contre la diffusion des BMR par la mise en place d'outils informatiques (alerte électronique BMR...), de techniques de laboratoire appropriées (milieux d'isolement BMR...), ou de protocoles cliniques (prévalence de portage BMR en réanimation...). Le suivi au cours du temps de l'incidence des différentes BMR, a nourri ma réflexion sur l'impact que pouvaient produire l'implémentation de mesures préconisées par les sociétés savantes (politique antibiotique, précautions standard, précautions complémentaires contact, politique de dépistage...) sur la diffusion intra-hospitalières des différentes BMR d'intérêt. De même, les données de la littérature concernant la diffusion communautaire de certaines BMR (en particulier les EBLSE) m'a conduit à investiguer sur les parts respectives des apports de la ville, de l'hôpital, et des anciens patients réadmis sur le poids global des BMR dans un Centre Hospitalier Universitaire (CHU).

Chaque étape de la mise en place du système de surveillance des BMR, a été la source d'interrogations, d'ordre méthodologique (paramétrage de la base de données

épidémiologique), ou stratégique (politique de dépistage particulière HEGP vs recommandations nationales), voire organisationnel (moyens alloués). Les travaux qui en découlent ont parfois conduit à une publication scientifique dont le trait d'union est de fournir des outils de lutte contre la diffusion des BMR, et d'en évaluer la pertinence. Ce travail, entre le faire et le coordonner, a été réalisé à l'interface de disciplines et d'unités distinctes, très différentes dans leur approche quotidienne, mais synergiques dans la lutte contre la diffusion des BMR : bactériologie, Equipe Opérationnelle en Hygiène hospitalière (EOHH), Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales (CLIN), Commission des anti-infectieux (COMAI), Unité Mobile de Microbiologie Clinique (UMMC), services cliniques, pharmacie, Direction de l'Informatique Hospitalière. Avec le recul, certaines décisions qui semblaient judicieuses dans le contexte de l'époque, peuvent apparaître imparfaites aujourd'hui, voire inadaptées, les résultats obtenus au fil du temps n'étant pas à la hauteur des espoirs suscités.

Cette thèse détaille mes principaux travaux concernant l'impact de certains aspects de la surveillance et de la gestion du risque infectieux à l'hôpital, sur la diffusion de la multi-résistance bactérienne à l'HEGP pendant une quinzaine d'années. Elle s'intéresse principalement à trois types de BMR : le SARM, de par son statut de BMR historique et parce que sa prévalence était élevée au début de ce travail, les EBLSE en lien avec l'explosion de leur incidence durant les années 2000 et 2010, et enfin les Entérobactéries hyper-productrices de céphalosporinase (HP-CASE) car, au même titre que les EBLSE, ces micro-organismes résistants aux céphalosporines de troisième génération (C3G), sont source de consommation des carbapénèmes, antibiotiques de dernier recours dans le traitement des infections impliquant des entérobactéries. Si la bataille engagée depuis de nombreuses années contre les EBLSE et les HP-CASE offre peu de perspectives positives à ce jour, celle concernant les EPC est l'enjeu majeur de demain et fait partie des préoccupations prioritaires.

4 CONTEXTE SCIENTIFIQUE GENERAL

4.1 Histoire des antibiotiques et de l'émergence de la résistance

4.1.1 La microbiologie, science relativement récente

La confrontation entre l'homme et les maladies infectieuses est aussi ancienne que son apparition sur terre. Des traces de tuberculose, de lèpre et de caries ont été retrouvées sur des fossiles humains datant de plusieurs millénaires avant notre ère (3,4). Au Moyen Age, la grande peste noire du XIV^e siècle décima le tiers de la population européenne (5). Si faute d'explication rationnelle, le mal infectieux est la plupart du temps considéré comme une punition divine, sa perception commence à en changer à partir du XVI^e siècle. A cette époque, des médecins (Vésale, Paracelse, Ambroise Paré...) réinventent les concepts médicaux antiques de Galien et basent leur savoir sur des méthodes plus empiriques et expérimentales. Les progrès enregistrés par les humanistes en anatomie, pharmacologie, et chirurgie, permettent d'entrevoir une origine non obligatoirement diabolique des "purulences" et autres "pestilences". Avec l'introduction de la syphilis en Europe, maladie importée d'Amérique du sud par les conquistadores, la transmission sexuelle commence à être évoquée. Dans "De Contagione et Contagiosis Morbis" paru à Venise en 1546, qui traite de la grande vérole et d'autres maladies infectieuses, Jérôme Fracastor est le premier qui imagine des "Seminaria Contagiosis", c'est à dire des micro-organismes infectants capables de se multiplier et de se transmettre (6). Ces Micro-organismes seront observés pour la première fois dans les années 1670 par Leeuwenhoek au microscope, invention imputable à Galilée au début du siècle, mais sublimée par Leeuwenhoek tant au niveau technologique qu'en terme d'utilisation. Au siècle suivant, Spallanzani démontrera le vieux dogme de la génération spontanée, et affirmera que les animalcules observés par Leeuwenhoek se reproduisent et sont éliminables par la chaleur. Il faudra néanmoins attendre le XIX^e siècle et les pères fondateurs de la microbiologie moderne (Pasteur, Koch, Lister, Yersin...), pour prouver la nature bactérienne de nombreuses pathologies infectieuses, et identifier les germes causaux. Entre la fin XVIII^e et la fin XIX^e, les concepts de vaccination (Jenner), d'hygiène (Semmelweis), d'asepsie et d'antisepsie (Lister), seront les premiers outils de lutte efficace contre l'infection, bien avant l'apparition des antibiotiques (voir chapitre 4.3.1, histoire de l'hygiène).



Figure 1. Galerie de portraits de précurseurs majeurs de la microbiologie et de l'hygiène.

Les postulats de Henlé et de Koch, confirmés par Pasteur, établiront les règles pour affirmer le lien de causalité entre micro-organisme et maladie infectieuse. Ils conduiront également à rechercher et à isoler les bactéries responsables des maladies infectieuses au niveau des tissus infectés. En conséquence, les techniques bactériologiques se développeront pour permettre de cultiver les bactéries à partir des échantillons de produits biologiques sur des milieux de cultures adaptés. La mise en culture d'une bactérie, sa croissance sur milieu gélosé conduisant à la formation d'une colonie de plusieurs milliards d'individus, permettra alors de détailler ses caractères biochimiques en vue d'identification, mais également d'établir sa cartographie de résistance aux antibiotiques quand ceux-ci auront été découverts. Les progrès techniques enregistrés dans le domaine de la culture bactérienne permettront aussi de mettre en évidence la richesse, la diversité et la complexité des flores bactériennes commensales qui coexistent symbiotiquement avec l'homme. Le microbiote humain, regroupant les flores oro-pharyngée, cutanée, digestive et génitale, héberge des milliards d'unités bactériennes et des centaines d'espèces, dont la somme des gènes dépasse celle du génome humain (7). L'antibiothérapie de masse révélera l'importance de son rôle dans la diffusion des gènes de résistance aux antibiotiques. Aujourd'hui, la flore digestive est considérée comme l'épicentre de la résistance aux antibiotiques (8).

4.1.2 L'antibiotique, ce médicament miracle

Dater avec précision la découverte du premier agent anti-infectieux est moins évident qu'il n'y paraît. Bien entendu, Fleming est entré dans la légende en 1928, grâce à sa culture de Staphylocoque oubliée sur une paille, et inhibée par un *Penicillium notatum* (9). L'histoire retiendra le génie de cet homme d'avoir compris que le champignon sécrétait une substance bloquant le développement de la bactérie ; la pénicilline, premier antibiotique actif contre les Staphylocoques et les Streptocoques était née. Pour autant, Ernest Duchesne montra dès 1890 dans sa thèse de médecine que *Penicillium glaucum* inhibait la croissance d'une culture d'*Escherichia coli* (10). En 1897, il établira qu'un animal inoculé avec une souche de *Salmonella typhi* ne développe pas de typhoïde s'il a préalablement été inoculé avec du *Penicillium glaucum*. Malheureusement, ses recherches resteront inexploitées. Paul Ehrlich est lui aussi un précurseur ; en 1909, il synthétise un dérivé arsenical et l'utilise pour traiter la syphilis. Si cette molécule n'est pas de nature antibiotique, elle représente néanmoins le premier antibactérien de synthèse. En 1908, Gelmo décrit les propriétés colorantes de la sulfanilamide, mais son application thérapeutique comme antimicrobien sous forme de sulfamides reviendra à Gerhard Domagk dans les années 30 (11). La découverte de la

streptomycine en 1943 (12) constitue également un carrefour thérapeutique crucial; un antituberculeux était enfin disponible et il devenait possible de combattre une maladie dont le taux de létalité était de 50% (13). Il est intéressant de noter, qu'entre la découverte de la streptomycine en 1943 et l'introduction de l'isoniazide en 1952, le corps médical expérimentera la limitation de l'émergence de souches de *Mycobacterium tuberculosis* résistantes à la streptomycine, en mettant en place des multi-thérapies mixant streptomycine, acide para-amino salicylique, et isoniazide (13). Le miracle de l'antibiothérapie était tout juste balbutiant, que déjà, la question de la préservation de l'activité de ces médicaments était posée.

4.1.3 Origine des résistances bactériennes aux antibiotiques

La découverte de l'activité de la pénicilline sur les bactéries à Gram positif par Fleming en 1928, ne sera pas immédiatement suivie par le traitement de masse des patients infectés. Les problèmes de production de cette molécule ne seront résolus que durant la seconde guerre mondiale par Howard Florey et Ernst Chain, en lien avec l'industrie pharmaceutique. Ils recevront d'ailleurs en 1945 avec Fleming, le prix Nobel de physiologie-médecine, pour « *la découverte de la pénicilline et ses effets curatifs de nombreuses maladies infectieuses* ». A partir de cette date, la pénicilline sera disponible et le traitement pourra concerner de nombreux patients. A peine mise sur le marché, la pénicilline rencontre ses premiers échecs thérapeutiques, et dès 1948, des auteurs décrivent des souches de *S. aureus* résistantes, notamment dans les hôpitaux de Londres qui voient le taux de résistance passer de 14% en 1946 à 59% en 1948 (14). En 1960, une nouvelle pénicilline de classe M (tout d'abord nommée BRL.1241, puis celbenine, et enfin méticilline) est décrite comme étant non hydrolysée par la pénicillinase de *S. aureus* (15). Il ne faudra pas attendre longtemps pour isoler les premières souches de *S. aureus* résistantes à la méticilline (SARM) à partir de prélèvements cliniques, puisque plusieurs isolats sont décrits dès 1961 (16). Barber recommande d'ailleurs dans sa conclusion d'utiliser ce nouvel antibiotique avec "discrimination", réfléchissant déjà à la préservation de cette molécule. En 1963, la première épidémie hospitalière à SARM regroupant 71 cas, est décrite (17). Cette étude, qui inclut à la fois des patients colonisés asymptomatiques et des patients infectés, décrit un dépistage nasal systématique de *S. aureus* et de sa résistance aux pénicillines M. Elle est assez novatrice, car ce type de dépistage systématique ne sera préconisé que bien plus tard.

Dans les premières années de l'antibiothérapie, toute innovation thérapeutique est suivie d'une description de résistance quelques années plus tard. Pour le chloramphénicol, les dates

de mise sur le marché et d'observation de la résistance sont respectivement de 1947 et 1959 ; pour la tétracycline, 1948 et 1953 ; pour l'érythromycine, 1952 et 1988 ; pour la vancomycine, 1956 et 1988 (18). Dès les années 50 on trouve des publications scientifiques rapportant des souches de *S. aureus* résistantes à plusieurs antibiotiques, voire à tous ceux disponibles à cette époque. L'une d'entre elles décrit en 1954 des souches résistantes simultanément à la pénicilline, à la tétracycline et à la streptomycine (19). Malgré la mise à disposition de nombreux nouveaux traitements antibactériens, des échecs thérapeutiques sont relevés dans les années 60 pour des patients infectés par des souches de SARM conjointement résistantes à l'érythromycine, au chloramphénicol, à la tétracycline, et à la kanamycine (20). La multi-résistance aux antibiotiques a très rapidement suivi la simple résistance.

Pourtant, une bactérie, de par son caractère unicellulaire et la simplicité de son matériel génétique, n'intègre pas une large palette de gènes nécessaire à une adaptation rapide face à des changements environnementaux majeurs. Cette faiblesse est compensée par le nombre d'individus coexistant au sein d'une population bactérienne, et la rapidité de renouvellement générationnelle (20 minutes pour une souche d'*E. coli* ou d'Entérocoque). Aussi, alors qu'un changement aléatoire est rare dans un simple génome, la fréquence des cycles et le nombre d'individus augmentent la probabilité qu'un changement avantageux devienne prédominant au sein d'une population bactérienne. Que ce soit par mutation ou par transfert de certains gènes mobilisables pour répondre à des défis adaptatifs, (stress oxydatif, présence de métaux lourds ou d'antibiotique...), la réponse individuelle d'une cellule bactérienne est capable de diffuser dans la communauté microbienne si celle-ci apporte un avantage (21). Les gènes de résistance aux antibiotiques évoluent ainsi pour certains d'entre eux depuis des millions d'années chez leurs hôtes bactériens (22,23). Cette période de macro-évolution correspond à une longue diversification des écosystèmes au travers de nombreuses duplications et mutations, relayée essentiellement par des transferts verticaux. Il existe chez la plupart des bactéries, un vaste réseau de réparation de l'ADN appelé système SOS, basé sur la détection d'une quantité trop importante d'ADN simple brin dans le corps cellulaire (24). L'activation des systèmes SOS a favorisé au fil du temps la plasticité du génome bactérien et sa réactivité au stress, permettant à la bactérie de survivre dans un environnement hostile. La résistance à la ciprofloxacine et à la rifampicine sont deux exemples de mutation causées par l'induction de système SOS en réponse à des erreurs liées à la polymérase (24).

L'ère d'utilisation des antibiotiques correspond quant à elle, à une microévolution conduite pendant 70 ans, et qui a exercé une énorme pression de sélection sur différents écosystèmes. Ce processus a été très rapide à l'échelle de l'évolution et largement relayé par des transferts horizontaux médiés par des éléments génétiques mobiles (plasmides,

transposons, intégrons) (22). L'agressivité, l'intensivité et la persistance de la pression de sélection antibiotique sur la communauté microbienne ont généré des réponses adaptatives à ce stress. Dans ce contexte, toute nouvelle molécule issue de l'industrie pharmaceutique, est condamnée à rencontrer une souche bactérienne résistante à cette molécule. Contrairement à ce que l'on a cru au début, ce postulat s'est même vérifié avec les molécules non isolées d'une source vivante mais uniquement conceptualisées par l'industrie chimique ; la résistance aux fluoro-quinolones en est un bon exemple. En fait, la résistance bactérienne aux antibiotiques n'est que le révélateur de la présence de mécanismes de résistance, dont l'existence est très antérieure à leur observation ; la résistance a précédé l'antibiothérapie et a été mise en évidence par la pression de sélection (23,25).

4.1.4 Explosion des résistances ces dernières années

En première approche, il est possible de définir schématiquement trois niveaux de résistance aux antibiotiques. Le premier, que l'on pourrait qualifier de génotypique ou d'épidémiologique, concerne la présence chez une bactérie, d'un gène de résistance dont l'expression peut être muette ou modérée (céphalosporinase naturelle d'*E. coli* par exemple). Sa présence, qui peut être révélée par des techniques de biologie moléculaire mais demeurer invisible sur un antibiogramme, peut par exemple correspondre à une mutation dans un gène codant pour une protéine fonctionnelle de la bactérie (transpeptidase, topoisomérase...). Cette mutation diminue l'affinité de l'antibiotique pour sa cible protéique, diminuant d'autant la sensibilité de la souche bactérienne à la molécule, mais en restant dans les limites des concentrations minimales inhibitrices (CMI) définies par les sociétés savantes (Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM), European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)). C'est le cas par exemple de certaines mutations observées pour les gènes *gyrA* et *parC* codant respectivement pour une gyrase et une topo isomérase, et conduisant à des niveaux variables de résistance aux fluoroquinolones (26). Le deuxième niveau, que l'on peut qualifier de phénotypique ou pharmacologique, concerne l'expression de la résistance à un niveau de CMI supérieur aux valeurs limites définies par les sociétés savantes, chez des souches obtenues *in vitro* au laboratoire, ou isolées de prélèvements de dépistage chez des patients asymptomatiques. Les prélèvements de dépistage, contrairement aux prélèvements à visée diagnostique, ne sont pas collectés lors d'une suspicion d'infection, mais uniquement à finalité de détection d'une souche bactérienne épidémique ou multi-résistante aux antibiotiques. Enfin, le dernier niveau concerne des souches cliniques résistantes isolées de

prélèvements à visée diagnostique lors d'épisode infectieux. La résistance bactérienne est souvent discrète au début, et, une fois détectée, apparaît préférentiellement dans les prélèvements de dépistage, puis, la diffusion aidant, explose chez les souches cliniques.

L'explosion de la résistance bactérienne observée ces dernières années est multifactorielle. Elle allie plusieurs mésusages des antibiotiques : hyperconsommation antibiotique communautaire (consommation extrahospitalière), usage inapproprié des anti-infectieux en ville comme à l'hôpital, mauvais respect des posologies par les patients, et utilisation hyper intensive des antibiotiques chez les animaux d'élevage (facteurs de croissance, prévention des infections...). De plus, les centrales de traitement des eaux usées n'intègrent pas de système de rétention des antibiotiques, ce qui maintient la présence d'antibiotiques dans les effluents à des concentrations faibles, proches des valeurs de CMI, constituant de ce fait des doses sub-inhibitrices favorables à la sélection de souches résistantes. Enfin, la transmission interhumaine des souches bactériennes résistantes *via* la concentration urbaine, et la transmission manu portée inter-patient à l'hôpital *via* les équipes soignantes (non-respect des précautions standards d'hygiène hospitalière), ainsi que la transmission directe *via* des actes invasifs (pose de cathéter, installation d'un matériel de ventilation...) participent également à l'augmentation continue de la prévalence des souches résistantes. A tous ces facteurs concernant les sociétés ayant un système sanitaire élaboré, on peut également ajouter des facteurs plus communément rencontrés dans les pays disposant de moins de contrôle sur le circuit de production/diffusion des médicaments. Ces pays sont confrontés à plusieurs problèmes qui coexistent : prolifération de faux antibiotiques dont le principe actif est sous-dosé, difficulté d'accès au traitement, durée thérapeutique inadaptée... Autre point, lorsqu'un type de résistance devient endémique dans un pays, la mondialisation des échanges (voyages commerciaux, tourisme, échange de marchandises...) conduit à la diffusion rapide des résistances à travers la planète. La dissémination planétaire rapide des carbapénèmases de type NDM, à partir du foyer primitif indien (New-Delhi) en est un bon exemple (27). Dernier facteur de diffusion, les échanges de matériel génétique inter-espèces (plasmide, intégrons, transposons) permettent le transfert de gène de résistance à partir d'espèce préférentiellement nosocomiale vers des espèces communautaires très largement répandues (*Klebsiella pneumoniae* vers *E. coli* par exemple). Ces transferts de matériel génétique, principalement médiés par trois mécanismes d'échange (conjugaison, transformation et transduction), peuvent avoir lieu dans l'eau, le sol, le tractus digestif humain et animal, la nourriture...

L'augmentation de la résistance aux carbapénèmes chez les Entérobactéries est un bon exemple qui réunit de nombreux critères précités (28). Cette classe de molécules fut introduite en thérapeutique au début des années 80 et la résistance ne fut pas publiée avant 2001, date à

laquelle fut décrite la première souche de *K. pneumoniae* résistante aux carbapénèmes (KPC) aux Etats-Unis. En 2006-2007, une étude sur 463 hôpitaux américains montrait déjà une prévalence de KPC de 10% sur l'ensemble des souches de *K. pneumoniae*. Et à partir de 2005, plusieurs épidémies étaient décrites en Grèce, Israël et Italie. Ce succès rapide a reposé sur la diffusion du gène de résistance *bla*_{KPC} chez un clone prédominant, le ST-258, qu'on retrouvera dans les différentes épidémies. A contrario, ce gène *bla*_{KPC} sera par la suite retrouvé chez *E. coli*, non pas dans un clone prédominant, mais dans de multiples clones de cette espèce. Le transfert de ce gène chez *E. coli* contribuera à sa diffusion massive dans la population (28). Une propagation similaire avec les enzymes VIM, NDM, et OXA48 a été décrite, diversifiant et amplifiant la résistance aux carbapénèmes à travers le monde (27,28). Ces enzymes, qui appartiennent à des classes biochimiques différentes (carbapénémase du groupe A pour KPC, carbapénémase du groupe D pour OXA-48, et métallo-carbapénémase pour VIM et NDM), confèrent des niveaux de résistance et des spectres d'activité différents (CMI variables aux différents carbapénèmes selon l'enzyme impliquée).

D'autres facteurs participent à la croissance exponentielle de la résistance. L'industrie agro-alimentaire utilise des équipements générateurs de biofilms bactériens, constitués de bactéries agrégées à une surface via une matrice polymérique hydratée produite par les bactéries elles même, la surface pouvant être de nature biologique (cellules d'une muqueuse) ou inerte (tuyau, plancher, équipement divers...) (29). Le biofilm, qui associe forte densité bactérienne et diversité d'espèces est un lieu idéal pour échanger du matériel génétique, notamment des gènes de résistance (30). Les biofilms sont très difficiles à éradiquer et relâchent régulièrement des unités bactériennes dans l'environnement, ce qui permet la contamination des aliments par des micro-organismes résistants. Enfin, certains auteurs ont établi une relation entre utilisation d'antiseptiques comme les ammoniums quaternaires et la résistance à certains antibiotiques par des mécanismes de résistance croisée (30).

4.1.5 Une industrie pharmaceutique moins investie dans la recherche d'anti infectieux

Pendant de nombreuses années, l'émergence de la résistance bactérienne aux antibiotiques a été compensée par une mise sur le marché continue de nouvelles molécules. On compte aujourd'hui une centaine d'antibiotiques répartis en 18 familles d'importance diverse. La grande majorité d'entre elles fut découverte avant 1962, et les innovations postérieures consistèrent principalement en des modifications chimiques de molécules préexistantes (31). C'est ainsi que parmi la classe des bêta-lactamines, de nouvelles générations de molécules apparurent au fil des ans : pénicillines G, puis A, puis M, puis

carboxypénicillines, et enfin uréidopénicillines ; céphalosporines de 1^{ère} puis 2^{ème} puis 3^{ème} génération, enfin carbapénèmes... De 1980 à 1999, la Food and Drug Administration (FDA), organisme américain validant la mise sur le marché des nouveaux médicaments, a approuvé 51 nouvelles molécules dont 32 appartenaient à la classe des bêta-lactamines et neuf à celle des quinolones (31).

Puis, progressivement, la mise sur le marché de nouvelles molécules s'est ralentie. Le nombre moyen d'antibiotiques approuvés par la FDA chaque année, a diminué de 2,9 dans les années 60 à 2,2 dans les années 90, puis 1,6 depuis les années 2000 (31). En 50 ans de recherche sur les antibiotiques, les cibles antibactériennes les plus évidentes ont été trouvées, conduisant à une augmentation des coûts pour l'industrie pharmaceutique pour trouver de nouvelles cibles. Le développement de nouvelles molécules pour les bactéries à Gram négatif est particulièrement difficile, en raison de trois mécanismes majeurs de résistance : i) une faible perméabilité de la membrane externe liée à la présence de porines, canaux servant aux échanges moléculaires entre milieux intra- et extracellulaires, et particulièrement sélectives sur les molécules autorisées à pénétrer le corps bactérien (taille, charge...), ii) des systèmes complexes et variés d'efflux excréant l'antibiotique si celui-ci a réussi à passer la barrière des porines, iii) une grande variété d'enzymes capables d'hydrolyser les antibiotiques présents dans la bactérie. En conséquence, les industriels privilégient aujourd'hui le développement de médicaments concernant des pathologies comme le cancer, ou les maladies cardiovasculaires, le retour sur investissement étant supérieur par rapport aux anti-infectieux (31). Les sociétés pharmaceutiques n'étant pas des entreprises philanthropiques, elles ont vite compris que le traitement d'une infection bactérienne (d'une durée moyenne d'une semaine) était bien moins rentable que le traitement des maladies chroniques comme le diabète, qui s'étale sur des décennies et qui concerne principalement des patients occidentaux solvables. La continuelle course entre le développement d'une nouvelle molécule et l'apparition de la résistance n'est, elle non plus, pas étrangère au désinvestissement industriel dans ce domaine, car la longévité du marché lié à cette molécule s'avère aléatoire. Enfin, il existe une contradiction entre l'intérêt écologique à réduire la consommation d'antibiotiques pour limiter la résistance, et la demande faite à l'industrie de produire de nouvelles molécules dont on annonce dès maintenant qu'on les utilisera avec parcimonie. Un nouveau système est donc à inventer pour satisfaire l'industriel qui doit produire en dégageant un bénéfice, le décideur qui est comptable des deniers publics, le médecin qui doit traiter le patient, et le patient qui souhaite un traitement adapté sans un reste à charge à sortir de son porte-monnaie.

4.1.6 La réaction des sociétés savantes

L'augmentation de la résistance bactérienne, cumulée au tarissement de la source en nouveaux antibiotiques, a obligé la communauté médicale à réagir. Les scientifiques ont saisi rapidement que l'âge d'or de l'antibiothérapie n'allait pas durer éternellement et que les jours sombres d'un monde sans traitement efficace contre certaines pathologies bactériennes pouvaient revenir (32). En 2013, l'US Center for Disease Control and Prevention (CDC) déclarait que l'humanité était entrée dans une ère post-antibiotique et en 2014, l'organisation mondiale de la santé (OMS) notait que la crise antibiotique était terrible (21). D'autres organisations comme la société Américaine des Maladies infectieuses (Infectious Diseases Society of America), the European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), et la World Alliance Against Antibiotic Resistance sont mobilisées depuis plusieurs années pour renforcer la recherche sur les anti-infectieux, lutter contre le mésusage des antibiotiques, notamment leur surutilisation dans l'élevage, et mettre en place des politiques efficaces de surveillance, de prévention et de contrôle (33–35).

Si un sujet fait consensus parmi la communauté scientifique, c'est celui de la limitation de la pression de sélection *via* une politique de bon usage des antibiotiques (communautaire et hospitalière) et de la maîtrise de la diffusion des souches multi-résistantes *via* une politique proactive d'hygiène (maîtrise de la transmission manu portée inter-patients, bon usage des matériels invasifs de type cathéter, fibroscope..., désinfections des surfaces...). A ces deux points essentiels, s'ajoute la vaccination, qui, par exemple, permet de limiter la diffusion des sérotypes résistants de pneumocoques (36), pour finaliser une politique globale de santé publique permettant une maîtrise optimale du risque infectieux à l'hôpital. En France, les recommandations de 2010 concernant la vaccination des bébés par le PVC13 a conduit à réduire la proportion de souches de sensibilité diminuée à la pénicilline de 47.1% à 39% (36)

Les infections liées aux BMR sont aujourd'hui considérées comme un problème majeur de santé publique par l'ensemble de la communauté scientifique internationale.

4.2 Pression de sélection : pourquoi le bon usage des antibiotiques

4.2.1 Relation entre consommation et antibio-résistance

La mise sur le marché des antibiotiques a eu un effet immédiat sur la morbidité et la mortalité des infections bactériennes, en particulier pour les patients présentant une immunocompétence limitée (nourrisson, personnes âgées), et a sauvé des millions de vies (23). Le XXe siècle a été le témoin d'une transition épidémiologique majeure ; en 1900, plus de la moitié des décès est imputable à une cause infectieuse : pneumonies, grippe, tuberculose, infections gastro-intestinales, diphtérie..., alors que le taux de mortalité en lien avec une infection est de 2,6% en 2010 (37). L'efficacité des traitements conjuguée au lobbying des laboratoires pharmaceutiques auprès du corps médical, des universitaires, des politiques..., a, *in fine*, généré un engouement fort et rapide pour cette thérapeutique qui ne s'est jamais démenti. Aussi, même si très tôt certains recommandent une utilisation parcimonieuse des antibiotiques dans le but de préserver leur efficacité (Barber dès 1961, la trithérapie antituberculeuse dès les années 50...), le concept de préservation va mettre longtemps à diffuser chez l'ensemble des médecins. L'apparition régulière de nouvelles molécules pendant les premières décennies de l'antibiothérapie de masse et la puissance marketing de l'industrie pharmaceutique, n'ont pas aidé à la diffusion des bonnes pratiques en antibiothérapie. Il faudra que la multi-résistance explose suffisamment aux yeux de tous et qu'elle devienne un enjeu mondial pour que la sensibilisation à cette thématique puisse enfin trouver sa place.

Le lien entre consommation d'antibiotiques et résistance bactérienne a été établi par de nombreuses études (21,23,37,38). Pourtant, malgré la mise en place de campagnes de sensibilisation et la mise à disposition de guides de bon usage des antibiotiques, la consommation continue à augmenter en Europe (34,39,41). Les dernières données disponibles sur le site de l'ECDC font état d'une augmentation significative de consommation de 20,9 à 22,4 Doses Définies Journalières par jour et pour 1000 habitants (DDJ/1000H) entre 2009 et 2013 (41) (voir chapitre 4.2.4, indicateurs de suivi). En France, les indicateurs de consommation sont parmi les plus élevés d'Europe. Entre 1980 et 1991, une étude faisait état d'une augmentation de 48,5% de la consommation, 17% de la population ayant utilisé au moins une fois un antibiotique pendant les trois mois d'étude en 1980 contre 25% pour la même période en 1991, correspondant à une croissance annuelle de 3,7% par an (42). Le rapport établi en 2014 par l'Agence Nationale de Sécurité des Médicaments et produits de santé (ANSM) du suivi de consommation entre 2000 et 2013 montre une baisse globale de 10,7%, mais marquée par une période de baisse importante entre 2000 et 2004 (-18,9%) (que

l'on peut rapprocher de la campagne « les antibiotiques, c'est pas automatique »), puis une période relativement stable entre 2004 et 2010, et enfin une tendance à la hausse de 5,9% entre 2010 et 2013 (43). En 2013, l'utilisation communautaire des antibiotiques en France se situe largement au-dessus de la moyenne européenne et très loin de celle des Pays-Bas, champions de la maîtrise de la consommation (respectivement 30,1, 22,4, et 10,8 DDJ/1000H) (41). Les taux de résistance sont également moins élevés aux Pays-Bas qu'en France (44).

Pour le Professeur Benoit Schlemmer, responsable de la campagne "les antibiotiques, c'est pas automatique", l'hyper prescription française proviendrait de problèmes sociologiques (45). En effet, la rétribution des médecins généralistes dépendant du nombre de patients reçus, il est plus rapide de prescrire un antibiotique que d'expliquer au patient son inutilité. De plus, le médecin ne souhaite pas prendre le risque de voir revenir le patient trois jours plus tard parce que les symptômes se sont aggravés. De même, ne pas traiter un patient aux antibiotiques risque de le faire consulter un autre médecin plus conciliant. Des efforts de sensibilisation auprès de la population restent encore à faire.

Si la quantité d'antibiotiques utilisée est trop forte, la consommation d'antibiotiques pose également un problème de qualité de prescription. Encore trop d'infections virales, notamment de la sphère ORL, conduisent à une antibiothérapie inutile. Des tests de diagnostic rapides qui ciblent les streptocoques du groupe A, bactéries responsables d'angines à risque de complication, sont disponibles pour la médecine de ville. Leur utilisation permettrait de ne traiter que les patients infectés par ces streptocoques, mais sont malheureusement trop rarement utilisés. Le plus souvent, le médecin prescrit par défaut un traitement antibiotique lors d'infections oropharyngées, à la fois pour soigner la pathologie dont il ignore l'agent causal, mais bien souvent pour éviter une surinfection si l'étiologie est virale. La compliance des patients au traitement est également source de mésusage. Le réflexe d'arrêter l'antibiothérapie dès l'atténuation ou la disparition des symptômes, alors que le système immunitaire n'a pas encore éliminé la totalité de la population bactérienne infectante, peut conduire à la sélection de la sous-population résistante à l'antibiotique utilisé. De même, les bêta-lactamines ayant une demi-vie courte, le non-respect par le patient des trois prises par jour d'amoxicilline conduit à un sous-dosage plasmatique d'antibiotique circulant, et peut être à l'origine de la sélection de souches résistantes. Enfin, l'utilisation d'un antibiotique à large spectre alors qu'un spectre étroit est suffisant, est également à l'origine de mésusage de masse dans la prescription communautaire. Les fluoroquinolones sont par exemple trop souvent prescrites en première intention, alors qu'il est recommandé d'utiliser de la fosfomycine-trometamol pour les infections urinaires basses non compliquées.

L'antibiotique est un médicament original car, contrairement aux autres, son action n'est pas strictement individuelle, et ne cible pas uniquement le germe en cause, mais a une action plus générale sur le microbiote. L'hypotenseur prescrit chez un patient souffrant d'hypertension artérielle, n'agit que chez lui. En revanche, l'amoxicilline/acide clavulanique prescrit au même patient, va se conduire comme un sélecteur de souches résistantes au sein de ses flores commensales (oro-pharyngée, digestive, cutanée). Les souches résistantes sélectionnées chez le patient peuvent alors diffuser chez d'autres personnes *via* différents mécanismes de transmission : transmission inter-patients aérienne directe par l'émission de microgouttelettes ou par contact labial (bactéries de la sphère ORL), transmission directe manu-portée ou indirecte par les objets touchés/échangés (flore cutanée), contamination des bactéries résistantes de la flore digestive *via* l'élimination des eaux usées dans l'environnement, ingérés par des animaux, puis consommés en bout de chaîne par tout un chacun. De ce fait, tout traitement antibiotique prescrit individuellement, est potentiellement sélecteur et source de diffusion de la résistance bactérienne au sein de la collectivité. Cette dimension écologique est trop rarement prise en compte par les médecins (les étudiants en médecine ont peu de cours sur cette thématique lors de leur cursus), et reste malheureusement aujourd'hui trop souvent une affaire de spécialistes (infectiologues, hygiénistes, bactériologistes...)

4.2.2 Antibiotiques et chaîne alimentaire

La surutilisation des antibiotiques dans l'alimentation des animaux d'élevage, pour prévenir les maladies, les traiter, et comme facteur de croissance, a, elle aussi, fortement contribué à la diffusion de la résistance (30,46). Ce problème, qui n'est pas récent puisque dès les années 50, il était démontré que des doses sub-thérapeutiques d'antibiotiques augmentaient le ratio nourriture/poids, concerne toutes les espèces d'élevage, du bovin aux volailles, et inclut également l'aquaculture. Aux Etats-Unis, 80% de la consommation totale des antibiotiques est liée à une utilisation chez l'animal (23). L'antibiotique administré à l'animal est un sélecteur de souches résistantes au niveau de son tractus digestif, souches qui contaminent les carcasses d'animaux dédiées à l'alimentation humaine (30,46,47). Le lien entre l'utilisation intensive de l'avoparcine (antibiotique de la famille des glycopeptides) dans les élevages, et la colonisation des fermiers à *Entérocoques* résistants aux glycopeptides (ERG), puis l'augmentation de la prévalence globale des ERG dans la population, a été fort bien démontré (30,46–49).

D'autres antibiothérapies systématiques chez l'animal ont eu des résultats similaires, et conduit à la sélection d'autres BMR, comme les souches de *E. coli* porteuses de BLSE retrouvées dans la volaille (30).

Les excréments d'animaux chargés d'antibiotiques viennent également enrichir le sol en molécules, qui iront se déverser dans les rivières puis dans la mer. Au final, des poissons sauvages hébergent des souches bactériennes, qui, habituellement sensibles aux antibiotiques, sont porteuses de marqueurs de résistance (50). Ce cycle « antibiothérapie/élimination-digestive/contamination environnementale des eaux », est également source de pollution des plantes *via* les eaux d'irrigation souillées. Ces plantes, contaminées à la fois par des antibiotiques mais également par des bactéries résistantes et/ou des gènes de résistance, viendront par la suite nourrir les animaux d'élevage, et participeront à la sélection et à la transmission de la résistance (30).

Comme en santé humaine, un plan d'action (EcoAntibio 2012-2017) a été mis en place en France pour « un usage prudent et raisonné » des antibiotiques en médecine vétérinaire (51). Ce plan inclut des objectifs quantitatifs comme la réduction de 25% de l'usage des antibiotiques sur la période, et qualitatifs pour la réduction des antibiotiques d'importance critique tels que les fluoroquinolones et les céphalosporines de 3e et 4e génération. Il mobilise les éleveurs des différentes filières, les vétérinaires et les pharmaciens, les scientifiques et les évaluateurs du risque, l'industrie pharmaceutique, les pouvoirs publics, et le public, c'est à dire tous les propriétaires d'animaux.

Une autre utilisation des antibiotiques concerne l'industrie agro-alimentaire, en particulier la branche utilisant des micro-organismes nécessaires à la fermentation (yaourt, charcuterie, fromage...) (30). Les espèces appartenant aux genres *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* et *Pediococcus* sont largement utilisées par les industriels pour leurs propriétés fermentaires, mais également comme flore de barrière pour inhiber la prolifération d'autres espèces bactériennes. Ces espèces sécrètent des acides et des bactériocines dont l'activité antibactérienne est efficace contre des pathogènes comme *Listeria monocytogenes*. D'autres espèces sont utilisées pour leurs propriétés probiotiques comme *Bifidobacterium*. Toutes ces bactéries sont des vecteurs potentiels de diffusion de la résistance bactérienne, soit par des mécanismes naturels intrinsèques (résistance à la vancomycine chez *Leuconostoc* et *Pediococcus*) soit *via* le portage de plasmides hébergeant des gènes de résistance transférables (tétracycline, érythromycine...).

4.2.3 Recommandations officielles

En France, la consommation hospitalière d'antibiotiques est 14 fois moins élevée que la consommation communautaire. En revanche, la prévalence des patients sous antibiothérapie est bien plus élevée à l'hôpital qu'en ville. En 2013, un jour donné, plus de 4 patients sur 10 hospitalisés ont reçu au moins une dose d'antibiotique (43). Aussi, la Haute Autorité de Santé (HAS) a publié un guide de recommandations sur le bon usage des antibiotiques à l'hôpital : « Stratégie d'antibiothérapie et prévention des résistances bactériennes en établissement de santé » (52). La dernière version, qui date de 2008, correspond à la mise à jour des recommandations émises en 1997. Dans celles-ci, il est précisé que la prescription des antibiotiques doit prendre en compte conjointement le traitement du patient pour sa pathologie infectieuse, mais également l'effet du traitement sur l'écologie bactérienne et donc sur la collectivité. Le but recherché est de limiter l'émergence et la diffusion des résistances afin de préserver l'activité des antibiotiques. L'action est ciblée sur la normalisation des processus de prescription, la rédaction de protocoles d'antibiothérapie adaptés aux différents types d'infection, et l'utilisation de systèmes informatiques permettant de tracer, de surveiller, et d'analyser les consommations.

Il est donc recommandé de :

- Réserver l'antibiothérapie aux infections dont l'origine bactérienne est documentée ou probable
- Respecter les posologies et les modalités d'administration adaptées aux antibiotiques et à la pathologie du patient
- Eviter le sous-dosage des antibiotiques responsable d'échec thérapeutique
- A efficacité comparable, préférer l'antibiotique dont le spectre est le plus étroit
- Ne pas dépasser une semaine de traitement pour la plupart des antibiothérapies curatives
- Si possible, envisager la désescalade thérapeutique voire un arrêt du traitement.

Ces recommandations visent à limiter la quantité d'antibiotique qui, s'ils traitent le patient, sélectionnent aussi les résistances. Les leviers concernent donc la dose d'antibiotique qui doit correspondre à la plus faible quantité active, la durée de traitement qui doit être la plus courte possible, et le spectre de l'antibiotique qui doit être le plus étroit. Un antibiotique à large spectre agira sur la bactérie causale de l'infection mais se conduira comme un sélecteur efficace de souches résistantes pour un grand nombre d'espèces bactériennes. C'est pourquoi la réévaluation du traitement antibiotique entre 24 et 72 heures est un point crucial de l'antibiothérapie. L'apport des données issues du laboratoire de Microbiologie permet de

réviser celle-ci en fonction de la mise en évidence (ou pas) de bactéries attestant de la nature bactérienne de l'infection, et de l'antibiogramme qui permet (ou pas) une désescalade thérapeutique par l'utilisation d'antibiotiques à spectre plus étroit que ceux initiés lors de l'antibiothérapie probabiliste. Durant cette période, l'analyse de l'évolution clinique du patient permet également d'évaluer la pertinence du traitement.

Le bon usage des anti-infectieux implique de nombreux acteurs hospitaliers et impose une organisation transversale tournant principalement autour du laboratoire de microbiologie, de la pharmacie, des services cliniques, et des organisations institutionnelles : COMAI, CLIN, et EOHH. Seule une coordination étroite entre l'ensemble de ces acteurs permet d'obtenir une politique de bon usage des antibiotiques cohérente et synergique : circulation de l'information entre le laboratoire de microbiologie et les cliniciens (résultats d'antibiogrammes), relais dans les services de soins *via* des interlocuteurs au fait des protocoles thérapeutiques recommandés par la COMAI, prise en compte des données de résistance bactérienne fournies par la bactériologie pour l'établissement des recommandations de la COMAI et de celles de l'EOHH, consommations des anti-infectieux fournies par la pharmacie permettant à la COMAI de disposer d'indicateurs de suivi... Souvent, les mêmes médecins intègrent plusieurs instances (CLIN et COMAI par exemple), donnant une cohérence aux décisions prises dans chaque commission.

La COMAI coordonne les actions relatives au bon usage des antibiotiques, à savoir :

- Valider la liste des antibiotiques utilisables dans l'hôpital et la réactualiser au moins une fois par an
- Etablir la liste des antibiotiques à distribution contrôlée et proposer les modalités de cette distribution (par exemple de n'autoriser la prescription de fluoroquinolones, qu'après validation du référent en anti-infectieux)
- Rédiger, valider et diffuser les protocoles d'antibiothérapie reposant sur les recommandations issues des conférences de consensus émises par les sociétés savantes et les données épidémiologiques locales de microbiologie
- Coordonner la diffusion régulière des informations relatives à la consommation des antibiotiques en regard de la nature des activités médicales et des résistances bactériennes.

Sont également définis dans ces recommandations, les rôles du référent en antibiotiques à l'hôpital, du laboratoire de bactériologie et de la pharmacie. Le référent est un praticien dédié au conseil et à la formation en antibiothérapie. Cet interlocuteur central du bon usage des antibiotiques doit avoir une expertise et une pédagogie élevées, pour que ses conseils soient acceptés par la communauté médicale. La pharmacie exerce son rôle dans la

dispensation des anti-infectieux, dans le contrôle de la validité des prescriptions (nom du prescripteur, conformité de la prescription avec les recommandations de la COMAI...), et la traçabilité des prescriptions en vue de l'établissement d'indicateurs de suivi (consommation des anti-infectieux).

4.2.4 Indicateurs de suivi : JTE/1000j, ICATB

Pour évaluer la consommation d'antibiotique, et la comparer entre pays, régions, établissements de santé, services de soins..., il a été nécessaire de quantifier cette consommation à l'aide d'indicateurs numériques, l'indicateur idéal devant être pertinent, fiable, reproductible, modérément difficile à obtenir, et pouvant servir d'évaluateur des pratiques professionnelles. Aussi, afin de normaliser la quantité d'antibiotiques prescrits, des unités standards ont été définies. L'unité de référence est la Dose Définie Journalière (DDJ), qui correspond à une posologie de référence pour un adulte de 70kg dans l'indication principale de chaque molécule. Cette dose moyenne, définie par l'OMS, ne reflète pas nécessairement la posologie recommandée par l'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) ni la posologie effective : elle constitue un étalon de mesure. Rapporter la consommation des antibiotiques en DDJ élimine ainsi les difficultés de mesure liées à l'hétérogénéité des tailles de conditionnement et de dosage des médicaments commercialisés. Pour tenir compte des différences de population d'une ville, région, ou pays à l'autre, le nombre de DDJ est divisé par le nombre total d'habitants (enfants compris) de chaque unité de population mesurée. Par convention, les résultats sont présentés pour la consommation ambulatoire par 1000 habitants et par jour (DDJ/1000H/J). De même, afin de tenir compte des variations de l'activité des établissements, la consommation hospitalière est rapportée à 1000 journées-patients hospitalisés plus de 24h.

Cet indicateur doit être analysé avec discernement. La comparaison de consommation entre différents services d'un même établissement a peu de pertinence, le recrutement des patients s'effectuant sur des pathologies différentes ; il est déraisonnable de comparer la consommation d'un service de réanimation (service n°2 > 2000 JTE/1000j, voir Figure 2 page suivante) et celle d'un service de médecine (service n°1 <500 JTE/1000j, voir Figure 2 page suivante).

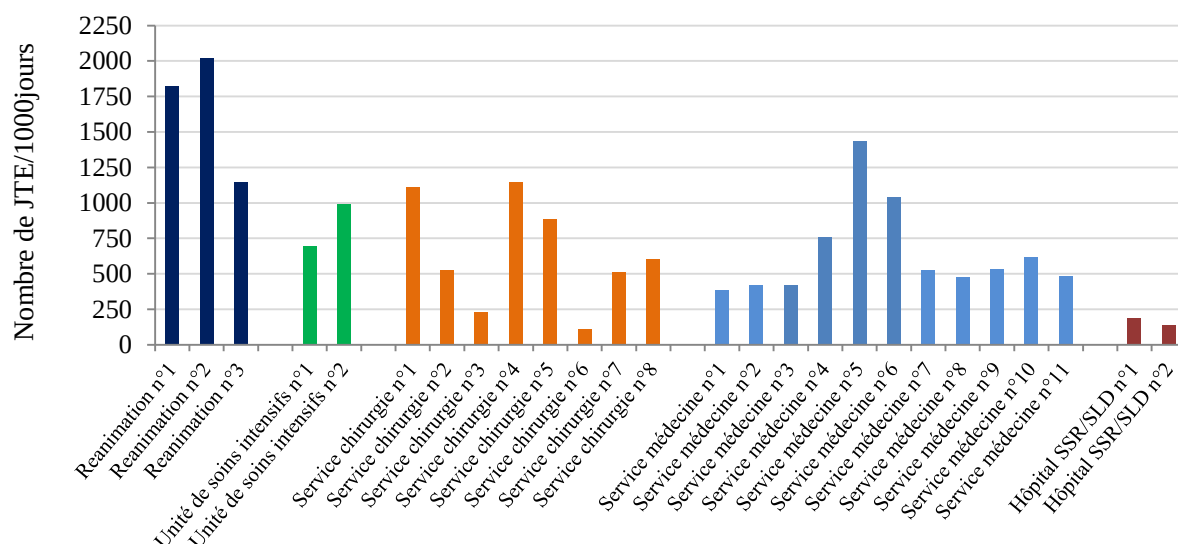


Figure 2. Distribution de la consommation d'antibiotiques en 2016, dans les différents services de l'HEGP, exprimée en JTE/1000j. (Source : rapport annuel « Surveillance 2001-2016 de la résistance bactérienne aux antibiotiques, GHU-Paris-Ouest, P. Grohs, juillet 2017)

De même, la comparaison entre deux services de médecine dont le recrutement de l'un serait principalement basé sur des patients séropositifs avec infections multiples, quand l'autre prendrait en charge des patients peu infectés n'a pas de sens. A contrario, le suivi du même indicateur pour le même établissement ou la même spécialité est intéressant d'une année sur l'autre, si tant est que le recrutement de l'hôpital n'ait pas varié (Figure 3).

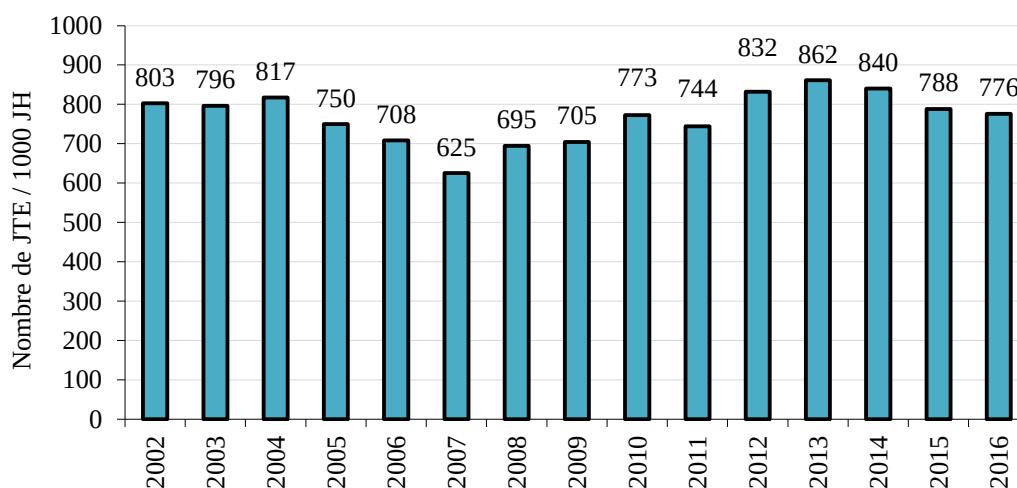


Figure 3. Consommation globale des antibiotiques à l'HEGP de 2002 à 2016, à l'exception des consommations provenant des consultations et des hospitalisations de jour (Source : rapport annuel « Surveillance 2001-2016 de la résistance bactérienne aux antibiotiques, GHU-Paris-Ouest, P. Grohs, juillet 2017)

Dans le même ordre d'idée, l'analyse de consommation par molécule permet de dégager des informations sur les pratiques des prescripteurs, et de mettre en place une politique d'information à visée corrective. Par exemple, communiquer sur les consommations respectives d'amoxicilline et d'amoxicilline/acide clavulanique permet de sensibiliser les prescripteurs sur l'utilité de privilégier, autant que faire se peut, l'emploi de l'amoxicilline, son spectre plus étroit étant moins sélecteur de BMR.

La consommation en JTE/1000j est un indicateur factuel, donnant une photographie de la consommation des antibiotiques à un instant « t ». Il ne rend pas compte de la politique locale mise en place au niveau d'un établissement. En revanche, l'ICATB est un indicateur composite intégrant plusieurs indicateurs de moyens (présence d'un référent en antibiotique, suivi de la consommation, prescription informatisée...) dont l'importance respective de chaque indicateur est pondérée par un nombre de points entre 0,5 et 4. Au final, l'ICATB donne une note sur 20, puis est stratifié en 4 scores (A, B, C, D) qui dépend de la note et de la nature de l'établissement (CHU, SSR-SLD, taille de l'établissement en nombres de lits...), l'objectif à atteindre étant d'être classé en A et de poursuivre et renforcer sa politique permanente d'amélioration de la qualité.

4.3 Hygiène hospitalière : prévention du risque infectieux

4.3.1 Histoire de l'hygiène : l'autre révolution de l'infectieux

Les antibiotiques ont sauvé des millions de vie depuis leur introduction en médecine humaine. Pour autant, le recul des grandes épidémies est également dû à la vaccination, mais surtout à l'amélioration des conditions d'hygiène dans la vie courante. Par la suite, des mesures spécifiquement hospitalières seront établies.

La racine étymologique du mot hygiène provient des termes grecs *hugieia* (santé) et *hugies* (vigoureux, bien portant). Le monde antique gréco-romain apparaît comme le premier à effectuer des travaux d'assainissement urbain de grande ampleur : canalisations de l'eau potable, aqueducs, thermes, latrines publiques, montrent que le péril lié aux eaux usées est déjà conscientisé à cette époque. L'assèchement des marais et l'inhumation des morts en dehors des villes (tombeaux de la Via Apia) vont également dans le même sens. Malheureusement, le Moyen âge ne poursuivra pas les travaux de salubrité initiés par les civilisations antiques. Le plus souvent, les ordures s'entassent dans les rues, et les eaux usées sont jetées par la fenêtre. A Paris, la Seine sert à la fois de source d'eau potable et de poubelle dans laquelle on déverse tous les déchets, liquides comme solides. Comme on l'a vu plus haut, la renaissance sera source de progrès dans le domaine du savoir médical. Malheureusement, si Jérôme Fracastor suggère l'existence des *Seminaria Contagiosis*, il envisage également une pénétration de ces miasmes par les pores dilatés de la peau (6). En conséquence, la toilette à l'eau chaude se trouvera stigmatisée comme favorisant la transmission des maladies. Jusqu'au XXe siècle, coexisteront deux problèmes majeurs : l'absence d'hygiène individuelle et le manque de circuit d'évacuation des excréments. A cela s'ajoute la dénutrition qui favorise la virulence des bactéries pathogènes en limitant les défenses immunitaires des populations affamées. Les progrès enregistrés dans tous ces domaines conduiront à un recul régulier des maladies infectieuses bien avant l'introduction des antibiotiques et de la vaccination. La tuberculose et le choléra en sont deux exemples. Au XIXe siècle, Hermann Bremmer prouvera qu'en donnant une nourriture saine à des patients exposés à un air pur et frais, il était possible de guérir de la tuberculose (6). La création des sanatoriums découlera des publications de Bremmer. A la même époque, John Snow va démontrer la transmission hydrique du choléra lors de l'épidémie de Londres de 1854. Alors que le quartier alimenté en eau distribuée par la compagnie Southwark avait une incidence élevée de choléra, le quartier voisin dont l'eau était distribuée par la compagnie Lambeth avait la chance de ne déplorer aucun mort par cholera. John Snow va établir le lien entre eaux usées et infection, et, 30 ans

avant la découverte de *Vibrio Cholerae* par Koch, va poser les bases de l'investigation épidémiologique (6).

Concomitamment, à Vienne, Ignace Philippe Semmelweis va révolutionner l'hygiène hospitalière avec des concepts simples qui sont toujours d'actualité aujourd'hui. L'hôpital fait son apparition au Moyen âge, et la médecine, d'inspiration religieuse, est en premier lieu humanitaire et concerne principalement l'accueil des indigents. Elle va par la suite mélanger malades et pauvres avec une surpopulation conduisant à entasser plusieurs malades dans le même lit. L'Hôtel-Dieu à Paris, présente, à la veille de la révolution française, un taux de mortalité global de 25%, justifiant l'inscription à son entrée : "C'est ici la maison de Dieu et la porte du Ciel". Là encore, c'est le XIXe siècle qui amorce des changements radicaux, et l'hôpital passe du statut de centre d'hébergement à celui de centre de soins. Malheureusement, en cette première moitié du siècle, malgré les écrits de Spallanzani, la théorie de la génération spontanée et de la diffusion des miasmes par voie aérienne est encore prédominante. Une étude sur les infections hospitalières post-opératoires à Paris entre 1836 et 1841, affiche des résultats catastrophiques, puisque sur 852 amputés, 352 meurent des suites d'infection (53). La fièvre puerpérale post-partum affichait elle aussi un taux de mortalité très élevé. Dans l'hôpital de Vienne, Semmelweis constate des taux de mortalité allant de 3 à 10% selon les services (54). A l'instar de John Snow, son génie sera de chercher des causes à ces différences de taux, et il remarquera que l'ordre de passage des internes dans le sens "dissection post-mortem puis accouchement" conduit à un taux de mortalité bien plus élevé que la séquence inverse (accouchement puis dissection post-mortem). Comprenant que des "*particules cadavériques délétères*" adhéraient aux mains, il imposera alors un lavage minutieux des mains et des locaux au chlorure de calcium, et baissera ainsi le taux global de mortalité. L'hygiène des mains était née, et si aujourd'hui les solutions hydro-alcooliques (SHA) ont remplacé le chlorure de calcium, rien n'a changé sur les objectifs du lavage des mains : éviter le manu portage des bactéries.

Les idées de Semmelweis ne furent pas reconnues de son vivant, et il fallut attendre les travaux de Lister pour valider définitivement les principes d'asepsie et d'antisepsie. Là aussi, Lister a utilisé une méthode scientifique toujours d'actualité de nos jours, consistant à évaluer l'effet d'un changement de méthode, de matériel, de stratégie... avant et après sa mise en place. L'imposition de la désinfection des instruments opératoires, des mains des chirurgiens, et de l'air du bloc opératoire, associée à la mise en place de précautions particulières pour les soins post-opératoires, c'est-à-dire la désinfection des plaies à l'aide de pansements imbibés d'antiseptiques, fit passer le taux de mortalité des opérés de 45% à 15% (6). Par la suite, ces mesures, rapidement reconnues, deviendront universelles.

4.3.2 Précautions standard : l'hygiène des mains

On peut classer Didier Pittet dans la lignée des médecins responsables d'une avancée majeure de l'hygiène hospitalière. En 2000 il publie dans le Lancet la première étude attestant que l'introduction des SHA en remplacement du lavage à l'eau savonneuse aboutit à : i) une augmentation de la compliance (66% vs 48%) , ii) une diminution du taux d'infections nosocomiales (9,9% vs 16,9%), et iii) une diminution du taux de transmission de SARM (0,93 vs 2,16 épisodes pour 10 000 journées patients) (55). Comme toujours, une bonne idée, si géniale soit-elle, n'est rien si elle ne diffuse pas dans la population cible. Dans les années 70, les remarquables travaux de Walter Koller et Manfred Rotter sur l'efficacité des SHA pour la désinfection des mains rencontrent peu d'écho auprès des soignants. Le brevet de SHA innovante déposé par William Griffiths au nom des hôpitaux universitaires de Genève ne rencontre pas plus de succès. En revanche, Didier Pittet, en s'investissant pleinement dans la diffusion mondiale de ces idées, sera un acteur majeur de l'élaboration des recommandations de l'OMS (56), et sera source d'inspiration pour nombre d'hygiénistes.

Les recommandations nationales de 2009 sur l'hygiène des mains éditées par la Société Française d'Hygiène Hospitalière (SFHH), viennent compléter celles de 2002 et s'appuient sur celles de l'OMS (57). Dans ces recommandations, le lavage des mains au savon doux ou à l'antiseptique est remplacé par une friction hydro-alcoolique (FHA) en l'absence de souillure visible des mains. Il est noté que le savon lave les mains sales, et que la SHA les désinfecte. La FHA est obligatoire dans toutes les occurrences suivantes :

- avant tout contact avec un patient (contact direct, soin propre, acte invasif)
- entre un soin contaminant et un soin propre ou un acte invasif chez un même patient
- après le dernier contact (direct ou soin) auprès d'un patient
- après contact avec l'environnement immédiat du patient
- après tout contact avec des liquides biologiques après avoir retiré les gants (si pas d'usage de gants, après un lavage au savon doux)
- avant d'enfiler des gants pour un soin, et après leur retrait

La FHA est également fortement recommandée :

- dans tous les lieux où sont réalisés des soins (unités d'hospitalisation et d'hébergement, plateaux techniques, cabinets d'exercice de tous les professionnels de santé, à domicile ou substitut de domicile)
- pour tous les professionnels de santé, les prestataires internes et externes des structures d'hospitalisation ou d'hébergement, et les bénévoles ou autres

professionnels (aide-ménagère, auxiliaire de vie...) œuvrant à la prise en charge de patients dans une logique de soins (incluant visiteurs et famille)

- aux patients pris en charge dans une structure d'hospitalisation ou d'hébergement collectif avant d'accéder à une pièce commune (salle de restauration, salle de détente, plateau technique et salle de rééducation, salle de jeux...), et pour les gestes de la vie courante (passage aux toilettes...).

Ces recommandations intègrent aussi nombre de préconisations à destination des soignants pour limiter le portage et la transmission de germes, comme l'absence de bijou, le port de blouse à manches courtes, la technique requise pour effectuer une FHA efficace (geste, volume de SHA)

Un point clé de la compliance des personnels hospitaliers au respect des règles d'hygiène des mains, tient dans la capacité qu'à une institution hospitalière à développer une stratégie locale : i) d'implantation (logistique, ergonomie, formation des soignants...), ii) de communication (sensibilisation des professionnels et des familles, éditions de plaquettes pédagogiques, rétro-information des équipes sur leurs indicateurs et suite aux audits/études réalisées dans le service...), et iii) d'évaluation (audits de respect des procédures, évaluation des pratiques, indicateurs, tableaux de bord numériques...). Cette politique, fruit de la collaboration entre le CLIN et l'EOHH, doit elle-même être évaluée et réactualisée régulièrement.

4.3.3 Précautions complémentaires contact (PCC)

Le référentiel en cours émane de la SFHH, et reprend les modalités d'application des précautions standards, en y ajoutant des compléments d'information pour certains micro-organismes d'intérêt (2). Si les précautions « standards » sont applicables quel que soit le statut infectieux du patient, les précautions « particulières » sont définies en fonction de l'agent infectieux (réservoirs, modes de transmission, résistance dans l'environnement) et de l'infection (localisation et gravité) susceptible de toucher le patient. Elles font référence à un contexte d'émergence de souches de microorganismes résistantes aux antibiotiques ou particulièrement virulentes, développant des épidémies sur le territoire national. Au final, les PCC ont pour but de lutter contre la transmission croisée des agents infectieux lors des soins, majoritairement multi-résistants aux antibiotiques, mais également certaines bactéries sensibles aux antibiotiques dont le pouvoir pathogène est avéré et le risque épidémique élevé (*Clostridium difficile* toxinogène par exemple).

En fonction de l'écologie locale, il est laissé au CLIN de chaque hôpital, le soin de déterminer quelles BMR feront l'objet d'un suivi épidémiologique et d'une surveillance accrue (2). Pour autant, les souches de SARM, d'EBSE, et de BHR étant suivies au niveau national, leur surveillance est obligatoire dans chaque établissement. D'ailleurs, dans le cadre du dispositif national de surveillance des infections du site opératoire organisé par le Réseau d'Alerte, d'Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales (RAISIN), qui collige les infections post opératoires de 11 spécialités chirurgicales (orthopédique, digestive, urologique...), les taux de SARM, d'EBSE, et d'entérobactéries résistantes à l'imipénème (et non du taux d'EPC correspondant à l'indicateur national), sont suivis pour chaque spécialité (58).

Pour les BMR d'intérêt, il doit être défini :

- Un suivi de l'incidence incluant uniquement les prélèvements à visée diagnostique (prélèvements de dépistage exclus)
- Une stratégie de dépistage pour chaque type de BMR et adaptée à chaque secteur de soins, privilégiant les micro-organismes à fort potentiel de transmission croisée (SARM, EBSE) et non ceux sous la dépendance de la pression de sélection des antibiotiques (entérobactéries hyper productrices de céphalosporinases, et *Pseudomonas aeruginosa* multi-résistants).
- Un système d'alerte permettant le repérage précoce des patients porteurs
- Une signalisation des patients porteurs, ainsi qu'une communication au patient et à la famille des mesures à respecter induites par le portage et permettant d'éviter une transmission croisée
- L'application de mesures de précaution contact spécifiques ayant pour finalité un effet barrière sur la transmission croisée, incluant des recommandations (quand, où, comment) sur l'hygiène des mains, le port des gants, la protection de la tenue du soignant vis-à-vis des liquides biologiques du patient, et l'individualisation des dispositifs médicaux (matériels dédiés).
- L'hébergement en chambre individuelle, voire le regroupement des patients porteurs dans une même chambre. Dans un contexte épidémique, un regroupement sectoriel des patients porteurs, avec du personnel dédié (cohorting) afin de contourner les BMR dans un espace dédié plutôt que de les disperser sur l'ensemble de l'établissement.
- Une gestion rigoureuse (élimination pluriquotidienne) des excréta, déchets d'activité de soins à risque infectieux, et déchets assimilables aux ordures ménagères.

A toutes ces mesures spécifiques PCC, viennent s'ajouter un ensemble de réglementations sur le bio nettoyage des locaux hospitaliers afin de limiter la contamination environnementale. Le bio-nettoyage est un procédé destiné à réduire la contamination biologique des surfaces (norme NFX50-790) *via* un nettoyage, suivi de l'évacuation de la salissure et des produits utilisés, et de l'application d'un désinfectant. La désinfection des locaux hospitaliers a fait l'objet d'une disposition législative en août 2004 (article L 3114-1 du Code de la Santé Publique). Il appartient au CLIN de chaque établissement de santé d'établir et de valider des protocoles techniques précisant les matériels et les modalités adaptés au contexte local, et d'y adjoindre les particularités inhérentes aux BMR.

4.3.4 Mesures spécifiques pour la gestion du risque infectieux lié aux BHRe

Ces recommandations, destinées à lutter contre la diffusion des BHRe, ont été colligées en 2013 dans le guide de prévention de la transmission croisée des BHRe, émis par le Haut Conseil de Santé Publique et actualisées en 2017 par l'Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP) sous l'égide du CLIN central (59). Elles rappellent les principes de la maîtrise de la transmission croisée (précautions standards et PCC), et les complètent par des précautions spécifiques pour les BHRe. La représentation graphique qui en est faite dans cet ouvrage est didactique et insiste bien sur l'addition des mesures et non leur remplacement (Figure 4).

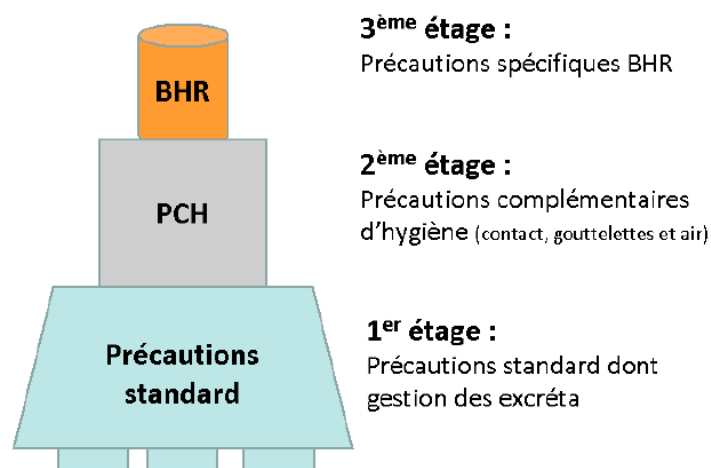


Figure 4. Représentation graphique des différents niveaux de mesures à appliquer pour maîtriser la diffusion de la transmission croisée (Source : Prévention de la transmission croisée des Bactéries Hautement Résistantes aux antibiotiques émergentes (BHRe), Haut conseil de la Santé Publique, juillet 2013)

Les souches de *P. aeruginosa* toto résistantes et celles d'*Acinetobacter baumannii* résistantes à l'imipénème ne sont pas incluses dans ces recommandations. Seules les souches d'*Enterococcus faecium* résistants aux glycopeptides (ERG) quel qu'en soit le mécanisme (vanA ou vanB), et les souches EPC, ont été retenues comme BHRe. Ces bactéries, commensales du tube digestif, sont insensibles à de nombreux antibiotiques dont ceux de

derniers recours (vancomycine pour *E. faecium* et carbapénèmes pour les Entérobactéries). La résistance bactérienne étant médiée par des supports génétiques transférables, une recrudescence de bouffées épidémiques est à craindre, alors que, à la date de rédaction de ces recommandations (2013), ces micro-organismes diffusaient en France sur un mode sporadique ou épidémique limité. D'ailleurs, les derniers chiffres d'épisodes à EPC, communiqués par l'Agence Nationale de Santé Publique (ANSP) dans son rapport de septembre 2015 montre une augmentation régulière des signalements (respectivement 10, 28, 113, 233, 401, 650 et 582, pour les exercices 2009 à 2015) (60). Pour les ERV, après plusieurs épisodes épidémiques entre 2007 et 2010, le nombre de signalement s'est stabilisé entre 110 et 155 jusqu'en 2014 (61).

Il est donc recommandé :

- La mise en place dans chaque établissement d'un plan de gestion des épidémies à BHRe, intégrant les « cas porteurs » et les « patients contacts »
- L'organisation d'un système de repérage précoce des patients à haut risque d'être porteurs (antécédent d'hospitalisation à l'étranger dans les 12 derniers mois, rapatriement sanitaire, antécédent de portage d'une BHRe). Selon les modalités de prise en charge du patient porteur de BHRe depuis son admission, différents niveaux de risque de devenir porteur de BHRe pour un patient contact peuvent être établis :
 - ✓ risque faible si le patient a été pris en PCC dès son admission
 - ✓ risque moyen si le patient porteur a été identifié en cours d'hospitalisation, le risque devenant faible si aucun cas secondaire n'a été identifié après 3 dépistages
 - ✓ risque élevé si au moins un patient porteur (cas secondaire) a été identifié parmi les patients contacts (situation épidémique), ce risque redevenant moyen si la situation épidémique est complètement maîtrisée.
- Une organisation du laboratoire de biologie médicale permettant de rechercher, d'isoler et d'identifier les EPC et les ERV, avec détermination de la CMI de l'ertapénème pour les EPC et des glycopeptides pour les ERV.
- Une alerte systématique de l'EOHH dès que le laboratoire suspecte l'isolement d'une BHRe. Si un cas EPC ou ERV est avéré, un signalement aux autorités de tutelle est obligatoire (ARS, ANSP, Centre de Prévention des Infections Associées aux Soins ou CPIAS, anciennement Centre de Coordination de Lutte contre les Infections Nosocomiales).
- Une attention constante pour le respect des précautions standards, et particulièrement pour la gestion des excréta avec des moyens matériels en bassins,

lave-bassins adaptés et en supprimant les douchettes parfois utilisées pour la gestion de ces bassins.

- La maîtrise de l'environnement de ces patients ou résidents, qui repose sur la validation de protocoles de bio-nettoyage des locaux et des matériels.
- Le regroupement géographique des patients porteurs, et l'attribution d'une équipe soignante dédiée.

Le système de repérage précoce des patients porteurs repose sur deux piliers fondamentaux : i) une politique de dépistage ambitieuse permettant le screening de tous les patients à risques (rapatriés sanitaires hospitalisés à l'étranger et transférés dans un établissement français ou patients ayant été hospitalisés à l'étranger dans l'année), ii) un système informatique performant permettant d'alerter en temps réel l'EOHH de la réadmission d'un ancien patient porteur dans l'établissement (voir chapitre 4.3.6, outils informatique : alerte BMR/BHR). Dans ce contexte, les services de Microbiologie et de l'informatique hospitalière sont des acteurs incontournables dans la mise en place d'une politique de repérage efficiente.

4.3.5 Indicateurs : taux de résistance, incidence BMR, SHA L/1000j.

Surveiller, c'est prévenir ! Si ce poncif est largement utilisé pour sensibiliser les jeunes personnels médicaux et paramédicaux au risque infectieux, il n'en reste pas moins pertinent. L'écologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques doit être suivie au sein d'un établissement de soins. Il en va de même des actions d'hygiène hospitalière. Dans les deux cas, des indicateurs numériques sont nécessaires pour mesurer, quantifier, évaluer une résistance, un phénomène épidémique, un processus, ou une action corrective.

Historiquement, la résistance d'une espèce bactérienne à un antibiotique était évaluée par le rapport entre le nombre de souches résistantes rapporté au nombre total de souches isolées pour cette espèce. Par exemple, le taux de résistance à la méticilline chez *S. aureus*, communément dénommé « taux de SARM », et correspondant à la prévalence de la résistance au sein de l'espèce, est calculé sur la base de : Nombre de souches résistantes (Nb R)

Nombre total de souches (Nb de R + Nb de S)

Ce calcul simple, encore largement utilisé aujourd'hui, inclut à la fois les souches sensibles et les souches résistantes. De ce fait, une diminution conséquente du nombre de souches sensibles peut être à l'origine d'une augmentation de taux, sans que le nombre de souches résistantes ait réellement progressé. C'est ce qui a pu être observé à l'HEGP entre 2003 et 2004. Alors que le nombre de souches résistantes baissait de 17%, et que le nombre

de souches sensibles diminuait de 21% (Figure 5A page suivante), le taux de SARM augmentait quant à lui de 4% (Figure 5B page suivante), Aussi, pour s'affranchir de l'impact des souches sensibles, deux indicateurs ne ciblant que les souches résistantes sont utilisés : l'incidence (ou taux d'attaque) et la densité d'incidence. Le premier résulte du nombre de souches résistantes (ou de patients porteurs de souches résistantes) rapporté au nombre d'admis par unité de temps ; traditionnellement, est utilisé le nombre de cas-SARM pour 100 patients (Figure 5C page suivante). Cet indicateur, fort utile lors d'un contexte épidémique est moins pertinent lorsqu'il s'applique à des institutions de soins de suite et réadaptation (SSR) ou de soins de longue durée (SLD). C'est pourquoi, l'indicateur usuellement utilisé reste le nombre de cas-SARM rapporté à 1000 jours d'hospitalisation (Figure 5D page suivante). Ce dernier permet des comparaisons entre services et entre hôpitaux en s'exonérant de l'influence de la durée de séjour : l'incidence de 100 journées d'un patient porteur à la même valeur que l'incidence de 10 patients présents chacun 10 jours. Ceci posé, la gestion d'un patient porteur en long séjour et de 10 patients porteurs en court séjour n'est pas la même ; les indicateurs numériques, pour informatifs qu'ils soient, restent des outils à analyser avec discernement et pertinence.

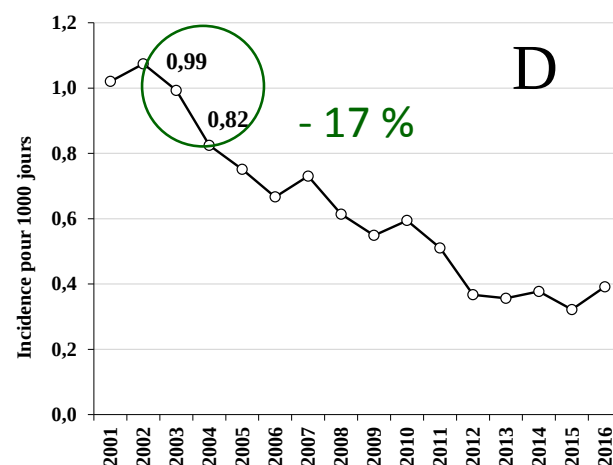
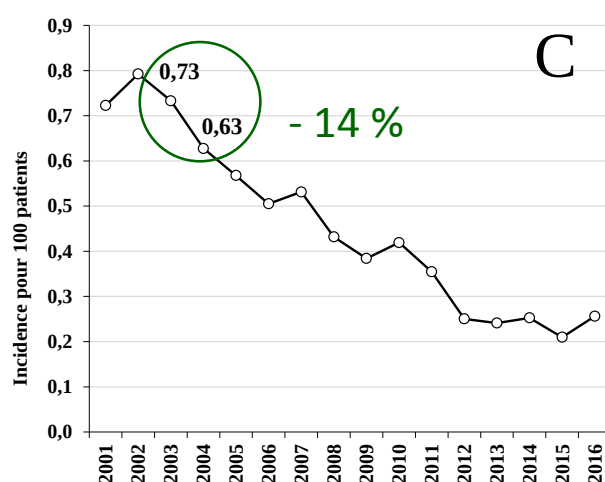
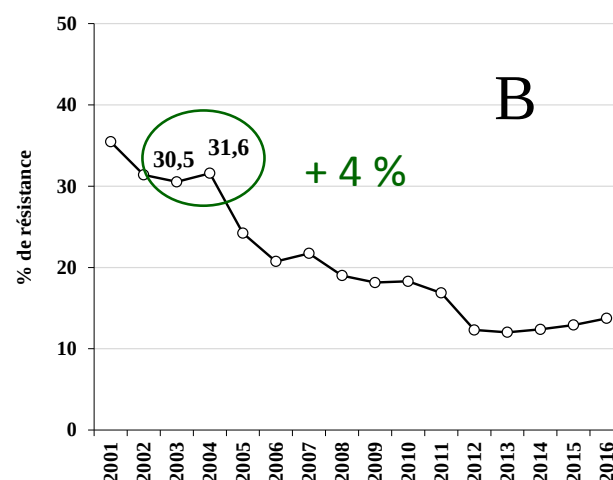
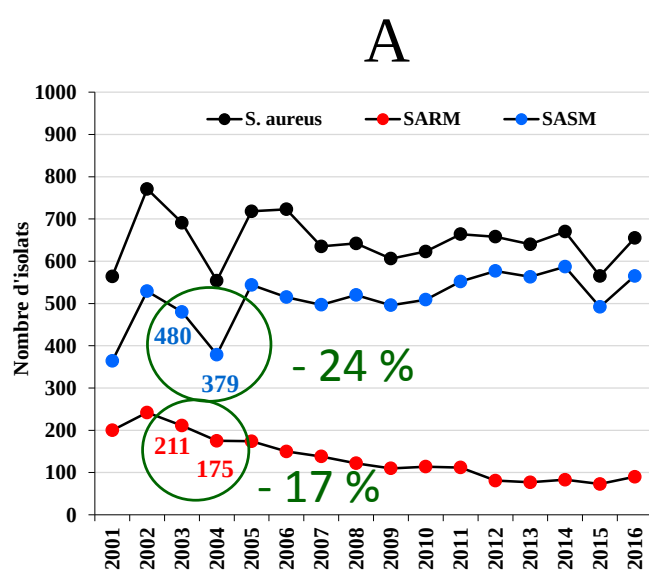


Figure 5. Evaluation de l'évolution du nombre de patients porteurs de SARM entre 2003 et 2004 à l'HEGP, en fonction de l'indicateur utilisé.

A, nombre d'isolats de *S. aureus* ; B, taux de SARM ; C, incidence SARM rapportée à 100 patients ; D, densité d'incidence SARM pour 1000 jours d'hospitalisation.

(Source : rapport annuel « Surveillance 2001-2016 de la résistance bactérienne aux antibiotiques, GHU-Paris-Ouest, P. Grohs, juillet 2017)

Généralement, l'évaluation de la résistance d'une espèce bactérienne ou d'un groupe bactérien à un antibiotique donné, s'effectue *via* le taux de résistance. Les cliniciens utilisent ces données à des fins d'antibiothérapie probabiliste pour les patients souffrant d'infections non documentées, et, classiquement, un taux de résistance supérieur à 10% condamne l'utilisation de cet antibiotique en probabiliste. Cet indicateur, qui compte un nombre de souches bactériennes, nécessite une réflexion sur l'élimination des souches redondantes isolées chez un même patient (doublons). Ce sujet est détaillé plus loin et a fait l'objet d'un article de recherche présenté dans cette thèse et publié dans Pathologie Biologie. De même l'unité de temps qui sert à la mesure de la résistance a lui aussi fait l'objet d'une étude que j'ai publiée dans Médecine et Maladies Infectieuses (MMI). Pour ce qui concerne le suivi des BMR, l'indicateur de choix est la densité d'incidence pour 1000j.

Depuis l'introduction des SHA, l'indicateur utilisé pour évaluer l'observance des soignants à la FHA est le nombre de litres de SHA consommés rapporté à 1000 JH (Figure 6).

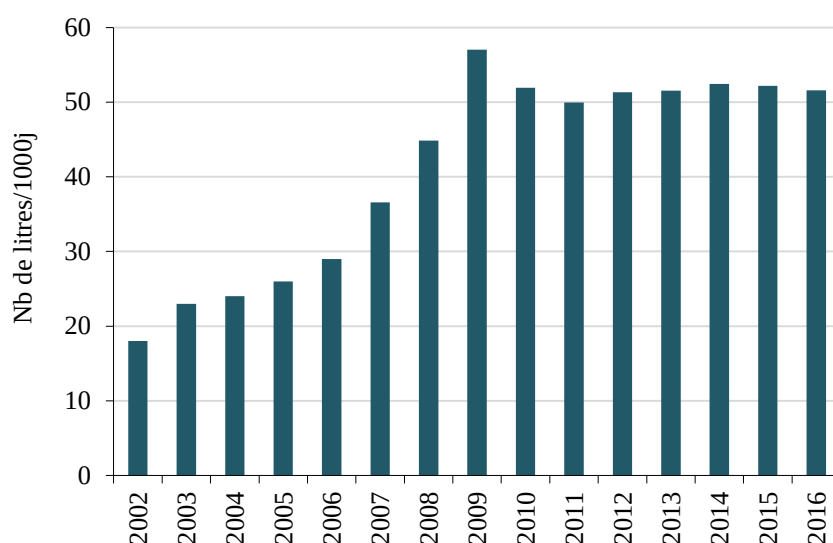


Figure 6. Consommation globale de SHA à l'HEGP entre 2002 et 2016. (Source : rapport annuel « Surveillance 2001-2016 de la résistance bactérienne aux antibiotiques, GHU-Paris-Ouest, P. Grohs, juillet 2017)

Cet indicateur, interprétable pour une consommation globale sur un établissement, est moins pertinent quand on le décline par service (Figure 7A page suivante), car le nombre moyen d'opportunités de soins varie fortement entre un patient hospitalisé en réanimation ou dans un service de médecine.

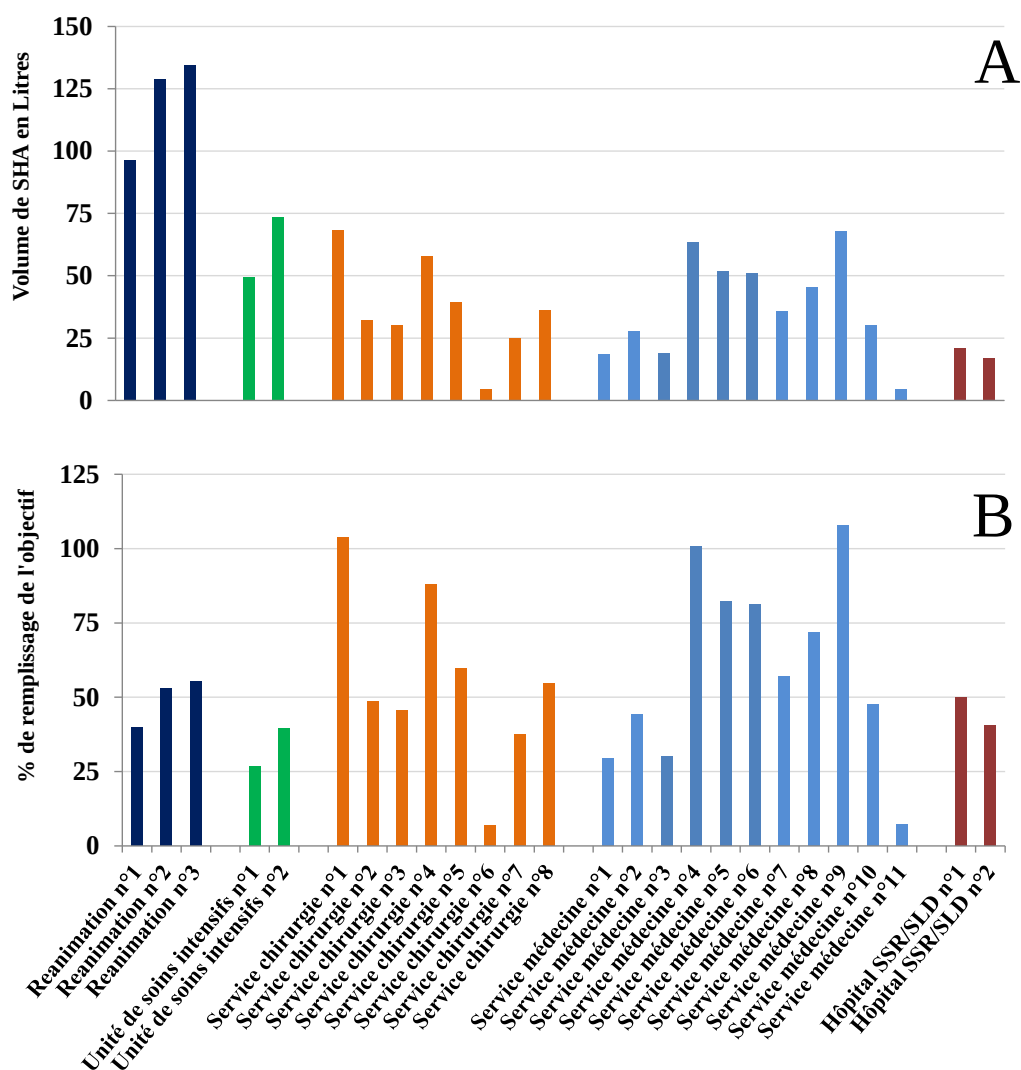


Figure 7. Distribution des consommations de SHA par services en 2016

A, distribution des consommations par services

B, objectifs de consommation des services

(Source : rapport annuel « Surveillance 2001-2016 de la résistance bactérienne aux antibiotiques, GHU-Paris-Ouest, P. Grohs, juillet 2017)

Or, plus le nombre d'opportunités augmente, plus élevée doit être la consommation de SHA. L'indicateur ICSHA2 intègre ce paramètre et rend compte du positionnement du service par rapport à l'objectif de consommation à atteindre. Par exemple, le nombre d'opportunités de soins pour un patient de réanimation est estimé à 80 frictions de 3mL par jour soit 240 ml/journée-patient soit 240 L/1000j. Un service consommant 120L/1000j remplit donc 50% de ses objectifs de consommation (Figure 7B).

4.3.6 Outils informatiques : alerte BMR/BHR

Un des points clés de la mise en place des PCC pour les patients porteurs de BMR, réside dans la circulation de l'information : plus l'alerte est précoce, plus vite sont implémentées les PCC. Et plus les PCC sont implémentées rapidement, plus la transmission croisée est limitée. A ce titre, l'outil informatique offre des possibilités bien plus étendues que la seule mémoire humaine. En effet, si l'information "patient BMR" parvient rapidement à l'équipe soignante dès que la souche est isolée et identifiée au laboratoire (transmission papier ou informatique des résultats, relai *via* l'EOHH, équipe mobile d'infectiologie si elle existe...), elle se perd rapidement dès que le patient change de service, d'hôpital, voire sort pour être réadmis ultérieurement. La création d'une base de données colligeant les patients BMR, croisée au logiciel de gestion des mouvements des patients, permet une réactivité immédiate, dès lors que le mouvement (changement de service, réadmission) est enregistré dans le système informatique. Ce sujet est détaillé plus loin et a fait l'objet d'un article de recherche présenté dans cette thèse et publié dans Archives of International medicine

La recherche de patients contacts de patients porteurs de BHR est encore plus compliquée à gérer sans système automatisé : le repérage des patients ayant croisé un patient porteur est d'autant moins possible que le patient porteur est découvert au décours de son séjour, ce qui nécessite une rétro-prospection des patients l'ayant côtoyé. Le ciblage des patients contacts réadmis est lui aussi impossible par un processus manuel.

4.3.7 Effectifs des équipes de soins

En ces temps de compression budgétaire à l'hôpital et d'augmentation d'activité à moyens constants, le personnel est souvent utilisé comme une variable d'ajustement financière. Dans ces conditions, le ratio personnel-patient diminue, et le sous-effectif infirmier, augmentant le nombre d'opportunités de soins par agent, crée des conditions favorables à la transmission d'agent infectieux. Déjà en 1999, une étude suisse pointait du doigt le déficit en hygiène des mains du à un sous-effectif comme étant un des responsables de la propagation d'une épidémie d'*Enterobacter cloacae* en réanimation (62). Plus récemment, dans une étude prospective de réanimation incluant 195 patients, 22% avaient développé une infection associée aux soins (IAS) (63). L'absence de compliance au plan de soins défini en réanimation était statistiquement plus élevée pour les patients développant une IAS, et l'excès de charge de travail était le principal facteur de risque d'acquisition d'IAS. Il a également été montré une corrélation significative entre le taux d'occupation des lits et le nombre d'acquisition de SARM dans un hôpital (64). Enfin, une méta-analyse de 75 études

portant sur les épidémies à EBLSE en réanimation néonatale établit que ces épidémies augmentent significativement la mortalité, et que le principal facteur de risque associé est le sous-effectif de l'équipe de soins (65). En fait, dès que la charge de travail augmente, le temps manquant pour l'ensemble des soins à prodiguer au patient, l'hygiène des mains est considérée comme moins prioritaire.

4.3.8 Décontamination et méthode du "search and kill"

La question de la décontamination des patients porteurs de BMR se pose depuis de nombreuses années, mais n'est toujours pas tranchée car les études sur ce sujet donnent des résultats variables. En 2009, la SFHH, après une revue de la littérature restait prudente sur ce thème dans ses recommandations : *Le principe d'une décontamination à visée collective des porteurs de SARM (pour prévenir sa dissémination) est une question non résolue, que ce soit sur ses indications, sur le secteur (réanimation, MCO, SSR, SLD), sur le moment (admission ou sortie du service), ou encore sur le contexte (en situation d'épidémie récente ou installée). Il est fortement recommandé de ne pas recourir aux antibiotiques utilisables dans les traitements par voie systémique pour l'éradication du portage de SARM. Il est recommandé, sur la base des données actuelles, de ne pas tenter l'éradication du portage digestif d'EBLSE par l'utilisation d'antimicrobiens non absorbables ou systémique en situation d'épidémie récente ou installée, en réanimation ou en dehors des services de réanimation* (2). Ces recommandations sont toujours d'actualité en France.

Récemment, différentes approches ont été tentées pour statuer sur l'intérêt de la décolonisation de *S. aureus* chez les patients. De nombreuses revues et méta-analyses portant sur un nombre important d'études sont disponibles. En 2013, Abad pose clairement la question : Est-ce que la décolonisation marche ? (66). Il n'y répond pas franchement et conclut que la mupirocine comme agent décolonisant est efficace à court terme pour limiter le risque d'infection à SARM, mais que son utilisation routinière est à l'origine de l'apparition rapide de souches résistantes. Dans une méta-analyse de 2016 portant sur 19 études, la baisse des infections du site opératoire suite à une décolonisation est aussi mise en évidence (67). En revanche, une revue de la littérature sur les infections à SARM en néonatalogie rapporte que la diminution du portage et des infections chez cette population n'est pas toujours avérée, et mérite des explorations supplémentaires (68). Enfin, Hetem *et al.* proposent une approche différente basée sur un modèle mathématique s'appuyant sur des données déjà publiées. Son modèle met en évidence un risque d'émergence de souches résistantes à la mupirocine équivalent, que la décolonisation soit ciblée sur les patients porteurs, ou généralisée à tous les

patients. Il met aussi en évidence le transfert de la résistance à la mupirocine entre les staphylocoques à coagulase négative et les souches de *S. aureus*. Par contre, il évalue ce risque comme suffisamment faible au regard du gain apporté par la décolonisation préopératoire des patients (69). En fait, une vision macroscopique de l'ensemble de ces analyses suggère que le gain de la décolonisation est effectif pour le patient traité (bénéfice individuel), mais que le bilan écologique semble négatif pour la collectivité (sélection de souches résistantes).

Ce débat sur la décolonisation du SARM s'appuie pourtant au départ sur la méthode dite « search and destroy », consistant à dépister systématiquement le SARM chez les patients, pour l'éradiquer. Cette méthode, largement répandue dans les pays du nord de l'Europe semble avoir fait ses preuves dans ces pays à faible prévalence de SARM. Une grande proportion d'études provient des Pays-Bas dont le « search and destroy » sert de base à une politique installée au niveau national. Dès 1994, Vandenbroucke-Grauls rapporte que le faible taux de SARM aux Pays bas est dû à l'implantation de mesures strictes de contrôle infectieux, incluant l'isolement et le traitement par mupirocine de tous les patients porteurs, mais également des personnels de soins porteurs (70). La même année, est publiée l'étude de Voss *et al.* montrant une prévalence faible dans les pays du nord de l'Europe comparée à celle des pays du sud (<1% en Suède et au Danemark vs >30% en France, Espagne, et Italie) (71). La validité de la comparaison des données issues de différents pays est contestée en 2000 de par le manque d'exhaustivité et des différentes méthodes de recueil (72). Pour autant, les différences nord-sud sont toujours d'actualité entre 1999 et 2002 (Europe du nord <5% vs Europe du sud >20%) (73) alors que le réseau européen de surveillance (EARSS) commence à se structurer, et même aujourd'hui, où la quantité de données recueillies est bien plus importante, grâce notamment au développement de systèmes informatiques performants (Europe du nord <5% vs Europe du sud >25%) (44). Les études provenant des Pays-Bas décrivent le succès de la méthode « search and destroy » qui a permis de contrôler un début d'épidémie dans ce pays (74) et de sauver des vies tout en rationalisant le budget (75,76). Mais le succès de cette politique est également souligné dans des études provenant d'Islande dont la politique fut implémentée dès 1991 (77), du Danemark et de Suède (78,79).

En France, la décolonisation est testée dès les années 80, mais si l'efficacité de la décontamination digestive par néomycine, polymyxine, et acide nalidixique est reconnue pour contrôler une épidémie à bacilles à Gram négatifs multi-résistants en réanimation, les auteurs ne recommandent pas de l'utiliser pour la prévention routinière des infections nosocomiales endémiques (80). Une expérience de décontamination digestive par l'érythromycine diligentée pour réduire le nombre de patients porteurs d'HP-CASE ne donnera pas de résultats

probants (81). De plus, la survie des patients de réanimation n'est pas augmentée suite à une décontamination digestive (82). Pourtant, l'opinion change dans les années 2000 et une revue de la littérature portant sur 10 essais randomisés montre que la décontamination digestive sélective peut être utilisée pour certaines populations de patients comme les polytraumatisés et en réanimation quand le taux de BMR est bas. (83). Toutes ont conclu que la décontamination digestive sélective réduisait de manière significative l'incidence des pneumonies associées à la ventilation mécanique. Le bénéfice sur la mortalité n'était pas observé dans toutes ces études. En revanche, si les auteurs soulignent la sélection de BMR suite à une DSS, ils sont néanmoins d'avis de la recommander sous couvert d'une utilisation rationnelle des antibiotiques (8,83). Enfin, une étude parue en 2016 montre qu'au CHU de Rennes, une décontamination systématique naso-pharyngée et digestive, de tous les patients de réanimation, conduisait à une réduction significative du taux d'infections à EBLSE et à bacilles à Gram négatif aérobies multi-résistants (84).

L'abondance de la littérature traitant de ce sujet, et la contradiction dans les résultats publiés, explique qu'aucun consensus n'ait pu être dégagé sur cette question en France, d'où les recommandations prudentes de la SFHH.

4.3.9 Perception des BMR par les équipes médicales

Un des freins à la bonne application des précautions standards, PCC, ou BHRe tient à la perception qu'ont les soignants des BMR, et à la confusion entre multi-résistance aux antibiotiques, risque épidémique et virulence (résistance, épidémicité, pathogénicité).

La multi-résistance est source de difficulté à éliminer la bactérie de l'hôte chez qui elle a été isolée, que l'infection soit grave ou pas, que le patient soit symptomatique ou pas, et que la bactérie en cause soit pathogène ou commensale. La virulence concerne la capacité d'un agent infectieux à pénétrer et à se multiplier chez l'hôte infecté ; c'est une notion qualitative, en lien avec la densité de l'inoculum bactérien requis pour être infectant. Pour certaines espèces très virulentes, un inoculum bactérien faible suffit à déborder les défenses immunitaires du patient, créant rapidement les conditions d'une invasion systémique de l'hôte. Les facteurs de virulence revêtent différents aspects qui vont de la capacité à adhérer aux cellules des muqueuses (production d'adhésines), à la sécrétion de toxine, en passant par des mécanismes d'échappement à la phagocytose (présence de capsule par exemple).

La virulence n'a donc que peu de rapport avec la résistance aux antibiotiques. Pourtant, chez les personnels de soins, la multi-résistance aux antibiotiques est régulièrement confondue avec la virulence ou avec le pouvoir pathogène bactérien, induisant des

comportements inadaptés. La notion de BMR étant anxiogène pour certains personnels hospitaliers, le lavage des mains est préférentiellement effectué après contact avec le malade pour « se protéger soi-même », qu'en entrant dans la chambre, alors que les recommandations préconisent les deux actions. Le mésusage du port des gants participe aussi, pour partie, de la peur qu'inspire la BMR. Les gants remplissent un triple objectif : i) protéger le soignant contre les micro-organismes potentiellement présents dans les liquides biologiques du patient, ii) protéger le patient d'une contamination venant du soignant, iii) éviter une transmission croisée manu-portée. La peur de se contaminer (soit directement au contact du patient, soit indirectement *via* l'environnement) joue un rôle essentiel dans la conservation inadéquate des gants. De ce fait, les gants deviennent un vecteur de transmission de BMR du patient vers l'environnement, voire, si les gants ne sont pas retirés, inter-patients.

4.4 Le laboratoire de bactériologie : rôle central dans la détection des BMR

4.4.1 De la collecte de l'échantillon biologique à l'antibiogramme

Malgré l'évolution des technologies, la bactériologie médicale repose sur des fondamentaux assez constants. A partir de signes cliniques évocateurs d'un syndrome infectieux, un échantillon biologique provenant d'un site anatomique potentiellement infecté est collecté et acheminé vers le laboratoire à des fins d'analyses. Les résultats se déclinent selon les mêmes trois étapes, consistant en un examen direct, une culture qui conduit le plus souvent à des résultats en 24h lorsque l'infection implique des bactéries aisément cultivables, et un antibiogramme qui déterminera la sensibilité de la (ou des) espèce(s) isolée(s) à un panel d'antibiotiques. Toutes ces étapes ont été normalisées dans des ouvrages de référence que sont le référentiel en microbiologie médicale (85) et les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM) (86).

L'examen direct. Selon la nature de l'échantillon biologique, cette analyse est plus ou moins informative. Sachant que la limite de visibilité des bactéries au microscope est de l'ordre de 10^4 à 10^5 unités formant colonies (UFC) par ml d'échantillon, il est par exemple illusoire d'espérer observer des bactéries directement à partir du sang, l'inoculum bactérien circulant étant souvent inférieur à une UFC/ml. A contrario, dans le cadre d'une suspicion de méningite, l'observation dans le liquide céphalo-rachidien de bacilles à Gram positif évocateurs de *Listéria* ou de cocci à Gram négatif évocateurs de méningocoque, conduira dans le premier cas à initier une antibiothérapie axée sur une association amoxicilline/gentamicine, et dans le second cas à un traitement par ceftriaxone (87). De même, l'observation de bactéries dans un examen direct d'urine permettra une prise en charge thérapeutique ciblée, et évitera potentiellement un antibiotique à large spectre. Par exemple, dans le cas d'une cystite aigue simple communautaire pour un patient consultant aux urgences, le traitement probabiliste recommandé de première intention est la fosfomycine trométamol en dose unique. Ce choix repose sur le fait qu'il existe très peu de résistance acquise, que de bons coefficients d'éradication clinique et microbiologique sont généralement observés, que l'antibiotique est bien toléré par le patient, que la prise unique favorise l'observance, et que l'effet est négligeable sur le microbiote (88). Pour autant, la présence de cocci à Gram positif en amas à l'examen direct, suggérant la possible présence de *Staphylococcus saprophyticus*, germe naturellement résistant à la fosfomycine, doit orienter vers un autre traitement, voire remettre en cause la qualité du prélèvement. En tout état de cause, la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française déconseille l'utilisation de C3G du fait de leur impact sur le microbiote.

Cet examen direct peut donc se révéler contributif pour le choix d'une antibiothérapie raisonnée et doit, autant que faire se peut, être pris en compte dans le traitement précoce du patient.

La culture bactérienne. En fonction du site anatomique prélevé, l'échantillon biologique est ensemencé sur différents milieux de cultures, adaptés aux espèces bactériennes habituellement recherchées dans les infections liées à ce site. Si une flore commensale est associée au site anatomique prélevé, des milieux de culture sélectifs sont choisis pour éliminer une partie de cette flore commensale et favoriser la croissance des espèces pathogènes, en sus des milieux classiques. Pour les échantillons susceptibles de contenir des bactéries de culture difficile ou en quantité faible, des milieux liquides d'enrichissement sont ajoutés à la palette de milieux. Les milieux sont incubés à 35°C entre 24h et 15 jours suivant les prélèvements et les milieux.

Dès 24h, la culture peut orienter sur le choix thérapeutique. D'autant plus aujourd'hui, avec l'utilisation du Maldi-tof, spectromètre de masse dédié à l'identification bactérienne. Cet outil permet d'obtenir le nom de l'espèce bactérienne à partir des colonies isolées dès le lendemain de l'ensemencement de l'échantillon, gagnant 24h par rapport aux méthodes d'identification traditionnelles (89). De plus, il permet parfois d'établir la résistance à certains antibiotiques (90), bien qu'il ne soit pas encore capable de différencier les mécanismes de résistance aux C3G (BLSE vs HP-CASE), et qu'il soit peu utilisé au quotidien pour cet usage. A cette étape du processus de l'analyse de bactériologie, on peut déjà orienter l'antibiothérapie, mais, hors tests de biologie moléculaire, il est nécessaire d'attendre 24h de plus pour connaître les résultats de l'antibiogramme, savoir si l'isolat est une BMR, et quel type de mécanisme de résistance est impliqué.

Certains milieux sélectifs sont spécifiquement dédiés à la recherche de BMR, que ce soit pour la recherche de SARM ou de BLSE. Si ces milieux ont généralement une bonne sensibilité (supérieure à 95%), ils présentent en revanche une spécificité nettement moins élevée (voir chapitre 4.4.4, techniques de laboratoire).

L'antibiogramme. C'est la partie analytique qui permet la mise en évidence des résistances aux antibiotiques de l'isolat bactérien étudié. Les méthodes de micro dilution et de diffusion en milieu gélosée sont reconnues par le CASFM, en accord avec les spécifications techniques recommandées dans ce document (86). Aucun consensus n'existe quant à la meilleure technique à utiliser, et nombre de biologistes restent très attachés à la méthode de travail qu'ils ont mise en place dans leur laboratoire, quelle qu'elle soit. Pour autant, la méthode en milieu gélosé présente certains avantages non négligeables reposant essentiellement sur la visualisation de la culture sur boîte, non applicable dans une méthode

en milieu liquide. Celle-ci permet de contrôler la pureté de l'antibiogramme, de voir les synergies et antagonismes existant entre les différentes molécules positionnées l'une à côté de l'autre, et de vérifier la qualité de l'inoculum ayant poussé (certains antibiotiques sont très sensibles à un effet inoculum pouvant conduire à des résultats faussement résistants). Elle possède surtout des vertus pédagogiques irremplaçables pour la formation des personnels techniques et médicaux : les phénotypes de résistance se « voient » sur l'antibiogramme, et laissent deviner les mécanismes moléculaires sous-jacents leur permettant de s'exprimer. Certains d'entre eux sont évidents, d'autres seulement supposés, d'autres encore ouvrent la voie à des tests complémentaires qui permettront de les affirmer. Un antibiogramme, c'est un livre ouvert sur la constitution de la bactérie, la forme de sa paroi, les modifications structurales de son peptidoglycane, les mutations des gènes codant pour ses porines ou pour des enzymes constitutifs de son génome, l'intégration d'éléments génétiques exogènes... L'antibiogramme raconte une histoire de la bactérie.

Plus pragmatiquement, l'antibiogramme permet surtout de donner de l'information au clinicien. En fonction de critères clinico-microbiologiques, il a été établi, pour chaque antibiotique, des valeurs critiques de Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et de diamètre d'inhibition de la culture bactérienne. Par exemple, chez un *staphylococcus spp*, une CMI > 0.12µg/ml ou un diamètre d'inhibition <26 mm autour du disque de pénicilline correspond à une souche résistante à la pénicilline. Pour la plupart des couples « espèce/antibiotique » trois catégories ont été définies :

- **Souches sensibles (S).** Souches pour lesquelles la CMI de l'antibiotique testé est inférieure ou égale à la concentration critique basse, ce qui équivaut à un diamètre supérieur ou égal au diamètre critique. Pour ces souches, la probabilité de succès thérapeutique est forte dans le cas d'un traitement par voie systémique avec la posologie recommandée dans le résumé des caractéristiques du produit, rédigé par l'ANSM.
- **Intermédiaires (I).** Souches vis-à-vis desquelles la CMI de l'antibiotique testé et du diamètre correspondant sont compris entre les deux concentrations critiques et les deux diamètres critiques. Pour ces souches, le succès thérapeutique est imprévisible. Ces souches forment un ensemble hétérogène pour lequel les résultats obtenus *in vitro* ne sont pas prédictifs d'un succès thérapeutique.
- **Souches résistantes (R).** Souches vis-à-vis desquelles la CMI de l'antibiotique testé est supérieure à la concentration critique haute, correspondant à un diamètre inférieur au diamètre critique. Souches pour lesquelles il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique quel que soit le type de traitement et la dose d'antibiotique utilisée.

Depuis 2015 et la convergence des critères définis par le CASFM et ceux définis par l'EUCAST (86,91), de nombreuses catégories « intermédiaire » ont disparu, la tendance anglo-saxonne privilégiant une réponse plus binaire, à l'instar des recommandations américaines prônées par le CLSI (92).

La catégorisation R/S/I pour chaque antibiotique n'est pas uniquement reliée aux diamètres d'inhibition lus sur l'antibiogramme, eux même dépendant des valeurs critiques comme énoncé ci-dessus. La lecture interprétative de l'antibiogramme correspond à la prise en compte de phénotypes de résistance, dont l'expression n'est pas toujours apparente sur la gélose. Par exemple, dans le cas d'une EBLSE, l'expression *in vitro* de l'enzyme responsable de la résistance aux bêta-lactamines, peut conduire, pour certains antibiotiques, à des diamètres élevés, supérieurs aux diamètres critiques. Pour autant, la synergie observée entre l'acide clavulanique et les C3G (voir Figure n°11 page 54) est caractéristique de la présence de ce type de bêtalactamase chez cet isolat, et les C3G lues « S », ne seront rendues qu'après avoir déterminé la CMI réelle à la C3G. De même, l'observation d'un antagonisme entre les disques de lincomycine et d'érythromycine chez un pneumocoque, est caractéristique d'un phénotype de résistance de type Macrolides-Lincosamides-Streptogramines B (MLSb) inductible et doit conduire à rendre la lincomycine « R » même si le diamètre conduit à une catégorisation « S ». Ce n'est qu'une fois la lecture interprétative de l'antibiogramme effectuée, que le critère de multi-résistance est attribué (ou pas).

4.4.2 Différents types de BMR surveillées

"Les bactéries sont dites multi-résistantes aux antibiotiques lorsque, du fait de l'accumulation de résistances acquises à plusieurs familles d'antibiotiques, elles ne sont plus sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotiques utilisables en thérapeutique. La multi-résistance est une étape vers l'impasse thérapeutique". Cette définition consensuelle est reprise dans la plupart des ouvrages rédigés par les sociétés savantes comme "les recommandations nationales de prévention de la transmission croisée" issue de la conférence de consensus d'avril 2009 (2), et "la surveillance des BMR dans les établissements de santé en France", document co-signé par le RAISIN, le CPIAS et l'ANSP (1).

Cette caractérisation généraliste de la multi-résistance nécessite quelques précisions. La plupart des microbiologistes s'accordent sur le fait que la multi-résistance doit concerner au moins trois familles d'antibiotiques majeures parmi les bêta-lactamines, les aminosides, les quinolones, les macrolides, et les glycopeptides, signifiant par-là que le choix thérapeutique devient très restreint. En 2011, un collège international d'experts du CDC, de l'ECDC, du

CLSI, et de l'EUCAST, ont défini une bactérie multi-résistante comme ayant acquis la résistance à au moins un agent parmi au moins trois familles d'antibiotiques, quel qu'elles soient (93). Ces critères ne sont néanmoins pas suffisants, car certaines espèces sont naturellement résistantes à de nombreux antibiotiques. C'est le cas par exemple de *P. aeruginosa*, dont les souches sauvages sont déjà résistantes à certaines bêta-lactamines (aminopénicillines, céphalosporines de 1ère et de 2ème génération, céfixime, céfuroxime, céfotaxime, ceftriaxone, ertapénème), certains aminosides (kanamycine), certaines quinolones (acide nalidixique), et d'autres antibiotiques divers (tétracyclines, chloramphénicol, triméthoprim). Pour autant, les souches ne sont pas cataloguées en BMR car les antibiotiques traditionnellement utilisés pour traiter les infections à *P. aeruginosa* (ceftazidime, imipénème, ciprofloxacine), sont encore disponibles. A contrario, les souches de SARM dont la caractéristique principale est de présenter une résistance croisée à toutes les bêta-lactamines, hébergent la plupart du temps des gènes de résistance associés conférant la résistance aux fluoroquinolones, aux aminosides (souvent kanamycine, tobramycine) et aux macrolides (généralement de phénotype MLSb). Mais pas toujours ; rarement, certaines souches ne montrent qu'une résistance isolée à la famille des bêta-lactamines, et sont pourtant catégorisées comme BMR. De plus, les Staphylocoques à coagulase négative multi-résistants aux antibiotiques ne sont pas catalogués comme BMR.

En conséquence, des critères supplémentaires d'espèce, de transférabilité de la résistance, de fréquence d'isolement, de potentiel pathogène (morbidité et mortalité) ont été retenus pour cibler les BMR d'intérêt, suivies au niveau national. Les enquêtes nationales de prévalence effectuées en France en 1996, 2001, 2006 et 2012 (celle de 2017 est en cours), ont montré une prévalence forte des souches de *S. aureus* et d'Entérobactéries impliquées dans les infections nosocomiales (respectivement 16% et 45% en 2012) (1). Les souches de SARM et d'EBLSE représentaient chacune en 2012, 5% de l'ensemble des souches bactériennes isolées des infections associées aux soins. Dans les pneumonies nosocomiales, la mortalité liée au SARM est 16 fois supérieure à celle liée au SASM (94), et, toutes infections confondues, les décès liés au SARM sont deux fois plus nombreux que ceux liés au SASM (95). De même, une étude a montré que le taux de réussite du traitement des infections impliquant des Entérobactéries hébergeant une BLSE, était deux fois inférieur à celui des infections impliquant des Entérobactéries sans BLSE (96). Dans toutes ces études, le coût du séjour hospitalier est multiplié par deux quand l'infection implique une BMR vs une non-BMR. Même si la validité de ces études est parfois contestée pour des raisons méthodologiques, force est de constater l'impact de la résistance sur la mortalité. De plus, certaines études ont montré que, comparativement à d'autres BMR, les patients colonisés SARM développaient

plus fréquemment des infections symptomatiques (97). Globalement, la surmortalité annuelle imputable à la résistance bactérienne a été estimée respectivement à 23 000 et 25 000 cas aux USA et en Europe (23). En France, 12 500 décès étaient attribués en 2012 aux infections impliquant des BMR (98). En raison de leur coût humain et financier élevé, et de leur niveau d'incidence, seuls les SARM et les EBLSE ont été retenus dans le programme national de surveillance.

Pour autant, d'autres BMR peuvent conduire à une surveillance en fonction de critères locaux (contexte épidémique), ou comme indicateurs dans le cadre d'une politique de maîtrise de la consommation des antibiotiques afin de diminuer la pression de sélection. Si toutes les BMR sont sélectionnables par pression de sélection, et transférables *via* manu portage d'un patient à son voisin, certaines BMR sont préférentiellement sensibles à la pression de sélection et d'autres se retrouvent plutôt impliquées dans de la transmission croisée. Dans la première catégorie, on peut inclure les HP-CASE, et les *P. aeruginosa* multi-résistants, qui conduisent très rarement à des épidémies. En revanche, dans la deuxième, on trouve préférentiellement les SARM et les EBLSE. Au début des années 2000, l'incidence des SARM était forte et celle des EBLSE faible. En 11 ans (2002 vs 2013), la bascule épidémiologique de ces deux BMR a fait passer l'incidence hospitalière du SARM de 0,63 pour 1000 JH à 0,30, et celle des EBLSE de 0,13 à 0,55 (1). L'introduction et l'utilisation croissante des SHA à l'hôpital n'est certainement pas étrangère à la décroissance de la courbe d'incidence du SARM. La diffusion clonale de ce germe est peut-être aussi une source d'explication, un clone sensible pouvant supplanter un clone résistant. Alors que la transmission du SARM était essentiellement hospitalière, on assiste à une diffusion à la fois communautaire et en établissement de santé des ESBL, suggérant une pénétration hospitalière de ces BMR à partir de la ville. Ceci posé, quelles que soient les causes de cette bascule épidémiologique, le mode de diffusion préférentiel de ces BMR à l'hôpital demeure la transmission croisée.

C'est également le cas des ERV et des EPC. De par leur résistance à des antibiotiques de dernier recours (respectivement la vancomycine et les carbapénèmes), les ERV et les EPC sont catégorisées en "bactéries hautement résistantes aux antibiotiques" (BHR à risque épidémique émergentes) et requièrent, comme on l'a vu, une attention toute particulière. Une des plus grandes craintes de la communauté scientifique serait d'assister à une augmentation suffisamment importante de l'incidence des ERV, pouvant à terme favoriser le transfert de la résistance à la vancomycine d'un Entérocoque chez un SARM. Un SARM résistant à la vancomycine laisserait peu de possibilités thérapeutiques. Même si cette menace reste pour

l'instant théorique (très peu de cas ont été signalés dans le monde), la peur d'une diffusion massive est réelle (99).

4.4.3 Mécanismes moléculaires de la résistance aux antibiotiques

La multi-résistance aux antibiotiques implique de nombreux mécanismes d'évitement à l'action des antibiotiques. Schématiquement, on peut les regrouper en quatre grandes catégories : mécanisme enzymatique, modification de la cible, imperméabilité et efflux (voir Figure 8).

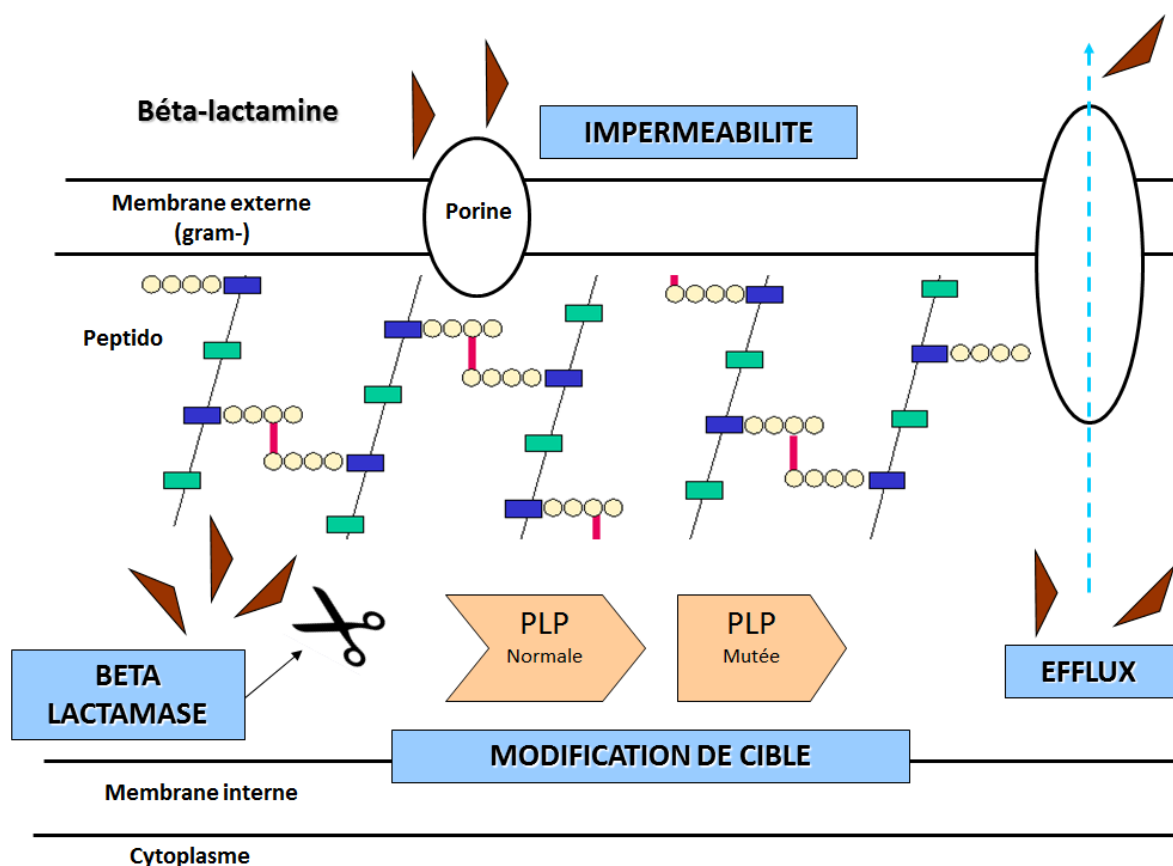


Figure 8. Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques. Exemple de mécanismes impactant l'activité des bêta-lactamines.

Mécanisme enzymatique. La bactérie synthétise une enzyme capable d'hydrolyser son substrat antibiotique (ex : céphalosporinase chromosomique de certaines entérobactéries capables d'inactiver l'amoxicilline, seule ou supplémentée d'acide clavulanique, et la céfalotine). Cette enzyme, par mutation du gène codant pour sa composition en acides aminés, ou par mutation dans son promoteur, voire par mutation dans un des gènes régulant son expression, peut élargir son spectre d'activité et hydrolyser des substrats non hydrolysables sans mutation (ex : hyperproduction de la céphalosporinase chromosomique des Entérobactéries qui hydrolyse les C3G). De très nombreuses enzymes ont été décrites dans presque toutes les familles de molécule, présentes naturellement chez l'espèce bactérienne, ou acquises chez certaines souches de l'espèce.

Modification de la cible. La bactérie synthétise une molécule, cible habituelle de l'antibiotique, différente de sa forme classique. Cette molécule peut être structurelle comme les transpeptidases et les transglycosylases qui forment le réseau tridimensionnel du peptidoglycane, également nommées protéines de liaison à la pénicilline (PLP). Elle peut également jouer un rôle fonctionnel comme l'ADN polymérase et l'ADN gyrase qui participent à la duplication du matériel génétique de la bactérie. Toute modification de conformation de la cible (par mutation du gène codant pour cette molécule) diminue l'affinité de celle-ci vis-à-vis de l'antibiotique, dont la conséquence est la baisse de sensibilité à cet antibiotique.

Imperméabilité. Les bactéries à Gram négatif possèdent une membrane externe entourant le peptidoglycane. Cette membrane est traversée de porines, tunnels protéiques permettant le passage de différents nutriments et sels minéraux dans le corps bactérien. Ces porines laissent également passer certains antibiotiques. Une mutation dans le ou les gènes codants pour ces porines est susceptible de diminuer la pénétration de l'antibiotique dans le corps bactérien, réduisant le nombre de molécules actives dans la bactérie, même si la concentration externe est importante. Ce mécanisme d'imperméabilité est souvent rencontré chez les bacilles à Gram négatif aérobies comme le bacille pyocyanique.

Efflux. Il s'agit d'un mécanisme actif d'excrétion des antibiotiques de l'intérieur de la bactérie vers le milieu extérieur. L'antibiotique n'a pas le temps d'agir sur sa cible et devient donc inactif.

En parallèle des mécanismes de résistance, vient s'ajouter la transférabilité de la résistance, médiée le plus souvent par des éléments génétiques mobiles (intégrons, transposons, plasmides). Ces supports génétiques pouvant héberger plusieurs gènes de résistance, les co-résistances sont fréquentes et sources de multi-résistance.

4.4.4 Techniques de laboratoire

Dans la lutte contre la diffusion des BMR, le rôle essentiel du laboratoire de bactériologie est d'isoler et d'identifier au plus tôt une BMR ou une BHRe, et d'en avvertir l'EOHH afin de mettre en place sans retard les PCC et autres mesures adaptées. Comme vu plus haut, une culture bactérienne, qu'elle provienne d'un prélèvement de dépistage (écouvillonnage rectal, nasal...) ou d'un prélèvement à visée diagnostique met au minimum 24h pour obtenir des colonies, qui, si la culture a eu lieu sur milieu sélectif, peuvent donner une forte présomption de multi-résistance. Mais, hors technique complémentaire (biologie moléculaire, test colorimétrique), seul l'antibiogramme obtenu 24h plus tard permet d'affirmer avec certitude la présence d'une BMR en culture.

Ces milieux sélectifs sont simples à utiliser, et reposent la plupart du temps sur l'hydrolyse d'un substrat chromogénique par l'enzyme recherchée (carbapénémase par exemple), pour repérer les colonies d'intérêt sur le milieu gélosé. Que ce soit pour le dépistage du SARM, des ERV, des EBLSE ou des EPC, quatre à cinq industriels se partagent le marché, et proposent des milieux adaptés à chaque recherche. Pour le SARM, après 24h de culture, la sensibilité et la spécificité des différents milieux varient respectivement de 63% à 97% et de 93% à 99% selon les milieux et les études (100). A contrario, les milieux dédiés à la culture des EBLSE sont plus sensibles que spécifiques (voir les résultats de l'étude « Comparison of five media for detection of extended-spectrum Beta-lactamase by use of the wasp instrument for automated specimen processing » au chapitre IV.6 de ce manuscrit). Pour la recherche d'EPC, les différents milieux proposés par les fournisseurs offrent une grande diversité de sensibilité et spécificité (de 43% à 96% et 39% à 95% respectivement) (101), aucun d'eux n'ayant une valeur prédictive négative (VPN) et une valeur prédictive positive (VPP) suffisante pour statuer sur la présence d'une EPC sans test complémentaire. Ce problème de VPP et VPN est général pour l'ensemble des milieux gélosés sélectif, aucune gélose ne permettant après 24h de culture d'affirmer ou d'infirmer la présence d'une BMR/BHRe.

Aussi, des tests biochimiques ont vu le jour permettant, à partir de colonies, de déterminer la présence d'EBLSE, EPC... Par exemple, pour la détection de carbapénémase, plusieurs kits commerciaux coexistent, mais là encore, aucun d'eux n'affiche une sensibilité et/ou une spécificité de 100%. Les résultats diffèrent en fonction de l'enzyme recherchée, les enzymes de classe A (KPC) et B (NDM, IMP) répondant mieux aux tests que celles de classe C (OXA-48) (102,103). Dans ce contexte, les tests de biologie moléculaire directement utilisables à partir d'un écouvillonnage rectal, sont d'une grande utilité pour un dépistage rapide des patients porteurs. Certains test sont capables de détecter 155 cibles de

carbapénèmase (26 IMP-1, 30 VIM, 27 NDM, 33 KPC, 39 OXA-48) en moins d'une heure, avec une VPP et une VPN de respectivement 95,3%, et 99% (104). Même si ces méthodes ont leurs limites (spécificité et sensibilité <100%, détection de l'ADN bactérien et non de la bactérie viable...), elles offrent une plus grande réactivité à l'EOHH pour une implémentation rapide des PCC et autres mesures adaptées à la lutte contre la transmission croisée des BHRe. A contrario, ces techniques sont onéreuses et, en conséquence, sont souvent appliquées avec parcimonie pour éviter un surcout difficilement absorbable par le laboratoire, eu égard aux restrictions budgétaires actuelles.

4.4.5 Production de données épidémiologiques, surveillance, alerte

Le laboratoire joue également un rôle crucial dans la diffusion de l'information relative à la détection de BMR. Etant le premier informé de la présence d'un isolat BMR dans un prélèvement biologique, il est en première ligne pour avertir l'EOHH, qui relaiera l'information au niveau du service clinique. Disposant de l'ensemble des données concernant les examens de bactériologie, il est à même de produire toute une batterie de listes, requêtes, et autres extractions, permettant un suivi prospectif et rétrospectif de l'évolution de la résistance bactérienne à l'hôpital. Enfin, il est au cœur du système informatique permettant d'avertir en temps réel les services de soins qu'un patient porteur ou contact vient d'être admis dans leur unité.

Ces éléments sont développés dans les chapitres suivants, détaillant la gestion du risque infectieux à l'HEGP.

4.5 Epidémiologie des BMR/BHRe d'intérêt national

4.5.1 *S. aureus* résistant à la méticilline (SARM)

S. aureus est un pathogène majeur en santé humaine, responsable d'infections cutanées, respiratoires, ostéo-articulaires ou septicémiques. L'homme est le principal réservoir de *S. aureus*, et un pourcentage important de la population (50%) est composée de porteurs sains asymptomatiques (105), le portage asymptomatique étant considéré comme un facteur de risque d'infection.

Depuis 1961, date de description de la première souche de *S. aureus* résistant à la méticilline (16), le SARM est l'objet de toutes les attentions. Cette résistance est due à l'acquisition d'un élément génétique mobile de 21-67Kb, la "staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec)", hébergeant un gène *mecA* qui code pour une PLP2a de faible affinité pour les bêta-lactamines (106,107). On dénombre aujourd'hui plus d'une dizaine de SCCmec types dont certaines hébergent des gènes codant pour la résistance à d'autres familles d'antibiotique que les pénicillines du groupe M (107). A partir du premier clone originel de « sequence type » (ST) 250, plusieurs clones ont diffusé à travers la planète, dont le clone ibérique « EMRSA-5/ST247 » majoritaire dans les années 80 (108). Jusqu'aux années 90, la majorité des clones circulants étaient source d'infection hospitalière ou associées aux soins. Mais à partir de cette époque, des infections à SARM ont été décrites chez des patients sans antécédent d'expositions à des soins (SARM d'acquisition communautaire, CA-SARM). Ces infections, observées principalement aux Etats-Unis, impliquaient le clone ST1, également connu sous le nom de USA400, contenant la cassette SCCmec IV distincte des éléments I à III retrouvées dans la plupart des infections hospitalières, et intégrant également des gènes codant pour la toxine de Panton-Valentine. Le clone primitif USA 400 fut rapidement remplacé par le ST8 (USA300) qui était retrouvé dans 85% des isolats de CA-SARM (108). Au final, les CA-SARM qui ont par la suite diffusé en Europe appartenaient à des ST différents tels que ST80 et ST5.

Le gène *mec* confère la résistance à l'ensemble des bêta-lactamines, carbapénèmes inclus. Hors mutations récemment décrites, les souches de SARM restent sensibles à la ceftaroline, seule bêta-lactamine active (109,110), mais de nombreuses co-résistances sont souvent associées (aminosides, fluoroquinolones, macrolides). En France, durant les années 90, le clone ibérique diffusait majoritairement et présentait une résistance à l'ensemble des aminosides (gentamicine incluse), aux macrolides/lincosamides, et aux fluoroquinolones, alors que les années 2000 ont vu circuler des clones sensibles à la gentamicine et de phénotypes très variables (111,112). La large palette phénotypique rencontrée chez les souches de SARM

d'un même établissement hospitalier suggère une fréquence importante d'acquisition et de perte de gènes de résistance entre les isolats (113). Même si quelques souches de SARM résistantes aux glycopeptides ont été décrites (14 à ce jour, principalement aux Etats-Unis) (114), les SARM restent sensibles à ces antibiotiques de dernier recours.

La dichotomie évoquée plus haut entre les pays du nord de l'Europe présentant un faible pourcentage de souches de SARM invasives, et ceux du sud à forte prévalence est toujours d'actualité en 2015 (Figure 9 issue du rapport annuel de l'ECDC) (44). La Figure 10 est représentative d'un des phénotypes majoritaires isolé à l'HEGP.

Figure 3.22. *Staphylococcus aureus*. Percentage (%) of invasive isolates with resistance to meticillin (MRSA), by country, EU/EEA countries, 2015

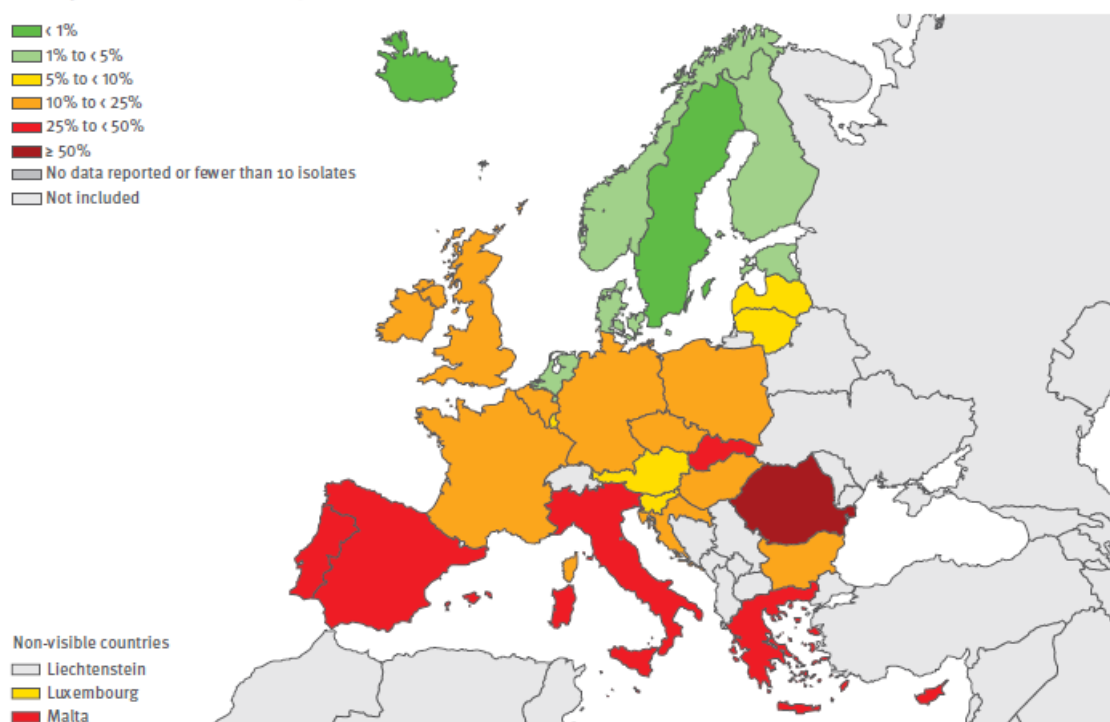


Figure 9. Prévalence des souches de SARM en Europe selon le pays en 2015. Source : rapport 2015 de l'ECDC sur la résistance bactérienne aux antibiotiques en Europe.

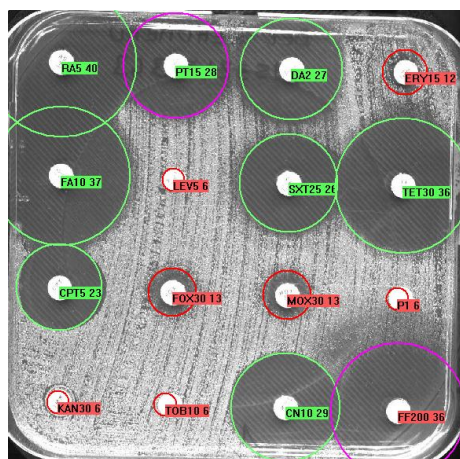


Figure 10. Antibiogramme réalisé par la méthode de diffusion en milieu gélosé sur un isolat de *S. aureus* résistant à la méticilline (SARM).

Cette souche présente une résistance croisée à l'ensemble des bêta-lactamines, à l'exception de la ceftaroline (CPT). Elle est également résistante à trois autres familles d'antibiotiques : macrolides (ERY, érythromycine), aminosides (KAN, kanamycine; TOB, tobramycine), et fluoroquinolones (LEV, lévofloxacine).

4.5.2 Entérocoques Résistants à la Vancomycine (ERV).

Les entérocoques sont des Cocci à Gram positif, bactéries commensales du tractus gastro-intestinal de l'homme et des animaux, et malgré leur nature commensale, ces micro-organismes sont devenus avec le temps des bactéries importantes retrouvées dans les infections liées aux soins (115). Tous les entérocoques présentent une sensibilité diminuée aux bêta-lactamines intrinsèque, en lien avec l'expression de PLPs de faible affinité avec ces antibiotiques, mais certaines souches, en particulier appartenant à l'espèce *Enterococcus faecium*, affichent une résistance de haut niveau à l'amoxicilline *via* la mutation d'une PLP5 spécifique (115). Chez ces souches, l'acquisition de la résistance à la vancomycine pose un problème thérapeutique majeur.

La vancomycine est une molécule qui interagit avec les précurseurs de synthèse du peptidoglycane des bactéries à Gram positif, inhibant par encombrement stérique sa réticulation. Sa cible, qui correspond à la terminaison D-ala/D-ala d'un des précurseurs penta peptidiques, peut, par mutation d'un ou plusieurs gènes impliqués dans le processus de synthèse, être modifiée et perdre tout ou partie de son affinité pour le glycopeptide (49). Plusieurs phénotypes différents ont été décrits (VanA, VanB, VanC...) conférant des niveaux de résistance variables à la vancomycine et à la téicoplanine. Les types VanA et VanB sont les plus fréquemment rencontrés, les opérons *vanA* et *vanB* étant véhiculés par des transposons de type Tn3, respectivement Tn1546 et Tn1547 (49). Depuis la première description d'une souche de *E. faecium* ERV en 1988, les ERV ont diffusé à travers le monde, en particulier grâce à la sélection opérée par l'avoparcine, un glycopeptide utilisé dans l'élevage, pour atteindre des taux de résistance très élevés dans certains pays. Aux Etats-Unis, le taux de résistance à la vancomycine dans les bactériémies à *E. faecium* a augmenté de 57,1% en 2000 à 80,7% en 2010 (49). En Europe, les différences de prévalence notées pour le SARM entre les pays du nord et ceux du sud n'ont pas été observées avec les ERV puisqu'en 2015, la Scandinavie et la France affichaient une prévalence d'isolats invasifs très faible (<1%), et que l'Espagne montrait une prévalence faible à moins de 5% contrairement à l'Irlande qui présentait une prévalence forte entre 25 et 50% (Figure 11 page suivante) (44). La Figure 12 est représentative du phénotype majoritaire des souches isolées à l'HEGP.

Figure 3.24. *Enterococcus faecium*. Percentage (%) of invasive isolates with resistance to vancomycin, by country, EU/EEA countries, 2015

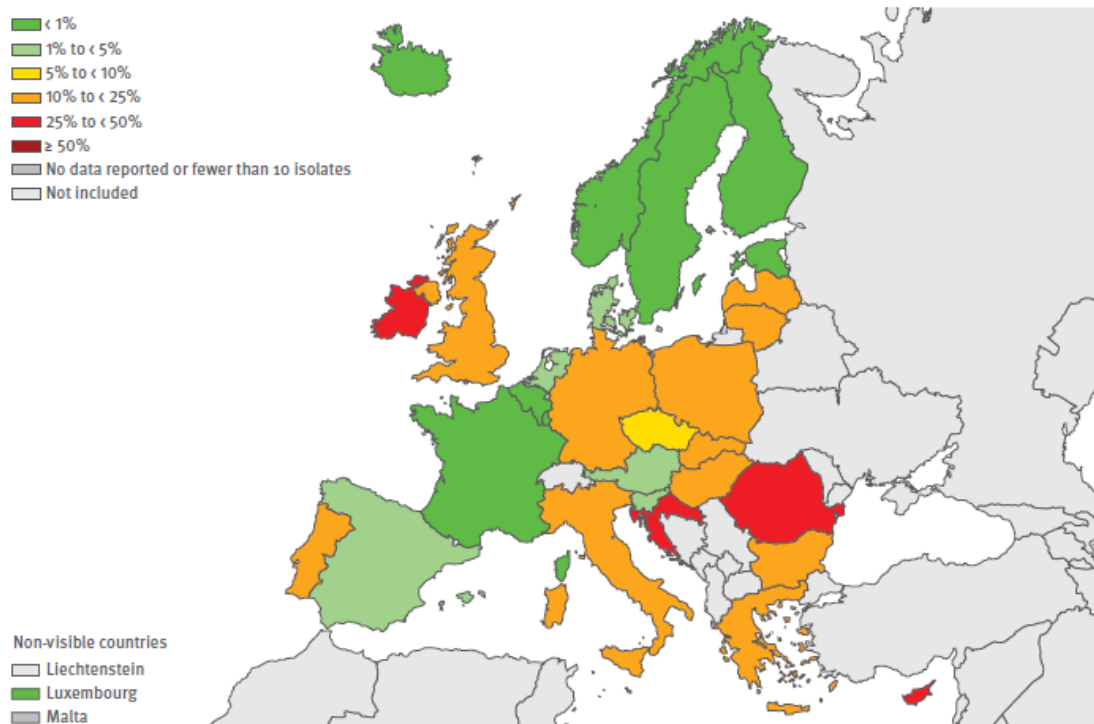


Figure 11. Prévalence des souches d'ERV en Europe selon le pays. Source : rapport 2015 de l'ECDC sur la résistance bactérienne aux antibiotiques en Europe.

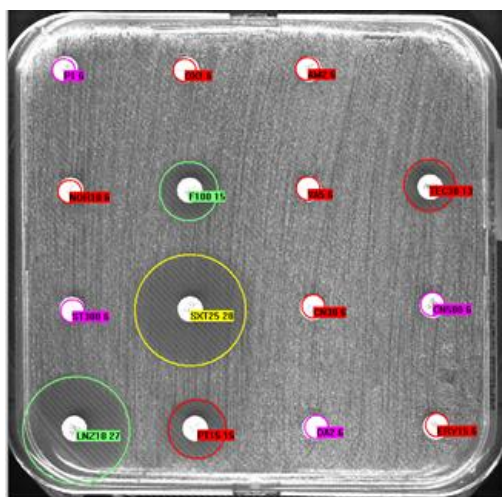


Figure 12. Antibiogramme réalisé par la méthode de diffusion en milieu gélosé sur un isolat de *E. faecium* résistant à la vancomycine (ERV).

Cette souche présente une résistance croisée à l'ensemble des bêta-lactamines, à l'exception de la ceftaroline (CPT). Elle est également résistante à trois autres familles d'antibiotiques : macrolides (ERY, érythromycine), aminosides (KAN, kanamycine; TOB, tobramycine), et fluoroquinolones (LEV, lévofloxacine).

4.5.3 Entérobactéries productrices de BLSE.

Les entérobactéries, micro-organismes commensaux du tube digestif de l'homme et des animaux, sont les bactéries les plus fréquemment isolées en pathologie humaine, et sont associées à de nombreuses infections (abcès, pneumonies, méningites, septicémies, entérites, cystites...). Dans l'enquête nationale de prévalence de 2012 concernant les infections liées aux soins, la part relative des entérobactéries était de 41% en hospitalisation à domicile et 45% en hospitalisation conventionnelle (116) (117). A l'hôpital, *E. coli* est la première espèce isolée d'infection nosocomiale avec 26% de part relative (116). Les céphalosporines de 3^{ème} génération, antibiotiques largement utilisés dans le traitement empirique des infections sévères non documentées à l'hôpital, sont généralement inactives sur les souches productrices de BLSE (118). Le support de la résistance est enzymatique, et touche l'ensemble des bêta-lactamines à l'exception des céphamycines et des carbapénèmes.

Si les premières enzymes décrites dans les années 80 étaient de type TEM et SHV (plus de 300 types sont décrits aujourd'hui), elles ont progressivement été remplacées à partir des années 90 par des enzymes de type CTX-M, codées par des gènes *bla*_{CTX-M} dont la large diffusion communautaire et hospitalière a reposé sur la diffusion clonale de certaines souches (*E. coli* ST131 et ST405, *K. pneumoniae* ST CC11 et ST147), et sur le transfert horizontal inter-espèces de plasmides (119) (120). Ces gènes sont majoritaires depuis le début des années 2000 dans l'épidémiologie des EBLSE et présentent un polymorphisme allélique important qui confère aux souches les hébergeant, un niveau de résistance variable aux C3G (par exemple, CMI au céfotaxime entre 0,5 et >256) (121). La dissémination mondiale des souches de *E. coli* hébergeant des enzymes CTX-M a été rapide et touche à la fois les secteurs hospitaliers et communautaires, les animaux de compagnie, le bétail et l'environnement. De plus, la médiation plasmidique des EBLSE favorise la diffusion de co-résistances associées (aminosides, fluoroquinolones, cotrimoxazole...) ce qui limite le choix des alternatives thérapeutiques (119). CTX-M15 a largement diffusé en Europe durant les années 2000 (122), et à l'AP-HP, une enquête de 2012 a mis en évidence la forte proportion de CTX-M-15 puisque cette enzyme a été retrouvée dans 51% des souches de *E. coli* productrices de BLSE impliquées dans une infection (123). En 2015, l'incidence hospitalière Française des BLSE était de 0,67/1000JH alors qu'elle n'était que de 0,13 en 2002 (Figure 13 page suivante) (1). La Figure 14 est représentative du phénotype majoritaire des souches d' *E. coli* productrices de BLSE isolées à l'HEGP.

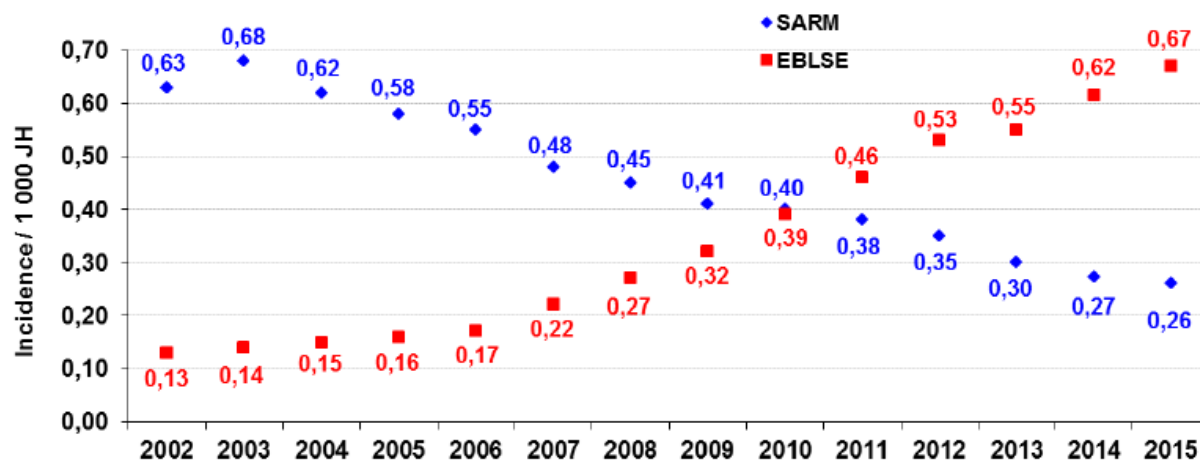


Figure 13. : Densités d'incidence des SARM et des EBLSE pour 1 000 JH (densité d'incidence globale par année) entre 2002 et 2015. Source : Surveillance des bactéries multiresistantes dans les établissements de santé en France. Rapport RAISIN 2017

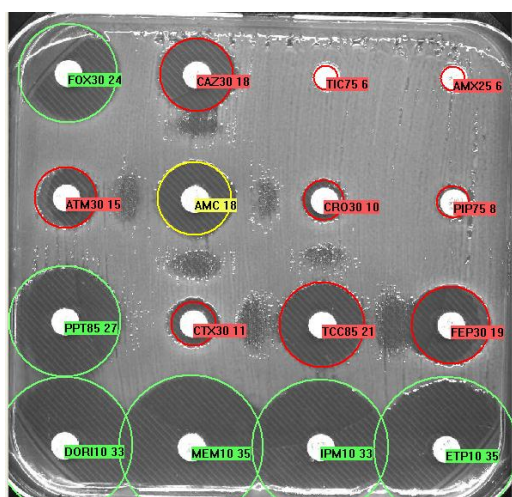


Figure 14. AntibioGramme réalisé par la méthode de diffusion en milieu gélosé sur un isolat de *E. coli*.

Les images de synergie entre l'acide clavulanique présent dans les disques d'Augmentin® (AMC) et de Timentin® (TCC), et les céphalosporines de 3^{ème} génération (CAZ, ceftazidime; CRO, ceftriaxone; CTX, céfotaxime; FEP, céfépime) et/ou l'aztréonam (ATM), sont caractéristiques de la présence d'une bêta-lactamase à spectre étendu chez cette souche.

4.5.4 Entérobactéries productrices de carbapénèmase (EPC)

Les carbapénèmes, molécules très peu hydrolysées par les β -lactamases des bactéries à Gram négatif, occupent une place de choix dans l'arsenal thérapeutique disponible pour traiter les infections impliquant des EBLSE et/ou HP-CASE.

Depuis 2001, date à laquelle fut publiée la première souche de *K. pneumoniae* hébergeant une carbapénèmase de type KPC (124), la résistance a très rapidement diffusé à travers la planète. En 2006-2007, une étude englobant 463 hôpitaux américains montrait déjà une prévalence de KPC de 10% sur l'ensemble des souches de *K. pneumoniae*. Et à partir de 2005, plusieurs épidémies étaient décrites en Grèce, Israël et Italie (28). Ce succès rapide a reposé sur la diffusion du gène de résistance *bla*_{KPC} chez un clone prédominant, le ST-258 (119), qu'on retrouvera dans les différentes épidémies. Depuis, d'autres gènes de résistance conférant la résistance aux carbapénèmes (NDM, VIM, OXA ...), ont été retrouvés dans des épidémies à travers la planète (28). Certains pays du bassin méditerranéen présentent une prévalence endémique forte (Figure 15) (44).

Figure 3.9. *Klebsiella pneumoniae*. Percentage (%) of Invasive Isolates with resistance to carbapenems, by country, EU/EEA countries, 2015

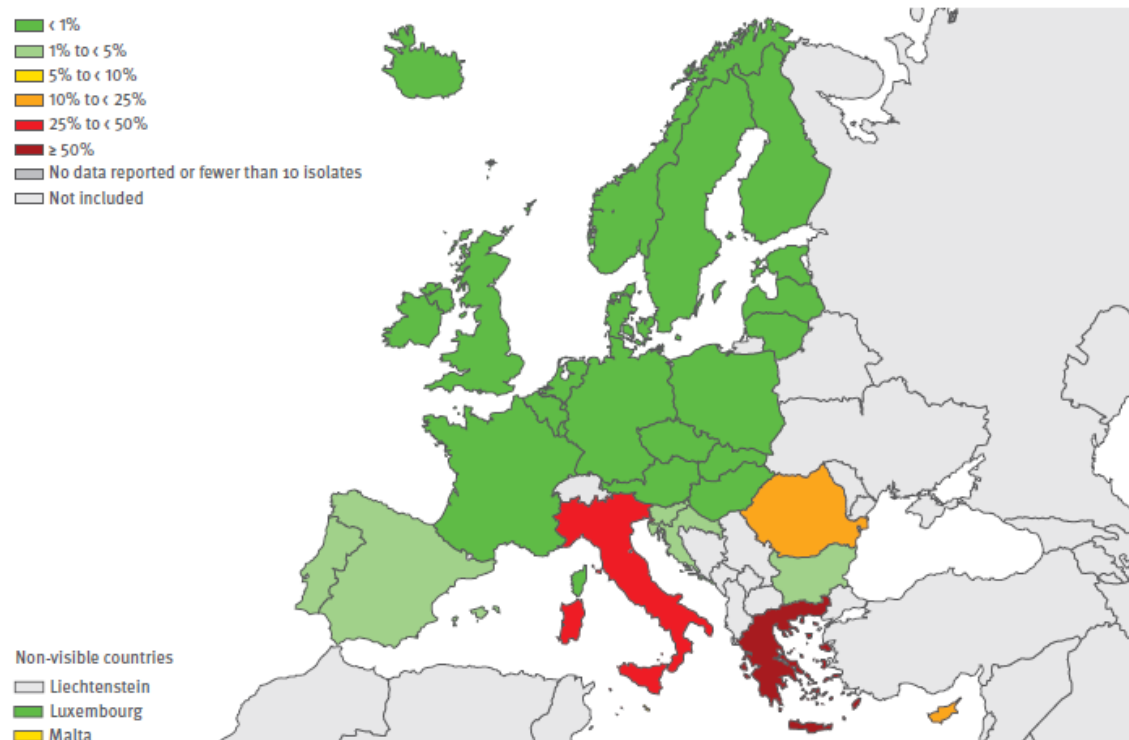


Figure 15. Prévalence des souches de *K. pneumoniae* productrices de carbapénèmase en Europe selon le pays. Source : rapport 2015 de l'ECDC sur la résistance bactérienne aux antibiotiques en Europe.

En France, le nombre d'épisodes impliquant des EPC ne cesse d'augmenter ces dernières années, le nombre de signalements étant passé de trois en 2008 à 604 en 2015 (Figure 16).

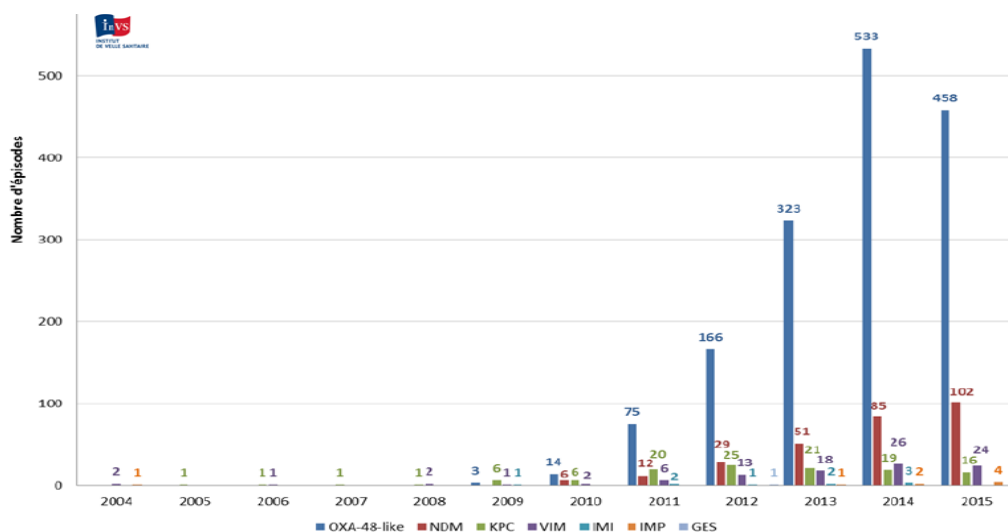


Figure 16. Répartition des épisodes impliquant des entérobactéries productrices de carbapénèmes en France signalés à l'InVS entre janvier 2004 et le 4 septembre 2015, selon les mécanismes de résistance impliqués et l'année de signalement (N=2 026). Source INVS/RAISIN

L'expression de ces gènes de résistance confère des niveaux de résistance variables aux carbapénèmes, rendant parfois délicate leur mise en évidence, en particulier l'OXA48. L'explosion de la résistance aux C3G par la diffusion massive de souches productrices d'EBLSE et de HP-CASE a entraîné une augmentation de la consommation des carbapénèmes, sélecteurs efficaces des souches d'EPC. Enfin, la présence chez certains isolats bactériens de BLSE associée à une carbapénémase leur confère une multi-résistance offrant peu d'alternatives thérapeutiques (Figure 17)

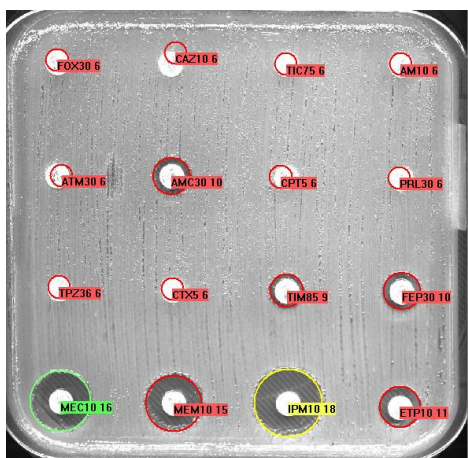
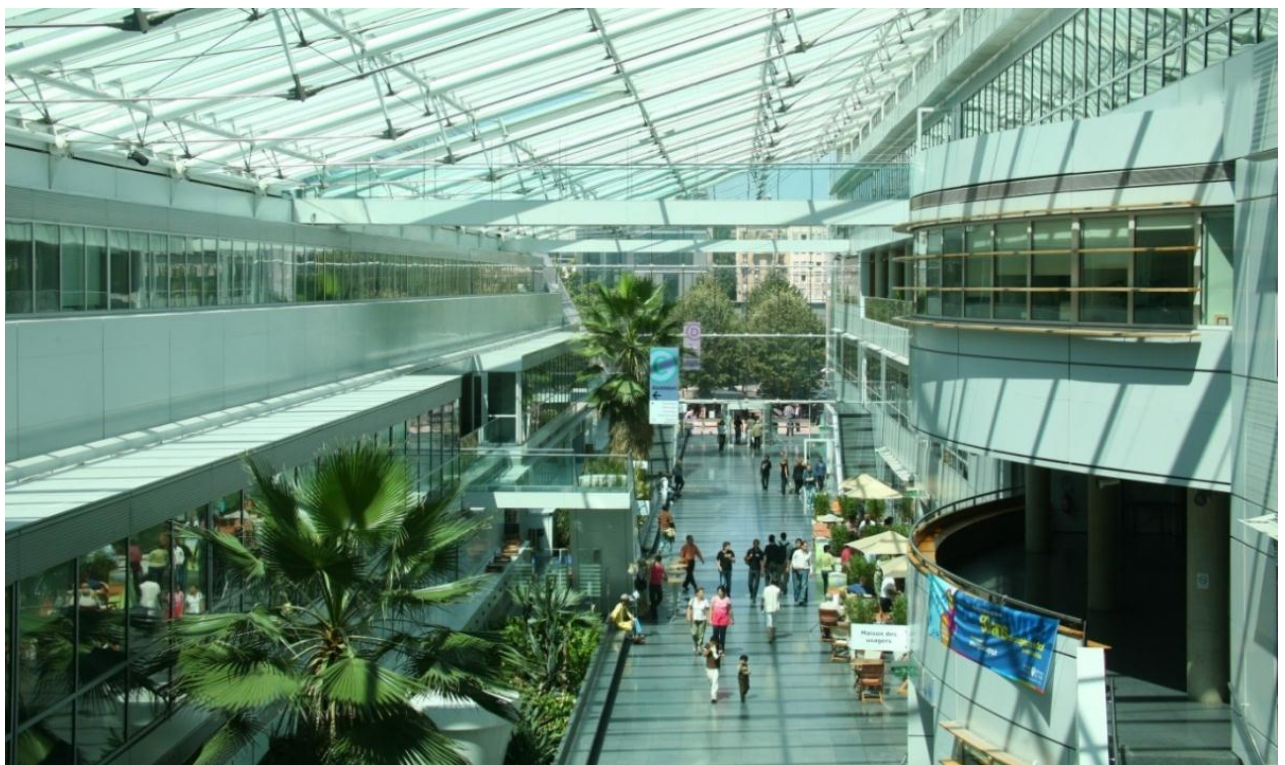


Figure 17. Antibiogramme réalisé par la méthode de diffusion en milieu gélosé sur un isolat de *K. pneumoniae* productrice de carbapénémase (EPC).

5 CONTEXTE LOCAL : GESTION DU RISQUE INFECTIEUX A L'HEGP



5.1 L'HEGP, hôpital neuf totalement informatisé

L'HEGP est un Centre Hospitalo-Universitaire appartenant à l'AP-HP et rattaché à la faculté de médecine Descartes Paris 5. Il a ouvert ses portes en juin 2000. Avec les hôpitaux Corentin Celton et Vaugirard-Gabriel-Pallez, il constitue le GHU-Paris-ouest. L'HEGP couvre les besoins en soins d'un bassin de population de 600 000 habitants, en proposant des spécialités médicales variées, principalement axées sur les pathologies cardio-vasculaires, la cancérologie et la traumatologie, et réparties dans 22 unités administratives correspondant chacune à une discipline médicale. Sa capacité d'accueil en lits de réanimation et de soins intensifs est importante (99 lits sur un total de 814), et se distribue entre les trois réanimations (médicale, chirurgicale polyvalente, et cardio-vasculaire), et les deux unités de soins intensifs (cardiologie et pneumologie). Une des caractéristiques de cet hôpital moderne réside dans sa forte proportion de chambres individuelles puisque celles-ci représentent 85% de l'ensemble des chambres pouvant accueillir les patients. Cette caractéristique apporte une plus-value importante dans la lutte contre la transmission croisée des BMR puisqu'elle permet un isolement géographique des patients, les uns par rapport aux autres.

Dès l'ouverture de l'HEGP, une politique globale de lutte contre la diffusion des BMR a été initiée, avec une implication forte des instances officielles (CLIN, EOHH, COMAI), du Service de Microbiologie, et des correspondants médicaux et paramédicaux de chaque service clinique. Sous la direction d'un binôme proactif (président du CLIN et praticien en hygiène), la batterie de mesures liées aux recommandations nationales de maîtrise de la transmission croisée (hygiène des mains, PCC...) ont été mises en place rapidement. En parallèle, grâce à l'implication d'un président moteur, la COMAI a initié une politique de bon usage des antibiotiques, *via* la rédaction de recommandations et d'une surveillance renforcée de la nécessaire révision des traitements antibiotiques à 48-72h avec les résultats microbiologiques. Cette politique proactive de maîtrise du péril infectieux s'est organisée concomitamment à un douloureux épisode épidémique de légionelloses, nécessitant la mise en place rapide de mesures correctives environnementales, pour compenser des défauts conceptuels de construction (bras morts, température eau chaude...).

Même si l'ambition initiale de gérer l'hôpital uniquement *via* des systèmes informatiques a mis du temps à voir le jour dans son intégralité, le système informatique de l'HEGP a permis de mettre en place des innovations intéressantes dans la lutte contre les BMR :

- Prescription informatique des examens de laboratoire
- Serveur de résultats des examens de laboratoire
- Prescription informatique des anti-infectieux

- Logiciel dédié pour le suivi des consommations d'anti-infectieux et des solutions de SHA
- Logiciel d'alerte de portage de BMR pour les patients réadmis et changeant de service (tout d'abord en mono-site puis en multi-sites sur le GHU)

Tous ces outils informatiques ont permis de surveiller, de tracer, d'établir des tableaux de bords avec des indicateurs numériques, et d'analyser ces indicateurs pour évaluer la politique mise en place sur cet établissement et les interventions de contrôle.

5.2 L'unité mobile de microbiologie clinique (UMMC)

Un des points forts de la politique du bon usage des antibiotiques à l'HEGP, a été la constitution dès l'ouverture de l'hôpital, d'une UMMC, rattachée au laboratoire de microbiologie, et spécialisée dans le conseil en anti-infectieux à destination des cliniciens. Cette unité, constituée d'infectiologues et basée en Microbiologie, a pour rôle de faire le lien entre le laboratoire et les services cliniques, et, en collaboration avec les cliniciens, d'optimiser la prise en charge diagnostique et thérapeutique des pathologies infectieuses.

- **Du service de microbiologie vers le service clinique** : rapidité du rendu des résultats (hémocultures, liquide céphalo-rachidien, sensibilité aux antibiotiques...) permettant une discussion en temps réel pour la prise en charge diagnostique et thérapeutique. Tous les jours de la semaine (samedi, dimanche et jours fériés inclus) l'UMMC se déplace systématiquement dans les trois réanimations et l'unité de soins intensifs de pneumologie, et dans les autres services pour toutes les hémocultures positives et les prélèvements cliniques les plus importants.
- **Du service clinique au service de microbiologie** : pour une meilleure gestion des prélèvements microbiologiques (augmentation du temps d'incubation des hémocultures, réalisation de techniques particulières, techniques de biologie moléculaire...) permettant l'optimisation du diagnostic et donc de la thérapeutique.

Cette activité permet une « supervision » des traitements anti-infectieux et participe au contrôle de la consommation des antibiotiques, par l'évaluation à 48h de toutes les antibiothérapies initiées dans 12 services médicaux et chirurgicaux de l'hôpital, permettant une réadaptation de ces antibiothérapies (arrêt dans 20% des cas).

5.3 Particularité locale des conditions d'application des PCC

S'appuyant sur une prévalence forte des patients porteurs de BMR en réanimation, et sur une architecture particulière de ces unités à l'HEGP (box individuels permettant un isolement géographique des patients), il a été décidé dès l'ouverture de considérer tous les patients de réanimation comme potentiellement porteurs de BMR, et de leur appliquer systématiquement les PCC. D'où quelques différences par rapport aux recommandations nationales :

- Pas de dépistage systématique des BMR à l'entrée en réanimation
- Implémentation systématique des PCC à l'entrée en réanimation quel que soit le statut du patient (porteur de BMR ou pas).
- Dépistage systématique d'EBLSE et de SARM en sortie de réanimation.
- Implémentation des PCC dans le service d'aval, dans l'attente des résultats des prélèvements de dépistage par le laboratoire de bactériologie.
- Levée des PCC si les dépistages sont négatifs.
- Maintien des PCC jusqu'à la sortie du patient de l'hôpital si un dépistage est positif.

Pour tous les patients admis dans les autres services de l'hôpital (hors réanimation), les PCC ne sont mises en place que si le patient est porteur de BMR ou connu comme ancien porteur. La connaissance du statut BMR est liée aux résultats des examens de microbiologie, à l'alerte informatique BMR, et accessoirement, aux informations fournies par les autres centres hospitaliers. Il n'existe pas de politique générale systématique de dépistage BMR pour tous les patients admis, ni de dépistage BMR pour des patients dits à risque de portage, ni de dépistage BMR pour les patients connus porteurs. En revanche, les patients suspectés de portage de BHRe sont systématiquement dépistés à l'admission. La connaissance du statut BHRe provient des mêmes sources que les BMR, auxquelles s'ajoute un questionnaire à l'admission pour déterminer si le patient a précédemment été hospitalisé dans une région endémique.

6 MON TRAVAIL DANS LA GESTION DU RISQUE INFECTIEUX

Présent dès juin 2000 dans l'équipe technique du laboratoire de Microbiologie de l'HEGP, j'ai été nommé ingénieur en 2002 sur un projet épidémiologique me confiant la responsabilité de la mise en place, du traitement et de l'exploitation des données relatives à l'écologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques sur l'établissement. L'hôpital étant neuf, il a fallu choisir et paramétrer les logiciels servant au suivi de la résistance bactérienne et à l'exploitation des données épidémiologiques. C'est le point de départ de ma réflexion sur le choix des marqueurs de résistance à suivre, l'intérêt de certaines requêtes épidémiologiques, l'analyse des besoins des cliniciens... Au décours de l'avancée du projet, il m'est apparu que les problématiques de paramétrage, initialement purement techniques et méthodologiques, dépassaient le cadre de l'ingénierie de laboratoire pour intégrer celui de la recherche scientifique, intellectuellement plus enrichissant. Le praticien en hygiène de l'époque, le président du CLIN, le responsable de la COMAI... ont été autant d'interlocuteurs qui ont nourri ma réflexion, et qui m'ont invité à inventorier et à m'inspirer des travaux déjà publiés sur ces thématiques, celles-ci dépassant le périmètre de leurs compétences habituelles. En parallèle de cette activité, je travaillais déjà depuis 1999 (obtention d'un DEA d'écologie bactérienne) sur des sujets de recherche plus fondamentaux concernant les mécanismes moléculaires de résistance aux antibiotiques. Mais mon rôle dans ces études scientifiques était nettement plus cadré. Le projet épidémiologique sur l'HEGP m'a conféré une grande liberté d'action et de réflexion, ce qui m'a permis d'enrichir mes savoirs et d'évaluer le déficit en connaissances sur le sujet. C'est le début d'un processus ininterrompu, qui débute à chaque fois par une recherche d'informations, se poursuit par le constat d'un manque de réponse satisfaisante, continue par une étude interne, et se termine par une publication. Mes premières études, publiées en langue française dans des journaux à facteurs d'impact modestes, sont colligées dans les annexes en fin de thèse (trois articles et un poster référencés à la table des matières comme annexes n° 1 à 4). Par la suite, l'expérience et les connaissances s'épaississant, je me suis lancé dans des travaux plus ambitieux, dépassant le simple cadre de l'analyse de données, pour m'aventurer sur le terrain de la maîtrise de la diffusion hospitalière des BMR. Ces études ont conduit à la publication d'articles dans des revues de langue anglaise à facteur d'impact plus élevé, qui constituent le corpus principal de cette thèse de sciences (cinq articles référencés à la table des matières comme « articles de la thèse n° 1 à 5 »). J'ai choisi de présenter l'ensemble de ces études selon un mode essentiellement chronologique (études numérotées de 1 à 9), ce classement me semblant le plus pertinent pour rendre compte à la fois de l'évolution du système de surveillance du risque infectieux lié aux BMR à l'HEGP, et de l'évolution de ma réflexion scientifique sur ce thème.

6.1 Paramétrage de la base de données d'épidémiologie

6.1.1 Le stockage des données épidémiologiques

Ces données proviennent des résultats des examens bactériologiques analysés au laboratoire à des fins d'identification bactérienne et de cartographie des profils antibiotiques des germes isolés. Elles sont stockées dans une base de données dédiée à l'épidémiologie (BDD-E) initialement hébergée dans le service de bactériologie puis virtualisée au niveau du service informatique. Cette BDD-E est intégrée à un concentrateur de données couplé à un requêteur : le Sirweb (I2a, Montpellier, France), qui permet aujourd'hui d'interfacer le Système Informatique du Laboratoire (SIL) et tous les automates de bactériologie : automate de cytologie urinaire, Maldi-tof dédié à l'identification bactérienne, automate d'incubation des hémocultures... et surtout, les lecteurs SIR des antibiogrammes, sources de toutes les données sur la résistance bactérienne sur le GHU. Au début des années 2000, le système n'était pas aussi abouti, mais le requêteur épidémiologique était déjà en place. Pour que l'homogénéité des données soit parfaite entre la BDD-E et le SIL, le chemin de validation du couple identification/antibiogramme est toujours le même : analyse et validation technique sur les SIR, puis validation médicale sur le SIL. Si une modification doit être apportée, celle-ci est confiée à l'équipe technique qui modifie le résultat sur le SIR, puis qui réexporte le résultat vers le SIL, et ceci autant que nécessaire. Quand le biologiste valide le résultat, ce dernier devient accessible aux cliniciens sur le serveur de résultats des services de soins, et les données sont identiques sur le SIR (BDD-E) et sur le SIL.

Partant d'une BDD-E vierge, il m'a fallu fiabiliser les données en établissant un processus normatif d'extraction et d'analyse des informations fournies par la BDD-E. La normalisation avait pour but de pouvoir établir des comparatifs sur différentes périodes en s'assurant que les différences potentiellement observables ne provenaient pas d'un artéfact méthodologique. De même, cette méthode de travail autorisait les comparaisons interservices voire, dans certaines circonstances, inter-établissements. Ce processus m'a conduit à engager une réflexion sur plusieurs aspects méthodologiques de paramétrage de cette base. L'exploitation des données reposant essentiellement sur la production d'indicateurs numériques (taux de résistance, incidence pour 100 patients, densité d'incidence pour 1000 jours, écologie bactérienne issus des principaux types de prélèvements...), stratifiés par hôpital ou par spécialité médicale, je me suis interrogé sur les questions suivantes :

- Un taux de résistance correspond-il à des souches résistantes ou non-sensibles ?
- Quels prélèvements doit-on intégrer dans les requêtes ?
- Quels services doit-on inclure dans les requêtes ?

- Comment gérer les souches redondantes des multiples prélèvements collectés chez un patient ?
- Quelle est la durée la plus pertinente pour le suivi répétitif des données ?
- Comment rétro-informer les services sur les données les concernant ?
- En dehors des données de résistance bactérienne, quelles autres données sont intéressantes à connaître pour un hôpital ou un service ?

6.1.2 Catégories de résistance

Les résultats de l'antibiogramme, rendant compte de la résistance bactérienne aux antibiotiques peuvent être exprimés sous plusieurs formats : i) en catégories cliniques Sensible/Intermédiaire/Résistant (S/I/R), ii) en valeur quantitative (diamètre de la zone d'inhibition et/ou CMI), iii) en phénotype de résistance (présence d'une pénicillinase, résistance aux macrolides par phénotype MLSb...), iv) en résultats de tests qualitatifs (détection de la PLP2a, signe d'une résistance croisée aux bêta-lactamines chez les Staphylocoques...). Majoritairement, les résultats sont rendus sous un format S/I/R. En complément, certains couples "espèce bactérienne/antibiotique" nécessitent un rendu en CMI comme *E. faecium*/amoxicilline, *S. pneumoniae*/céfotaxime...

Partant de ce principe, l'analyse statistique des données de la résistance bactérienne aux antibiotiques s'appuie principalement sur les résultats S/I/R. Pour autant, entend-on par « résistant » une souche réellement résistante à un antibiotique donné, c'est-à-dire dont la CMI est supérieure à la valeur critique définie par le CASFM (86), ou considère-t-on qu'à partir du moment où la souche est catégorisée « intermédiaire » (« I »), selon les valeurs CASFM, cette souche est « non sensible » et présente donc un premier niveau de résistance à l'antibiotique étudié, devant de ce fait être considérée comme résistante. Cette catégorie intermédiaire pose question car le succès thérapeutique avec l'antibiotique dont la sensibilité est catégorisée « I » est incertain, mais le traitement peut dans certains cas être initié en fonction de critères pharmacocinétiques, pharmacodynamiques et en association avec d'autres molécules dont la synergie est avérée. En clair, hors souche toto-résistante qui offre très peu de choix thérapeutique au clinicien, l'antibiotique utilisé pour le traitement du patient est choisi parmi les molécules rendues sensibles sur l'antibiogramme. Pour l'antibiothérapie empirique sur infection non documentée, le choix du praticien se tournera donc vers les molécules qui statistiquement offrent le plus de chance de succès thérapeutique, à savoir ni « résistante », ni « intermédiaire » En conséquence, il a été acté que les taux de résistance

diffusés aux acteurs de terrain (cliniciens, COMAI, hygiène...) devaient se baser sur les souches « non sensibles ».

L'analyse des données de la résistance bactérienne aux antibiotiques sous un format "S" vs non "S" présente l'avantage majeur d'être dénuée d'ambiguïté. De plus, elle se présente sous une forme usuellement rencontrée par les prescripteurs pour guider leur choix thérapeutique, donc facilement utilisable par les cliniciens. En revanche, elle rencontre quelques limites. Tout d'abord, la perte d'information de la catégorie "I". Cette catégorie peut se révéler utile dans certains cas particuliers, comme chez les BMR, notamment celles présentant un profil de toto-résistance (souches de *P. aeruginosa* isolées chez les patients atteints de mucoviscidose par exemple). Ensuite, le manque de subtilité. Comme présentée plus tôt dans ce manuscrit, la résistance bactérienne est souvent sourde au début, puis se renforce et diffuse au cours du temps en s'appuyant sur la pression de sélection et la transmission croisée. Une analyse plus fine, intégrant la variabilité dans le temps des CMI par antibiotique rend compte de cette évolution. Par exemple, une souche de *S. pneumoniae* est catégorisée sensible à l'amoxicilline quand celle-ci est inférieure ou égale à 0,5 µg/mL. Le plus souvent, une souche sauvage présente une CMI <0,06 µg/mL. Si statistiquement, la CMI₅₀ (plus faible CMI inhibant la multiplication de 50 % d'un panel de souches bactériennes) passe de 0,06 µg/mL à 0,25 µg/mL pour une population bactérienne donnée, cela suggère une diminution globale de la sensibilité des souches de pneumocoques, alors que ces deux CMI₅₀ correspondent à une catégorisation "sensible". Dans ce cas, le format d'analyse S/I/R ne rend pas compte de cette évolution de sensibilité.

J'ai donc choisi le format "S" vs non "S" comme format majoritaire des requêtes épidémiologiques systématiques à l'HEGP. Ceci posé, les autres formats sont parfois utilisés pour des études ponctuelles.

6.1.3 Sélection du type de prélèvement inclus dans les requêtes

Il existe deux grands types d'examen de bactériologie. Tout d'abord, les examens issus de prélèvements à visée diagnostique (également appelés prélèvements cliniques), qui sont collectés lorsqu'une infection est suspectée. Le site anatomique du prélèvement est en lien avec le site du foyer infectieux suspect. Ce site peut traduire une infection localisée (pus prélevé à partir d'un abcès) ou une infection systémique (hémoculture lorsqu'une septicémie est envisagée).

Depuis l'émergence et la diffusion des BMR, et plus encore depuis l'apparition des BHRe, de nombreux prélèvements de dépistage sont effectués pour repérer précocement les

patients porteurs, afin d'implémenter au plus tôt les PCC et autres mesures définies pour limiter la transmission croisée de ces micro-organismes. L'inflation du nombre de ces prélèvements est forte depuis quelques années, et est à la fois le reflet de la politique de dépistage décidée par l'EOHH et le CLIN dans chaque établissement, et de la prévalence des patients porteurs et contact de BHRe. L'alerte BMR, en signalant les patients porteurs réadmis, et en incitant les services à vérifier si le patient est toujours porteur, participe également à la croissance régulière du nombre d'examens de dépistage pratiqués.

Ces deux types de prélèvements sont informatifs mais sont très rarement miscibles dans les mêmes requêtes épidémiologiques. Dans la BDD-E, la grande majorité des requêtes portant sur les taux de résistance ou sur le nombre de patients porteurs de BMR/BHRe, incluent les prélèvements à visée diagnostique et excluent les prélèvements de dépistage, pour rendre compte d'une écologie bactérienne issue de patients infectés et non de porteurs asymptomatiques (même si la définition d'infection relève plus de critères cliniques que microbiologiques).

Un biais peut exister dans le mélange des genres entre les deux types de prélèvements. Par commodité de prescription, ou par méconnaissance de l'impact de la confusion, la prescription d'un prélèvement de plaie peut, par exemple, remplacer celle d'une recherche de SARM, car le clinicien veut s'informer d'un portage cutané de SARM et/ou de *P. aeruginosa* et/ou de bacilles à Gram négatifs producteurs de BLSE... Dans ce contexte, un résultat positif de recherche de SARM sera imputable à un prélèvement à visée diagnostique au lieu d'un prélèvement de dépistage. Un "mauvais étiquetage" de prélèvements de dépistage peut être la source d'une majoration du calcul de l'incidence d'une BMR.

6.1.4 Sélection du type de patient inclus dans les requêtes

De la même manière, deux types de patients se croisent à l'hôpital : i) ceux qui sont hébergés au moins une nuit (hospitalisés de plus de 24h), et ii) ceux dont le séjour est inférieur à 24h et qui viennent soit en consultation, soit en hospitalisation de jour pour une chirurgie ambulatoire, une séance de dialyse... Les souches bactériennes isolées chez les patients de la première catégorie sont représentatives de l'écologie hospitalière, alors que les isolats trouvés chez les patients de la deuxième catégorie, sont plutôt caractéristiques de l'écologie communautaire. Même si certaines consultations concernent d'anciens patients hospitalisés, il n'est pas possible de différencier les patients en consultation précédemment hospitalisés de ceux sans séjour antérieur. Aussi, sauf exception et demande ponctuelle, l'exclusion des patients dont le séjour n'excédait pas 24h (consultation, séance,

hospitalisation de jour, hospitalisation à domicile) a été la règle pour l'ensemble des requêtes épidémiologiques produites à l'HEGP.

Ce choix est d'autant plus important que les calculs d'incidences reposent sur un ratio intégrant un nombre de souches ou de cas-patients divisé par un nombre d'admis ou d'hospitalisés. Dans un souci de cohérence, et afin d'obtenir des résultats interprétables, il est obligatoire d'avoir le même type d'information au numérateur et au dénominateur. L'extraction du nombre d'admis et d'hospitalisés à partir du système informatique hospitalier ne doit prendre en compte que les patients en admission complète. La qualité de l'interprétation des données épidémiologiques repose sur la fiabilité de l'information "service" issue de la BDD-E, et sur la différenciation entre "patient hospitalisé" vs "patient en consultation/HDJ". Aussi, la performance des logiciels informatiques déployés dans l'institution (direction informatique, laboratoire, service de gestion...) est un élément fondamental du degré de confiance accordé aux données recueillies.

6.1.5 Etude n° 1 : gestion des souches redondantes (Annexe n°1).

Si les trois questions précédentes ont été tranchées assez rapidement, celle des doublons m'a posé plus d'interrogations car il n'existait aucun consensus international sur la méthode d'élimination des doublons. Lorsque l'on veut extraire des données *via* une requête épidémiologique, on peut schématiquement définir deux façons d'éliminer les souches redondantes d'une base de données :

- En amont des requêtes, ce qui nécessite un paramétrage de la BDD-E. Il s'agit de pré-marquer chaque isolat bactérien selon des critères définis : phénotypiques, temporels, liés au prélèvement ou au service... Ce marquage peut s'effectuer :
 - ✓ Au moment de la validation des antibiogrammes, en allant chercher les antécédents de souches et en déterminant si l'isolat à valider est doublon de tel autre ou pas.
 - ✓ Ou à posteriori en utilisant les règles d'un système expert dédié.
- Au moment des requêtes. Il s'agit alors de prendre la BDD-E dans son entier, d'y appliquer dans un premier temps des critères de sélection (par exemple telle espèce bactérienne dans tel service, sur telle période), puis, dans un second temps, sur le sous-ensemble de la BDD-E, éliminer les souches redondantes, en accord avec les critères phénotypiques choisis.

La BDD-E installée à l'HEGP fonctionne selon le système de marquage des doublons en amont des requêtes, selon un processus a posteriori nécessitant de paramétrer un système

expert. A la recherche d'un référentiel, j'avais à l'époque consulté le guide de « Recommandations méthodologiques pour la surveillance de la résistance aux antibiotiques dans les laboratoires de microbiologie » édité par l'Observatoire National d'Etude de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques (ONERBA). La méthode de dé-doublonnage ONERBA, est une méthode phénotypique fondée sur la comparaison des antibiogrammes, et sur la quantification des différences existant entre la sensibilité des antibiotiques testés chez la souche primaire et ceux de son doublon potentiel. Les différences peuvent être majeures : Sensible vs Résistant ($S \leftrightarrow R$) ou mineures : Sensible vs Intermédiaire et Intermédiaire vs Résistant ($S \leftrightarrow I$ et $I \leftrightarrow R$). Cette méthode ne définit pas la période requise pour qu'une souche secondaire, identique phénotypiquement à la souche isolée précédemment, soit considérée comme non doublon de la souche primaire. L'ONERBA ne statuait pas plus sur le degré de tolérance des différences (nombre de majeures et de mineures, antibiotiques à inclure et à exclure...).

En parallèle, j'avais comparé la méthode préconisée par le National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), aujourd'hui CLSI, dite du rang de germe, qui repose uniquement sur des critères de temps. Elle consiste à ne retenir que le premier isolat de chaque espèce par année d'étude, quel que soit son phénotype. Si cette méthode est nettement plus simple à mettre en place qu'une méthode phénotypique, elle comporte le désavantage majeur d'éliminer des souches résistantes quand elles sont isolées postérieurement à des souches sensibles (SARM après SASM par exemple).

Dans ce contexte, j'ai imaginé un système intermédiaire pour l'HEGP mixant les deux types de critères : phénotypique et temporel. Après plusieurs essais sur la BDD-E, j'ai défini les critères de dédoublonnage à appliquer aux isolats redondants : deux isolats de la même espèce provenant d'un même patient sont considérés comme identiques s'ils ne présentent pas plus d'une différence majeure et trois différences mineures dans leurs profils antibiotiques respectifs. De plus, moins d'un mois doit séparer les deux isolats pour considérer le deuxième comme doublon du premier. Pour évaluer la pertinence et l'impact du choix de la méthode de dédoublonnage sur le taux de résistance, j'ai fait varier plusieurs paramètres phénotypiques (nombre d'antibiotiques pris en compte dans la comparaison, nombre de différences majeures et mineures tolérées) et temporels (délai entre deux isolats). Les taux de SARM obtenus en intégrant ces différents paramètres ont été comparés au taux de SARM obtenu à l'aide des critères choisis pour l'épidémiologie de l'HEGP.

Avec les critères mis en place à l'HEGP, le taux de SARM était de 31,1%. En prenant l'ensemble des isolats de *S. aureus* sans éliminer les doublons, le taux était de 34.0% ($p=0,002$). En utilisant les critères ONERBA et NCCLS, ce taux était respectivement de

33,8% ($p=0,002$) et 27,8% ($p=0,01$). La variation d'autres paramètres conduisait également à des taux de SARM significativement différents (délai entre deux doublons ramené d'un mois à cinq jours, aucune différence majeure et mineure tolérée). L'ensemble des résultats de cette étude est présenté en annexe n°1 (*Selection of relevant duplicate criteria in the monitoring of Staphylococcus aureus methicillin resistance trends, 2005, Pathologie Biologie*).

Cette étude m'a apporté plusieurs éléments de réponse quant à mes interrogations sur la meilleure méthode de dé-doublonnage : i) les doublons doivent être éliminés car ils majorent le taux de résistance ; ii) plus on augmente la tolérance dans les différences phénotypiques, plus on minore le taux de résistance ; iii) plus on augmente la tolérance dans le délai entre deux isolats, plus on minore le taux de résistance. Par définition, aucune méthode informatique n'assurant un dé-doublonnage moléculaire des isolats, elles sont toutes approximatives et comportent chacune des qualités et des défauts. Bien qu'imparfaits, les critères choisis à l'HEGP représentent un point d'équilibre dans la configuration des différents paramètres évoqués, le point essentiel étant de conserver la même méthodologie de travail pour pouvoir comparer les résultats intra-hospitaliers au cours du temps. Dernier point, la méthodologie est bien souvent reliée à l'outil informatique disponible au laboratoire, à ses capacités de paramétrage des doublons, et à l'étendue des requêtes configurables.

6.1.6 Etude n°2 : durée de la période d'étude (Annexe n°2)

Une fois la méthode de dé-doublonnage choisie, je me suis interrogé sur la période de sélection des souches la plus pertinente, pour la production régulière des données épidémiologiques. Au début des années 2000, l'AP-HP colligeait chaque mois de mai et juin, les données sur la résistance de *S. aureus* à la méticilline issues de chaque hôpital. Cette collecte, initialement manuelle, s'est par la suite automatisée au gré du développement et de l'implantation de systèmes informatiques de plus en plus performants. Dès les premières années, j'avais été interpellé par la différence de taux de SARM obtenu *via* le processus manuel sur deux mois, et celui obtenu annuellement grâce aux critères introduits dans notre BDD-E. De plus, à cette époque, alors que je suivais semestriellement et annuellement les taux et incidences du SARM, une différence m'était apparue entre les taux de SARM du premier et du deuxième semestre, suggérant une « saisonnalité » du SARM. Aussi, pour évaluer l'impact de la durée de la période d'étude sur le taux de SARM, j'ai fait varier celle-ci en prenant des durées de 2 mois, 3 mois, 6 mois, et d'un an, et les ai comparées à l'incidence SARM obtenue en fonction de la période choisie. Selon les années, l'incidence du SARM pouvait varier de -42% à +30% par rapport à la valeur calculée sur l'année, selon que l'on

prenne comme unité de temps le bimestre, le trimestre ou le semestre. Les écarts étaient d'autant plus grands que la période d'étude était courte. L'ensemble des résultats de cette étude est présenté en annexe n°2 (*Influence of surveillance period length on the incidence of methicillin-resistant Staphylococcus aureus, 2007, Médecine et Maladies Infectieuses*).

Avant cette étude, j'avais établi une fréquence d'extraction/production des données épidémiologique bisannuelle, afin d'être réactif si une bouffée épidémique apparaissait d'un semestre sur l'autre. La grande variabilité des résultats sur une période inférieure à 12 mois suggère que, en dehors d'un contexte épidémique avéré, le suivi de l'incidence SARM et des autres marqueurs de résistance doit se faire en intégrant l'ensemble des données de l'année écoulée, l'extrapolation des données collectées sur une durée inférieure pouvant conduire à une sur- ou sous-estimation de l'incidence réelle annuelle. Aussi, à partir de cette date, sauf cas ponctuel, la production de données épidémiologique ne s'est faite qu'une fois par an à l'HEGP.

6.2 Mise en place du réseau de surveillance de la résistance

6.2.1 Exploitation des données

Suite au paramétrage des précédents critères dans la BDD-E, j'ai pu exploiter les données pour rendre compte de l'écologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques à l'HEGP. Initialement, les requêtes étaient ponctuelles et concernaient principalement les taux de résistance et d'incidence de BMR sur l'ensemble de l'établissement. Au fil du temps, des demandes de l'UMMC qui utilisait ces données pour ses protocoles d'antibiothérapies probabilistes, et de l'EOHH qui s'en servait comme indicateurs de surveillance des BMR, les requêtes se sont multipliées (taux de résistance des principales espèces bactériennes, données par service...). Au final, je les ai colligées dans un rapport annuel, dont le premier a vu le jour en 2005 sur les données 2001 à 2004 (voir Figure 13 page 72). L'intérêt était non seulement de donner une photographie annuelle de l'état de la résistance, mais également de dégager des tendances d'augmentation ou de diminution d'indicateurs de résistance. Ainsi, sont nés des tableaux de bord dont l'évolution d'une année sur l'autre était comparable puisqu'issue de la même BDD-E intégrant des critères de sélection fixes. Enfin, en parallèle de la résistance bactérienne, je me suis rapproché de la pharmacie pour avoir accès aux données de consommation des antibiotiques et des SHA. Elles ont été intégrées au rapport annuel, pour l'hôpital dans sa globalité et pour chacun des 22 services le composant, établissant ainsi des tableaux de bord composites pour chaque service. Aujourd'hui, l'HEGP dispose d'une base de données portant sur une période prospective de recueil de 16 années.

6.2.2 Distribution de listings de surveillance

En parallèle, s'est progressivement constitué un réseau de surveillance des infections nosocomiales et des infections du site opératoire, initialement au sein de l'HEGP, puis au sein du GHU. Utilisant la BDD-E, j'ai configuré des processus automatiques d'extraction, qui, à chaque début de mois, extraient, mettent en forme et envoient par mail, des listings récapitulatifs des prélèvements positifs du mois précédent d'un service donné. Chaque listing est utilisé pour : i) répertorier les infections nosocomiales une fois validées par le correspondant médical, ii) collecter les infections du site opératoire, iii) repérer une fréquence d'isolement inhabituelle d'un micro-organisme. Ces fichiers, générés et distribués aux correspondants en hygiène, sont, une fois remplis, renvoyés au praticien en hygiène, lui conférant une vision globale des infections liées aux soins.

6.2.3 Communication

Une rétro-information est organisée par l'EOHH une fois par an avec chaque service clinique pour faire le point sur la résistance, et les indicateurs de consommation de SHA et d'antibiotiques. Les correspondants médicaux et paramédicaux sont conviés deux fois par an à une réunion dont un des thèmes porte sur la résistance. Une synthèse des principales informations est communiquée lors d'une assemblée du CLIN, dont l'essentiel est rapporté devant la Commission Médicale d'Etablissement Locale par le président du CLIN.

Le rapport annuel sur l'écologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques (Figure 18) est envoyé aux acteurs de terrain utilisant ces données : biologistes du secteur de bactériologie, membres de l'UMMC, membres de l'EOHH, membres de la COMAI, correspondants médicaux en hygiène, acteurs institutionnels (chefs de pôle, direction...), ainsi que toute personne qui en fait la demande.

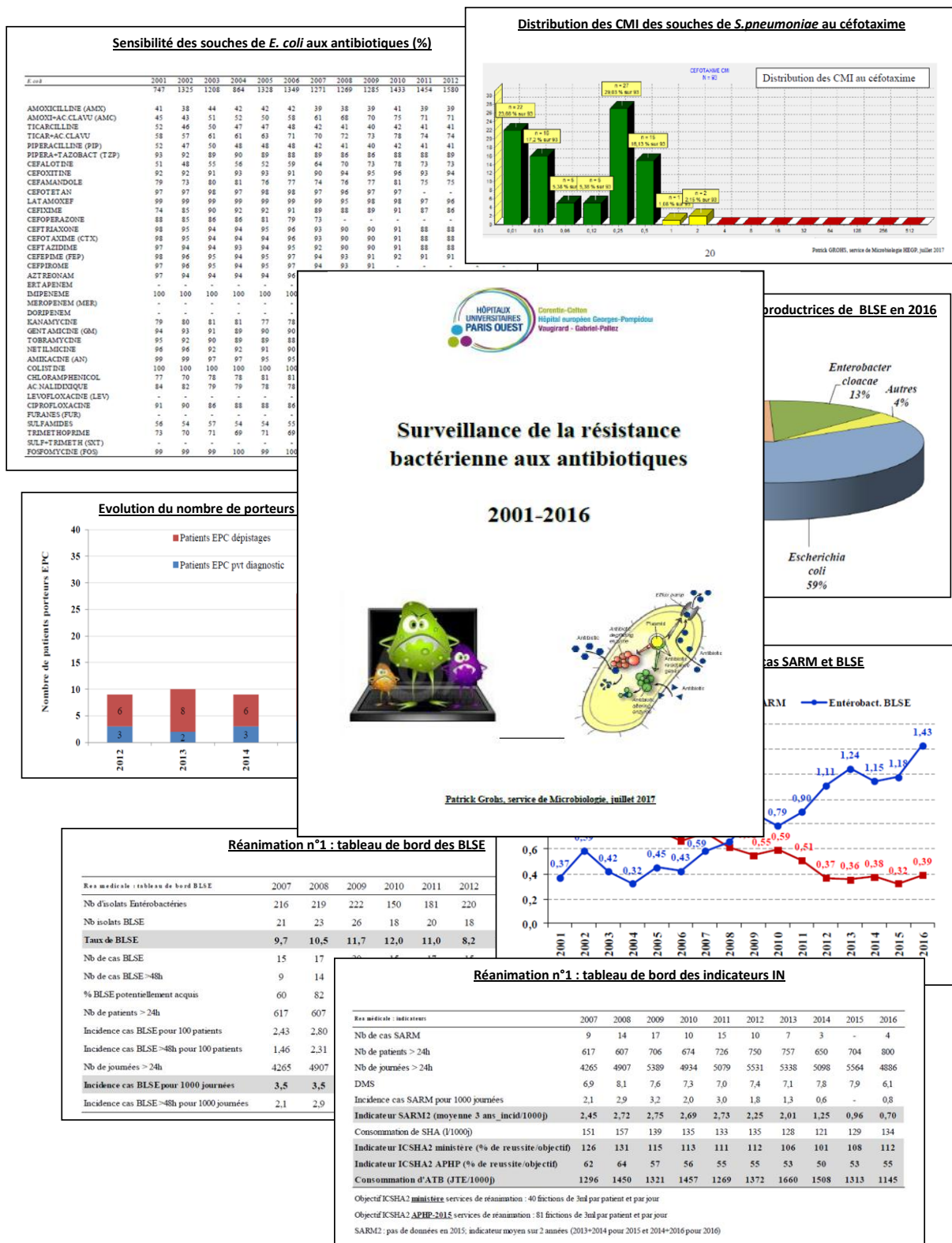


Figure 18 : exemple de données communiquées aux services cliniques dans le rapport annuel de surveillance de l'écologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques sur le groupe hospitalier. Les données de chaque service sont communiquées à l'ensemble du groupe.

6.3 Lutte contre la transmission croisée des BMR

6.3.1 Etude n°3 : alerte informatique BMR (Article n°1 de la thèse)

En 2002, un audit sur l'observance de la mise en place des PCC pour tous les patients connus comme porteurs de BMR, a été réalisé par l'EOHH sur une journée. Les résultats ont montré que pour 85% des patients porteurs, les PCC n'étaient pas respectées. Lorsque les personnels ont été interrogés sur la raison de l'absence de PCC, la réponse était le plus souvent qu'ils ne connaissaient pas le statut du patient. A l'époque, quand une BMR était isolée au laboratoire, la transmission du résultat vers l'équipe soignante se faisait sur support papier, par voie informatique (résultat du laboratoire sur le serveur dédié), mais également par l'intermédiaire de l'EOHH avertie en temps réel par les bactériologistes, et, pour les réanimations, *via* l'UMMC. En revanche, l'information se perdait assez vite si le patient était transféré dans un autre service, et disparaissait totalement lorsque, après être rentré chez lui, le patient était réadmis à l'hôpital quelques semaines ou mois plus tard.

Aussi, dès 2003, afin de réduire ce déficit en information, sur la demande conjointe de l'EOHH, du CLIN et de la Microbiologie, les informaticiens de l'HEGP furent sollicités pour développer une alerte informatique BMR. En tant que personne-ressource du laboratoire, j'ai fait l'interface entre la bactériologie, l'EOHH et l'informatique, mon rôle étant d'établir le cahier des charges de l'alerte, de définir les critères à extraire de la BDD-E, d'en expliquer le principe au développeur informatique, et de valider le système après déploiement. Une fois le périmètre de l'alerte défini (alerte sur quoi, à destination de qui, par quel circuit d'information), la principale difficulté fut de traduire des concepts médico-bactériologiques en langage informatique, à des personnels dont l'expertise est sans rapport avec le domaine médical. Des notions de bactériologie basiques telles que la différence entre une souche de *E. coli* productrice de BLSE et une souche de *E. coli* productrice de CASE (seule la première conduisant à mise en place des PCC et donc à une alerte dans le service d'accueil) est loin d'être instinctive pour des néophytes. J'ai de ce fait initié les développeurs aux fondamentaux de la microbiologie et travaillé avec eux en amont de la création de l'alerte BMR pour en définir les principes de fonctionnement, et en aval de son développement pour valider son opérationnalité. Au final, l'extraction des données issues de la BDD-E a conduit à la création d'une base de données des patients porteurs de BMR (BDD-BMR) que l'on a pu croiser avec les mouvements de patients enregistrés dans un logiciel dédié (Gilda) pour déclencher des alertes informatiques (Figure 19 page suivante).

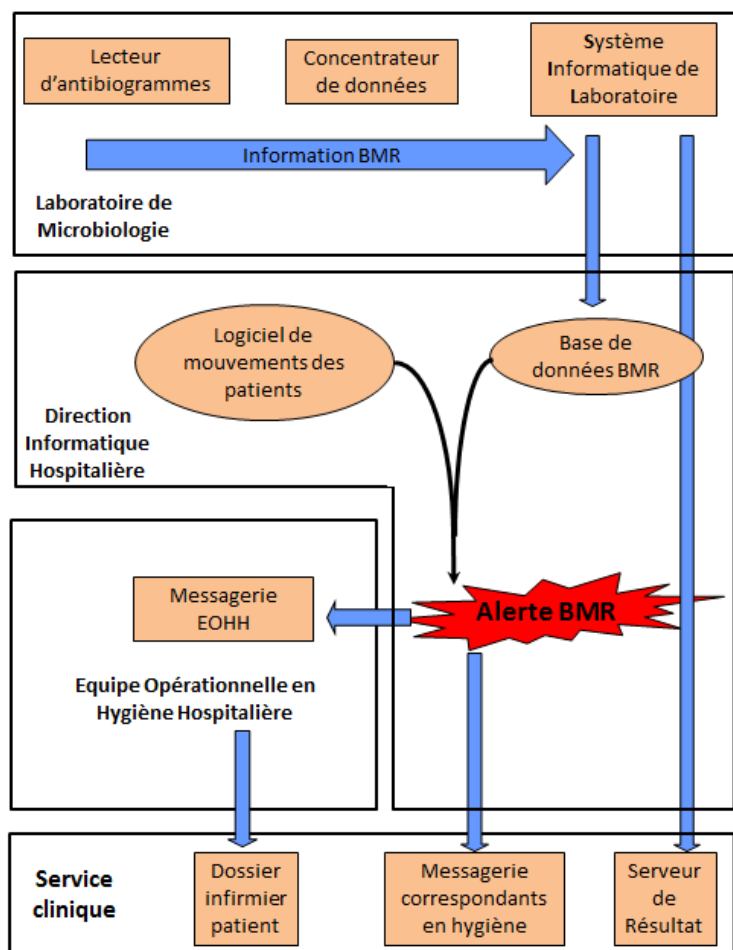


Figure 19. Système informatique d'alerte BMR à l'HEGP.

L'information BMR est issue du lecteur d'antibiogramme qui communique l'information au Système Informatique du Laboratoire (SIL) via le concentrateur de données. Tant que l'information BMR n'est pas validée par un biologiste, elle reste au niveau du laboratoire. La validation sur le SIL conduit à l'exportation de l'information "BMR" vers le dossier patient qui est consultable par les équipes soignantes. C'est lors de ce transfert qu'elle est captée pour venir alimenter une base de données spécifique (Base de données BMR). Celle-ci est interrogée systématiquement à chaque mouvement de patient enregistré dans un logiciel dédié.

Quand un patient est réadmis, s'il est référencé dans la base de données, une alerte sera déclenchée à destination de l'EOHH et des correspondants médicaux et paramédicaux de l'unité de soins concernée. A contrario, lors de la découverte d'un nouveau patient BMR, c'est parce que le patient n'est pas référencé dans la base de données que l'alerte est déclenchée vers l'EOHH et les correspondants.

Trois cas de figures furent envisagés :

- Le patient est réadmis à l'HEGP et il est référencé dans la BDD-BMR. Une alerte de type 1 est alors déclenchée à destination des correspondants en hygiène médicaux et paramédicaux du service dans lequel le patient est admis.
- Le patient est transféré d'un service A vers un service B à l'HEGP et il est référencé dans la BDD-BMR. Une alerte de type 2 est alors déclenchée à destination des correspondants en hygiène médicaux et paramédicaux du service B dans lequel le patient est transféré.
- Le patient est hospitalisé à l'HEGP, il n'est pas référencé dans la BDD-BMR, et une BMR est isolée d'un prélèvement de bactériologie. Une alerte de type 3 est alors déclenchée à destination des correspondants en hygiène médicaux et paramédicaux du service dans lequel le patient est hospitalisé.

Les correspondants sont avertis par un mail arrivant automatiquement sur leur boîte de réception. Initialement, le système ne déclenchait des alertes que dans le cas de patients porteurs de SARM et de BLSE, et seuls les correspondants en hygiène étaient avertis. Par la suite, le système s'est complexifié. D'abord parce que l'évaluation de l'impact de l'alerte sur

la mise en place des PCC montrait que le système était perfectible, ensuite parce que les hôpitaux Corentin Celton et Vaugirard ont été inclus dans le système, et enfin parce que l'émergence des BHRe a conduit à mettre en place une alerte pour repérer les patients en contact direct avec les patients porteurs de BHRe (patients contacts BHRe). Aujourd'hui, le système est capable d'émettre des alertes informatiques pour tout mouvement de patient porteur de BMR ou de BHRe à l'intérieur du GHU-Paris-ouest, et pour tout patient contact BHRe. Les BMR et BHRe ciblées sont les SARM, les EBLSE, les EPC et les ERV. Le choix des BMR soumises à l'émission d'une alerte informatique ne fut ni simple ni consensuel ; j'y reviendrai dans le chapitre suivant.

Après la mise en place de l'alerte informatique, s'est posée la question de son efficacité : grâce à cet outil, les équipes de soins sont-elles mieux informées du statut BMR des patients hospitalisés dans le service ? Cela a-t-il pour effet une meilleure application des PCC pour les patients porteurs ? Si une amélioration significative de ces deux paramètres est enregistrée, est-elle pérenne ? Pour répondre à ces questions, plusieurs audits d'observance ont été diligentés : i) en amont de la diffusion de l'alerte vers les services cliniques (seule l'EOHH était informée), ii) après la diffusion de l'alerte vers les correspondants en hygiène de chaque service (phase 1), iii) idem un an après pour vérifier la stabilité dans le temps des premiers résultats, iv) après l'ajout de la prescription par l'EOHH des PCC directement dans le dossier patient informatique (phase 2), v) idem un an après pour vérifier la stabilité dans le temps des résultats précédents. A chaque audit, le personnel en charge du patient était interrogé pour savoir s'il était informé du statut BMR du patient, et l'auditeur vérifiait que les PCC étaient effectives.

La connaissance du statut BMR, qui était de 24% avant la mise en place de l'alerte, a augmenté à 59% après l'implémentation de la phase 1 puis à 93,1% après la phase 2. La mise en place des PCC qui ne concernaient que 15% des patients porteurs avant l'alerte, étaient respectivement implémentées pour 50,5% et 90,2% d'entre eux, après le déploiement de la phase 1 et de la phase 2. Ces résultats ont montré une remarquable stabilité un an après le début de chaque phase, attestant que le système était bien intégré dans l'hôpital.

Ce système performant présente néanmoins certaines limites. Le premier est qu'il ne concerne que le GHU-Paris ouest. Même si une alerte, à destination de l'EOHH, a été prévue pour les patients BMR transférés dans un autre hôpital (dans ce cas, l'EOH de l'HEGP avertit les collègues de l'établissement d'accueil), aucun système automatique bidirectionnel n'assure ce service pour l'ensemble des hôpitaux, quelle que soit la provenance ou la destination du patient BMR. L'AP-HP, via son dossier patient commun ORBIS, réfléchit à un système d'alerte généralisé à l'ensemble de ses centres hospitaliers.

La deuxième limite concerne l'absence de purge de la BDD-BMR lorsque les patients ne sont plus porteurs. Partant à l'époque d'une durée médiane de portage de SARM de 8,5 mois (125) , il a été décidé de curer la BDD-BMR des patients dont aucun prélèvement n'était positif à BMR durant les 12 derniers mois. Cependant, un patient porteur de SARM, sans aucun prélèvement identifiant un SARM depuis un an, peut rester dans la BDD-BMR si des échantillons biologiques datant de moins d'un an sont positifs à BLSE. Les alertes informatiques ne concernent alors que la EBLSE et pas le SARM. Le problème vient, par exemple, de prélèvements de dépistage rectaux négatifs, chez un patient connu porteur d'EBLSE ; l'absence de purge entraîne une continuité de référencement de ce patient dans la BDD-BMR, alors qu'il semble ne plus être porteur. Ceci est source d'une certaine confusion dans les services cliniques, puisque l'alerte continue à se déclencher pendant un an à chaque mouvement de transfert et/ou réadmission. A contrario, certains patients sont porteurs de BMR plusieurs années ; si aucun prélèvement n'a été effectué pendant un an, l'alerte ne se déclenche plus à la réadmission, entraînant une absence d'implémentation des PCC source d'augmentation des risques de transmission croisée. Afin de limiter le risque de saturation de la base, et d'éviter la production d'un nombre trop élevé de « vieilles alertes », il a été décidé de ne pas allonger la durée de conservation des patients dans la BDD-BMR.

Enfin, certains désagréments liés à la chronologie des actions opérées par les soignants ont pu être observés. Quand le décès d'un patient est enregistré dans le logiciel GILDA, cette action est assimilée à un « mouvement », et déclenche de ce fait une alerte à destination du service d'accueil du patient. Si ce problème n'a pas d'impact en termes de maîtrise du risque infectieux, il est vécu comme particulièrement inadéquat par les personnels recevant l'alerte.

Dernier point, source de confusion sur ce thème : l'inadéquation entre certaines souches bactériennes qui sont étiquetées BMR sur le compte rendu fourni par le service de bactériologie, et le déclenchement d'une alerte. C'est par exemple le cas pour des souches de *P. aeruginosa* très résistantes (toto-résistantes sauf colistine), donc multi-résistantes aux antibiotiques, mais ne conduisant pas à l'émission d'une alerte BMR. Le choix des BMR qui déclenchent une alerte font l'objet du chapitre suivant.

Article n°1 du corpus de la thèse :

Impact of Electronic Alerts on Isolation Precautions for patients with Multidrug-Resistant Bacteria

Impact of Electronic Alerts on Isolation Precautions for Patients With Multidrug-Resistant Bacteria

Guillaume Kac, MD; Patrick Grohs; Pierre Durieux, MD, MPH; Ludovic Trinquart; Mathilde Gueneret; Aurelia Rodi; Pierre Boiron; Romain Guillemain, MD; Jacques Leglise; Guy Meyer, MD

Background: Health care workers' compliance with isolation precautions for patients colonized or infected with multidrug-resistant bacteria (MRB) is low.

Methods: In a 750-bed, acute care university hospital with a patient information system covering the entire hospital, a database that included all patients with MRB was created and was merged daily with the admission-discharge-transfer application. An electronic alert was generated for all new cases of MRB and for all transfers between wards and all readmissions of patients with MRB. Two successive interventions were implemented based on this alert system. First, alerts were dispatched to medical and staff members in charge of infection control in each ward with requests to order isolation precautions for the patients. Second, alerts were dispatched to the infection control team, who directly ordered implementation of isolation precautions in electronic nursing records. Five audits during a 3-year period were performed

to evaluate their effect on health care workers' compliance with isolation precautions.

Results: Awareness of the MRB status for the nurses in charge of the patients statistically significantly increased from 24.0% at baseline to 59.4% at 1 year after the first intervention. This proportion improved to 93.1% at 1 year after the second intervention. Similarly, the implementation of isolation precautions statistically significantly increased from 15.0% at baseline to 50.5% at 1 year after the first intervention and then to 90.2% at 1 year after the second intervention.

Conclusion: A computer alert system can lead to effective and lasting improvement in the implementation of isolation precautions for patients with MRB in health care institutions.

Arch Intern Med. 2007;167(19):2086-0

Author Affiliations: Hygiène Hospitalière (Drs Kac and Mss Gueneret and Rodi), Microbiologie (Mr Grohs), Santé Publique et Evaluation Médicale (Dr Durieux), Unité d'Épidémiologie et de Recherche Clinique (Mr Trinquart), Informatique Hospitalière (Mr Boiron), Anesthésie-Réanimation (Dr Guillemain), Direction (Mr Leglise), and Pneumologie (Dr Meyer), Hôpital Européen Georges Pompidou, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris; Centre d'Investigations Épidémiologiques 4, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (Mr Trinquart); and Respiratory Department, Université Paris Descartes (Dr Meyer), Paris, France.

THE EMERGENCE OF ANTIMICROBIAL resistance in pathogens has become a major public health problem worldwide.^{1,2} Health care-associated infections due to multidrug-resistant organisms are associated with increased morbidity, mortality, and health care costs.³⁻⁵ The major routes of dissemination of multidrug-resistant organisms are transmission by direct contacts (through patient-staff interactions) and by indirect contacts (through contamination of environmental surfaces or patient care equipment). Early identification of patients colonized or infected with antibiotic-resistant pathogens and subsequent prevention of spread among patients through barrier isolation precautions are considered to be the most effective ways to control spread of these organisms.^{6,7} However, the compliance of health care workers with national guidelines^{6,8} and with local procedures concerning isolation precaution⁹⁻¹¹ is low. In institutions in which the prevalence of multidrug-resistant bacteria (MRB) is high, poor compliance with isolation precautions may be partially because of loss of information dur-

ing internal transfers or when patients colonized or infected with multidrug-resistant organisms are readmitted. There is a steady increase in the use of computer information systems in hospitals, but their contribution to improving the adherence of health care workers to infection control procedures has not been widely assessed. The objective of this study was to evaluate the effect of implementing 2 successive electronic alert systems dedicated to patients with MRB on health care workers' compliance with isolation precautions.

METHODS

HOSPITAL INFORMATION SYSTEM

Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France, is a 750-bed, acute care university hospital that includes 22 wards (13 medical wards, 6 surgical wards, and 3 intensive care units) with approximately 35 000 admissions per year. A patient information system (DxCare; Medasys, Gif sur Yvette, France), combining an electronic medical record and a computer prescription order entry system, is operational throughout the hospital. The electronic medical record contains most patient clinical information, all labo-

ratory data from the laboratory information system (including microbiology culture and antibiotic susceptibility results), and the admission-discharge-transfer application.

MRB CONTROL PROGRAM

The infection control team, consisting of 1 infection control physician (G.K.), 2 full-time nurses, 1 half-time engineer in microbiology (P.G.), and 2 technicians (M.G. and A.R.), implements the MRB control program, advised by the local infection control committee. A physician and a nurse are in charge of infection control in each ward. According to the local MRB control program, patients with MRB must be placed in single rooms; all staff must wear disposable aprons during care and perform hand rubbing with an alcoholic solution before and after direct or indirect contact with patients with MRB. Gloves are required when contact with blood or body fluids is anticipated. A dedicated MRB poster detailing all barrier isolation precautions must be placed on the door of the patient's room. Surveillance cultures of nasal swabs (and wound swabs if present) for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and rectal swabs for multidrug-resistant Enterobacteriaceae (MRE) (particularly extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae and extended-spectrum cephalosporinase-producing Enterobacteriaceae) are required for patients discharged from intensive care units and transferred to medical or surgical wards. Screening for MRSA is also required for patients transferred from nursing homes or extended care institutions and for those who have chronic wounds. After sampling, isolation precautions are maintained until MRB culture results are available. If screening or clinical specimens yield positive results, isolation precautions are maintained during the entire patient stay. There are periodic educational meetings for hospital staff, mainly nurses and nursing assistants, in all wards. An audit conducted in 2001 showed that most patients with MRB were not isolated or were incorrectly isolated. Therefore, we decided to develop an electronic alert to improve the implementation of isolation precautions for patients with MRB.

ELECTRONIC ALERTS

First, we included a specific MRB tag in the computer program for screening and clinical specimens yielding MRSA or MRE. These MRB were identified according to the guidelines set by the Committee for Antimicrobial Testing of the French Society for Microbiology (<http://www.sfm.asso.fr>). A specific database for microbiology laboratory findings that included data for all patients colonized or infected with MRB was created and was merged daily with the admission-discharge-transfer application. The system identifies new MRB cases, transfers of patients with MRB from one ward to another, and readmissions to the hospital of patients with MRB. All events prompted the system to generate an alert, including patient identity and permanent patient identification number, date of MRB identification, and type of MRB (ie, MRSA or MRE). Alerts were automatically generated 24 hours a day and 7 days a week. The system was activated in April 2003 (Figure 1). There was no specific information delivered to staff about the conduct of the study.

During the initial period, alerts were dispatched by e-mail to the infection control team. No active information was delivered by the infection control team to health care workers; consequently, physicians and nurses had to specifically look for the antibiotic susceptibility testing results in the patient's electronic record, where the MRB tag was added at the end of the antibiogram. Physicians and nurses had open access to this information when connected to electronic medical records. This period was considered the baseline and allowed us to validate the system. Two interventions were then implemented successively.

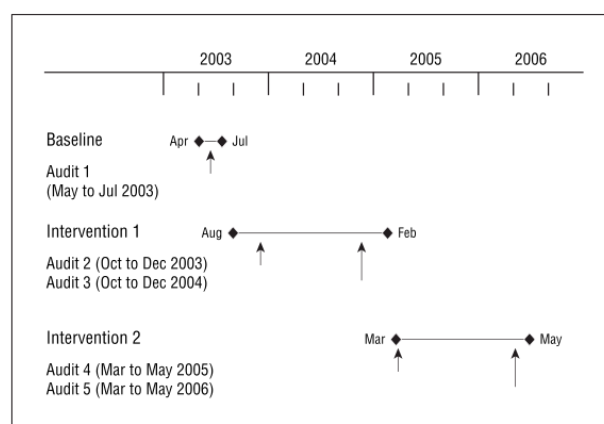


Figure 1. Time line of intervention periods and audits (April 2003 to July 2006).

During the first intervention, alerts were dispatched via e-mail to the physicians and nurses in charge of infection control in each ward. These staff members had to look for new e-mails and were then requested to implement isolation precautions for the affected patients.

During the second intervention, alerts were dispatched to the infection control team, who directly ordered implementation of isolation precautions in electronic nursing records. The MRB tag did not pop up when connected on the patient's screen, but the following message was immediately visible on the screen by the nurse when connected to the electronic nursing record of this patient where he or she had to regularly validate medical prescriptions during day and night shifts: "This patient is an MRB carrier. You must place this patient under isolation precautions according to the local infection control recommendations."

AUDITS

Parallel to these interventions, we conducted 5 successive audits (Figure 1), including a baseline audit, 2 successive audits during the first intervention, and again 2 successive audits during the second intervention. Each audit lasted between 7 and 9 weeks. Following the generation of an alert, an infection control technician checked if the nurse in charge of the patient was aware of the MRB-positive status of the patient and if contact isolation precautions had been implemented. The technician observed if the patient was in a private room, if the MRB poster was on the door of the patient's room, and if protective equipment (aprons and gloves) was present; if all 3 criteria were fulfilled, the patient was considered to be correctly isolated.

Only inpatients were included. When 2 different MRB were isolated from a single patient during a stay in a single ward, only the first isolation was considered for inclusion in the audit. Our primary outcome was the proportion of patients with MRB correctly isolated according to local guidelines. Our secondary outcome was the proportion of patients with MRB who were correctly identified by nurses. In addition, we recorded the incidence of MRB cases diagnosed at our institution during the 4-year study period.

STATISTICAL ANALYSIS

For each audit period, we estimated the proportions and their 95% confidence intervals (CIs) of correctly isolated (identified) patients with MRB using the Rao-Scott method taking intrahospitalization unit correlation into account. We assessed the homogeneity of these proportions between the second and third audits and between the fourth and fifth audits using an adjusted χ^2 test.¹²

Table. Multidrug-Resistant Bacteria (MRB) Alerts During the 5 Audit Periods

Variable	Audit					Total
	1	2	3	4	5	
No. included/generated alerts (%)	100/128 (78.1)	101/127 (79.5)	101/133 (75.9)	102/129 (79.1)	102/126 (81.0)	506/643 (78.7) ^a
Hospitalization units (minimum-maximum No. of patients per unit)	31 (1-8)	29 (1-9)	30 (1-7)	31 (1-9)	31 (1-9)	50
Type of MRB, %						
Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>	49	45	47	49	40	46
Multidrug-resistant Enterobacteriaceae	51	55	53	51	60	54
Type of alert, %						
New case	20	20	28	33	28	26
Transfer	33	44	29	28	34	34
Readmission	47	36	43	39	38	40
Median delay between alert generation and audit (interquartile range), h	23 (20-44)	28 (23-45)	25 (22-38)	25 (22-46)	26 (22-32)	26 (22-45)

^aOne hundred thirty-seven alerts were excluded, including 98 patients who were discharged before audit, 36 patients who were transferred to day care units or were outpatients, and 3 patients who had died before audit.

To assess the effect of the interventions, we used a generalized estimating equations procedure to model the probability of correct isolation (identification) of patients with MRB, considering intrahospitalization unit and intra-audit period correlations.¹³ The analysis was also performed in subgroups defined by the type of alerts. We also tested the effect of the type of MRB on the probability of correct isolation (identification) of patients with MRB.

In addition, a Poisson regression model was fitted to determine whether the trend in the yearly incidence rate of MRB cases from 2003 to 2006 diagnosed at our institution was statistically significant. Results were considered statistically significant at $P < .05$. Commercially available statistical software (SAS version 9.1; SAS Institute, Cary, North Carolina) was used for all analyses.

RESULTS

Six hundred forty-three alerts were generated during the 5 audit periods (**Table**). Of these 643 alerts, 137 alerts could not be audited because the patients had been discharged before observation (98 alerts), had been transferred to day care units or were outpatients (36 alerts), or had died before observation occurred (3 alerts). As a result, 506 alerts (78.7%) corresponding to 362 patients were included. Of these 506 alerts, 132 (26.1%) corresponded to new cases, 172 (34.0%) to transfers, and 202 (39.9%) to readmissions. The median delay between an alert generation and its audit was 26 hours for the 5 audit periods.

The awareness of the MRB status by the nurses in charge of the patients increased statistically significantly from 24.0% (95% CI, 13.9%-34.1%) at baseline to 66.3% (95% CI, 54.4%-78.3%) immediately after the beginning of the first intervention and was maintained at 59.4% (95% CI, 46.4-72.3) 1 year later ($P = .44$, adjusted χ^2 test of homogeneity between audits 2 and 3). It then increased to 95.1% (95% CI, 91.6%-98.6%) immediately after the beginning of the second intervention and was maintained at 93.1% (95% CI, 88.9%-97.4%) 1 year later ($P = .48$, audit 4 vs audit 5) (**Figure 2**).

Similarly, implementation of isolation precautions statistically significantly increased from 15.0% (95% CI, 6.2%-23.8%) at baseline to 57.4% (95% CI, 44.2%-70.6%) immediately after the first intervention and was maintained at 50.5% (95% CI, 38.1%-62.9%) 1 year later ($P = .46$, audit 2 vs audit 3). It then increased to 86.3% (95% CI, 80.2%-92.3%) immediately after the second intervention and to 90.2% (95% CI, 84.9%-95.5%) 1 year later ($P = .34$, audit 4 vs audit 5).

Overall, both interventions were highly effective because the odds of correct identification of patients with MRB was multiplied by 5.1 (95% CI, 2.6-9.8) and 50.5 (95% CI, 24.2-105.2) by the second and third interventions, respectively, compared with the baseline period. Similarly, the odds of correct isolation of patients with MRB was multiplied by 5.9 (95% CI, 2.8-12.5) and 37.8 (95% CI, 17.5-81.5) by the second and third interventions, respectively, compared with the baseline period.

Both interventions were effective for new cases and for transfers. Only the second intervention statistically significantly improved correct identification and isolation for readmissions of patients with MRB (**Figure 2**). The type of MRB had no statistically significant effect on the probability of correct identification or isolation ($P = .09$, MRSA vs MRE; odds ratio, 1.5; 95% CI, 0.9-2.4 for both outcomes).

The incidence rate of patients with MRB decreased from 1.98 (95% CI, 1.79-2.19) cases per 1000 patient-days in 2003 and 1.96 (95% CI, 1.77-2.17) in 2004 to 1.78 (95% CI, 1.61-1.98) in 2005 and 1.54 (95% CI, 1.37-1.72) in 2006. There was a statistically significant linear trend ($P = .01$); compared with 2003, the incidence rate decreased by a factor of 0.97 (95% CI, 0.95-0.99) each year.

COMMENT

The implementation of electronic alerts dedicated to patients with MRB in the hospital information system resulted in a 1.5-fold increase in the nurses' awareness of

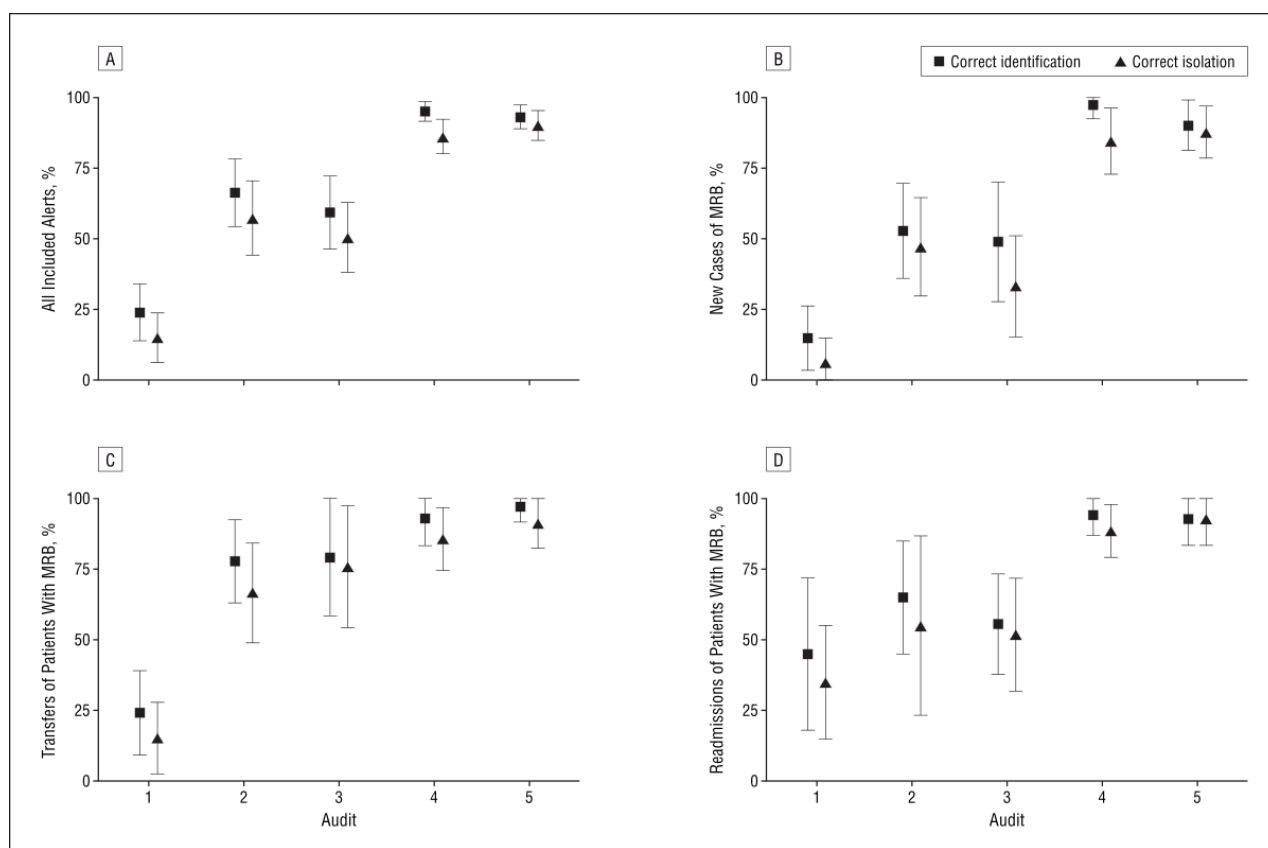


Figure 2. Awareness of multidrug-resistant bacteria (MRB) status of patients by nurses and implementation of isolation precautions for patients with MRB during the 5 audit periods according to the type of alert.

the patients' MRB status and in the proportion of correctly isolated patients with MRB. These proportions increased by an additional 50% when a member of the infection control team placed a written order directly in electronic nursing records requiring implementation of MRB isolation contact precautions. The effects of both interventions were sustained after 1 year.

Three lessons can be drawn from this study. First, this study confirms that computerized physician order entry systems with embedded decision support tools can make a valuable contribution to improving clinical practice and are associated with a sustained effect following the intervention.¹⁴ Educational interventions to improve staff adherence to infection control measures have generally had a modest effect; furthermore, the effects decline after the end of the intervention.¹⁵ Also, surveillance rounds by infection control nurses are time-consuming.^{10,16} Some hospitals have implemented similar computer alert systems for patients with MRB.¹⁶⁻¹⁹

Second, the decision tool was effective for the following 3 types of alerts: new cases of MRB, transfers of patients with MRB from one ward to another, and readmissions of previous patients with MRB (only the second intervention). Patients often remain colonized with MRB for long periods.^{20,21} Consequently, rapid and automatic identification of patients previously identified as MRB carriers when transferred to another ward or readmitted to the hospital may help control MRB spread through the hospital. Early implementation of correct isolation pre-

cautions may have an effect specifically on the transmission of MRSA and on the reservoir for patients with MRSA as shown previously by Harbarth et al.²² In hospitals without such systems, isolation precautions are implemented only when MRB are identified by clinical or screening cultures from hospitalized patients. In our study, 41% of the alerts corresponded to readmissions. This is consistent with the 36% reported by Pittet et al¹⁶ for patients recognized only by an alert system dedicated to patients with MRSA.

Third, the second intervention, involving isolation precaution orders placed in electronic nursing records by the infection control team, had a large beneficial effect. A study⁹ of compliance with contact isolation precautions found that having a physician-written order for patient isolation was the only condition that was independently and strongly associated with correct isolation. Recently, a computerized reminder system was found effective in increasing the rates of compliance with isolation recommendations dedicated to readmitted patients with a history of colonization or infection with MRB.¹⁹ It has also been demonstrated in a different context, prescription of vaccination, that writing orders directly in the patient record was more effective than simply reminding health care professionals.²³

Parallel to the improved compliance with isolation procedures, we observed a statistically significant decrease in the incidence rate of MRB cases at our institution during a 4-year period. However, this temporal association

should be considered cautiously when considering all identified cofactors for patients with MRB. Hospital spread of MRB is affected not only by quality factors (ie, staffing ratios, length of hospital stay, appropriate antibiotic use, isolating or cohorting care of MRB carriers, and adherence of health care workers to hand hygiene) but also by patient-related risk factors (ie, age, comorbidities, presence of skin breaks, previous hospital stay, previous antibiotic use, presence of indwelling devices, and presence of nasal *S aureus* colonization).¹ Therefore, interpreting health outcomes is hampered by the problem of case mix. There is general agreement that it is better to evaluate processes rather than outcomes when assessing the effect of a clinical guidelines implementation strategy. Outcomes have multiple determinants, and it is generally impossible to know what proportion of a given health outcome is determined by processes of care and what is due to patient-related risk factors.²⁴

The main limitation of this alert system dedicated to patients with MRB is that it is restricted to our institution; patients with MRB identified by our system may have been admitted to other hospitals during the study period and not been recognized as potential MRB reservoirs. Implementation of information systems in other hospitals may allow the use of such an alert system for regional or even national hospital networks.

Herein, we have shown that a computer alert system is a useful tool for the detection of previously known patients with MRB. Electronic alerts offer lasting improvement in the implementation of isolation precautions in an individual institution.

Accepted for Publication: April 25, 2007.

Correspondence: Guillaume Kac, MD, Hygiène Hospitalière, Hôpital Européen Georges Pompidou, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, 20-40 Rue Leblanc, 75908 Paris CEDEX 15, France (guillaume.kac@hop.egp.aphp.fr).

Author Contributions: Dr Kac had full access to all of the data in the study and takes responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis. **Study concept and design:** Kac, Grohs, Guillemain, and Meyer. **Acquisition of data:** Kac, Gueneret, Rodi, Boiron, and Leglise. **Analysis and interpretation of data:** Kac, Grohs, Durieux, Trinquart, and Meyer. **Drafting of the manuscript:** Kac, Grohs, Durieux, Gueneret, Rodi, Boiron, Guillemain, and Leglise. **Critical revision of the manuscript for important intellectual content:** Kac, Trinquart, and Meyer. **Statistical analysis:** Durieux and Trinquart. **Administrative, technical, and material support:** Grohs, Boiron, Guillemain, and Leglise. **Study supervision:** Kac and Meyer. **Financial Disclosure:** None reported.

Additional Contributions: Anonymous referees provided helpful reviews and comments that improved the presentation of the article.

REFERENCES

- Henderson DK. Managing methicillin-resistant staphylococci: a paradigm for preventing nosocomial transmission of resistant organisms. *Am J Med*. 2006; 119(6)(suppl 1):S45-S52.
- Harris AD, McGregor JC, Furuno JP. What infection control interventions should be undertaken to control multidrug-resistant gram-negative bacteria? *Clin Infect Dis*. 2006;43(suppl 2):S57-S61.
- Strausbaugh LJ, Siegel JD, Weinstein RA. Preventing transmission of multidrug-resistant bacteria in health care settings: a tale of 2 guidelines [published online ahead of print February 9, 2006]. *Clin Infect Dis*. 2006;42(6):828-835. doi:10.1086/500408.
- Cosgrove SE, Sakoulas G, Perencevich EN, Schwaber MJ, Karchmer AW, Carmeli Y. Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia: a meta-analysis [published online ahead of print December 13, 2002]. *Clin Infect Dis*. 2003;36(1):53-59. doi:10.1086/345476.
- Cosgrove SE, Kaye KS, Eliopoulos GM, Carmeli Y. Health and economic outcomes of the emergence of third-generation cephalosporin resistance in *Enterobacter* species. *Arch Intern Med*. 2002;162(2):185-190.
- Muto CA, Jernigan JA, Ostrowsky BE, et al; Society for Healthcare Epidemiology of America. SHEA guideline for preventing nosocomial transmission of multidrug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus*. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2003;24(5):362-386.
- Cooper BS, Stone SP, Kibbler CC, et al. Isolation measures in the hospital management of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): systematic review of the literature. *BMJ*. 2004;329(7465):533-539.
- Coia JE, Duckworth GJ, Edwards DI, et al; Joint Working Party of the British Society of Antimicrobial Chemotherapy, the Hospital Infection Society, and the Infection Control Nurses Association. Guidelines for the control and prevention of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in healthcare facilities [published correction appears in *J Hosp Infect*. 2006;64(1):97-98]. *J Hosp Infect*. 2006; 63(suppl 1):S1-S44.
- Vidal-Trecan GM, Delamare N, Tchorny-Lessenot S, et al. Multidrug-resistant bacteria infection control: study of compliance with isolation precautions in a Paris hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2001;22(2):109-111.
- Chatterjee A, Heybrock B, Plummer S, Eischen K. Impact of surveillance rounds on adherence to infection control policies and procedures at a children's hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2004;25(9):786-788.
- Robert J, Renard L, Grenet K, et al. Implementation of isolation precautions: role of a targeted information flyer [published online ahead of print October 27, 2005]. *J Hosp Infect*. 2006;62(2):163-165. doi:10.1016/j.jhin.2005.07.003.
- Rao JN, Scott AJ. A simple method for the analysis of clustered binary data. *Biometrics*. 1992;48(2):577-585.
- Pendergast JF, Gange SJ, Newton MA, Lindstrom MJ, Palta M, Fisher MR. A survey of methods for analyzing clustered binary response data. *Int Stat Rev*. 1996;64(1):89-118.
- Garg AX, Adhikari NK, McDonald H, et al. Effects of computerized clinical decision support systems on practitioner performance and patient outcomes: a systematic review. *JAMA*. 2005;293(10):1223-1238.
- Grol R, Grimshaw J. From best evidence to best practice: effective implementation of change in patients' care. *Lancet*. 2003;362(9391):1225-1230.
- Pittet D, Safran E, Harbarth S, et al. Automatic alerts for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* surveillance and control: role of a hospital information system. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 1996;17(8):496-502.
- Evans RS, Lloyd JF, Abouzelof RH, Taylor CW, Anderson VR, Samore MH. System-wide surveillance for clinical encounters by patients previously identified with MRSA and VRE. *Medinfo*. 2004;11(pt 1):212-216.
- Gransden WR, Wingfield J, McConnell C, Branson M. Computerized detection of re-admission of patients with MRSA [letter]. *J Hosp Infect*. 1998;39(2):160.
- Kho AN, Dexter PR, Warvel JS, et al. An effective computerized reminder for contact isolation of patients colonized or infected with resistant organisms [published online ahead of print March 28, 2007]. *Int J Med Inform*. doi:10.1016/j.ijmedinf.2007.02.005.
- Scanvic A, Denic L, Gaillon S, Giry P, Andrement A, Lucet JC. Duration of colonization by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* after hospital discharge and risk factors for prolonged carriage [published online ahead of print April 20, 2001]. *Clin Infect Dis*. 2001;32(10):1393-1398. doi:10.1086/320151.
- Arpin C, Dubois V, Maugein J, et al. Clinical and molecular analysis of extended-spectrum β -lactamase-producing enterobacteria in the community setting. *J Clin Microbiol*. 2005;43(10):5048-5054.
- Harbarth S, Martin Y, Rohner P, Henry N, Auckenthaler R, Pittet D. Effect of delayed infection control measures on a hospital outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Hosp Infect*. 2000;46(1):43-49.
- Dexter PR, Perkins SM, Maharry KS, Jones K, McDonald CJ. Inpatient computer-based standing orders vs physician reminders to increase influenza and pneumococcal vaccination rates: a randomized trial. *JAMA*. 2004;292(19):2366-2371.
- Durieux P, Nizard R, Ravaut P, Mounier N, Lepage E. A clinical decision support system for prevention of venous thromboembolism: effect on physician behavior. *JAMA*. 2000;283(21):2816-2821.

6.3.2 Choix des BMR à intégrer à l'alerte informatique

Hormis les souches d'EBLSE, EPC, SARM, et ERV, les taux et incidences de plusieurs types de BMR sont suivis à l'HEGP :

- HP-CASE. La forte prévalence des HP-CASE, qui s'ajoute à celle des EBLSE, est source d'un niveau élevé de résistance aux C3G, et induit une consommation élevée de carbapénèmes, antibiotiques de derniers recours potentiellement sélecteurs de souches d'EPC. L'augmentation de l'incidence de ces souches au début des années 2000 a conduit à un changement de politique antibiotique sur l'hôpital (voir chapitre 6.5, lutte contre les HP-CASE)
- *P. aeruginosa* multi-résistant : souche co-résistante à la ceftazidime, à l'imipénème et à la ciprofloxacine (PYO-R), ou productrice de BLSE (PBLSE), ou productrice de carbapénémase (PCARB). La prévalence des PYO-R est assez élevée à l'HEGP, en lien avec un recrutement conséquent de patients atteints de mucoviscidose. Chez ces patients, le *P. aeruginosa*, devient muqueux au fil du temps via la production de biofilm, et développe une forte imperméabilité à l'action des antibiotiques, posant des problèmes thérapeutiques conséquents pour traiter les infections pulmonaires. Cette dernière est la principale cause de mortalité associée à cette pathologie.
- *A. baumannii* multi-résistant : souche résistante à l'imipénème (ABRI), ou productrice de BLSE (ABLSE), ou productrice de carbapénémase (ACARB). Cette bactérie opportuniste de l'environnement qui colonise la peau saine, est, à l'instar de *P. aeruginosa*, naturellement résistante à de nombreux antibiotiques. En situation épidémique, la résistance à l'imipénème est un problème thérapeutique majeur. Sa prévalence est faible mais quelques épidémies se développent en soins intensifs et en réanimation. La transmission se fait principalement par manu-portage.

Après la mise en place de l'alerte BMR pour les souches de SARM et d'EBLSE, je me suis interrogé sur l'extension de l'alerte à d'autres types de BMR. Il me semblait pertinent de vouloir exploiter au maximum un outil performant qui donnait d'excellents résultats pour l'information des soignants et la mise en place des PCC. Il apparaissait également logique de lutter contre la transmission croisée de toutes les BMR et pas uniquement des SARM et des EBLSE. Le contre argument principal à l'extension de l'alerte pouvait se résumer par « trop d'information tue l'information », la conséquence directe étant une inflation importante du nombre de patients en PCC, et une banalisation des PCC (à cette époque, le nombre de patients porteur d'HP-CASE était supérieur à celui des patients porteurs d'EBSLE). Partant

du principe que l'émergence des souches HP-CASE et de *P. aeruginosa* multi-résistants est davantage inhérente à la pression de sélection antibiotique qu'à la transmission croisée (peu d'épidémies à HP-CASE ont été décrites dans la littérature), il a finalement été décidé de réserver l'alerte aux SARM et EBLSE, puis par la suite aux BHRe.

Pour autant, cette décision n'était pas entièrement satisfaisante, car si le mécanisme principal d'hyper-expression de la céphalosporinase des entérobactéries consiste en une ou plusieurs mutations dans un des gènes de l'opéron chromosomique, il existe des HP-CASE plasmidiques transférables (DHA-1, CMY-2...), dont le mode de propagation est équivalent à celui des EBLSE, et dont la sensibilité aux carbapénèmes est parfois variable (126). La différenciation entre HP-CASE plasmidique transférable et HP-CASE chromosomique issus d'une pression de sélection antibiotique est impossible à établir sur les seuls critères phénotypiques révélés par l'antibiogramme. Ainsi, ne pas mettre en isolement des patients porteurs de HP-CASE conduit à prendre le risque d'une transmission croisée d'un micro-organisme dont le support de la résistance aux antibiotiques se comporte de façon identique à celui des BLSE. De plus, comme on l'a vu plus haut, un système informatique qui étiquette les EBLSE et les HP-CASE comme BMR au niveau du rendu des antibiogrammes, mais qui fait une différence dans l'isolement des patients en fonction de la BMR portée, est source de confusion chez les soignants.

Dans le même ordre d'idée, « l'explosion » de la prévalence intra-hospitalière des souches d'EBLSE appartenant à l'espèce *E. coli*. (Coli-BLSE) a suscité des interrogations similaires. Devant la croissance rapide du nombre de cas porteurs en France (incidence = 0.31/1000JH en 2012 vs 0,02/1000JH en 2002, soit 58% de Coli-BLSE rapporté à l'ensemble des EBLSE vs 12%) (1), certains hôpitaux ont choisi de ne plus appliquer les PCC aux patients porteurs de ce type de souches. Ce choix reposait sur deux critères essentiels : i) un trop grand nombre de patients à isoler ii) très peu d'épidémies décrites iii) une origine plutôt communautaire des souches de *E. coli*, en comparaison des souches d'origine préférentiellement hospitalière (*K. pneumoniae*, *E. cloacae*...).

Ce choix n'a pas été retenu à l'HEGP et les patients porteurs de souches de Coli-BLSE conduisent toujours à une alerte informatique et à l'application des PCC, comme toute autre EBLSE. En revanche, cette question m'a conduit à investiguer les transmissions croisées potentielles à EBLSE en 2008.

6.3.3 Etude n°4 : transmissions croisées à E coli-BLSE (Annexe n°3)

A l'époque où la question s'est posée, la densité d'incidence des cas porteurs de Coli-BLSE avait cru à l'HEGP de 0,10 pour 1000j en 2001 à 0,35 en 2008. Comme au niveau national, la proportion de Coli-BLSE rapportée à l'ensemble des EBLSE augmentait régulièrement (18% en 2001, 52% en 2008, 62% en 2016). Aussi, j'ai proposé d'effectuer un suivi prospectif quotidien des transmissions croisées.

Pour déterminer l'importance des transmissions croisées, j'ai colligé dans un même tableau synoptique, l'ensemble des mouvements de tous les patients porteurs de Coli-BLSE (nouveaux cas et anciens porteurs réadmis détectés par l'alerte BMR) présents à l'HEGP du 1er janvier au 30 juin 2008 (Figure 20).

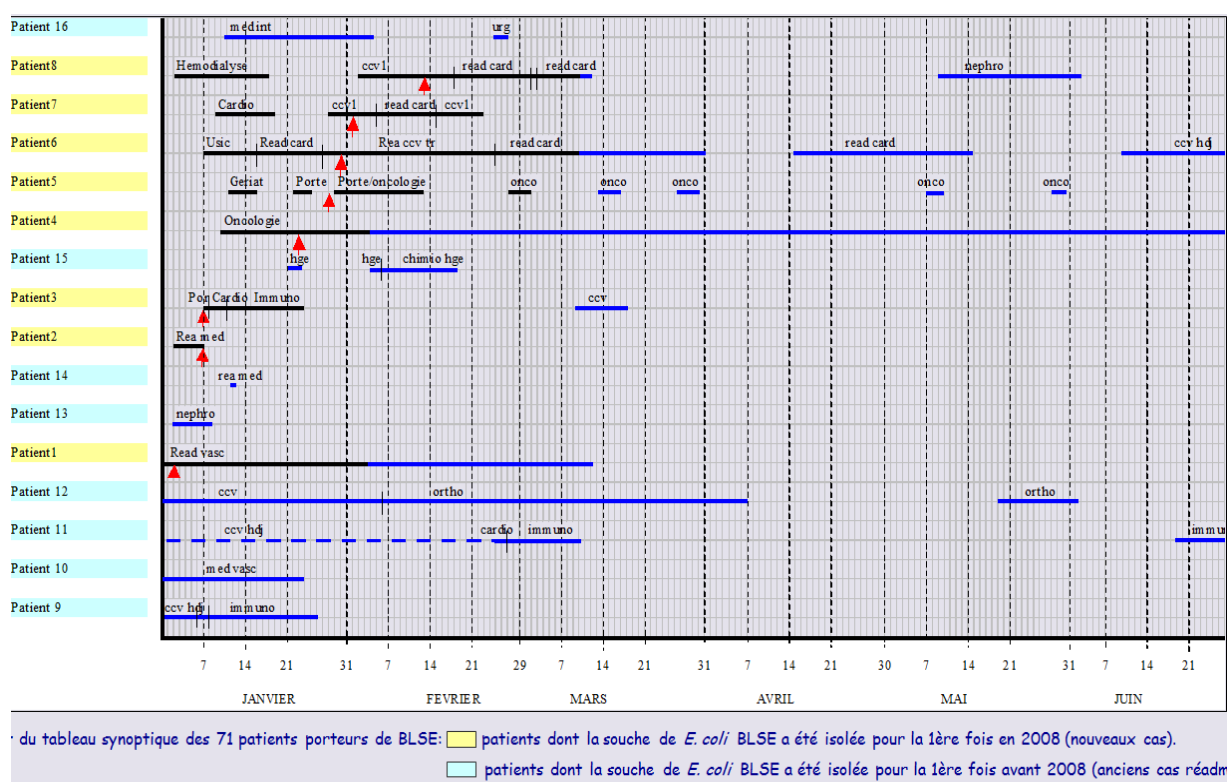


Figure 20. Extrait du tableau synoptique colligeant les 71 patients porteurs d'une souche de *E. coli* BLSE entre janvier et juin 2008, et traçant leurs passages dans les différents services de l'HEGP. La flèche rouge indique la date de découverte du premier isolat de coli-BLSE. Deux patients ayant été présents au moins 24h dans la même unité conduisait à suspecter une transmission croisée potentielle (TCP). Celle-ci était avérée si les phénotypes de résistance antibiotiques et les génotypages étaient identiques.

Puis, j'ai défini une transmission croisée potentielle (TCP) par la présence d'un séjour commun dans le même service d'hospitalisation de deux patients pendant au moins une journée. Lorsqu'une TCP était identifiée, les antibiogrammes des souches correspondantes étaient comparés, et le typage moléculaire par électrophorèse en champ pulsé était effectué sur les souches de phénotype similaire.

Sur 14 466 patients admis pendant le 1er semestre 2008, les mouvements de tous les patients porteurs de *E. coli*-BLSE (71 patients répartis en 52 nouveaux cas et 19 anciens porteurs réadmis) ont été analysés. Sur 38 séjours communs identifiés entre deux patients porteurs, une seule TCP a été mise en évidence. Le typage moléculaire effectué sur les deux souches a conclu à l'absence de similarité. Sur 18 autres souches de phénotype similaire sans mise en évidence de TCP, le typage moléculaire n'a mis en évidence aucune similitude des souches (Figure 21).

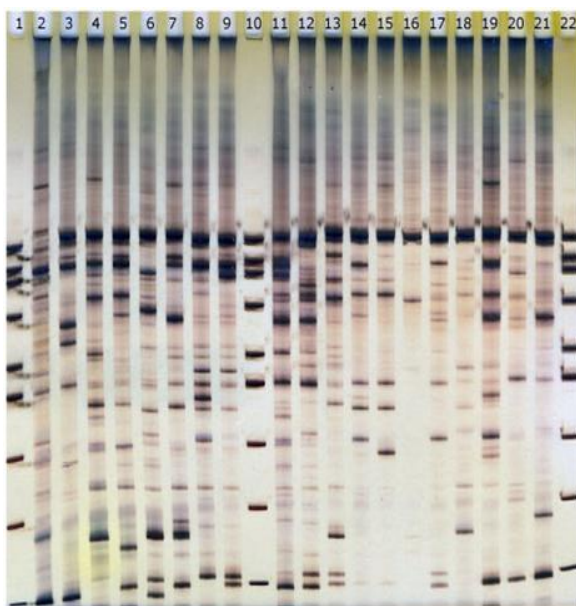


Figure 21. Génotypage des souches de *Coli*-BLSE par technique de migration de fragments de PCR (RAPD), par électrophorèse en gel d'acrylamide et coloration argentique.

J'en ai conclu que, comme remarqué dans d'autres hôpitaux, la transmission croisée nosocomiale participait peu à l'augmentation de l'incidence des souches de *Coli*-BLSE à l'HEGP. Pour autant, l'alerte BMR a été maintenue pour ces micro-organismes. Les résultats de cette étude interne ont conduit à une communication scientifique (poster au congrès de la RICAI 2008), mais n'ont pas été publiés dans une revue scientifique (voir annexe n°3, poster n°4420, « l'hôpital participe-t-il à la diffusion des souches de *E. coli* BLSE ? »).

6.3.4 Etude n° 5 : multi-résistance du SARM (Annexe n°4)

Si des interrogations se sont posées sur les types de BMR à suivre à l'hôpital, personne ne remettait en question la multi-résistance du SARM. Cette question, à contre-courant du consensus de l'époque, pouvait, si elle était vérifiée, avoir à la fois des conséquences sur la politique d'isolement des patients porteurs de *S. aureus*, et des implications sur leur prise en charge thérapeutique. Interpelé par les données que je produisais pour le rapport annuel sur la résistance, j'ai décidé d'étudier de plus près les phénotypes de résistance chez *S. aureus*.

Les premières années de surveillance du SARM (2001-2006) avaient montré une diminution de l'incidence du SARM. L'étude annuelle du profil de résistance des souches de SARM révélait au fil des ans une augmentation de sensibilité de l'ensemble des autres marqueurs antibiotiques, alors qu'en parallèle, les souches de SASM semblaient montrer une moindre sensibilité, notamment pour les aminosides et les macrolides. Ces tendances suggéraient un changement potentiel d'épidémiologie des souches de *S. aureus* retrouvées à l'HEGP. A l'époque, il avait été décrit des souches de *S. aureus* d'origine communautaire, sensibles à la méticilline mais multi-résistantes à d'autres antibiotiques dont certaines, hébergeant la toxine de Panton-Valentine, commençaient à arriver à l'hôpital. De plus, la diffusion clonale du SARM avait été avancée pour expliquer son explosion dans les années 1990. Par analogie, il était possible qu'un clone plus sensible remplace dans les années 2000 celui de la décennie précédente. Aussi, considérant l'ensemble des conséquences médico-économiques de l'application des PCC aux patients porteurs de SARM (surcroît de travail pour les soignants, surtout hospitaliers, diminution des opportunités de soins aux patients causant un isolement problématique chez le sujet âgé ...), il m'a semblé intéressant de vérifier si : i) le SARM était toujours une BMR, et ii) le SASM n'en devenait pas une.

J'ai défini la multi-résistance aux antibiotiques chez *S. aureus* par la résistance à au moins trois familles d'antibiotiques hors bêta-lactamines. Une baisse significative de la multi-résistance a effectivement été observée chez les souches de SARM entre 2001 et 2006 (72,9 % vs 46,3 %, $p < 0,001$). En revanche, pour le SASM, l'augmentation de la multi-résistance (2,9 % vs 3,4 %), n'était pas significative. Au final, le critère de BMR a été maintenu pour les SARM. L'ensemble des résultats de cette étude est présenté en annexe n°4 (*Trends in Staphylococcus aureus antimicrobials susceptibilities: is methicillin still a relevant multiresistance marker ?*, 2009, Pathologie Biologie).

La surveillance de la résistance chez *S. aureus* ayant été poursuivie les années suivantes, les données m'ont confirmé que les souches de SARM étaient de plus en plus sensibles (presque aucune souche de SARM résistante à la gentamicine n'est isolée), mais que la résistance des souches de SASM n'augmentait pas.

6.3.5 Etude n° 6 : pression de colonisation SARM (Article n°2 de la thèse)

L'alerte informatique BMR avait démontré sa pertinence en termes d'information des équipes soignantes et de mise en place des PCC. Pour autant, restait posée la question de son efficacité sur la diminution de l'incidence du SARM. Il s'agissait donc de passer d'un indicateur de moyen à un indicateur de résultat, en mesurant l'effet qu'avait eu l'alerte BMR sur le poids général du SARM à l'HEGP, c'est-à-dire sur la pression de colonisation SARM s'exerçant sur l'ensemble des patients de l'établissement (somme des nouveaux cas SARM et des anciens patients SARM réadmis). Si l'incidence SARM, basée sur les cas SARM isolés annuellement au laboratoire de bactériologie donne une bonne indication de la quantité de patients porteurs, elle n'inclue pas les anciens patients SARM réadmis, qui participent pourtant à la diffusion du SARM *via* la transmission manu portée. La proportion de ces patients SARM réadmis vs SARM nouveaux cas était inconnue à l'HEGP, et à cette date, aucun hôpital n'avait évalué la contribution des patients SARM réadmis à la pression de colonisation globale s'exerçant sur leur site. C'est pourquoi, en s'appuyant sur l'outil informatique de l'alerte BMR, j'ai souhaité établir cette proportion sur une période de sept années, correspondant à l'ensemble de sa durée de fonctionnement. L'idée m'est venue au moment où je formais l'informaticien en charge d'optimiser la première version de l'alerte BMR. En portant un regard plus aigu sur l'ensemble des alertes déclenchées, je me suis rendu compte qu'au fil du temps, le nombre d'alertes concernant le SARM diminuait. En rapprochant cette donnée avec celle de la diminution de l'incidence SARM, j'ai voulu mesurer l'importance des patients réadmis sur le poids global des patients porteurs à l'hôpital.

Entre 2004 et 2010, 2058 alertes ont été générées chez 1060 patients. Au total, 46% de ces patients ont été réadmis au moins une fois, dont les 2/3 dans les trois mois qui suivaient leur sortie. En moyenne, 20 patients porteurs de SARM étaient présents quotidiennement à l'HEGP sur la période d'étude, ce chiffre ayant régulièrement diminué de 40 en 2004 à huit en 2010. Sur l'ensemble des journées-patients SARM (nombre de jours où un patient porteur est présent dans l'enceinte de l'établissement), 51,3 % étaient imputables à des réadmissions de patients porteurs, attestant la forte proportion de ces patients dans le compte global de l'ensemble des patients SARM à l'hôpital. De plus, la comparaison entre le nombre moyen de patients SARM présents chaque jour à l'hôpital et le nombre moyen de nouveau cas SARM diagnostiqué quotidiennement, a montré que la moitié des nouveaux cas pouvait être imputable à la pression de colonisation, en particulier sur la période 2004-2006 correspondant au début de l'implémentation de l'alerte BMR. Donc les patients réadmis participent activement à la colonisation de nouveaux patients porteurs.

Si cet article présente certaines limites (analyse rétrospective, surestimation du nombre de patients réadmis considérés comme toujours porteurs même sans prélèvement bactériologique l'attestant, possiblement compensé par une sous-estimation due à l'absence de dépistage systématique de l'ensemble des admis), il apporte un éclairage intéressant sur les limites de l'indicateur « incidence », largement utilisé aujourd'hui pour suivre l'évolution de la diffusion des BMR sur un établissement de santé. Cette étude mériterait d'être réitérée avec les BLSE, la période d'étude (2004-2016) pouvant couvrir l'ensemble de la période « exponentielle » de diffusion massive de ces micro-organismes à l'HEGP. La transmission des EBLSE (communautaire et hospitalière) étant plus mixte que celle des SARM (principalement hospitalière), on peut raisonnablement émettre l'hypothèse que le poids des réadmis sera encore plus élevé pour les patients porteurs d'EBLSE, comparativement à ceux porteurs de SARM.

Le dernier point sur lequel il me semble important d'insister concerne l'importance de l'alerte BMR pour faire diminuer la prévalence du SARM à l'hôpital. Si la première étude réalisée sur ce sujet en 2007 avait montré une remarquable efficacité en termes d'information des personnels et de mise en place des PCC (voir chapitre 6.3.1, alerte informatique BMR), rien n'attestait que ces mesures avaient un impact sur la diminution du nombre de patients porteurs de SARM. Les résultats de cette étude suggèrent que le lien entre l'information SARM délivrée précocement et la baisse du SARM sur l'établissement semble avéré. J'y ajouterai quelques réserves dans la discussion.

Article n°2 du corpus de la thèse :

Readmission of known MRSA carriers and MRSA colonization pressure in hospital

SHORT REPORT

Readmission of known MRSA carriers and MRSA colonization pressure in hospital

P. GROHS^{1*}, B. PINEAU², G. KAC³, L. GUTMANN^{1,5} AND G. MEYER^{4,5}

¹ Service de Microbiologie, ² Département d'Informatique Hospitalière, ³ Equipe Opérationnelle en Hygiène Hospitalière, ⁴ Service de Pneumologie, AP-HP, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France

⁵ Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris, France

Received 20 June 2012; Final revision 27 July 2012; Accepted 27 July 2012

SUMMARY

Readmission of asymptomatic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) carriers may contribute to the hospital reservoir. Using an electronic alert system, we assessed the weight of readmission of known MRSA carriers on MRSA colonization pressure in a hospital setting. During the 2004–2010 period, 2058 alerts were generated for 1060 inpatients. A total of 486/1060 patients (46%) were readmitted at least once, and 330/486 (64·4%) were readmitted <3 months after discharge. A mean of 20 MRSA patients were present on the same day (from 40 in 2004 to eight in 2010). The number of MRSA patient-days was 34 575, i.e. 2·5% of the 1 366 277 patient-days of the study period, and 17 737 (51·3%) MRSA patient-days were due to readmission of known MRSA carriers. The number of new MRSA cases was partly correlated with the number of MRSA patients hospitalized ($R^2=0\cdot49$). Rapid electronic identification of these patients proved essential in decreasing the global burden of MRSA in our hospital.

Key words: MRSA, electronic alert, readmitted patient, colonization pressure.

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) remains a major public health concern despite improved compliance with hand washing, isolation precautions, and control of antibiotic use [1, 2]. Poor compliance with isolation precautions is not the only reason for the disappointing results obtained to eradicate this scourge, and alternative causes need to be identified. According to previous studies, MRSA clearance varies from 7 to 12 months [3–5]. Readmission of asymptomatic MRSA carriers may, therefore, substantially contribute to the hospital reservoir, explaining the absence of a decrease in

hospital prevalence of MRSA in many countries [4–8]. Few studies have reported the rate of known MRSA patients who remain carriers on re-admission, but none have assessed the respective weight of readmitted MRSA patients and new cases on MRSA colonization pressure in the hospital setting [4, 5, 7].

An electronic alert, identifying all MRSA carriers including new cases and previously known carriers who are readmitted to hospital, is a very useful tool in increasing the awareness of MRSA status by clinical wards and barrier nursing [9–12]. Such a computer alert system was set up in Hôpital Européen Georges Pompidou in 2003. Using this electronic system, we evaluated the contribution of known MRSA carriers to global MRSA colonization pressure over a 7-year period.

* Author for correspondence: Mr P. Grohs, Department of Microbiology, AP-HP Hôpital Européen Georges Pompidou, 20-40 rue Leblanc, 75908 Paris Cedex 15, France.
(Email: patrick.grohs@egp.aphp.fr)

This study was conducted in a 850-bed, 23-ward acute-care teaching hospital (13 medical wards, six surgical wards, five intensive care units), with a mean annual number of 26 000 inpatients during the 2004–2010 study period. Antibiotic susceptibility testing for *S. aureus* isolates is routinely performed in the laboratory using the disk diffusion method on Mueller–Hinton agar (bioMérieux, France) according to the recommendations of the European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing [13]. Any *S. aureus* isolate resistant to methicillin is categorized as MRSA, and patients colonized and/or infected with a MRSA isolate are categorized as MRSA patients.

Once the MRSA status is known, the MRSA patient is placed in a single room. All staff members wear disposable aprons during care and perform hand rubbing with an alcoholic solution before and after direct or indirect contact with the MRSA patient. Gloves are required when contact with blood or body fluids is anticipated. A dedicated MRSA poster detailing all barrier isolation precautions is placed on the door of the patient's room. MRSA nasal screening (and for wound if necessary) is required: (i) for patients discharged from intensive care units and transferred to medical or surgical wards, (ii) for patients transferred from nursing homes or long-term care facilities, and (iii) for patients with chronic wounds. Previously identified MRSA patients are considered to still be carriers if they are readmitted within 3 months after discharge. In this case, no screening is required, and barrier isolation precautions are implemented. In contrast, wards are asked to collect a screening sample when the delay between discharge and readmission is >3 months; barrier isolation precautions are nonetheless implemented pending sample result. No change in screening policy occurred during the study period.

The knowledge of MRSA status by ward is mainly due to the electronic alert system [12]. Thanks to the laboratory information system, all initial MRSA isolates from diagnostic and screening samples, collected from inpatients and outpatients, are automatically included in a specific database. This database is automatically merged daily with the hospital's admission-discharge-transfer application. Three types of alert are therefore generated: one for new MRSA cases, one for MRSA patients transferred between wards, and one for all readmissions of known MRSA patients. Each alert is automatically emailed to the infection control team and the nursing team in charge of the patient.

From 2004 to 2010, 7346 alerts were generated by the computerized system for 1218 MRSA patients. New case alerts, transfer alerts and readmission alerts represented 14·4%, 11·1% and 74·5% of alerts, respectively, and concerned outpatients in 60·9% of cases. For the present study, only electronic alerts corresponding to new cases and readmitted inpatients were collected in a specific Access database (alerts corresponding to outpatients, i.e. patients attending the outpatient clinic, and transfer alerts were excluded). Thereby, 2058 alerts concerning 1060 patients were taken in account over the 7-year period. The number of alerts for each patient ranged from one to 18 with a mean of two alerts per patient. Among the 1060 patients, 574 patients were identified as new cases only, 154 were identified as readmitted cases only (because their first MRSA strain was isolated in the outpatient clinic and was not included in the study) and 332 were new cases who were subsequently readmitted.

According to median time of MRSA clearance reported previously [3–5], the infection control team decided to exclude patients from the database when no positive MRSA sample could be found for 1 year. These patients could be re-included in the database as new MRSA cases if a new MRSA isolate was identified after 1 year. Thus, among the 906 new MRSA patients identified during the study period, 20 were counted twice, and two were counted three times for a total of 930 new case alerts (Table 1). The delay between two new case alerts for the same patient was <2 years for 17/22 patients, and the antimicrobial patterns of MRSA strains which resulted in several new case alerts for the same patient were different for only seven of the 22 patients (data not shown). This result suggests that when MRSA patients return to hospital a long time after discharge, and still remain a carrier, the persistence of the same strain appears to be the major mechanism encountered.

Among the 1060 MRSA patients, 486 (46%) were readmitted at least once, for a total of 1128 different stays (Table 1). This readmitted MRSA patient rate is similar to those calculated using a mathematical model [8] and given by another automatic alert system associated with screening on readmission [4] (48·7% and 34%, respectively). Among these 486 patients, 332 (64·4%) were readmitted <3 months after discharge (Fig. 1), a result comparable to 73·6% of patients with a surgical site infection due to MRSA who were readmitted to hospital within 90 days after surgery [14].

Table 1. *Distribution of 2058 MRSA alerts encountered in 1060 inpatients, according to type of alert and type of location*

Type of ward	Readmissions		New cases	
	Alerts* No. (%)	Patients† No. (%)	Alerts‡ No. (%)	Patients§ No. (%)
Medicine	803 (71.2)	363 (63.3)	521 (56.0)	506 (55.5)
Surgery	301 (26.7)	189 (33.0)	254 (27.3)	252 (27.7)
Intensive care unit	24 (2.1)	21 (3.7)	155 (16.7)	153 (16.8)
Total	1128 (100)	573 (100)	930 (100)	911 (100)
Total patients		486		906

* Each alert counted correspond to the readmission of a MRSA patient in a clinical ward. The 486 MRSA readmitted patients accounted for 1128 patient-stays.

† Since the same patient could be readmitted in different wards for different stays, the total (573) is greater than the 486 MRSA readmitted patients.

‡ The number of new MRSA cases was 906, corresponding to 930 alerts. Twenty-two of these were excluded from the database due to absence of a MRSA-positive sample during one year, and re-included once ($n=20$) or twice ($n=2$) in the database for a new stay when a new MRSA isolate was found.

§ Since the same patient could be excluded from the database, and re-included in the database for a new stay in a different ward than the first, the total (911) is greater than the 906 MRSA new cases.

Among the 1060 patients, (i) 574 were categorized only in the new-case alert category, (ii) 154 were categorized only in readmission alert category, and (iii) 332 were categorized in both alert categories. Category (ii) corresponds to patients for whom the first MRSA strain was isolated in an outpatient clinic; thus, the new-case alerts generated were not included in the study, but subsequent readmission alert(s) in clinical wards were included.

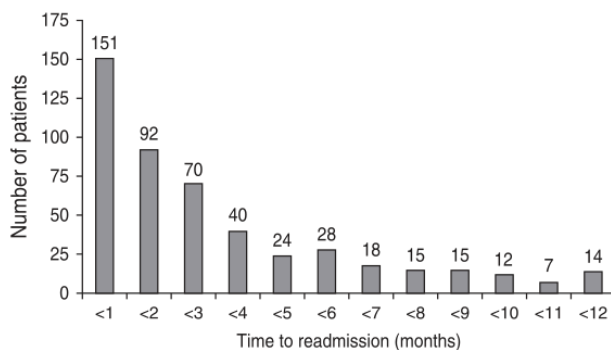


Fig. 1. Distribution of intervals between discharge after the initial MRSA stay and the first readmission for the 486 readmitted MRSA patients.

The main purpose of this study was to assess the respective weight of new MRSA cases and readmitted MRSA patients on MRSA colonization pressure in hospital. Thus, the number of MRSA inpatients present each day was recorded. This included all patients with an active MRSA alert, i.e. new MRSA cases and readmitted known MRSA patients. The number of MRSA days was computed as the number of MRSA patients multiplied by the length of hospital

stay. It was calculated for new MRSA cases and for readmitted MRSA patients (only from the first MRSA isolate until discharge for new MRSA cases). A mean of 20 MRSA patients were present in hospital each day, but ranged from six to 52, and eight to 40 according to the month and year considered, respectively (Fig. 2). The total number of MRSA patient-days was 34 575 corresponding to 2.5% of the 1 366 277 patient-days over the study period. For new MRSA cases, the number of MRSA patient-days ranged from one to 224 (mean 18 days, mode 8 days). For readmitted MRSA patients, the length of stay ranged from one to 218 days (mean 15 days, mode 7 days). Finally, the proportion of MRSA patient-days due to readmitted patients was 51.3% (17 737/34 575 days), confirming the major role played by this population in MRSA colonization pressure in hospital.

Our secondary objective was to assess the impact of MRSA patients present in hospital on the colonization of new patients by a MRSA strain. To achieve this, the mean number of MRSA patients hospitalized each day was compared to the mean

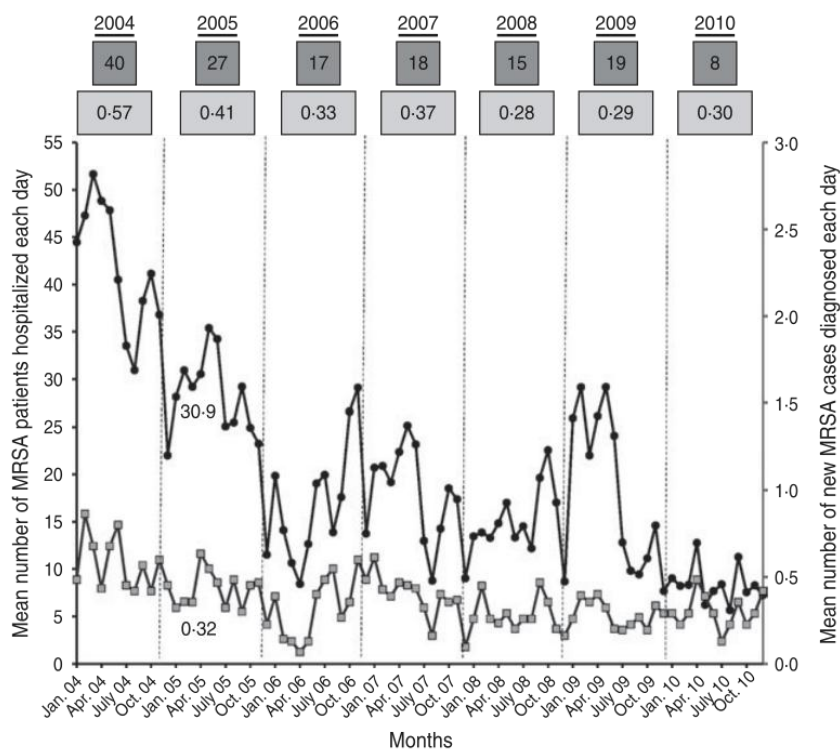


Fig. 2. Assessment of MRSA colonization pressure in hospital. ●, Each point corresponds to the mean monthly number of MRSA patients (new MRSA cases and readmitted MRSA patients) present in hospital each day. Numbers in dark grey boxes above the curves correspond to the annual average. □, Each point corresponds to the mean monthly number of new MRSA patients discovered each day. Numbers in light grey boxes above the curves correspond to the annual average.

number of new MRSA cases diagnosed each day (Fig. 2). For instance, in January 2005, the mean number of MRSA patients present each day was 30.9, and the mean number of new MRSA cases detected each day was 0.32. Using Spearman's method with Excel software, the correlation between the two datasets showed a linear regression coefficient (R^2) of 0.49 (Fig. 3). This means that the scatter of the 'new MRSA case' variable could be explained by MRSA colonization pressure in one half of cases. In fact, this was especially true during the 2004–2006 period, where the strong decrease (–57%) of MRSA patients present in hospital was associated with a significant decrease (–42%) of new MRSA cases (Fig. 2). In contrast, a relative stability was observed during subsequent years. The 2004–2006 period corresponded to the beginning of the electronic alert operation, and underlines efficiency of the system. Due to electronic alerts and early implementation of barrier isolation precautions, cross-transmission was limited and only MRSA background noise remained. Unknown imported MRSA cases and failure to control antibiotic use are other parameters that are probably responsible for new MRSA cases.

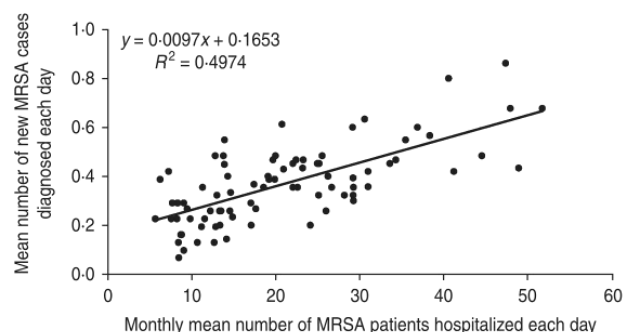


Fig. 3. Regression curve between the monthly mean number of MRSA patients hospitalized each day and the monthly mean number of new MRSA patients discovered each day.

Our study has several limitations. It was a retrospective study utilizing the database used on a daily basis by the infection control team and clinical wards. Consequently, the MRSA colonization pressure rate raises a number of comments.

Due to poor compliance with the screening readmission sampling policy (only 20%) and the retrospective study design, MRSA carriage at readmission was not confirmed in all cases. The poor compliance can be explained by the high number of

single rooms (85%) in our facility, allowing ease of isolation procedure implementation. Moreover, use of the electronic alert system meant that infection control measures were almost always set up quickly when an old MRSA carrier was readmitted [12]. In this context, the readmission screening sample was often omitted, unlike the isolation procedure. This could lead to overestimation of the MRSA colonization pressure rate since, in this study, all readmitted MRSA patients were assumed to be carriers.

However, about 64.4% of readmissions occurred within 3 months after discharge and, according to previous studies, probably almost all of these patients remained carriers [3, 4]. For patients readmitted >3 months after discharge, all screening and diagnostic samples collected during the entire stay were reviewed. All of these patients were not sampled during their stay, but MRSA was isolated in 42% of them. This rate is similar to that reported in previous studies, ranging from 40% to 63% [4, 5, 7]. Furthermore, it has been shown that intermittent MRSA carriage is encountered in a significant number of MRSA patients [3, 15]. Finally, no systematic decontamination was practised in our facility. These elements suggest that the overestimation of the MRSA burden in relation to readmissions is probably low.

In contrast, absence of universal MRSA screening for all patients admitted to hospital could underestimate unknown MRSA patients arriving from the community. It is likely that parameters of over- and underestimation compensate for each other.

The study also has a number of strengths. It was conducted over a long period (7 years) and included a large number of patients. All MRSA patients present in hospital during the 7-year study period were included in the analysis, allowing comprehensive evaluation of the global MRSA burden in our hospital. The mean annual MRSA incidence computed on diagnostic samples during the study period was 0.7/1000 patient-days, i.e. 0.07% which is 35-fold lower than the MRSA colonization pressure rate. This suggests that the incidence, computed exclusively on positive MRSA diagnostic samples, does not accurately reflect colonization pressure.

In conclusion, this study, which used an electronic process to follow readmission of MRSA carriers, showed that a substantial proportion of MRSA patients present at hospital on a given day was due to the pool of readmitted MRSA patients. If not identified, these patients can be a major source of

MRSA cross-transmission. Currently, electronic tools are essential to effectively combat the spread of MRSA by rapid identification of known MRSA carriers readmitted to hospital. In our facility, the effects of electronic alert implementation were noticeable.

DECLARATION OF INTEREST

None.

REFERENCES

1. Lowy FD. *Staphylococcus aureus* infections. *New England Journal of Medicine* 1998; **339**: 520–532.
2. Harbarth S. Control of endemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* – recent advances and future challenges. *Clinical Microbiology and Infection* 2006; **12**: 1154–1162.
3. Marschall J, Mühlemann K. Duration of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage, according to risk factors for acquisition. *Infection Control and Hospital Epidemiology* 2006; **27**: 1206–1212.
4. Scanvic A, et al. Duration of colonization by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* after hospital discharge and risk factors for prolonged carriage. *Clinical Infectious Disease* 2001; **32**: 1393–1398.
5. Robicsek A, Beaumont JL, Peterson LR. Duration of colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clinical Infectious Disease* 2009; **48**: 910–913.
6. Cooper BS, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in hospitals and the community: stealth dynamics and control catastrophes. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 2004; **101**: 10223–10228.
7. MacKinnon MM, Allen KD. Long-term MRSA carriage in hospital patients. *Journal of Hospital Infection* 2000; **46**: 216–221.
8. Robotham JV, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in hospitals and the community: model predictions based on the UK situation. *Journal of Hospital Infection* 2007; **65** (Suppl. 2): 93–99.
9. Evans RS, et al. System-wide surveillance for clinical encounters by patients previously identified with MRSA and VRE. *Studies in Health Technology and Informatics* 2004; **107**: 212–216.
10. Gransden WR, et al. Computerized detection of readmission of patients with MRSA. *Journal of Hospital Infection* 1998; **40**: 159–160.
11. Pittet D, et al. Automatic alerts for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* surveillance and control: role of a hospital information system. *Infection Control and Hospital Epidemiology* 1996; **17**: 496–502.
12. Kac G, et al. Impact of electronic alerts on isolation precautions for patients with multidrug-resistant bacteria. *Archives of Internal Medicine* 2007; **167**: 2086–2090.

13. **European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID).** EUCAST Definitive Document E.DEF 2.1, August 2000: Determination of antimicrobial susceptibility test breakpoints. *Clinical Microbiology and Infection* 2000; **6**: 570–572.
14. **Kaye KS, *et al.*** The deadly toll of invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in community hospitals. *Clinical Infectious Disease* 2008; **46**: 1568–1577.
15. **Vriens MR, *et al.*** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage among patients after hospital discharge. *Infection Control and Hospital Epidemiology* 2005; **26**: 629–633.

6.3.6 Etude n°7 : politique de dépistage des EBLSE (**Article n°3 de la thèse**)

Durant les années 2000, l'augmentation continue de l'incidence des entérobactéries multi-résistantes aux antibiotiques (EMR, résistantes aux C3G par portage d'EBLSE et/ou HP-CASE), a posé la question de leur origine. Bien que l'incidence des EBLSE augmente également en ville, il est apparu important de savoir si l'hôpital n'était que la partie émergée de l'iceberg de la propagation communautaire des EBLSE, ou s'il participait lui aussi à la diffusion. Initialement, j'avais soumis l'idée de lancer un protocole de dépistage systématique aux urgences pour évaluer à la fois la prévalence des EBLSE communautaires, mais également l'importation des EBLSE au niveau du service porte (patients hospitalisés). La faisabilité au niveau du laboratoire reposait sur l'acquisition d'un robot dédié à l'ensemencement des écouvillons de dépistage dont je souhaitais évaluer en parallèle les performances. Devant les difficultés rencontrées aux urgences, le projet s'est orienté vers un dépistage systématique en réanimation, plus aisé à mettre en place.

A l'HEGP, l'incidence était nettement plus élevée en réanimation que dans les autres services de l'établissement (Figure 22), et comme la politique de dépistage BMR n'incluait pas de collecte d'échantillon à l'admission dans ces unités, il était impossible de savoir si les patients étaient porteurs d'EMR dès leur arrivée, ou s'ils se colonisaient postérieurement.

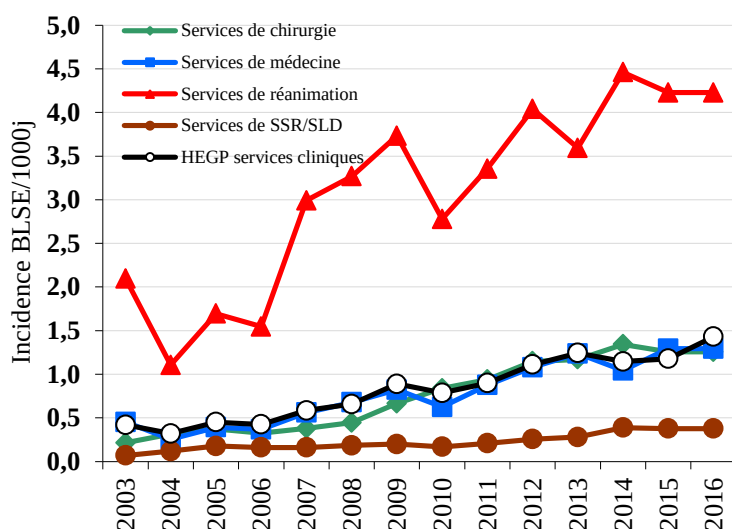


Figure 22. Distribution par type de service de l'incidence pour 1000 journées d'hospitalisation des patients porteurs de BLSE à l'HEGP.

C'est pourquoi, il a finalement été décidé de réaliser une cinétique d'émergence des EMR via un dépistage quotidien de l'ensemble des patients hospitalisés, durant la totalité de leur séjour en réanimation médicale et chirurgicale. En parallèle, des informations concernant des facteurs de risque de portage étaient recueillies : antécédents d'hospitalisation, antibiothérapie, historique médicale... Enfin, tout traitement antibiotique initié ou poursuivi durant le séjour était collecté à fins d'analyse ultérieure. Les buts recherchés étaient donc de déterminer : i) la prévalence de portage à l'entrée, ii) le taux d'acquisition iii) la prévalence de

portage en sortie, iv) la politique de dépistage la plus efficace pour détecter le maximum de patients porteurs. L'évaluation des facteurs de risques d'acquisition et l'étude moléculaire épidémiologique des gènes de résistance aux C3G constituaient les objectifs secondaires. Enfin, l'ensemencement des écouvillons rectaux (ER) sur cinq milieux de culture dédiés à l'isolement des EMR m'a permis de conduire une étude concomitante, ciblant la capacité comparative de ces milieux à isoler les bactéries d'intérêt (voir au chapitre 6.5 l'optimisation de la détection des EBLSE).

La compliance des personnels de réanimation à prélever tous les patients, tous les jours sans exception, constituait le point critique de l'étude. L'exhaustivité obtenue fut excellente à défaut d'être parfaite (globale à 97% et 99,9% pour l'admission et la sortie), et, pour les très rares cas où l'ER n'était pas recueilli à J1, il était toujours collecté à J2. Cette exhaustivité a conféré de la robustesse aux pourcentages de portage au décours du séjour des patients. Deuxième point important pour la qualité de l'étude, l'exhaustivité des patients inclus dans l'étude. Sur les 294 patients admis pendant les trois mois d'inclusion, 254 furent inclus pour seulement 25 exclus, dont 21/25 pour cause de décès dans les 24h suivant l'admission. Là aussi, obtenir le statut de portage pour plus de 91% des patients était une force en vue de l'interprétation des données.

Le premier résultat de l'étude a été l'observation d'une très forte prévalence d'EMR en réanimation, puisque plus du tiers des patients hospitalisés sont, à un moment ou un autre de leur séjour, colonisés et/ou infectés par une EBLSE et/ou une HP-CASE. Les incidences étaient respectivement de 17,8 et 19,3 pour 100 patients. Le taux de portage à l'admission des EBLSE et des HP-CASE était respectivement de 14,1% (38/269) et 9,3% (25/269) pour l'ensemble des patients mais de 79,2% (38/48) et 48,1 (25/52) rapportés aux patients porteurs. Cela signifie que sur cinq patients porteurs admis en réanimation, quatre d'entre eux arrivent déjà avec leur souche d'EBLSE. L'idée selon laquelle la réanimation serait une « usine à EBLSE », idée relativement répandue eu égard aux incidences élevées relevées dans ce type de services, ne correspond pas aux observations effectuées lors de cette étude. En revanche, la moitié des souches de HP-CASE sont découvertes plus de 48h après l'admission du patient en réanimation suggérant une plus forte acquisition ou sélection que pour les EBLSE.

Ces résultats appellent des commentaires sur deux limites de cette étude. Le premier concerne le portage élevé de BLSE à l'admission. Il eut été intéressant de s'intéresser davantage à l'historique des patients porteurs : i) admission directe ou transfert d'un service HEGP, ii) séjours antérieurs, iii) résultats de bactériologie antérieurs. Au départ, l'étude était dimensionnée pour établir des facteurs de risques de portage incluant l'historique médical du patient. Au final, les informations recueillies étaient fragmentaires, peu fiables et difficilement

exploitables. Mais le trajet hospitalier intra-HEGP aurait dû être défini pour pondérer ce chiffre de 80% de portage de BLSE à l'admission en réanimation. Si c'était à refaire, je consulterais chaque dossier des patients porteurs pour définir s'il s'agissait d'admission directe ou de transfert d'un autre service. La deuxième limite à cette étude concerne la sélection des BMR par antibiothérapie durant le séjour. Tous les traitements ont été colligés mais l'analyse des données n'a pas été poursuivie, au départ par complexité de l'exercice, au final pour délivrer un message simple dans l'article en le centrant sur la politique de dépistage.

Cette étude a apporté un éclairage important sur l'aspect parcellaire d'une politique de dépistage dû à un portage intermittent présent chez de nombreux patients porteurs. Ce dernier point concerne 48/93 patients, pour qui, au moins une journée, un ER était dépourvu d'EMR, alors que le jour précédent et le jour suivant, l'ER a conduit à l'isolement d'une EMR. Rien ne prouve avec cette étude que le patient n'est plus porteur un jour et qu'il se recolonise. Il est plus probable que des artéfacts techniques (faiblesse de l'inoculum digestif, prélèvement non adéquat, problème lié à l'ensemencement...) expliquent cette intermittence de courte durée. Mais cela oblige à regarder prudemment les résultats d'ER négatif, ceux-ci ne donnant pas l'assurance que le patient n'est pas porteur.

Au final, hormis un dépistage systématique quotidien, aucune politique de dépistage ne permet de détecter 100% des patients porteurs. Si l'on prend les stratégies les plus communes (admission seule, sortie seule, admission/sortie, admission/sortie/hebdomadaire) les taux de découverte des EMR sont respectivement de 58, 66, 72, et 80%. Une politique exhaustive quotidienne étant impossible à mettre en place, des choix sont nécessaires, et chaque hôpital doit faire les siens en fonction de son écologie locale et de ses moyens. Suite à cette étude, aucun changement de politique de dépistage n'est intervenu à l'HEGP, les unités maintenant la collecte d'ER unique en sortie de réanimation. De mon point de vue, ce paradoxe est difficilement explicable (pouvoir de l'habitude ? surcroît de travail ? désintérêt pour le dépistage ?...). Officiellement, la position est défendue sur la base de l'application systématique des PCC à tous les patients. Malheureusement, elle ne tient pas compte du déficit en information ; sans dépistage à l'admission, pas de connaissance de la prévalence de portage à l'entrée, ni du taux d'acquisition dans le service.

Article n°3 du corpus de la thèse :

Assessment of five screening strategies for optimal detection of carriers of third-generation cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae in intensive care units using daily sampling.

Assessment of five screening strategies for optimal detection of carriers of third-generation cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae in intensive care units using daily sampling

P. Grohs¹, I. Podglajen¹, E. Guerot², F. Bellenfant³, A. Caumont-Prim^{4,5}, G. Kac⁶, B. Tillecovidin¹, E. Carboneille^{1,7}, G. Chatellier^{4,5}, G. Meyer^{7,8}, J.Y. Fagon^{2,7} and L. Gutmann^{1,7}

1) Service de Microbiologie, AP-HP Hôpital Européen Georges Pompidou, 2) Réanimation Médicale, AP-HP Hôpital Européen Georges Pompidou, 3) Réanimation Chirurgicale, AP-HP Hôpital Européen Georges Pompidou, 4) Unité d'Epidémiologie et de Recherche Clinique, AP-HP Hôpital Européen Georges Pompidou, 5) INSERM, Centre d'Investigation Épidémiologique, AP-HP Hôpital Européen Georges Pompidou, 6) Hygiène Hospitalière, AP-HP Hôpital Européen Georges Pompidou, 7) Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, AP-HP Hôpital Européen Georges Pompidou and 8) Service de Pneumologie, AP-HP Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris Cedex 15, France

Abstract

There is no consensus on optimal screening procedures for multidrug-resistant Enterobacteriaceae (MDRE) in intensive care units (ICUs). Therefore, we assessed five strategies for the detection of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) and high-level expressed AmpC cephalosporinase (HL-CASE) producers. During a 3-month period, a rectal screening swab sample was collected daily from every ICU patient, from the first 24 h to the last day of ICU stay. Samples were plated on MDRE-selective media. Bacteria were identified using MALDI-TOF mass spectrometry and antibiograms were performed using disk diffusion. MDREs were isolated from 682/2348 (29.0%) screening samples collected from 93/269 (34.6%) patients. Incidences of patients with ESBL and HL-CASE producers were 17.8 and 19.3 per 100 admissions, respectively. In 48/93 patients, MDRE carriage was intermittent. Compared with systematic screening at admission, systematic screening at discharge did not significantly increase the rate of MDRE detection among the 93 patients (62% vs. 70%). In contrast, screening at admission and discharge, screening at admission and weekly thereafter, and screening at admission and weekly thereafter and at discharge significantly increased MDRE detection (77% *p* 0.02; 76% *p* 0.01; 86% *p* <0.001, respectively). The difference in MDRE detection between these strategies relies essentially on the levels of detection of patients with HL-CASE producers. The most reasonable strategy would be to collect two samples, one at admission and one at discharge, which would detect 87.5% of the ESBL strains, 67.3% of the HL-CASE strains and 77.4% of all MDRE strains. This study should facilitate decision-making concerning the most suitable screening policy for MDRE detection in a given ICU setting.

Keywords: cephalosporinase, extended-spectrum beta-lactamase, intensive care units, multidrug-resistant Enterobacteriaceae, screening strategies
Original Submission: 10 January 2014; Revised Submission: 14 April 2014; Accepted: 30 April 2014

Editor: R. Canton

Article published online: 8 May 2014

Clin Microbiol Infect

Corresponding author: P. Grohs, Department of Microbiology, AP-HP Hôpital Européen Georges Pompidou, 20-40 rue Leblanc, 75908 Paris Cedex 15, France
E-mail: patrick.grohs@egp.aphp.fr

Introduction

While third-generation cephalosporins (3GCs) are the antimicrobial agents used most commonly for infections due

to Enterobacteriaceae, the level and spread of 3GC resistance has become a major public health concern [1–3]. Two dominant mechanisms contribute to 3GC resistance in Enterobacteriaceae, the generally plasmid-mediated acquisition of extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-encoding genes [1] and the high-level expression of AmpC cephalosporinase (HL-CASE) following either *in vivo* selected derepression of low-level expressed chromosome-encoded AmpC (LL-CASE) or, less frequently, acquisition of a plasmid-borne AmpC gene [1,4,5].

Resistance to 3GCs is often associated with resistance to other antibiotic families resulting in multidrug-resistant Enterobacteriaceae (MDRE). Before the spread of CTX-M-producing *Escherichia coli*, cross-contamination was the usual pathway for acquisition of ESBL-producing Enterobacteriaceae (ESBL strains) and hardly ever the consequence of in vivo selected mutation [1,6]. In contrast, in vivo selection remains the most common mode of HL-CASE production [7,8]. In recent years, a steady increase in the prevalence of ESBL strains has been observed in hospitals, long-term care facilities and in the community [9–11] while the prevalence of HL-CASE-producing Enterobacteriaceae (HL-CASE-strains) increased mainly in hospitals [5,12,13].

In intensive care units (ICUs), high MDRE prevalence has become a cause of increased morbidity and mortality, and a major concern with respect to the most appropriate treatment for infected patients [2,14–17]. Given the poor development of new drugs active against MDRE, the fight against their cross-transmission is of major importance. A better knowledge of the pattern of MDRE carriage in patients admitted to ICUs would help in selecting the best screening strategy in order to detect asymptomatic carriers, implement prompt isolation precautions and, thereby, limit MDRE spread [18,19]. While there is no definitive consensus on the most effective screening strategy for the detection of asymptomatic MDRE carriers [20], systematic screening at patient admission has been recommended [18,19,21]. However, this strategy does not take into account MDRE acquisition during patient stay.

With the aim of defining the most appropriate screening strategy for detection of asymptomatic MDRE carriers in ICUs, we performed a prospective study using systematic daily sampling during the entire stay of ICU patients.

Methods

Settings and patients

All patients admitted to the medical and the surgical ICUs of an 830-bed acute-care teaching hospital between 3 April and 3 July 2011 were included in the study and surveyed until discharge. Patients already present in the ICUs on 3 April, patients who died during the first day of their stay and patients who refused to participate were not included. The study complied with confidentiality regulations and ethical standards, and, in agreement with French regulations, the institutional review board waived the need for informed consent (CCPPRB project number: ID-RCB 201-A00259-32, University Paris XI, February 2011).

Screening

Using the eSwab[®] system (Copan, Brescia, Italy), a rectal screening swab (RSS) was collected daily from each patient between the first 24 h (admission RSS) and the last day in the ICU (discharge RSS). For patients admitted late in the evening of day 1, if no RSS was collected, the RSS collected on the next morning (day 2) was considered the admission RSS. For patients who died, an RSS was not systematically collected on the last day, and the RSS of the day before was considered to be the discharge RSS. Rectal screening results were provided to physicians and nurses.

Microbiological tests

Each RSS was suspended in 1 mL of Liquid Amies (Copan), and 10 µL of the suspension were plated on two selective media (ChromID[®], bioMérieux, Lyon, France, and Drigalski agar ceftazidime, Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA) using an automated specimen-plating device (WASP[®]; Copan, Milan, Italy). Colonies were picked after 18 h of incubation at 37°C. Isolates were identified using matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry with a Microflex Bruker Daltonics/BioTyper[™] version 2.0 system (Bruker Daltonics, Bremen, Germany). Antimicrobial susceptibility indicative of ESBL and/or HL-CASE production was tested with the disk diffusion method on Mueller–Hinton agar (MH; Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France), according to European guidelines [22]. An isolate was categorized as an ESBL producer when a zone of synergy between a 3GC or aztreonam and clavulanic acid disk was observed and as an HL-CASE producer when it displayed (i) resistance to 3GCs, (ii) absence of synergy between any 3GC or aztreonam and clavulanic acid, and (iii) at least a 5-mm increase in the inhibition zone diameters around the 3GC disks, observed on MH with and without doxycycline (250 µg/mL). To reveal ESBL potentially masked by HL-CASE production, synergy was tested on MH with and without doxycycline (250 µg/mL). All isolates categorized as ESBL and/or HL-CASE producers were also categorized collectively as MDRE.

Imported and acquired resistant strains

When the first RSS with an MDRE strain was collected on day 1 and/or day 2 (≤ 48 h), the corresponding strain was categorized as imported; when it was collected on or after day 3 (> 48 h), the corresponding strain was categorized as acquired (by cross-transmission or in vivo selection). In a given patient, ESBL strains and HL-CASE strains could be imported or acquired independently.

Cross-transmission

When two isolates belonging to the same species and with the same antimicrobial resistance pattern were isolated from two

patients hospitalized concomitantly in the same unit, strains were typed using randomly amplified polymorphic DNA analysis and the DiversiLab System (bioMérieux). Cross-transmission between two patients was assumed if their stays in the same unit overlapped for at least 1 day and if their isolates had the same antimicrobial pattern and similar DNA fingerprinting patterns.

Screening strategies

As an RSS was collected daily from each patient, we retrospectively and comparatively analysed the results of five potential MDRE detection strategies: screening only at admission (strategy A); screening only at discharge (D); screening at admission and discharge (AD); screening at admission and weekly thereafter (AW); screening at admission, weekly thereafter and at discharge (AWD). To calculate the weekly detection rate of MDRE carriers, we first determined the number of carriers who would have been detected, at each day of the week, if RSS had been collected at one given day. The seven values thus obtained were used to calculate the mean weekly detection rate.

Medical data

Demographic characteristics, severity scores at admission, need for mechanical ventilation and mortality were recorded for patients in the medical and surgical ICUs.

Statistical analysis

Continuous variables are presented as mean $\pm$ SD and categorical variables as n (%). Comparisons between groups (ICUs) were made using univariate analysis. For continuous variables, the Student's t-test was used for normally distributed variables and the Wilcoxon test for non-normally distributed variables. A chi-square test was used for categorical variables and for comparison of screening policies. SAS software version 9.2 (SAS Inc., Cary, NC, USA) was used for all statistical analyses.

Results

Patients

In total, 294 patients were admitted to the two ICUs during the study period. Small differences were observed between the two ICU populations (Table 1) but, taking into account that at admission carriage of ESBL strains and/or HL-CASE strains was not statistically different between the two populations, patients were pooled in one study group for further analysis.

The 269 patients included in the study corresponded to 2413 patient days (mean length of stay, 8.6 days; range,

TABLE 1. Univariate analysis comparing the patients of the surgical and the medical intensive care units (ICUs)

Factor	Surgical ICU	Medical ICU	Both ICUs pooled	p-Value
Number of patients	84	185	269	–
Age (years, mean $\pm$ SD) ^a	59.4 ($\pm$ 18.7)	66.5 ($\pm$ 17.7)	64.2 ($\pm$ 18.3)	0.003 ^b
Male sex (%)	49 (58.3)	109 (58.9)	158 (58.7)	0.93 ^c
SAPS2 (mean $\pm$ SD)	45.8 ($\pm$ 25.8)	54.5 ($\pm$ 23.7)	51.8 ($\pm$ 24.7)	0.005 ^d
Mechanical ventilation (%)	54 (64.3)	134 (72.4)	188 (69.9)	0.18 ^e
Death (%)	11 (13.1)	47 (25.4)	58 (21.6)	0.04 ^e
ESBL presence at admission (%) ^f	12 (14.29)	25 (13.51)	37 (13.75)	0.86 ^e
HL-CASE presence at admission (%) ^g	5 (5.95)	18 (9.73)	23 (8.55)	0.30 ^e
MDRE presence at admission (%) ^g	17 (20.24)	41 (22.16)	58 (21.56)	0.72 ^e

^aSD, standard deviation.

^bParametric test.

^cNon-parametric test.

^dChi-squared test.

^eESBL, Enterobacteriaceae harbouring extended-spectrum β -lactamase.

^fHL-CASE, Enterobacteriaceae harbouring high-level expressed cephalosporinase.

^gMDRE, multidrug-resistant Enterobacteriaceae (ESBL and/or HL-CASE).

2–96 days). Compliance with providing an RSS was 97.3% (2348 RSS for 2413 patient days); compliance at admission and discharge was 99.9% in each case.

MDRE carriers

At least one MDRE strain was isolated from 682 RSS collected from 93 of 269 patients (34%) (Fig. 1). The incidence of MDRE carriers ($n = 93$) was 34.6 per 100 admissions. The incidence of patients with an ESBL strain ($n = 48$) was 17.8 per 100 admissions with a corresponding incidence density of 19.9 per 1000 patient days, while the incidence of patients with an HL-CASE strain ($n = 52$) was 19.3 per 100 admissions with a corresponding incidence density of 21.5 per 1000 patient days.

Distribution of MDRE strains

Table 2 illustrates the distribution of the 118 MDRE strains isolated during the study. *E. coli* and *Klebsiella pneumoniae* were the most common ESBL producers, while *Enterobacter cloacae*, *E. coli* and *Citrobacter freundii* were the most common HL-CASE producers.

Acquired/imported cases

Figure 2 shows the results of the daily collected RSS for each of the 93 patients with MDRE strains. Length of stay varied from 2 to 83 days. In 61/93 patients (65.6%), the first MDRE strain was isolated within 48 h of admission and considered as imported: 35 patients with only an ESBL strain, 22 patients with only an HL-CASE strain, and four patients with an ESBL and an HL-CASE strain. Among the four patients with an ESBL

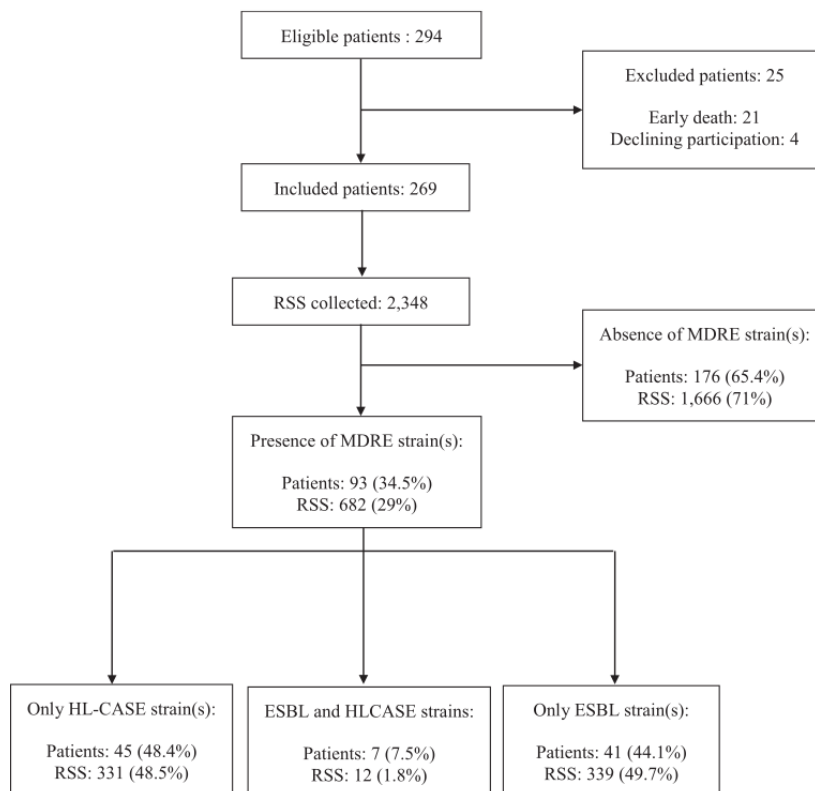


FIG. 1. Flow chart describing patient inclusion and the type of multidrug-resistant Enterobacteriaceae isolates (MDRE) corresponding to strains harbouring extended-spectrum b-lactamases (ESBL producer) and/or high-level expressed cephalosporinase (HL-CASE producer) isolated from 2348 rectal screening samples (RSS) from 269 patients.

TABLE 2. Distribution of the 118 multidrug-resistant Enterobacteriaceae (MDRE) strains isolated among the 93 MDRE carriers

	ESBL + strain ^a							HL-CASE + strain ^b							No of strains	No (% of strains isolated more than 48 h after admission)
<i>Escherichia coli</i> ESBL	+			+	+	+									35	5 (14.3)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ESBL		+			+	+	+								16	6 (37.5)
Other species ESBL			+			+	+								5	0
<i>Enterobacter cloacae</i> HL-CASE								+		+	+	+	+		18	12 (66.7)
<i>Escherichia coli</i> HL-CASE									+		+	+	+		14	5 (35.7)
<i>Citrobacter freundii</i> HL-CASE										+		+	+	+	10	3 (30.0)
Other species HL-CASE													+	+	20	14 (70.0)
No of MDRE-patients ^c	29	10	2	4	1	1	1	14	8	4	16	1	3	2	3	1

^aESBL, Enterobacteriaceae harbouring extended-spectrum b-lactamase.

^bHL-CASE, Enterobacteriaceae harbouring high-level over-expressed cephalosporinase.

^cDistribution of patients carrying ESBL strain(s) and/or HL-CASE strain(s). Seven patients who harboured ESBL strain(s) and HL-CASE strain(s) are counted twice.

and an HL-CASE strain, patient 182 carried only an HL-CASE strain at admission and patient 183 carried only an ESBL strain at admission. Thus, at admission, the rate of ESBL-strain carriage was 14.1% (38/269) while that of HL-CASE strains was 9.3% (25/269).

In 32/93 (34.4%) patients, the first MDRE strain was acquired during the ICU stay more than 48 h after admission (see acquired cases, Fig. 2); that is, in six patients with only ESBL strains, in 23 patients with only HL-CASE strains and in three patients with both. In two patients, the first MDRE strain was imported, and at least one MDRE strain was acquired (Fig. 2, patients 182 and 183). Thus, the acquired/total case ratio was 10/48 (21%) for patients with ESBL strains (only

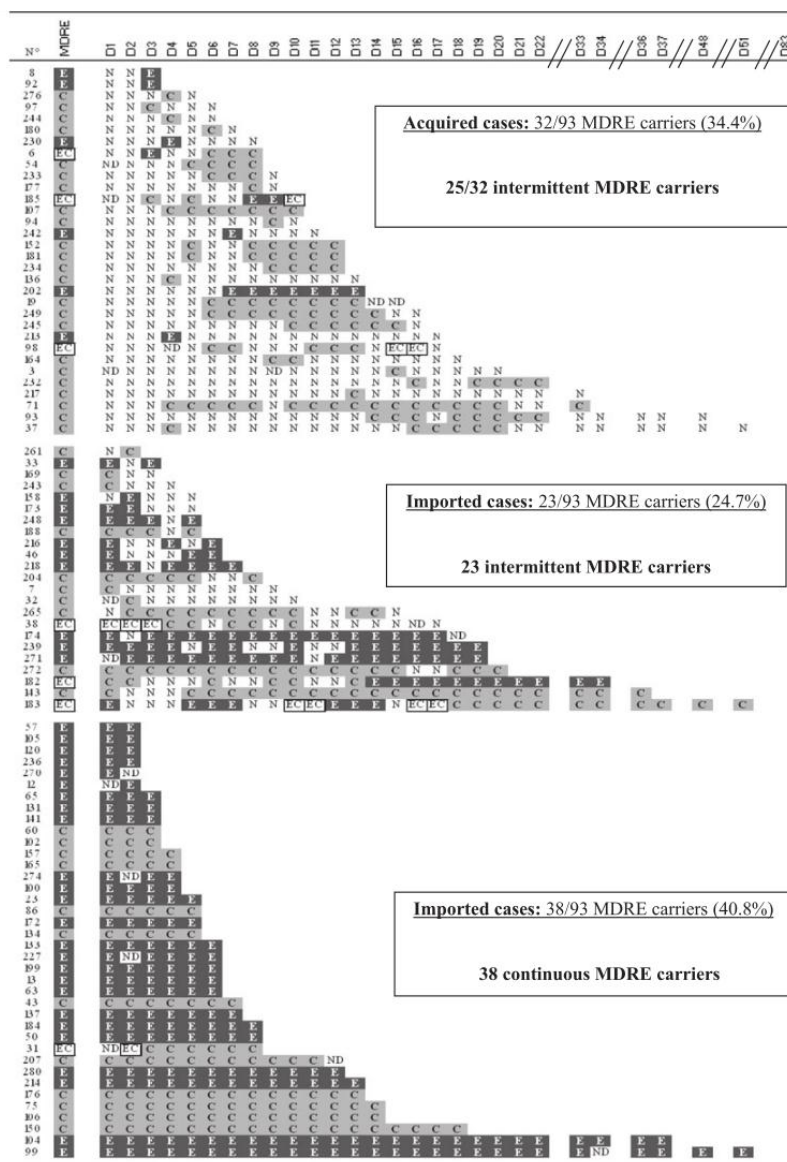
E. coli and *K. pneumoniae*) and 27/52 (52%) for patients with HL-CASE strains.

Daily sampling revealed that in 48/93 (52%) patients MDRE-strain carriage was intermittent (Fig. 2). Intermittent carriage concerned less often patients with ESBL (13/48, 27%) than those with HL-CASE strains (30/52, 58%; $p < 0.01$). In patients with both ESBL and HL-CASE strains, these strains were found either sequentially (patients 6 and 182) or simultaneously (patients 185, 98, 38, 183 and 31).

Cross-transmission

Two episodes of cross-transmission with ESBL-producing *K. pneumoniae* involving five patients were observed during

FIG. 2. Results obtained for daily rectal screening samples (RSS) collected from each of the 93 MDRE carriers with an ESBL- and/or an HL-CASE-producing strain during their ICU stay. The first column gives the sequential number attributed to each patient included in the study. The second column indicates the resistance traits of the isolate(s) present in the different RSS collected from each patient during his/her stay: E, only ESBL was found; C, only HL-CASE was found; EC, ESBL and HL-CASE were found. The other columns (day one (D1) to day 83 (D83)) show the resistance traits (E, C, E and C strains; EC) associated with the strain(s) isolated from RSS collected daily from each patient during his/her entire stay (length of stay varied from 3 to 83 days). N, RSS in which no MDRE strain was detected; ND, no data available. Acquired cases, first MDRE strain detected after 48 h of stay; imported cases, first MDRE strain detected within 48 h of stay; intermittent carriage, patients in whom an RSS without an MDRE strain was found subsequently to an RSS with an MDRE strain.



the study (first episode, patients 8 and 13; second episode, patients 182, 183 and 202). No cross-transmission between patients with HL-CASE strains was observed.

Screening strategy

When the results for all RSS collected were available, five potential MDRE screening strategies were retrospectively assessed. The results of these strategies are shown in Table 3.

Discussion

The results of the present study regarding the epidemiology of MDRE colonization in ICU patients can be summarized as

follows: (i) the rate of MDRE carriage at admission is high, with identical prevalence of ESBL and HL-CASE strains; (ii) ESBL strains are mostly imported and HL-CASE strains mostly acquired; (iii) carriage of MDRE is intermittent in half of the cases; and (iv) the efficiency of the screening strategy varies with the screening policy implemented.

The prevalence of ESBL-strain carriers found in this study conducted in 2011 follows the trend observed in the last decade. At the end of the 1990s, when the dissemination of ESBLs was low, one report showed that only 1% of ICU patients were colonized with an ESBL strain [20]. In the 2000s, when CTX-M-type ESBLs emerged, an increasing prevalence of patients with ESBL strains in ICUs, ranging from 8% in 2005 to 20% in 2010, was observed [23,24]. These studies also

TABLE 3. Evaluation of different screening strategies for the detection of the 93 multidrug-resistant Enterobacteriaceae (MDRE) patients carrying ESBL and/or HL-CASE strains

Screening strategy	Patients with MDRE-positive screening samples								
	ESBL carriers ^a (n = 48)			HL-CASE carriers ^b (n = 52)			MDRE carriers ^c (n = 93)		
	No ^d	%	p Value ^e	No	%	p Value	No	%	p Value
RSS collected									
Admission ^f	37	77.1	–	23	44.2	–	58	62.4	–
Discharge	38	79.2	0.805	29	55.8	0.239	66	71.0	0.213
RSS collected									
Admission + discharge	42	87.5	0.181	35	67.3	0.018	72	77.4	0.025
Admission + weekly mean value ^g	40 (38–42) ^h	83.3	0.442	36 (34–40)	69.2	0.010	74 (69–78)	79.6	0.010
RSS collected									
Admission + discharge + weekly mean value	43 [42–44]	89.6	0.100	41 [39–45]	78.8	<0.001	80 [77–82]	86.0	<0.001

^aPatients carrying Enterobacteriaceae strain(s) harbouring extended-spectrum β -lactamase (ESBL).^bPatients carrying Enterobacteriaceae strain(s) harbouring high-level over-expressed cephalosporinase (HL-CASE).^cPatients carrying ESBL and/or HL-CASE strain(s).^dNumber of patients.^eThe chi-squared test was used to compare different screening strategies with the reference policy (screening sample collected only at admission). Each strategy was considered as statistically different from the reference policy for a p value <0.05.^fDetection of MDRE carriers at admission was chosen for reference.^gWe first assessed the number of MDRE patients detected if sampling had been done on a defined day of the week during their stay (seven values from Monday to Sunday). The mean value was then calculated from these seven values, and values between brackets correspond to extremes of the seven values. For instance, from the 48 ESBL patients, 23 ESBL patients were detected using a systematic RSS collected on Friday and 31 ESBL patients using an RSS collected on Thursday, and the mean value for the 7 days of the week was 27.^hExtreme values for weekly screening.

reported high rates of colonization with ESBL strains at admission, ranging from 9% to 15% [23,24], similar to that found in our study (i.e. 14.1%).

The data regarding colonization with HL-CASE strains remain scarce. To the best of our knowledge, only one multicentre study conducted in 2005 reported incidence rates of MDRE colonization with ESBL and HL-CASE strains [24]. In that study, the incidence of patients with MDRE ranged from 8.8 to 21.0/1000 patient-days and that of patients with ESBL strains from 1.4 to 10.9/1000 patient-days, depending on the ICU [24]. The acquired case/total case ratio was 49% for ESBL and 60% for HL-CASE-strain carriers compared with 21% and 52% respectively, in the present study. These results show that a significant proportion of patients admitted to the ICUs were colonized with an MDRE strain (mainly ESBL) while another significant proportion of patients acquired an MDRE strain under antibiotic selective pressure (mainly HL-CASE) during the ICU stay.

The present results of daily sampling provide new information about the variability of MDRE carriage in ICU patients. They reveal an intermittent MDRE-strain carriage that concerned 27% of patients with ESBL and 58% with HL-CASE strains. A similar intermittent carriage was previously reported in patients carrying methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [25–27]. A likely explanation for intermittent carriage of ESBL strains might be a switch between administration and withdrawal of different antibiotics during the ICU stay impacting on the density of resistant strains, as shown in an animal model [28].

With the daily collection of RSS, we investigated five potential screening strategies (Table 3) for MDRE detection. Overall, sampling at admission or sampling at discharge did not show significant differences, including ESBL and HL-CASE carriers. Increasing the number of RSS, with one collected at admission and one at discharge, increased the detection of MDRE carriers significantly, and the rate of detection was even greater with one RSS collected at admission, one at discharge and one weekly. The difference in detection of MDRE carriers between these strategies is mainly due to a better detection of patients with HL-CASE strains, in whom we found higher acquisition and intermittent-carriage rates. Taking into account our results and financial considerations, the most reasonable strategy would be to collect two samples, one at admission and one at discharge, which would detect 87.5% of the ESBL strains, 67.3% of the HL-CASE strains and 77.4% of all MDRE strains.

This present work has some limitations. The study covered a period of only 3 months and concerned only two ICUs and a limited number of patients. Moreover, the study design was prospective but data analysis and projections for screening strategies were performed retrospectively. It would therefore be interesting to compare the different strategies prospectively, either simultaneously in five similar ICUs or sequentially in one ICU. Nonetheless, to our knowledge this is the first report of systematic daily sampling in all patients of an ICU from admission until discharge.

In conclusion, this study revealed high MDRE prevalence rates in colonized patients at admission and high MDRE

acquisition rates during their stay. We identified a significant intermittent MDRE carriage, especially in patients with HL-CASE strains. Testing different screening strategies, we found that none was perfect because with each of them a fraction of MDRE strains would go unidentified. Incidentally, isolation of all patients colonised with these organisms is not consensual, in particular of patients colonised with ESBL-producing *E. coli* or derepressed AmpC-producing *Enterobacter*. However, this study should facilitate decision-making concerning the most suitable screening policy for the detection of MDRE in a given ICU setting, in accordance with the local isolation policy.

Acknowledgements

We thank all companies that provided materials for this study free of charge: Siemens for the WASP, and bioMérieux and Becton Dickinson for ESBL media. Part of this research was presented at the 31st Reunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse (RICAI), Paris, France, 2011, Abstract number 174/440.

Funding

This work was supported by a grant-in-aid from Assistance-Publique, Hopitaux de Paris.

Transparency Declaration

All authors declare that they have no conflict of interests with respect to the present study. For English language and style, the manuscript has been reviewed by a native English speaker, profiting from the above grant-in-aid.

References

- Pitout JD, Laupland KB. Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. *Lancet Infect Dis* 2008; 8: 159–166.
- De Kraker ME, Wolkewitz M, Davey PG et al. Burden of antimicrobial resistance in European hospitals: excess mortality and length of hospital stay associated with bloodstream infections due to *Escherichia coli* resistant to third-generation cephalosporins. *J Antimicrob Chemother* 2011; 66: 398–407.
- European Centre for Diseases Prevention and Control. Annual epidemiological report 2011. Available from http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/Forms/ECDC_DispForm.aspx?ID=767 (last accessed 17 May 2013).
- Jacoby GA. AmpC beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev* 2009; 22: 161–182.
- Su LH, Chu C, Cloeckart A et al. An epidemic of plasmids? Dissemination of extended-spectrum cephalosporinases among *Salmonella* and other Enterobacteriaceae. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2008; 52: 155–168.
- Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18: 657–686.
- Donskey CJ. Antibiotic regimens and intestinal colonization with antibiotic-resistant gram-negative bacilli. *Clin Infect Dis* 2006; 43 (Suppl 2): S62–S69.
- Meyer E, Lapatschek M, Bechtold A et al. Impact of restriction of third-generation cephalosporins on the burden of third-generation cephalosporin resistant *K. pneumoniae* and *E. coli* in an ICU. *Intensive Care Med* 2009; 35: 862–870.
- Canton R, Novais A, Valverde A et al. Prevalence and spread of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14 (Suppl 1): 144–53 Erratum in: *Clin Microbiol Infect* 2008; 14 (Suppl 5):21–4.
- Livermore DM, Canton R, Gniadkowski M et al. CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59: 165–174.
- Pitout JD, Hanson ND, Church DL et al. Population-based laboratory surveillance for *Escherichia coli*-producing extended-spectrum beta-lactamases: importance of community isolates with blaCTX-M genes. *Clin Infect Dis* 2004; 38: 1736–1741.
- Baudry PJ, Nichol K, DeCorby M et al. Comparison of antimicrobial resistance profiles among extended-spectrum beta-lactamase-producing and acquired AmpC beta-lactamase-producing *Escherichia coli* isolates from Canadian intensive care units. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52: 1846–1849.
- Courpon-Claudinon A, Lefort A, Panhard X et al. Bacteraemia caused by third-generation cephalosporin-resistant *Escherichia coli* in France: prevalence, molecular epidemiology and clinical features. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17: 557–565.
- Meyer E, Schwab F, Schroeren-Boersch B et al. Dramatic increase of third-generation cephalosporin-resistant *E. coli* in German intensive care units: secular trends in antibiotic drug use and bacterial resistance, 2001 to 2008. *Crit Care* 2010; 14: R113.
- Hanberger H, Arman D, Gill H et al. Surveillance of microbial resistance in European Intensive Care Units: a first report from the Care-ICU programme for improved infection control. *Intensive Care Med* 2009; 35: 91–100.
- Lee SY, Kotapati S, Kuti JL et al. Impact of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species on clinical outcomes and hospital costs: a matched cohort study. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2006; 27: 1226–1232.
- Vincent JL, Rello J, Marshall J et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA* 2009; 302: 2323–2329.
- National Center for Infectious Diseases. Management of Multi-drug-Resistant Organisms In Healthcare Settings. 2006. Available from http://www.cdc.gov/hicpac/pdf/MDRO/MDRO_Guideline2006.pdf (last accessed 17 May 2013).
- Société Française d'Hygiène Hospitalière. Recommandation nationale sur la prévention de la transmission croisée: précautions complémentaires contact. 2009. Available from <http://www.sfh.net/telechargement/recommandationspreventiontransmissioncroiseeSFHH.pdf> (last accessed 17 May 2013).
- Thouverez M, Talon D, Bertrand X. Control of Enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamase in intensive care units: rectal screening may not be needed in non-epidemic situations. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2004; 25: 838–841.
- Strausbaugh LJ, Siegel JD, Weinstein RA. Preventing transmission of multidrug-resistant bacteria in health care settings: A tale of two guidelines. *Clin Infect Dis* 2006; 42: 828–835.

22. European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing. (EUCAST) of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID). Determination of antimicrobial susceptibility test breakpoints. *Clin Microbiol Infect* 2000; 6: 570–572.
23. Razazi K, Derde LP, Verachten M et al. Clinical impact and risk factors for colonization with extended-spectrum β -lactamase-producing bacteria in the intensive care unit. *Intensive Care Med* 2012; 38: 1769–1778.
24. Thiebaut AC, Arlet G, Andremont A et al. Variability of intestinal colonization with third-generation cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae and antibiotic use in intensive care units. *J Antimicrob Chemother* 2012; 67: 1525–1536.
25. Marschall J, Mählemann K. Duration of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage, according to risk factors for acquisition. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2006; 27: 1206–1212.
26. Stone ND, Lewis DR, Johnson TM 2nd et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) nasal carriage in residents of veterans affairs long-term care facilities: role of antimicrobial exposure and MRSA acquisition. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2012; 33: 551–557.
27. Vriens MR, Blok HE, Gigengack-Baars AC et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage among patients after hospital discharge. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005; 26: 629–633.
28. Høyen K, Pultz NJ, Paterson DL et al. Effect of parenteral antibiotic administration on establishment of intestinal colonization in mice by *Klebsiella pneumoniae* strains producing extended-spectrum-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 3610–3612.

6.4 Etude n°8 : lutte contre la sélection des HP-CASE (Article n°4 de la thèse)

Dès 2002, les EBLSE ont occupé une place de choix dans les préoccupations épidémiologiques de l'HEGP, car une épidémie à *Enterobacter aerogenes* s'était développée dans nos murs, touchant particulièrement les unités de réanimation. Et à partir de 2004, l'incidence globale des EBLSE a entamé son inexorable progression vers les valeurs que nous lui connaissons aujourd'hui. En parallèle, les cinq premières années de vie de l'hôpital ont vu une progression régulière de l'incidence des HP-CASE qui a doublé entre 2001 et 2005 (0,32/1000JH vs 0,69/1000JH). J'ai en premier lieu suspecté une souche épidémique. En étudiant les espèces impliquées, il s'est avéré qu'une très grande proportion de l'incidence des HP-CASE était due aux entérobactéries du groupe III possédant une céphalosporinase chromosomique, et plus particulièrement les *Entérobacter cloacae*. Mais, ces souches étaient retrouvées dans tous les services de l'hôpital et les profils antibiotiques étaient le plus souvent différents. Aucune transmission croisée n'ayant pu être mise en évidence, mes investigations se sont orientées vers la consommation d'antibiotiques. Là encore, aucune explication évidente n'a pu être avancée puisque, pendant ces 5 années, la consommation globale avait diminué de 976 à 750 JTE/1000JH, même si celle des C3G avait modérément augmenté de 37,4 à 55,5 JTE/1000JH.

Dans une étude parue en 2004, les auteurs constataient une corrélation spécifique entre l'utilisation de ceftriaxone et le développement de la résistance aux C3G chez *E. cloacae* (127). Leur hypothèse était que la forte élimination biliaire de la ceftriaxone pouvait avoir un impact sélectif important sur la flore digestive. Partant de cette hypothèse, la COMAI a décidé d'opérer un remplacement total de la ceftriaxone par le céfotaxime, antibiotique à spectre bactérien identique mais dont l'élimination préférentiellement urinaire était supposée avoir moins d'impact sur le microbiote intestinal. Si la substitution s'avérait efficace, l'incidence des souches de HP-CASE devait diminuer.

Ce changement impliquait des contraintes conséquentes pour les équipes de soins et pour les patients puisque le traitement par cefotaxime consiste en trois injections quotidiennes vs une seule pour la ceftriaxone. Pour autant, le remplacement été rapide puisque la consommation de ceftriaxone qui était de 21.5 JTE/1000JH en 2005 est tombée à 6.3 en 2006 puis 2.2 en 2007, et que celle du céfotaxime est passée de 5.9JTE/1000JH en 2005 à 18.1 en 2006 et 20.5 en 2007. En parallèle, à partir de 2006, une inflexion de la courbe d'augmentation des HP-CASE a été observée, suggérant que l'action pouvait avoir eu un effet bénéfique sur la sélection de ces BMR. Même s'il a fallu se contenter d'une stabilisation de la courbe, alors que nous aurions souhaité son inversion, ce changement d'usage en antibiothérapie s'est avéré suffisamment concluant pour qu'il soit pérennisé. Pour autant, si

l'on considère 10 années d'utilisation du céfotaxime à la place de la ceftriaxone, le propos doit être plus mesuré. Si, suite au changement intervenu en 2006, l'incidence qui était de 0,69/1000JH en 2005 s'est stabilisée à 0,7 +/- 0,04 jusqu'en 2010, elle est repartie à la hausse entre 2011 et 2013 pour atteindre 0,88 en 2013, et finalement décroître depuis (0,59 en 2016). Ces résultats suggèrent que d'autres facteurs que l'antibiothérapie par C3G, influence l'incidence des HP-CASE.

La principale limite de cette étude tient à la nature de la définition qui a été retenue pour les couches catégorisées HP-CASE. Lors du paramétrage de la BDD-E, j'ai défini les isolats de HP-CASE comme étant résistant aux C3G sans présence de BLSE associée, ce qui inclue plusieurs mécanismes de résistance différents : i) hyper-expression de la céphalosporinase chromosomique par mutation, ii) acquisition d'une céphalosporinase plasmidique, iii) imperméabilité aux C3G. Les facteurs favorisant la sélection/diffusion des souches intégrant ces différents mécanismes ne sont pas identiques, l'antibiothérapie étant la principale source de sélection des item i) et iii), quand la transmission croisée de type BLSE s'applique préférentiellement à l'item ii). Au final, sans tests complémentaires à l'antibiogramme effectué en routine, et de biologie moléculaire permettant de caractériser le support de la résistance de chaque isolat, des informations manquent pour établir quelle(s) catégorie(s) est réellement impactée(s) par le changement d'habitude thérapeutique.

Article n°4 du corpus de la thèse :

Fighting the spread of AmpC-hyperproducing Enterobacteriaceae: beneficial effect of replacing ceftriaxone with cefotaxime

Fighting the spread of AmpC-hyperproducing Enterobacteriaceae: beneficial effect of replacing ceftriaxone with cefotaxime

P. Grohs^{1*}, S. Kernéis^{1–5}, B. Sabatier^{3,6}, M. Lavollay^{1,4}, E. Carbonnelle^{1,4}, H. Rostane¹, C. Souty⁵, G. Meyer^{3,4,7}, L. Gutmann^{1,4} and J. L. Mainardi^{1–4}

¹Service de Microbiologie, AP-HP, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris F-75015, France; ²Unité Mobile de Microbiologie Clinique, AP-HP, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris F-75015, France; ³Comité des Anti-infectieux, AP-HP, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris F-75015, France; ⁴Faculté de Médecine Paris Descartes, 15 Rue de l'Ecole de Médecine, Paris F-75006, France; ⁵UMR-S 707, INSERM, Université Pierre et Marie Curie, Paris F-75012, France; ⁶Service de Pharmacie, AP-HP, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris F-75015, France; ⁷Service de Pneumologie, AP-HP, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris F-75015, France

*Corresponding author. Department of Microbiology, AP-HP Hôpital Européen Georges Pompidou, 20–40 rue Leblanc, 75008 Paris cedex 15, France. Tel: +33-1-56-09-38-44; Fax: +33-1-56-09-24-46; E-mail: patrick.grohs@egp.aphp.fr

Received 3 April 2013; returned 11 May 2013; revised 11 September 2013; accepted 14 September 2013

Objectives: Considering the hypothesis that the high biliary elimination of ceftriaxone could be responsible for the selection of Enterobacteriaceae harbouring high-level AmpC β -lactamase (HL-CASE), the use of ceftriaxone was discontinued in our hospital in 2006 and replaced with cefotaxime.

Methods: Antibiotic consumption, expressed as defined daily dose (DDD)/1000 patient-days (PD), and HL-CASE incidence, expressed as the number of patients carrying HL-CASE/1000 PD, were compared between the pre-intervention period (Period 1, 2001–05) and the post-intervention period (Period 2, 2006–12) using an interrupted time series analysis.

Results: The incidence of HL-CASE increased significantly from 0.32 to 0.69/1000 PD during Period 1 (coefficient = 0.082, $P < 0.01$). A significant inflection of the slope in the incidence curve occurred in Period 2 (coefficient = -0.061 , $P = 0.05$), mainly owing to the stabilization of the HL-CASE incidence of Enterobacteriaceae harbouring chromosomally inducible cephalosporinase (Period 1, 0.27 to 0.64/1000 PD; Period 2, 0.58 to 0.61/1000 PD) and especially for *Enterobacter cloacae* (Period 1, 0.09 to 0.30/1000 PD; Period 2, 0.26 to 0.27/1000 PD). This deceleration was observed despite a significant increase in the slope of cefotaxime consumption over Period 2 (coefficient = 2.97, $P < 0.01$).

Conclusion: Despite the disadvantages of using cefotaxime compared with ceftriaxone (administration three times daily versus once a day), the ecological benefits of this substitution seem sufficiently convincing to preferentially use cefotaxime. Control of HL-CASE incidence is crucial to limiting carbapenem use and preventing the selection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae.

Keywords: antibiotics, bacterial resistance, cephalosporins

Introduction

The use of third-generation cephalosporins (3GCs) as the standard antibiotic regimen for the treatment of Enterobacteriaceae infections is called into question by the continuing spread of resistance to these molecules.¹ Resistance to 3GCs is mediated primarily by the production of extended-spectrum β -lactamase (ESBL) and AmpC β -lactamase (CASE), which can result either from overexpression of the chromosomal *ampC* gene or by the acquisition of a plasmid-mediated AmpC enzyme [high-level CASE (HL-CASE)].^{1,2} Because infections caused by these 3GC-resistant Enterobacteriaceae have significant human and economics costs,³ a continuous surveillance system for 3GC-resistant Enterobacteriaceae incidence has been implemented in our university hospital since 2001.

In 2005 we were alerted to a significant increase in HL-CASE incidence, from 0.32/1000 patient-days (PD) in 2001 to 0.69/1000 PD in 2005. Most of the HL-CASE Enterobacteriaceae were *Enterobacter cloacae* and harboured the chromosomally inducible CASE gene. These isolates were encountered in all wards of the hospital, had different antimicrobial resistance patterns, and epidemiological investigations did not show any evidence of cross-transmission (P. Grohs and G. Meyer, unpublished data). Since antibiotic selection pressure contributes to the emergence of antibiotic-resistant Gram-negative bacteria,^{4,5} with a link between 3GC use and the selection of HL-CASE Enterobacteriaceae,^{6,7} we investigated our hospital's antimicrobial consumption from 2001 to 2005.

During this period, global antibiotic consumption decreased, whereas 3GC consumption increased by 50% (see Table 1 and

Table 1. Enterobacteriaceae incidence and antibiotic consumption

	Pre-intervention period												Post-intervention period												Trend in pre-intervention period (β1)				Change in level (β2)				Change in slope (β3)			
	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	mean	95% CI	P value	mean	95% CI	P value	mean	95% CI	P value	mean	95% CI	P value	mean	95% CI	P value									
Patient-days (PD)	163671	190829	193394	196483	203699	207058	186242	184045	191352	196890	203827	209824	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—									
Incidence densities ^a (number of patients)																																				
3GC-RE ^b	0.57 (93)	0.96 (184)	0.75 (145)	0.69 (135)	0.88 (180)	0.97 (200)	1.15 (215)	1.24 (228)	1.34 (257)	1.32 (259)	1.57 (321)	1.83 (384)	0.035	-0.04 to 0.11	0.39	0.057	-0.27 to 0.28	0.97	0.090	0.01 to 0.18	0.08															
HL-CASE Enterobacteriaceae	0.32 (52)	0.53 (102)	0.56 (108)	0.61 (119)	0.69 (140)	0.61 (127)	0.76 (142)	0.74 (137)	0.64 (122)	0.64 (126)	0.81 (166)	0.81 (170)	0.082	0.04 to 0.13	<0.01	-0.076	-0.23 to 0.08	0.37	-0.061	-0.11 to -0.01	0.05															
Inducible AmpC ^c	0.27 (45)	0.45 (86)	0.53 (102)	0.58 (114)	0.64 (130)	0.58 (120)	0.66 (122)	0.61 (113)	0.55 (105)	0.52 (105)	0.66 (135)	0.61 (128)	0.087	0.05 to 0.12	<0.01	-0.069	-0.19 to 0.05	0.28	-0.086	-0.12 to -0.05	<0.01															
E. cloacae	0.09 (14)	0.18 (35)	0.21 (41)	0.26 (51)	0.30 (61)	0.26 (53)	0.28 (52)	0.32 (58)	0.27 (52)	0.22 (44)	0.31 (64)	0.27 (57)	0.05	0.03 to 0.07	<0.01	-0.031	-0.10 to 0.04	0.4	-0.050	-0.07 to -0.03	<0.01															
E. coli	0.01 (2)	0.07 (13)	0.18 (34)	0.11 (22)	0.16 (32)	0.12 (25)	0.24 (44)	0.22 (40)	0.12 (23)	0.15 (30)	0.21 (42)	0.24 (51)	0.034	0.01 to 0.07	0.08	-0.024	-0.15 to 0.10	0.71	-0.025	-0.06 to 0.01	0.25															
no AmpC ^d	0.01 (1)	0.02 (4)	0.02 (4)	0.04 (8)	0.07 (15)	0.02 (4)	0.01 (2)	0.04 (8)	0.05 (9)	0.05 (9)	0.07 (15)	0.04 (9)	0.014	0.01 to 0.02	0.01	-0.047	-0.08 to -0.02	0.02	-0.007	-0.02 to 0.01	0.18															
Antibiotic consumption ^e																																				
all antibiotics	976	803	796	817	750	708	662	723	730	777	757	818	-43.80	-69.77 to -17.83	0.01	-83.51	-177.65 to 10.62	0.12	64.30	34.05 to 94.55	<0.01															
all aminopenicillins	311	325	399	421	381	365	356	365	378	361	355	375	23.60	9.90 to 37.30	<0.01	-53.03	-102.71 to -3.34	0.07	-22.74	-38.71 to -6.78	0.02															
all 3GCs	37.4	34.3	45.6	55.3	55.5	44.1	40.3	55.3	51.5	56.5	56.5	63.6	5.72	3.12 to 8.32	<0.01	-17.67	-27.09 to -8.26	<0.01	-2.43	-5.45 to 0.59	0.15															
ceftriaxone	15.3	18.0	16.0	20.2	21.5	6.3	2.2	3.0	2.2	3.0	1.4	1.5	1.46	0.63 to 2.29	<0.01	-16.03	-19.05 to -13.02	<0.01	-2.03	-3.00 to -1.06	<0.01															
cefotaxime	6.8	5.0	7.3	6.1	5.9	18.1	20.5	28.1	25.8	29.6	32.0	37.0	-0.07	-1.12 to 0.98	0.9	9.62	5.82 to 13.41	<0.01	2.97	1.75 to 4.19	<0.01															
carbapenems	5.3	6.9	5.5	7.5	7.6	6.0	6.0	11.1	17.1	24.6	19.1	25.5	0.52	-1.11 to 2.16	0.55	-6.00	-11.93 to -0.07	0.08	2.99	1.08 to 4.89	0.01															

^aIncidence densities are expressed as the number of patients (duplicates excluded) carrying resistant strain reported/1000 PD.

^b3GC-resistant Enterobacteriaceae, i.e. harbouring HL-CASE and/or ESBL.

^cStrains harbouring chromosomal AmpC cephalosporinase.

^dStrains without chromosomal AmpC cephalosporinase.

^eAntibiotic consumption is expressed as DDD/1000 PD.

Figure 1a). Concomitantly, Muller *et al.*⁸ reported a specific correlation between ceftriaxone use and the development of resistance in *E. cloacae* isolates. These authors suggested that the pharmacokinetic properties of ceftriaxone, in particular its high biliary elimination, could be involved in the selection of *E. cloacae* HL-CASE producers in the digestive flora.⁸ This attractive hypothesis was the basis for a change in antibiotic use in our institution, and in 2006 the Anti-Infectious Committee (COMAI) decided to replace ceftriaxone with cefotaxime. In this work we report the impact of this substitution on the incidence of HL-CASE Enterobacteriaceae.

Methods

This retrospective observational study was conducted at the Hôpital Européen Georges Pompidou, a French 830 bed acute-care teaching hospital with 23 wards (11 medical wards, 7 surgical wards and 5 intensive care units) that admits an average of 30 000 patients each year. Two periods of antibiotic consumption and HL-CASE incidence were compared: 2001 to 2005 (pre-intervention period=Period 1) and 2006 to 2012 (post-intervention period=Period 2); corresponding to the periods of ceftriaxone and cefotaxime use, respectively. Defined daily dose (DDD)/1000 PD was the international unit used to monitor antibiotic consumption.⁹ Only diagnostic samples collected from inpatients were included in the study. Antimicrobial susceptibilities were determined by the disc diffusion method on Mueller–Hinton agar (MH; Bio-Rad, Marne-la-Coquette, France) according to European guidelines.¹⁰ An isolate was categorized as an HL-CASE producer when its phenotype displayed the following three features: (i) resistance to 3GCs; (ii) absence of synergy between any 3GCs and clavulanic acid; and (iii) at least a 5 mm increase in the inhibition diameters for the 3GCs, read on MH versus MH + cloxacillin (250 mg/L). For each patient, HL-CASE isolates of the same species and displaying the same antimicrobial pattern during the calendar year were labelled as duplicates and were excluded from analysis. Finally, HL-CASE incidence was expressed as the number of patients carrying HL-CASE/1000 PD. To assess the impact of the switch from ceftriaxone to cefotaxime (referred to as the ‘intervention’) on the incidence of HL-CASE, we used an interrupted time series analysis, as previously described.^{11,12} Briefly, the time series was divided into pre- and post-intervention segments, and the level and trend of the pre-intervention segment served as the control for the post-intervention segment. In the linear regression autoregressive error model, the incidence of HL-CASE (per 1000 PD) was expressed as:

$$\text{Incidence}_t = \beta_0 + \beta_1 \text{time}_t + \beta_2 \text{period}_t + \beta_3 \text{time after intervention}_t + \epsilon_t$$

where ‘time’ is a continuous variable indicating the time in years from the start of the study period, ‘period’ is a qualitative variable being 0 pre-intervention and 1 post-intervention and ‘time after intervention’ is a continuous variable indicating the number of years after the intervention (0 before 2006, 1 in 2006, 2 in 2007, etc.). β_0 estimates the baseline incidence of HL-CASE, β_1 the pre-intervention trend in incidence, β_2 the change in level of the incidence after the intervention and β_3 the change in trend of the incidence after the intervention. The model was corrected for auto-correlation (ϵ_t). Level and trend for the pre-intervention period represent a baseline for the post-intervention segment. Because the change in trend after the intervention was significant, we decided to keep all variables in the final model, as β_3 can be interpreted as the interaction between time and period.¹¹ Statistical analyses were carried out using R 2.4.0 statistical software.¹³

Results and discussion

In the pre-intervention period, we observed an increase in the consumption of aminopenicillins (amoxicillin and amoxicillin/clavulanic acid, $\beta_1 = 23.60$, $P < 0.01$), which represent about half the total antibiotic use in our hospital, and 3GCs ($\beta_1 = 5.72$, $P < 0.01$),

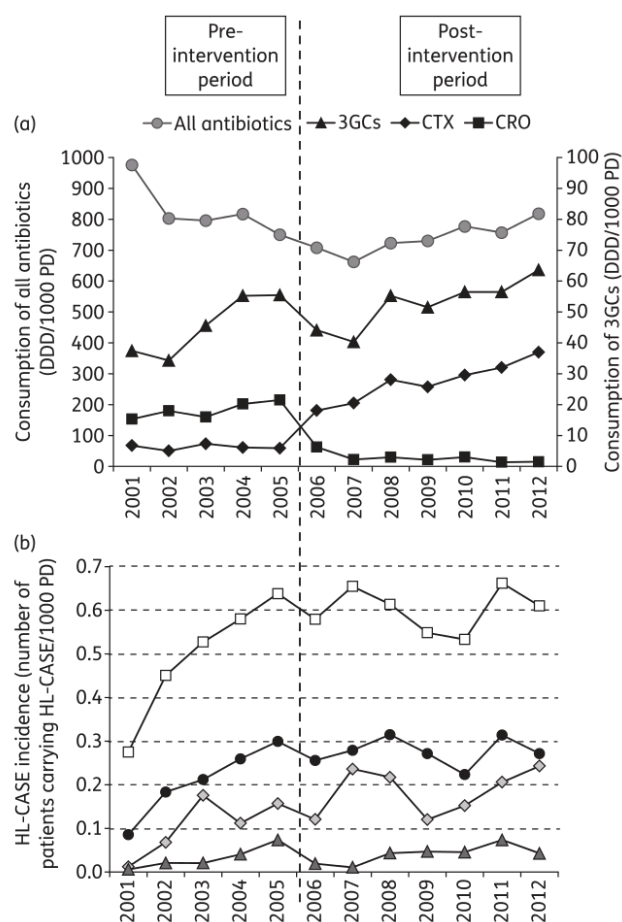


Figure 1. (a) Antibiotic consumption. CTX, cefotaxime; CRO, ceftriaxone. (b) HL-CASE incidence. Squares, Enterobacteriaceae harbouring inducible chromosomally encoded AmpC; circles, *E. cloacae*; diamonds, *E. coli*; triangles, Enterobacteriaceae without chromosomal AmpC (*Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* etc.). The vertical broken line corresponds to the date of replacement of ceftriaxone by cefotaxime.

although the overall antibiotic use decreased for the same period ($\beta_1 = -43.80$, $P = 0.01$, Figure 1a and Table 1). Since aminopenicillins combined with clavulanate can induce Enterobacteriaceae cephalosporinase expression,¹⁴ and 3GC use has been associated with 3GC-resistant Enterobacteriaceae,^{7,8} the increasing consumption of these drugs during the pre-intervention period could be involved in the rise of HL-CASE-producing Enterobacteriaceae. Starting in 2006, the replacement of ceftriaxone by cefotaxime was rapidly implemented as illustrated in Figure 1(a), leading to minimal numbers of ceftriaxone prescriptions since 2007. Conversely, a significant increase in the slope of cefotaxime consumption occurred over Period 2 ($\beta_3 = 2.97$, $P < 0.01$), from 18.1 DDD/1000 PD in 2006 to 37 DDD/1000 PD in 2012. Finally, the stabilization of aminopenicillin consumption during the post-intervention period suggests that the change in HL-CASE incidence could be due mainly to the replacement of ceftriaxone by cefotaxime.

As shown by the results of the regression analysis (Table 1), a significant increase in the incidence of HL-CASE occurred over the pre-intervention period ($\beta_1 = 0.082$, $P < 0.01$). In the post-intervention period, there was no significant change in the incidence ($\beta_2 = -0.076$, $P = 0.37$); however, a significant decrease in the slope was observed ($\beta_3 = -0.06$, $P = 0.05$), suggesting that progression of the incidence of HL-CASE was slowing. In detail, the inflexion was mainly due to stabilization in the incidence of HL-CASE Enterobacteriaceae harbouring chromosomally inducible CASE, in particular of *E. cloacae* (Figure 1b). No significant change in slope was observed for HL-CASE *Escherichia coli* incidence, although a rise in the incidence of this species has been observed in recent studies,^{15,16} explained by mechanisms different from those encountered in *E. cloacae*, including mutations in the promoter region of the chromosomally non-inducible *ampC* gene and acquisition of plasmid-mediated HL-CASE. Unfortunately, in our hospital the increasing incidence of patients carrying 3GC-resistant Enterobacteriaceae during the post-intervention period, due to the presence of ESBL and various HL-CASE mechanisms, from 0.97/1000 PD in 2006 to 1.83/1000 PD in 2012 (Table 1), led to a significant increase in the slope of carbapenem consumption ($\beta_3 = 2.99$, $P = 0.01$), which was 6 DDD/1000 PD in 2007 and 25.5 DDD/1000 PD in 2012 (Table 1).

Conclusions

This study suggests that the replacement of ceftriaxone by cefotaxime could stabilize the incidence of HL-CASE resulting from chromosomally inducible CASE Enterobacteriaceae. Despite the disadvantages of using cefotaxime compared with ceftriaxone (administration three times daily versus once a day), the ecological benefits of this substitution seem sufficiently convincing to preferentially use cefotaxime. The long-term objective of reducing HL-CASE incidence is also to enable the limitation of carbapenem use and hence prevent the selection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae.

Acknowledgements

Part of this research was presented at the Thirty-second Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse (RICAI), Paris, France, 2012 (Abstract number 7/2o).

Funding

This study was carried out as part of our routine work.

Transparency declarations

The manuscript was reviewed for English and style by Proof-Reading-Service.com (<http://www.proof-reading-service.com>) (financed by the authors).

Conflicts of interest: none to declare.

References

- 1 Pitout JD, Laupland KB. Extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. *Lancet Infect Dis* 2008; **8**: 159–66.
- 2 Philippon A, Arlet G, Jacoby GA. Plasmid-determined AmpC-type β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; **46**: 1–11.
- 3 De Kraker ME, Wolkewitz M, Davey PG et al. Burden of antimicrobial resistance in European hospitals: excess mortality and length of hospital stay associated with bloodstream infections due to *Escherichia coli* resistant to third-generation cephalosporins. *J Antimicrob Chemother* 2011; **66**: 398–407.
- 4 Donskey CJ. Antibiotic regimens and intestinal colonization with antibiotic-resistant Gram-negative bacilli. *Clin Infect Dis* 2006; **43** Suppl 2: S62–9.
- 5 Meyer E, Lapatschek M, Bechtold A et al. Impact of restriction of third-generation cephalosporins on the burden of third-generation cephalosporin resistant *K. pneumoniae* and *E. coli* in an ICU. *Intensive Care Med* 2009; **35**: 862–70.
- 6 Owens RC Jr, Rice L. Hospital-based strategies for combating resistance. *Clin Infect Dis* 2006; **42** Suppl 4: S173–81.
- 7 Vignoli R, Calvelo E, Cordeiro NF et al. Association of broad-spectrum antibiotic use with faecal carriage of oxyiminocephalosporin-resistant Enterobacteriaceae in an intensive care unit. *J Hosp Infect* 2006; **63**: 306–15.
- 8 Muller A, Lopez-Lozano JM, Bertrand X et al. Relationship between ceftriaxone use and resistance to third-generation cephalosporins among clinical strains of *Enterobacter cloacae*. *J Antimicrob Chemother* 2004; **54**: 173–77.
- 9 WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology. *Guidelines for ATC Classification and DDD Assignment* 2013. http://www.whocc.no/filearchive/publications/1_2013guidelines.pdf (29 May 2013, date last accessed).
- 10 European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID). Determination of antimicrobial susceptibility test breakpoints. *Clin Microbiol Infect* 2000; **6**: 570–2.
- 11 Ansari F, Gray K, Nathwani D et al. Outcomes of an intervention to improve hospital antibiotic prescribing: interrupted time series with segmented regression analysis. *J Antimicrob Chemother* 2003; **52**: 842–8.
- 12 Morgan OW, Griffiths C, Majeed A. Interrupted time-series analysis of regulations to reduce paracetamol (acetaminophen) poisoning. *PLoS Med* 2007; **4**: e105.
- 13 R Development Core Team. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org> (14 June 2013, date last accessed).
- 14 Weber DA, Sanders CC. Diverse potential of β -lactamase inhibitors to induce class I enzymes. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; **34**: 156–8.
- 15 Courpon-Claudinon A, Lefort A, Panhard X et al. Bacteraemia caused by third-generation cephalosporin-resistant *Escherichia coli* in France: prevalence, molecular epidemiology and clinical features. *Clin Microbiol Infect* 2011; **17**: 557–65.
- 16 Thiébaud AC, Arlet G, Andreumont A et al. Variability of intestinal colonization with third-generation cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae and antibiotic use in intensive care units. *J Antimicrob Chemother* 2012; **67**: 1525–36.

6.5 Etude n°9 : optimisation de la détection des EBLSE (Article n°5 de la thèse)

Le laboratoire de bactériologie, qui est au cœur de la détection des EBLSE, doit faire face à deux défis majeurs : diagnostiquer la présence d'EBLSE le plus rapidement possible et absorber un volume de prélèvements de dépistage en croissance constante dans un contexte de restriction budgétaire drastique.

La réduction du délai entre la collecte de l'échantillon biologique et l'identification (ou à défaut la suspicion) de la EBLSE, est cruciale pour une prise en charge thérapeutique adaptée et pour une implémentation précoce des PCC. Comme évoqué précédemment (voir chapitre 4.4.4, techniques de laboratoire), la culture bactérienne conduit à l'obtention de l'antibiogramme en 48h dans le meilleur des cas. Les techniques de biologie moléculaire peuvent en revanche donner des résultats plus rapides, mais leur coût en interdit un usage généralisé, et, pour l'instant, à défaut de kit commercial facile à utiliser en routine, requiert une certaine expertise. Les milieux gélosés sélectifs restent donc pour l'instant le mode de culture standard qui, en 24h, procure une forte présomption de présence. Le choix du milieu de culture doit donc se tourner vers celui procurant les meilleures sensibilités et spécificités.

Le deuxième challenge concerne la volumétrie des examens de dépistage en progression régulière. Si l'explosion du nombre d'écouvillonnages rectaux (ER) concerne principalement les BHRe en lien avec le dépistage des patients contacts, l'inflation des recherches d'EBLSE est due à la fois à l'explosion des patients porteurs, dont on vérifie le statut à la réadmission grâce à l'alerte informatique, et au nombre croissant de patients rapatriés dont le dépistage est systématique. Pour faire face à ce surcroît de travail, sans personnel dédié supplémentaire, la robotique peut représenter une alternative intéressante.

Partant de ce contexte, j'ai souhaité réaliser une double évaluation. En utilisant les écouvillons collectés pour l'étude de cinétique d'émergence des Entérobactéries résistantes aux C3G en réanimation (voir chapitre 6.3.6, politique de dépistage des EBLSE et HP-CASE), cinq milieux de cultures sélectifs spécialement conçus pour la recherche des EBLSE ont été ensemencés sur un automate dédié à l'ensemencement d'échantillons biologiques (WASP, Copan, Brescia, Italie). L'idée était à la fois de sélectionner le milieu de culture le plus performant pour l'isolement des souches d'EBLSE (sensibilité, spécificité), mais également d'évaluer la rentabilité technique et économique de l'automate.

Sur 2 337 ER étalés par le WASP, 354 contenaient au moins un isolat d'EBLSE, pas toujours retrouvé (s) sur l'ensemble des milieux testés (seuls 89,3% des isolats ont été isolés sur les cinq géloses), la sensibilité variant de 95,5 à 98,3% selon le milieu. Mais c'est surtout sur la spécificité que de plus importantes différences ont été observées (de 57,9 à 72,3% selon le milieu). La prise en charge des ER par le robot a permis d'ensemencer 25 828 boîtes de

Pétri, soit une moyenne de 280 boîtes par jour. Si ces échantillons avaient été ensemencés manuellement, le temps technicien aurait été d'un peu moins d'un équivalent temps plein.

Cette étude a permis de valider le choix du milieu sélectif utilisé à l'HEGP, et d'éliminer le milieu « maison » moins fiable utilisé depuis de nombreuses années. Sur le milieu retenu, la VPN est excellente (99,4%), attestant que quand le milieu est stérile, aucune EBLSE n'était présent sur l'écouvillon. A l'époque de l'étude, il fallait attendre le lendemain pour avoir la confirmation du diagnostic grâce à l'antibiogramme, la médiocre spécificité ayant montré qu'une colonie poussant sur ces milieux n'est pas forcément une EBLSE (HP-CASE par exemple). Aujourd'hui des kits commerciaux existent (diagnostic biochimique rapide) et permettent de confirmer ou d'infirmer dans l'heure, la présence d'une colonie d'EBLSE sur le milieu de culture.

Cette étude a également montré que l'utilisation d'un robot permettait d'absorber un volume d'échantillon important avec des moyens humains constants. Même si l'automate ne prend en charge que la partie ensemencement (la lecture et poursuite des cultures restant un processus manuel), ce type d'outil permet de lisser les variations d'activité dans le temps et d'en amortir les pics. Depuis cette étude, j'ai conclu un partenariat avec une autre société pour implémenter un nouveau robot au laboratoire, cette fois-ci de façon définitive. Il prend en charge quotidiennement une cinquantaine d'ER par jour, et permet de gérer les surcroits de travail dès qu'un patient BHR est découvert alors que les PCC ne lui sont pas appliquées (nombreux patients contacts dans les grosses unités d'hospitalisation). Les nouvelles technologies de laboratoire ouvrent la porte à des politiques de dépistage plus ambitieuses que celles implémentées aujourd'hui. J'y reviendrai dans la discussion.

Article n°5 du corpus de la thèse :

Comparison of five media for detection of extended-spectrum Beta-lactamase by use of the wasp instrument for automated specimen processing

Comparison of Five Media for Detection of Extended-Spectrum Beta-Lactamase by Use of the Wasp Instrument for Automated Specimen Processing

P. Grohs,^a B. Tillecovidin,^a A. Caumont-Prim,^{b,c} E. Carboneille,^a N. Day,^a I. Podglajen,^a L. Gutmann^a

Service de Microbiologie, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Paris, France^a; Unité d'Épidémiologie et de Recherche Clinique, Paris, France^b; INSERM, Centre d'Investigation Épidémiologique 4, Paris, France^c

Overall, 2,337 rectal screening samples (RSSs) were seeded by using the Wasp instrument for automated microbiological processing with five media for detection of extended-spectrum β -lactamase (ESBL): CHROMagar, ChromID, Brilliance, BD Drigalski, and HEGP media. Of 354 RSSs harboring ESBL-producing isolates, 89.3% were found to be positive on all media. Sensitivity and specificity ranged from 95.5 to 98.3% and from 57.9 to 72.3%, respectively. No medium was perfectly ESBL selective, and non-ESBL-producing strains were mainly *Enterobacteriaceae* overproducing AmpC β -lactamase and nonfermenting Gram-negative bacilli, mostly *Pseudomonas aeruginosa*.

In recent years, a dramatic increase in the prevalence of *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) has been observed in Europe (1–3). In order to prevent nosocomial cross-transmission, systematic detection of carriage of ESBL-producing bacteria in the digestive tract of high-risk patients has been recommended by various academic societies (4, 5). In this context, hospital microbiology laboratories face several challenges. Systematic screening leads to an increased number of samples to be tested, while at the same time, budget restrictions entail reductions in human resources. Automation can be a relevant means of analyzing a large number of samples (6–9), but the delay in obtaining results still needs to be reduced. Moreover, if molecular tests for ESBL detection are expected to give a faster result than culture, the cost of these tests for large series is currently still too high relative to that of traditional culture. In this situation, agar manufacturers have improved their media for detection of ESBLs after only 24 h (10–16). Taking advantage of the Wasp instrument, an automated device for microbiological specimen processing, planting, and streaking (Copan, Brescia, Italy), we decided to compare the efficiencies of five selective media designed for ESBL detection.

The study was conducted at Hôpital Européen Georges-Pompidou (HEGP), an 830-bed acute-care teaching hospital with 23 wards and with 29,000 admissions in 2011. A rectal screening sample (RSS) was collected daily from each patient admitted to the intensive care units (ICUs) between 3 April and 3 July 2011, in compliance with French patient confidentiality regulations and ethical standards. The study was approved by an institutional review board (CCPPRB project no. ID-RCB 2011-A00259-32, University Paris XI, February 2011). Sampling was done by using the eSwab system (Copan). The swab sample was suspended in 1 ml of liquid Amies medium (Copan), and 10 μ l was streaked by the automated system onto two sets of media, including (i) five media for the detection of ESBL, i.e., CHROMagar ESBL (CHROMagar, Paris, France), ChromID ESBL (bioMérieux, Lyon, France), Brilliance ESBL (Oxoid, Basingstoke, United Kingdom), BD Drigalski lactose agar with ceftazidime (Becton, Dickinson, Franklin Lakes, NJ), and in-house-made “HEGP medium” containing Drigalski agar (Oxoid, Basingstoke, Great Britain) and cefotaxime (2 μ g/

ml), taking into consideration the currently predominant producers of CTX-M family ESBLs in France (1, 2), and (ii) six additional media, some of which were used as controls, such as Drigalski agar without an ESBL selector (data not shown), and some of which were used to test the capability of the Wasp instrument to streak additional petri dishes including, e.g., biplates.

Of the 2,348 RSSs collected during the study period, only 11 RSSs were excluded from the study because they were improperly plated onto at least one medium by the Wasp instrument (mainly agar plowed). Since 11 media were seeded with each RSS by the Wasp instrument, a total of 25,828 petri dishes were plated by the end of the study period. Counting 1 min for plating of each medium manually (writing the patient name and sample number on the petri dish, opening the eSwab tube, depositing the sample onto agar, closing the eSwab tube, taking one loop, and streaking the sample), the time saved by using the Wasp automated instrument to plate 250 petri dishes daily was estimated to amount to two-thirds of the full working time of one technician. Plates were incubated at 37°C for 18 h. Growing colonies were identified by matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS) using a Microflex Bruker Daltonics/BioTyper version 2.0 system (Bruker Daltonics, Bremen, Germany). To test if isolated colonies were ESBL producers as expected, antibiograms were performed with the disk diffusion method on Mueller-Hinton (MH) agar (Bio-Rad, Marne-la-Coquette, France), according to the guidelines of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (17). Isolates were categorized as (i) “ESBL” (*Enterobacteriaceae* harboring ESBL) when a zone of synergy between third-generation cephalosporins (3GCs) and clavulanic acid was observed; (ii) “CASE” (*Enterobac-*

Received 24 January 2013 Returned for modification 9 March 2013

Accepted 14 May 2013

Published ahead of print 22 May 2013

Address correspondence to P. Grohs, patrick.grohs@egp.aphp.fr.

Copyright © 2013, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

doi:10.1128/JCM.00077-13

TABLE 1 ESBL species isolated from ICU patients

ESBL species isolated from ICU patients	Result for no. of patients ^a								No. of isolates
	27	12	2	6	1	1	1	1	
<i>E. coli</i>	+	—	—	+	+	+	—	+	36
<i>K. pneumoniae</i>	—	+	—	+	—	—	+	+	20
<i>Enterobacter cloacae</i>	—	—	+	—	—	—	—	—	2
<i>Klebsiella oxytoca</i>	—	—	—	—	—	—	+	—	1
<i>Morganella morganii</i>	—	—	—	—	+	—	—	+	2
<i>Enterobacter aerogenes</i>	—	—	—	—	—	+	—	—	1
Total									62

^a Total of 51 patients.

teriacae overproducing AmpC cephalosporinase) when no synergy between any 3GC and clavulanic acid was observed and if there was at least a 5-mm increase in inhibition zone diameters around the 3GC disks, read on MH agar versus MH agar plus cloxacillin (250 µg/ml); and (iii) “others” for all isolates which did not belong to the ESBL or CASE category. SAS software version 9.2 (SAS Inc., Cary, NC) was used for statistical analysis. A gold standard (GS) value was defined for each RSS as follows: (i) positive GS (PGS) when at least one medium revealed ESBL production and (ii) negative GS (NGS) when no medium revealed ESBL production. The sensitivity of medium X was calculated as the number of RSSs containing an ESBL strain (ESBL-RSSs) detected by using medium X divided by the total number of PGSs. The specificity of medium X was calculated as the number of RSSs without any colony on medium X divided by the total number of NGSs. The positive predictive value (PPV) of medium X was calculated as the number of ESBL-RSSs detected by using medium X divided by the total number of RSSs yielding ESBL and non-ESBL colonies on this medium. The negative predictive value (NPV) of medium X was calculated as the number of ESBL-negative RSSs detected by using medium X divided by the total number of RSSs yielding no colonies on this medium. Finally, the reliability of medium X (only ESBL colonies on medium X when there is an ESBL in the RSS, or no colony on medium X when there is no ESBL in the RSS) was also calculated as the number of RSSs with only ESBL isolate colonies on medium X among PGSs or without any colony on medium X among NGSs divided by the total number of RSSs.

Overall, 2,337 RSSs were collected from 269 patients during the study period. After identification and interpretation of antimicrobial susceptibility patterns performed on the different colonies

isolated from all selective media, it appeared that 354 RSSs collected from 51 patients contained ESBL isolates. In 36/51 (71%) cases, an ESBL strain was isolated on at least one medium for the first RSS collected, and in 25/51 (35%) cases, the ESBL-producing bacteria were isolated from all samples plated. The ESBLs observed were harbored mainly by *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates (Table 1).

As a primary analysis, only the first ESBL-RSS was examined. An ESBL-positive isolate was found on all five media in 38/51 (74.5%) ESBL-RSSs, while in 13/51 (25.5%) cases, an ESBL isolate was found on one to four media (Table 2). Thereby, the number of ESBL-RSSs ranged from 43 to 49 according to the medium. Using only the first ESBL-RSS, 84% of the 51 cases would have been detected by using BD medium, versus 96% with ChromID (Table 2).

When all ESBL-RSSs were taken into account, 316/354 (89.3%) were found to be positive on all five media, while 38/354 (10.7%) were positive on only one to four media, and the percentage of ESBL-RSSs varied from 94% to 97% depending upon the medium (Table 2). These discrepancies could be explained for 16/38 ESBL-RSSs by low inocula, since in these cases, fewer than 10 colonies were observed on the media on which they grew. Thus, aleatory repartition of bacteria in these ESBL-RSSs could lead to few colonies on one medium and no colonies on the other. In 6/38 ESBL-RSSs, high inocula of non-ESBL bacteria (mainly CASE and *Pseudomonas aeruginosa*) could have hidden growth of ESBL colonies.

When all RSSs were considered, depending upon the media, the number of ESBL-RSSs with only ESBL isolates varied from 283 to 312, and the number of negative RSSs (absence of any colony) varied from 1,154 to 1,454 (Table 3). For the detection of ESBL, no

TABLE 2 Results of detection of ESBL in RSSs

Medium	Result for total no. of ESBL-RSSs ^a (no. of 1st ESBL-RSSs ^b)																No. (%) of ESBL-RSSs with ESBL isolate on medium plated	
	316 (38)	3	12 (4)	2 (2)	1 (1)	1 (1)	3	5 (1)	1	1 (1)	1	1	1	4 (3)	1	1	1st ESBL-RSS ^a	All ESBL-RSSs ^b
CHROMagar	+	+	+	+	+	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	46 (90)	342 (96)
ChromID	+	+	+	+	—	+	+	—	+	+	+	—	—	+	—	—	49 (96)	344 (97)
Brilliance ESBL	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	—	+	—	—	+	—	46 (90)	345 (97)
BD Drigalski	+	+	—	+	+	+	—	+	+	—	—	+	+	—	—	+	43 (84)	332 (94)
HEGP medium	+	—	+	+	+	+	—	—	—	+	+	—	+	—	—	—	47 (92)	335 (94)

^a For each of the 51 patients with ESBL isolated, all ESBL-RSSs were taken into account (354 ESBL-RSSs).^b For each of the 51 patients with ESBL isolated, only the first ESBL-RSS was taken into account (51 ESBL-RSSs).

TABLE 3 Detection of ESB by use of five media

Parameter ^a	Value for medium				
	CHROMagar	ChromID	Brilliance ESB	BD Drigalski	HEGP medium
No. (%) of screening samples with result					
No colonies	1,439 (61.6)	1,454 (62.2)	1,154 (49.4)	1,278 (54.7)	1,191 (51.0)
ESBL only	312 (13.4)	303 (13.0)	289 (12.4)	296 (12.7)	283 (12.1)
ESBL + CASE	4 (0.2)	9 (0.4)	6 (0.3)	6 (0.3)	8 (0.3)
ESBL + others	26 (1.1)	32 (1.4)	50 (2.1)	30 (1.3)	44 (1.9)
ESBL + CASE + others	0	0	0	0	0
Total RSSs with ESB	342 (14.6)	344 (14.8)	345 (14.8)	332 (14.2)	335 (14.3)
CASE only	187 (8.0)	152 (6.5)	173 (7.4)	286 (12.2)	236 (10.1)
Others only	318 (13.6)	321 (13.7)	567 (24.3)	392 (16.8)	498 (21.3)
CASE + others	51 (2.2)	66 (2.8)	98 (4.2)	49 (2.1)	77 (3.3)
Total RSSs without ESB	556 (23.8)	539 (23.1)	838 (35.9)	727 (31.1)	811 (34.7)
Sensitivity (%) (95% CI)	98.3 (96.3, 99.4)	97.5 (95.2, 98.8)	98.6 (96.7, 99.5)	97.2 (94.9, 98.6)	95.5 (92.8, 97.4)
Specificity (%) (95% CI)	72.3 (70.2, 74.2)	72.9 (70.8, 74.8)	57.9 (55.7, 60.1)	63.9 (61.8, 66.1)	59.2 (57.1, 61.4)
PPV (%) (95% CI)	38.7 (35.5, 42.0)	39.1 (35.8, 42.4)	29.5 (26.9, 32.2)	32.5 (29.7, 35.4)	29.5 (26.9, 32.2)
NPV (%) (95% CI)	99.6 (99.1, 99.8)	99.4 (98.8, 99.7)	99.6 (99.0, 99.9)	99.2 (98.6, 99.6)	98.7 (97.8, 99.2)
Reliability [no. (%) of RSSs] ^b	1,745 (74.7)	1,748 (74.8)	1,438 (61.5)	1,564 (66.9)	1,458 (62.4)

^a ESB, *Enterobacteriaceae* strain producing extended-spectrum beta-lactamase; CASE, *Enterobacteriaceae* strain overproducing cephalosporinase; others, *Enterobacteriaceae* without the ESB and CASE phenotypes or other species (mainly nonfermenting Gram-negative bacilli, in particular *Pseudomonas aeruginosa*); CI, confidence interval; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value.

^b Reliability corresponds to the number of RSSs with only ESB colonies on medium X when there is ESB detected in the RSS, or no colonies on medium X when there is no ESB detected in the RSS.

significant difference in sensitivity was observed for the five media (Table 3). This was not the case in other studies, where variations of ChromID sensitivity were 88%, 88.2%, 94.9%, and 100% compared to ESB agar (AES) (14), CHROMagar (13), Brilliance (11), and MacConkey plus 1 µg/µl ceftazidime (12), respectively. Interestingly, high NPVs found for the five media (Table 3) attest that when these media remain sterile, the probability that an ESB is present in the RSS is very low. In contrast, as shown in Table 3, strains harboring mechanisms of resistance other than ESB production were selected on these “ESB-specific media,” and their specificities ranged from 57.9% to 72.3%, while the PPV for ESB varied from 29.5 to 38.8%. These non-ESB isolates were mainly CASE and nonfermenting Gram-negative bacilli. As shown by the PPV, these non-ESB species were more often encountered on Brilliance, DB Drigalski, and HEGP media. *In fine*, the percentage of RSSs which yielded an unambiguous answer concerning the presence of ESB (reliability; Table 3), i.e., which indicated the absence of ESB when no ESB strain was isolated from other media, or which yielded only an ESB strain(s), varied from 61.5% to 74.8% depending upon the medium.

In conclusion, this study shows that (i) the Wasp instrument was very useful for seeding large series of samples, and all media were well adapted to this device; (ii) all media tested allow detection of ESB strains; and (iii) no medium is fully ESB selective, with CHROMagar and ChromID giving the lowest recovery of non-ESB strains. Therefore, complementary tests are needed to ensure that the colonies growing on these “partially selective media” harbor ESBs, explaining that a delay of 48 h between the seeding of the RSS and the availability of the definitive result remains necessary.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank all companies which provided different materials needed for this study free of charge: Siemens for the Wasp instrument and CHROMagar and bioMérieux, Oxoid, and Becton, Dickinson for ESB media.

This study was carried out without financial support.

REFERENCES

- Arpin C, Quentin C, Grobost F, Cambau E, Robert J, Dubois V, Coulanges L, André C, Scientific Committee of ONERBA. 2009. Nationwide survey of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in the French community setting. *J. Antimicrob. Chemother.* 63:1205–1214.
- Cantón R, Novais A, Valverde A, Machado E, Peixe L, Baquero F, Coque TM. 2008. Prevalence and spread of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in Europe. *Clin. Microbiol. Infect.* 14(Suppl 1):144–153.
- Pitout JD, Laupland KB. 2008. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*: an emerging public-health concern. *Lancet Infect. Dis.* 8:159–166.
- National Center for Infectious Diseases. 2006. Management of multi-drug-resistant organisms in healthcare settings. CDC, Atlanta, GA. <http://www.cdc.gov/hicpac/pdf/guidelines/MDROGuideline2006.pdf>.
- Société Française d'Hygiène Hospitalière. 2009. Recommandation nationale sur la prévention de la transmission croisée: précautions complémentaires contact. Société Française d'Hygiène Hospitalière, Paris, France. <http://www.sfhf.net/telechargement/recommandationspreventionstransmissioncroiseeSFHH.pdf>.
- Bourbeau PP, Swartz BL. 2009. First evaluation of the WASP, a new automated microbiology plating instrument. *J. Clin. Microbiol.* 47:1101–1106.
- Glasson JH, Guthrie LH, Nielsen DJ, Bethell FA. 2008. Evaluation of an automated instrument for inoculating and spreading samples onto agar plates. *J. Clin. Microbiol.* 46:1281–1284.
- Greub G, Prod'homme G. 2011. Automation in clinical bacteriology: what system to choose? *Clin. Microbiol. Infect.* 17:655–660.

9. Mischnik A, Mieth M, Busch CJ, Hofer S, Zimmermann S. 2012. First evaluation of automated specimen inoculation for wound swab samples by use of the Previ Isola system compared to manual inoculation in a routine laboratory: finding a cost-effective and accurate approach. *J. Clin. Microbiol.* 50:2732–2736.
10. Sharma R, Cooke RP, Ratcliffe JG. 2008. Detection of ESBL bacteria from clinical specimens: evaluation of a new selective medium. *Br. J. Biomed. Sci.* 65(4):191–194.
11. Huang TD, Bogaerts P, Berhin C, Guisset A, Glupczynski Y. 2010. Evaluation of Brilliance ESBL agar, a novel chromogenic medium for detection of extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*. *J. Clin. Microbiol.* 48:2091–2096.
12. Paniagua R, Valverde A, Coque TM, Baquero F, Cantón R. 2010. Assessment of prevalence and changing epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* fecal carriers using a chromogenic medium. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 67:376–379.
13. Randall LP, Kirchner M, Teale CJ, Coldham NG, Liebana E, Clifton-Hadley F. 2009. Evaluation of CHROMagar CTX, a novel medium for isolating CTX-M-ESBL-positive *Enterobacteriaceae* while inhibiting AmpC-producing strains. *J. Antimicrob. Chemother.* 63:302–308.
14. Réglér-Poupet H, Naas T, Carrer A, Cady A, Adam JM, Fortineau N, Poyart C, Nordmann P. 2008. Performance of chromID ESBL, a chromogenic medium for detection of *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum beta-lactamases. *J. Med. Microbiol.* 57:310–315.
15. Saito R, Koyano S, Nagai R, Okamura N, Moriya K, Koike K. 2010. Evaluation of a chromogenic agar medium for the detection of extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*. *Lett. Appl. Microbiol.* 51:704–706.
16. Stürenburg E, Sobottka I, Laufs R, Mack D. 2005. Evaluation of a new screen agar plate for detection and presumptive identification of *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum beta-lactamases. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 51:51–55.
17. European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID). 2000. EUCAST Definitive Document E.DEF 2.1, August 2000: determination of antimicrobial susceptibility test breakpoints. *Clin. Microbiol. Infect.* 6:570–572.

7 DISCUSSION

Les antibiotiques ont révolutionné la médecine du XXe siècle et sauvé des millions de vies en diminuant de façon drastique la mortalité infectieuse bactérienne. Malheureusement, la résistance bactérienne à ces composés a été observée très rapidement après l'utilisation clinique des premières molécules. L'omniprésence des bactéries dans notre environnement (eau, sol, microbiote de l'homme et des animaux, surface des végétaux), favorise le transfert des supports de résistance de l'environnement, des végétaux, et des animaux vers l'homme (boisson, nourriture), et, à contrario, de l'homme et des animaux vers l'eau et le sol (matière fécale et fumier). De plus, l'internationalisation des échanges commerciaux est un facteur de dissémination rapide des clones bactériens résistants aux quatre coins de la planète, conférant un statut mondial à la lutte contre la résistance bactérienne aux antibiotiques, définie aujourd'hui comme enjeu majeur de santé publique par l'OMS.

Le bon usage des antibiotiques pour limiter la sélection des souches résistantes, et celui des SHA pour lutter contre la transmission croisée manu portée des BMR ne fait plus débat aujourd'hui, et c'est dans ce contexte que s'inscrit le travail que j'ai effectué à l'HEGP, initié au début des années 2000 avec le SARM, peu de temps après les premières recommandations nationales et internationales sur ces deux thématiques, et poursuivi aujourd'hui avec les BHRe. La lutte contre la diffusion des BMR en secteur hospitalier est un travail multidisciplinaire, s'inscrivant dans la durée, et nécessitant une constante réévaluation. Après une quinzaine d'années de surveillance de la résistance dans un CHU parisien, et de programmes mis en place pour lutter contre sa dissémination, il est intéressant de dresser un bilan des résultats obtenus.

Comme tout programme de santé publique, la lutte contre la dissémination hospitalière de la résistance aux antibiotiques au sens large, et celle portée par les BMR en particulier, nécessite des indicateurs de suivi dont la présence est indispensable à son évaluation et à sa réévaluation. La collecte de données numériques de qualité (taux de résistance, incidences des patients porteurs, nombres de journées d'hospitalisation, consommation des antibiotiques, des SHA...), est cruciale pour une évaluation pertinente des pratiques implémentées. A ce propos, dans une ambiance générale axée sur le « benchmarking » et la comparaison inter-établissements (la mode est au classement des établissements et à la comparaison de leurs résultats), il me paraît primordial de normaliser certains marqueurs. En premier lieu, l'incidence de BMR (SARM, BLSE...). Selon le dernier rapport du réseau RAISIN surveillant les BMR dans les établissements de santé français (1) :

« Les indicateurs retenus au niveau national sont la densité d'incidence pour 1 000 journées d'hospitalisation (JH) des malades ayant au moins un prélèvement à visée

diagnostique positif à Sarm ou EBLSE »... « La période de l'enquête est de trois mois consécutifs choisis au cours du premier semestre (exemple : janvier-février-mars ou avril-mai-juin) »... « Sont incluses les souches de SARM et EBLSE isolées des prélèvements à visée diagnostique faits durant la période de l'enquête chez les patients hospitalisés au moins 24 heures »... « Sont exclues (a) les souches de SARM et EBLSE isolées de prélèvements à visée écologique » ... « (b) les souches de SARM et d'EBLSE isolées de prélèvements faits chez des patients externes » ... « (c) les doublons définis comme les souches isolées chez un patient pour lequel une souche de même espèce et de même antibiotype a déjà été prise en compte durant la période de l'enquête »

Cette définition de l'incidence prend en compte quatre critères d'inclusion : i) patients hospitalisés plus de 24h, ii) prise en compte des seuls prélèvements à visée diagnostique, iii) calcul à partir d'un nombre de souches bactériennes et iv) durée d'étude de trois mois. Si les deux premiers critères ne souffrent d'aucune contestation, il me semble que les deux derniers items méritent d'être discutés. Tout d'abord, intégrer un nombre de souches en lieu et place d'un nombre de patients, implique d'éliminer les souches redondantes. Or, comme mis en évidence par l'étude sur les doublons, la méthode de dé-doublonnage a un impact significatif sur le nombre de souches comptabilisées. Même en s'alignant sur les critères définis par le RAISIN, des informations manquent pour normaliser ce calcul. Par exemple, quid de la durée entre deux isolats phénotypiquement identiques chez un même patient ? Est-ce le même un mois plus tard ? six mois plus tard ? un an plus tard ? sur un phénotype de résistance particulier, on peut supposer que c'est la même souche qui est retrouvée au fil du temps (voire très longtemps), mais sur un phénotype sauvage (*E. coli* urinaire par exemple), rien ne permet de dire qu'à un mois d'intervalle, on est en présence de la même souche. L'étude sur les doublons a montré que le nombre de souches pris en compte était significativement différent suivant la tolérance que l'on accordait au délai entre deux isolats et au nombre de différences phénotypiques tolérées entre deux isolats de la même espèce chez un patient. La définition donnée par le RAISIN ne précise pas la quantité de différences phénotypiques mineures tolérées : est-ce qu'un isolat de *P. aeruginosa* qui devient imperméable à certains antibiotiques (trois ou quatre antibiotiques devenant I) doit être considéré comme différent de l'isolat primitivement sauvage ? De plus, les critères d'inclusion recommandent d'utiliser les marqueurs issus de l'antibiogramme standard défini par le CASFM pour déterminer les différences majeures pouvant exister entre deux isolats. Certains antibiotiques comme la fosfomycine présentent une médiocre fiabilité comme marqueur, car présentant souvent une résistance hétérogène, associée à une fréquence de mutation élevée, et sensible à l'effet inoculum pouvant varier entre la méthode en milieu liquide et celle en milieu gélosé (128). Si

pour établir un taux de résistance à la fosfomycine chez une espèce donnée, la prise en compte de la fosfomycine est incontournable, il semble en revanche préférable d'exclure ce type de marqueur lorsque l'on compare deux isolats de BLSE. La méthode phénotypique a ses limites ; elle est peu discriminante pour les espèces très sensibles ou à contrario naturellement très résistantes, et le caractère parfois instable de la résistance (le support génétique mobile peut être curé) rend quelques fois les critères de différenciation difficiles. Aussi, vu qu'hormis les techniques moléculaires (non applicables à des études statistiques répétitives), il n'existe aucune méthode parfaite de dédoublement des isolats redondants d'un même patient, je suggère d'utiliser le nombre de souches pour le calcul des taux de résistance et le nombre de cas pour celui des incidences BMR. Dernier point, l'interprétation de l'évolution du taux de résistance à certains antibiotiques est plus difficile depuis quelques temps, les valeurs critiques définies par le CASFM ayant été modifiées trop fréquemment ces dernières années. La normalisation des référentiels CASFM et EUCAST donne lieu à une lecture interprétative différente aujourd'hui (R, S, ou I), pour des CMI identiques à celles d'hier. De plus, des modifications techniques récentes apportées à la méthode de diffusion en milieu gélosé (charge des disques antibiotiques, inoculum bactérien) conduit la aussi à des différences de sensibilité qui ne sont pas du ressort d'un changement d'épidémiologie mais sont dues à un artéfact technique. Pour être efficace, la normalisation doit être stable dans le temps.

En second lieu, je suggère également d'utiliser l'année civile comme référentiel de base pour calculer les incidences BMR. Comme montré dans l'étude sur la variation de la durée d'étude, extrapoler trois mois d'étude à l'incidence annuelle peut conduire à une mésestimation de la valeur réelle de l'incidence. Autant, le traitement manuel était un frein au brassage de grande quantité de données en 2000, et l'étude des isolats sur trois mois représentait à cette époque un travail conséquent, autant, à l'heure du tout numérique, il me semble inimaginable de concevoir un laboratoire sans système informatisé permettant d'extraire sur une année entière les données de l'exercice précédent. De nombreux logiciels d'épidémiologie bactérienne existent aujourd'hui, autorisant un traitement automatisé des données quel qu'en soit leur volume. Si la mésestimation due à une extrapolation inadéquate est probablement reproductible d'une année sur l'autre dans le même établissement, le biais d'analyse en découlant peut être modeste. En revanche, elle peut être source de mauvaise interprétation s'il s'agit de comparer différents centres de santé. Ces considérations purement méthodologiques peuvent paraître anecdotiques au regard des enjeux de la résistance bactérienne aux antibiotiques. Il n'en est rien. De la même manière que les hommes politiques s'empressent de commenter la baisse ou l'augmentation des chiffres du chômage, les épidémiologistes décortiquent ceux des indicateurs qu'ils ont à leur disposition. Un indicateur

normé, fiable, et reproductible dans le temps, est une condition nécessaire (à défaut d'être suffisante) d'une analyse robuste.

Le temps long est la référence en matière d'analyse des indicateurs de résistance. Si parfois, un contexte épidémique aigu met en évidence la diffusion d'une souche particulière en quelques jours, le regard porté sur plusieurs années permet de mieux évaluer les processus mis en place. En ce qui concerne l'alerte informatique BMR, les audits successifs avaient montré un impact fort sur le respect des PCC puisque l'observance des mesures d'isolement qui n'était effective que pour seulement 15% des patients porteurs avant son déploiement en 2003, était de 50,5% une fois diffusée aux correspondants en hygiène (à partir de 2004), et de 90,2% quand l'EOHH ajoutait la prescription informatique des PCC (à partir de 2005-2006). Quand l'article a été rédigé, trois idées forces se dégagent du travail effectué : i) un système informatisé automatique est un outil efficace pour promouvoir les pratiques cliniques, ii) l'alerte BMR en détectant les patients porteurs réadmis permet une implémentation précoce des PCC ce qui peut avoir un effet spécifique sur la transmission du SARM, iii) la prescription par l'EOHH des PCC directement dans le dossier informatique du patient est plus efficace que de rappeler les règles d'isolement à l'équipe en charge du patient. Effectivement, entre 2003 et 2006 l'incidence du SARM a fortement baissé (0,67/1000J vs 0,99/1000J, voir Figure 23 page suivante), suggérant que nos conclusions étaient fondées. Ceci posé, l'incidence avait déjà diminué entre 2002 et 2003 sans alerte BMR. De plus, l'analyse des autres indicateurs montre une augmentation modérée de la consommation des SHA pendant la période 2003-2006 (23 L/1000J vs 29 L/1000J) alors que l'observance des PCC aurait dû conduire à une forte augmentation de la friction hydro-alcoolique. Par contre la consommation de SHA a substantiellement progressé entre 2006 et 2009 pour se stabiliser par la suite (Figure 16 page suivante). Evidemment, résumer les PCC à la compliance au lavage des mains est réducteur, et l'alerte a probablement été un moteur essentiel au respect des recommandations liées aux PCC (port de gants, isolement géographique du patient...). Enfin, pendant la même période, la consommation d'antibiotiques a légèrement diminué (796 JTE/1000J vs 708 JTE/1000J, Figure 23 page suivante), diminuant d'autant la pression de sélection sur les souches de SARM, et participant de ce fait à la baisse de son incidence.

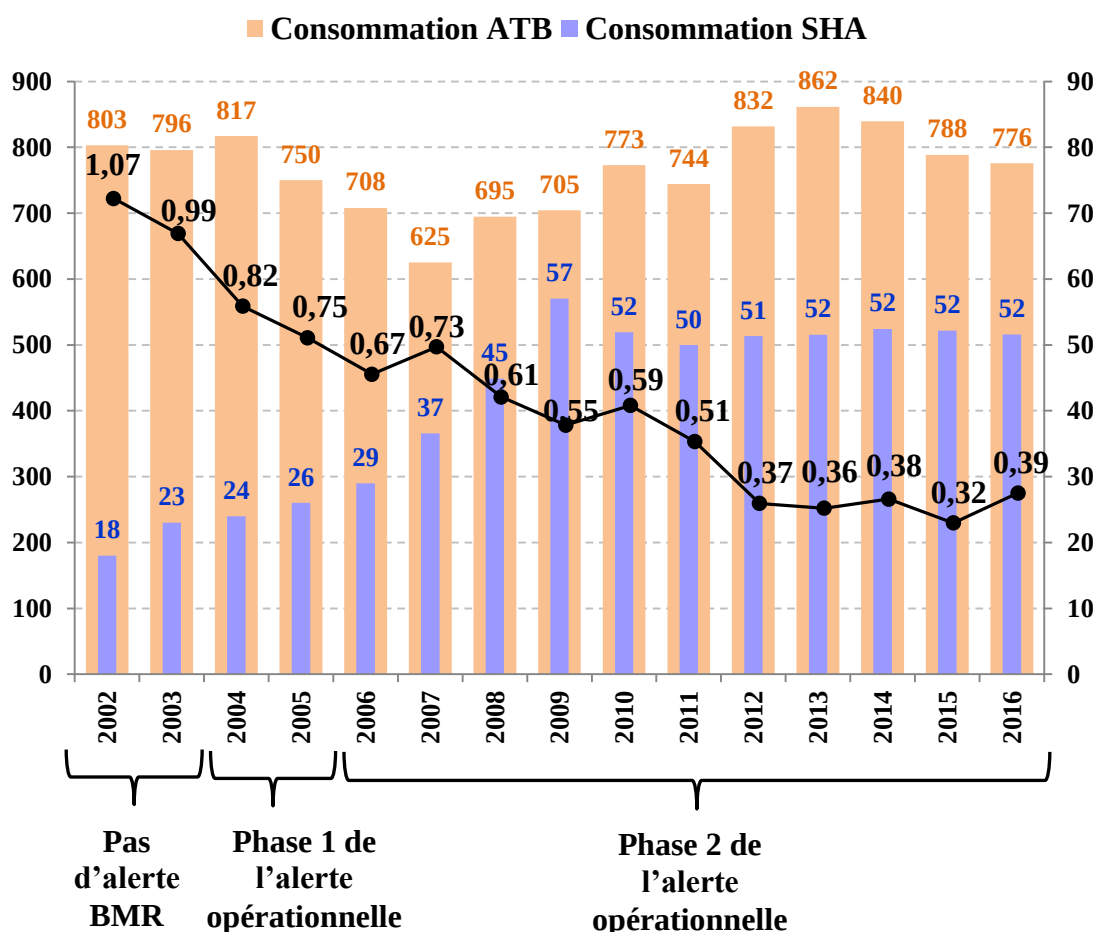


Figure 23. Incidences pour 1000 journées d'hospitalisation des patients porteurs de SARM à l'HEGP (courbe en noire) mise en regard des consommations d'antibiotiques en DDJ pour 1000 journées et des SHA exprimées en litres pour 1000 journées. Les périodes d'implémentation des phases 1 et 2 du déploiement de l'alerte BMR apparaissent en rouge.

En fait, l'application stricte des PCC aux patients porteurs de SARM réadmis, enclenche un cercle vertueux mis en évidence par l'étude sur la pression de colonisation des patients SARM. Dans celle-ci il est montré que les 2/3 des patients porteurs qui sont réadmis à l'hôpital le sont moins de trois mois après leur sortie et qu'ils représentent plus de la moitié des journées-patients SARM sur l'établissement (51,3%). Ces patients réadmis exercent donc une pression de colonisation importante sur les autres pensionnaires de l'hôpital s'ils ne sont pas immédiatement mis en PCC dès leur arrivée. Sans surprise, plus la pression de colonisation est forte, plus le nombre de nouveaux patients SARM diagnostiqués est élevé. L'inverse est également vrai, et la période 2004-2006, correspondant à la mise en place des phases 1 puis 2 de l'alerte, correspond également à la période où la pression de colonisation a le plus diminué, corrélée à une diminution significative du nombre de nouveaux cas SARM.

Diminuer la pression de colonisation entraîne une baisse du nombre de nouveau cas SARM, donc une baisse du nombre de cas SARM réadmis, donc moins de pression de colonisation. En tout état de cause, l'incidence calculée uniquement sur les prélèvements diagnostiques positifs à SARM ne reflète pas précisément la pression de colonisation s'exerçant dans un hôpital, celle-ci occultant l'ensemble des anciens patients réadmis toujours porteur. Pour autant, certains auteurs ont mis en doute la persistance quasi systématique du SARM chez les patients réadmis au vu de la grande variabilité décrite sur la médiane de portage (cinq à 48 mois voire plus selon l'étude), l'inoculum bactérien de départ et l'infection plutôt que la colonisation semblant être des facteurs importants de persistance de colonisation au fil du temps (129). Le débat est toujours le même : sans prélèvement systématique à l'entrée, toute analyse concernant les taux d'acquisition hospitalier et les durées de portage BMR sont approximatifs et spéculatifs. Ce point représentait la limite principale de l'étude que j'avais conduite en me basant sur les alertes SARM de réadmission avec un fort contingent de patients réadmis dans les trois mois suivant leur sortie, et dont le statut de porteur était conservé sans prélèvement de dépistage à la réadmission. Avec un dépistage systématique des patients à l'entrée, un nouvel indicateur pourrait être suivi chaque année : le poids de la pression de colonisation sur l'émergence des nouveaux cas hospitalier. Ce point me paraît encore plus fondamental avec les EBLSE dont l'import communautaire semble être plus conséquent qu'avec le SARM. J'y reviendrai plus loin.

Si cette étude ne remet pas en cause la forte utilité de l'alerte BMR dans la lutte contre la transmission croisée du SARM, le recul permet d'entrevoir quelques faiblesses dans le raisonnement consistant à dire que la baisse du SARM à l'HEGP n'est due qu'à ce procédé d'information. Tout d'abord, l'HEGP s'est doté précocement d'un système d'alerte informatique, aujourd'hui bien plus répandu dans les centres hospitaliers qu'il ne l'était à l'époque. Et pourtant, l'incidence française du SARM à l'hôpital a baissé de façon continue durant toutes les années 2000 (0,63 en 2002 vs 0,41 en 2009) (1). D'où l'hypothèse clonale émise dans l'article décrivant l'évolution des marqueurs de résistance associés à *S. aureus*, que celui-ci soit résistant à la méticilline ou pas. Dans cette étude, s'étalant sur la période 2001-2006, il était noté une diminution significative des co-résistances chez les souches de SARM isolées à l'HEGP, marquant un changement dans l'épidémiologie locale. En fait, la diminution de moitié d'un phénotype majoritaire, correspondant aux souches portant les marqueurs de résistance « kanamycine, tobramycine, fluoroquinolones et Macrolides-Lincosamides-StreptograminesB », était le principal responsable de la diminution du SARM dans l'institution. Or, ce phénotype correspond à celui du clone ayant diffusé en France dans les années 80-90 (111,130). En revanche les autres phénotypes de SARM étaient stables. Il est

raisonnable de supposer qu'une fois la disparition du clone effective, les autres clones ont perduré et stabilisé le bruit de fond du SARM à l'hôpital, ce qui pourrait expliquer pourquoi l'incidence du SARM a baissé jusqu'en 2011 et qu'elle est stable depuis 2012. Ceci pourrait également, pour partie, expliquer, pourquoi la diminution du SARM a été générale au cours des années 2000 dans la plupart des centres hospitaliers français, que ceux-ci aient mis en place des systèmes performant d'alerte informatisée ou pas, et/ou qu'ils aient promu efficacement ou pas les SHA. Dernier point et non des moindres, comment une politique globale aussi efficace (alerte informatique BMR, promotion des SHA, maîtrise de la consommation des antibiotiques...) donne de tels résultats avec le SARM et semble aussi inefficace avec les EBLSE (Figure 24) ?

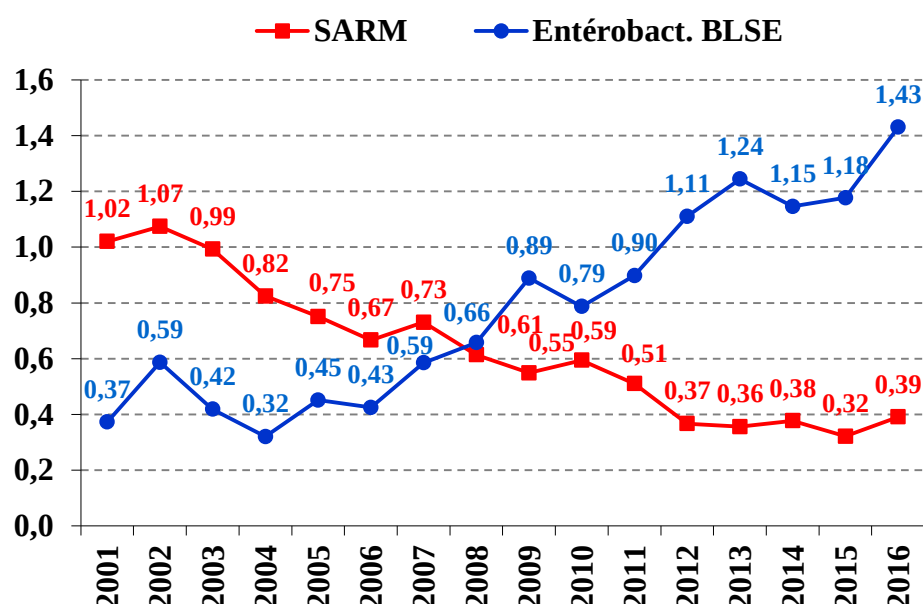


Figure 24. Incidences pour 1000 journées d'hospitalisation des patients porteurs de SARM et d'EBLSE à l'HEGP. Source : rapport annuel « Surveillance 2001-2016 de la résistance bactérienne aux antibiotiques, GHU-Paris-Ouest, P. Grohs, juillet 2017

La question de la croissance continue de l'incidence des EBLSE pose un vrai problème car l'application des mesures qui paraissaient être efficaces sur le SARM hospitalier semble ne pas endiguer la diffusion des souches d'EBLSE au sein des centres de soins. Le problème est d'autant plus perturbant, que l'hôpital semble participer modérément à la propagation de ces micro-organismes. Lors de l'étude réalisée à l'HEGP en 2008 sur les Coli-BLSE, aucune transmission croisée n'a pu être mise en évidence alors que 71 patients ont été diagnostiqués porteurs de Coli-BLSE. Tous les profils génotypiques étaient différents attestant que chaque patient était porteur de sa propre souche. Ces résultats sont cohérents avec les données de la

littérature qui décrivent des épidémies de BLSE hospitalières impliquant généralement *K. pneumoniae* et *E. cloacae* mais très rarement *E. coli* (120,131). Lors de notre étude concernant l'évaluation de cinq stratégies de dépistage en réanimation en 2011, il a été montré que 77% des porteurs de BLSE l'étaient à leur admission en réanimation. Même si certains d'entre eux provenaient d'autres services de l'HEGP, la grande majorité provenaient d'admission directe. La naissance hors d'Europe, les infections chroniques et la répétition des traitements antibiotiques sont des facteurs de risque connus de portage de Coli-BLSE à l'admission (132). Le réservoir humain en ville est massif, et constitue une source inépuisable de patients portant la résistance et alimentant l'hôpital, la contamination s'exerçant à l'intérieur de la structure familiale, *via* l'alimentation, ou suite à un voyage à l'étranger dans des zones très endémiques (131). Au final, le nombre de souches importées à l'hôpital *via* la communauté est tellement conséquente que certains auteurs posent la question de l'utilité de l'application des PCC aux patients porteurs de Coli-BLSE, les mêmes résultats étant observés entre les hôpitaux isolant (ou non) les patients Coli-BLSE (133). Aujourd'hui, les éléments de preuve manquent pour attester formellement de l'efficacité des mesures de contrôle actuellement recommandées sur la diffusion intra-hospitalière des BLSE (131,134). La question de l'isolement des patients Coli-BLSE s'est également posée à l'HEGP puisque, au vu des études de 2008 et de 2011, il semblait qu'aucune transmission croisée n'était effective, la plupart des patients arrivant à l'hôpital avec leur souche. Pourtant, dans notre hôpital, pour tous les patients colonisés et/ou infectés par une souche d'EBLSE, quel que soit l'espèce, les PCC continuent à être mises en place. Ce que nous voyons n'est que la partie apparente de ce que produit le laboratoire en termes de résultats : un prélèvement, un nom d'espèce, un antibiogramme. Les échanges génétiques sont nombreux au niveau du tube digestif des patients et les plasmides hébergeant les gènes de résistance tels que CTX-M15 se transmettent de souche à souche, et d'espèce à espèce (131). Une épidémie de plasmide est transparente au niveau du laboratoire puisque, par définition, l'épidémie repose sur le concept de même espèce, même antibiogramme, même profil génomique. Due à la transmission potentielle d'un plasmide d'*E. coli* vers une espèce plus préférentiellement « hospitalière », les PCC sont appliquées pour tous les patients porteurs y compris ceux porteurs de Coli-BLSE.

L'habitat naturel des BMR pourrait également expliquer les discordances observées entre la lutte contre le SARM et celle contre les EBLSE. *S. aureus* est un hôte de la flore cutanée quand les entérobactéries se retrouvent au niveau de la flore digestive. En découle une différence conséquente d'inoculum bactérien puisque la flore cutanée compte environ 1.000.000 d'unités bactériennes par cm² quand la flore digestive en compte 1000 fois plus, *E. coli* pouvant être présent à raison de 10⁸ UFC/g de selles (135). Un porteur de Coli-BLSE

peut par conséquent éliminer quotidiennement jusqu'à 10^{11} unités bactériennes dans l'environnement *via* ses excréta (de 10^{10} à 10^{11} pour les selles et 10^8 à 10^9 pour l'urine). Dans l'introduction, je rappelais que jusqu'au XXe siècle, l'absence d'hygiène individuelle et le manque de circuit d'évacuation des excréments étaient des problèmes majeurs participant à la diffusion des épidémies. Les progrès réalisés dans ces deux domaines nous ont fait croire trop rapidement que nos sociétés étaient désormais à l'abri du "péril fécal" historiquement représenté par les bactéries pathogènes à tropisme digestif (salmonelles, shigelles, vibrions...). Les Coli-BLSE représentent aujourd'hui un péril fécal d'un genre nouveau, la gestion des excréta à l'hôpital étant devenu un enjeu majeur qui est rappelé dans la plupart des guides et recommandations officielles (2,59).

La croissance continue de l'incidence des EBLSE pose à terme un problème thérapeutique essentiel. La résistance aux C3G, antibiotiques très largement utilisés dans de nombreuses indications thérapeutiques, ouvre la voie à une surconsommation de carbapénèmes, antibiotiques de dernier recours à préserver, autant que faire se peut, pour limiter la sélection des souches d'EPC. Cette résistance est également le fruit d'une progression sensible du nombre de HP-CASE rencontrées dans les infections. Lors de l'étude réalisée sur les différentes politiques de dépistage, il avait été noté que sur quatre patients hospitalisés en réanimation, trois sont, à un moment ou un autre de leur séjour, colonisés et/ou infectés par une entérobactérie résistante aux C3G. Si l'importation massive de ce type de micro-organisme a déjà été commentée plus haut, la stratégie de limitation de leur sélection au niveau du tube digestif par l'utilisation préférentielle du céfotaxime en lieu et place de la ceftriaxone n'a pas donné à terme les résultats escomptés. Lorsque cette stratégie a été initiée en 2005, l'incidence des souches de HP-CASE était en progression constante depuis cinq ans. Les quelques années suivantes, cette croissance continue a été stoppée, mais a, par la suite, été suivie d'une augmentation puis d'une diminution, rendant la courbe d'incidence beaucoup moins interprétable que lorsque l'étude a été publiée. La diffusion des BMR dépend de multiples facteurs, pour la plupart connus aujourd'hui (transmission croisée, sélection par antibiothérapie, alimentation...), mais dont la maîtrise est complexe. A l'heure actuelle, malgré une politique intra-hospitalière active, la résistance aux C3G continue de progresser année après année sur l'établissement, engendrant *de facto* une progression de la consommation des carbapénèmes (Figure 25 page suivante). Pour l'instant, le nombre de patients infectés par une EPC reste faible (moins d'une dizaine par an). En revanche, le nombre de patients colonisés est en augmentation constante (Figure 26 page suivante). Du moins le nombre de patients décelés comme porteurs, car l'alerte informatique ciblée sur les patients contact majore le nombre de dépistage effectués. Ces données sont cohérentes avec

les données nationales collectées par l'INVS : depuis le premier épisode impliquant une EPC en 2004, le nombre d'épisodes impliquant ces bactéries a régulièrement augmenté entre 2009 et 2013 et, suite à une légère accalmie en 2014, le nombre de signalement est reparti à la hausse depuis (60). Pour l'instant la France est moins touchée que les pays du pourtour méditerranéen et du sud de l'Europe dans lesquels perdurent de nombreux foyers endémiques (136). Les données du réseau EARS de 2014 indiquent des taux de résistance aux carbapénèmes de 62.3% en Grèce, 32.9% en Italie (versus 0.5% en France, 0.8% au Royaume Uni et 0.7% en Allemagne (44).

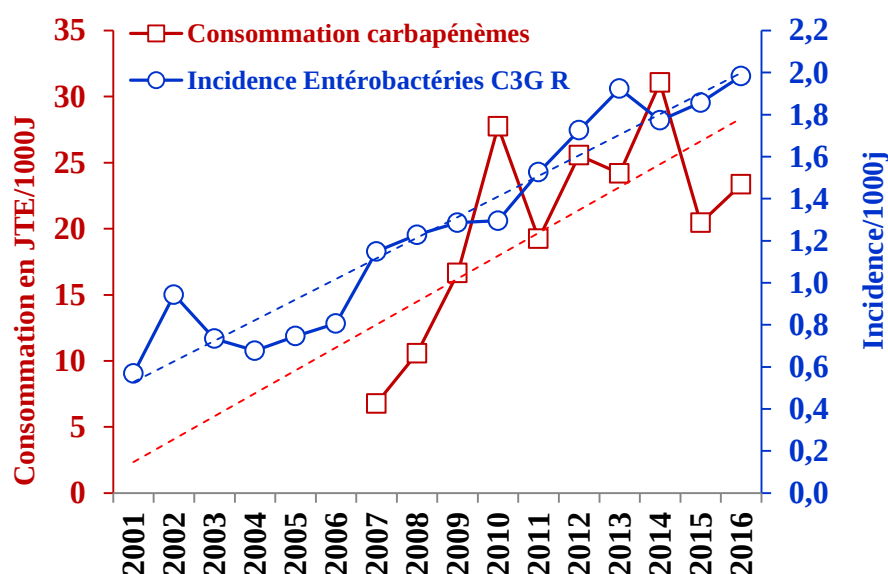


Figure 25. Incidence des entérobactéries résistantes aux C3G et consommation des carbapénèmes à l'HEGP

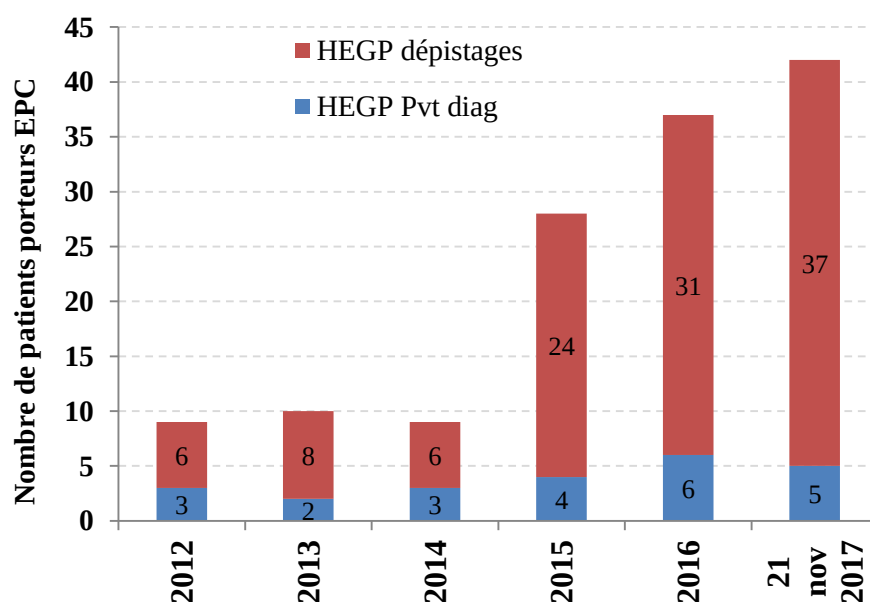


Figure 26. .Nombre de patients colonisés et infectés par une EPC à l'HEGP

Au vu de l'afflux important de patients porteur d'EBLSE en provenance de la ville, la maîtrise de la diffusion intra hospitalière de ces BMR reste un challenge difficile à réaliser. Soit on considère que l'hôpital est en bout de chaîne et qu'il ne peut que subir cette importation massive, soit on agit *in situ* et toute action repose en premier lieu sur le repérage précoce des patients porteurs admis. On a vu que l'alerte jouait un rôle crucial pour implémenter les PCC au plus vite pour les patients connus. Mais pour tous les autres...? Une politique ambitieuse de dépistage n'est pas à l'ordre du jour, celle-ci se heurtant rapidement à des contraintes médico-économiques. Déjà, l'inflation des prélèvements de dépistage, principalement en lien avec la croissance continue du nombre de dépistages de patients contact BHRe, sature les capacités d'absorption des laboratoires de microbiologie. Il est de ce fait illusoire d'envisager une politique systématique continue de dépistage à grande échelle sur un hôpital. Pourtant, des solutions émergent. La robotique et les progrès des techniques de laboratoire (milieux de cultures discriminants, tests biochimiques...) permettent d'envisager une augmentation du nombre d'échantillons traités à moyens humains constants. Dans l'étude comparative de cinq milieux dédiés à l'isolement des EBLSE, tout l'ensemencement des géloses a été effectué sur un automate dédié. A l'époque, le gain de temps personnel avait été estimé à 2/3 d'équivalent temps plein pour un volume de 250 boîtes/jours. Pour un CHU tel que l'HEGP, qui comptait 34000 admissions de plus de 24h en 2016, un dépistage systématique d'EBLSE et de EPC à l'entrée représenterait 93 écouvillons par jour soit 186 boîtes à ensemer, soit une quantité gérable pour un automate, si tant est que sa vitesse d'exécution supporte un rythme conséquent (tous les robots ne fonctionnent pas à la même vitesse et ont donc un rendement différent). Par contre, deux problèmes se posent, à la fois au niveau de l'équipe soignante en charge de recueillir les échantillons, et de l'équipe technique du laboratoire en charge de la lecture des milieux de culture. L'analyse des cultures bactériennes reste un processus manuel qui demande du personnel dédié et qualifié. Comme les milieux EBLSE ont une spécificité médiocre (57,9% à 72,3% selon le milieu dans notre étude), une culture positive n'est pas équivalente à un portage de EBLSE et demande des examens complémentaires chronophages qui retardent d'autant le rendu du résultat (de quelques dizaines de minutes pour un test biochimique au lendemain pour l'antibiogramme). Là encore, les tests biochimiques n'ont pas une sensibilité et une spécificité de 100% (137) et seul l'antibiogramme rendu 48h après l'ensemencement de l'échantillon affirme ou pas la présence d'une EBLSE. Pourtant, des solutions existent pour faire un diagnostic rapide de BHRe. L'industrie met maintenant à disposition des kits d'identification basés sur des techniques rapides de biologie moléculaire, rendant des résultats directement à partir de l'échantillon biologique en moins de deux heures, et dont les sensibilités, spécificités, VPP, et

VPN sont supérieures à 95% (104,138). A ce jour, le problème est plus économique que technique, ces méthodes de diagnostic restant très onéreuses, leur utilisation s'en trouve limitée à des cas précis (admission de patients rapatriés en réanimation, d'antécédents à risque...). Ceci posé, là où la génomique montre certaines limites, la protéomique peut devenir demain la référence en matière de diagnostic rapide et de réponse en temps réel à des problèmes de transmission croisée. La technologie de spectrométrie par Maldi-tof (matrix-assisted laser desorption ionization–time-of-flight) ouvre désormais des opportunités d'identification clonale de souche et de plasmide hébergeant des gènes de résistance aux antibiotiques (139,140). D'autres techniques couplant PCR et spectrométrie de masse (electrospray ionization time-of-flight) ouvrent également la fenêtre des possibles pour, par exemple, détecter le gène *mecA* de résistance à la méticilline dans les prélèvements oropharyngés (141). Ces techniques conjuguant facilité d'utilisation, précision d'identification et coûts d'exploitation faibles, promettent une révolution diagnostique dans le dépistage précoce des BMR à grande échelle, et dans le typage des souches confirmant ou infirmant rapidement l'appariement génétique lors d'un contexte épidémique.

Avec le recul et une maturation plus aboutie de ma réflexion scientifique, il est probable que je conduirais différemment aujourd'hui certaines études de ce manuscrit, que ce soit en termes de méthodologie ou de conclusion. La pierre angulaire de la recherche consiste à faire varier un paramètre et à en étudier ses conséquences. C'est facile *in vitro* : on sélectionne un mutant à un antibiotique sur des milieux de culture contenant des concentrations croissantes d'antibiotique, et, après mesure de la CMI des mutants, on séquence le(s) gène(s) codant pour la molécule responsable de la résistance. Après description de la ou des mutations impactant l'activité de la molécule, on peut établir un lien de causalité entre la ou les mutations observées et l'augmentation de la CMI, donc de la résistance. Le problème avec la résistance *in vivo* c'est que nous ne maîtrisons pas l'ensemble des paramètres que nous mesurons. Suite à l'installation d'un système informatique pour repérer précocement les patients BMR réadmis, on observe une diminution de la prévalence du SARM suggérant un lien de causalité entre les deux paramètres. Pendant le même temps, les SHA ont remplacé le savon, un clone différent de SARM diffuse en France, de jeunes personnels plus sensibilisés à l'hygiène hospitalière remplacent ceux de la génération précédente, la consommation d'antibiotiques diminue concomitamment... le lien direct entre alerte SARM et diminution de l'incidence SARM paraît d'un seul coup moins évident. L'interprétation de l'impact de la modification d'un paramètre doit être pondérée au regard de l'environnement dans lequel il est mesuré.

Dans le même ordre d'idée, une mise à jour de certaines études du manuscrit pourrait être utile. Par exemple, la publication concernant le remplacement de la ceftriaxone par le

céfotaxime pour limiter la sélection des HP-CASE a induit un changement de politique dans certains hôpitaux, sur la base de ce qui a été communiqué par l'HEGP. Aujourd'hui, je ne suis plus aussi convaincu de l'action bénéfique de ce switch, les données postérieures montrant une fluctuation de l'incidence HP-CASE indépendamment de l'action antibiotique intervenue plusieurs années auparavant. Au vu des désavantages d'utilisation du cefotaxime (trois prises quotidienne vs une seule pour la ceftriaxone), le bénéfice-coût est aujourd'hui plus discutable qu'il ne l'était à l'époque de la parution de l'article, eu égard au modeste résultat obtenu sur l'écologie globale. Pour autant, le postulat de départ restant valide (l'élimination biliaire de la ceftriaxone peut agir comme sélecteur de souches HP-CASE au niveau du microbiote digestif), aucun retour en arrière n'a été envisagé à l'HEGP. Néanmoins, la réactualisation de certaines études, sur un sujet aussi mouvant que l'écologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques me paraît nécessaire.

8 CONCLUSION, PERSPECTIVES

Mes travaux sur les outils informatiques ont montré que des variations dans la définition des critères de paramétrage de la base de données d'épidémiologie pouvaient conduire à des variations significatives des valeurs de taux et d'incidence du SARM, pouvant influencer sur leur interprétation. Ils ont également établi que l'alerte informatique BMR participait à la maîtrise de la transmission croisée par une observance accrue de la mise en place des précautions contact complémentaires pour les anciens porteurs de BMR réadmis à l'hôpital (plus de 90%). Enfin, ils ont mis en évidence la forte pression de colonisation qu'exercent les patients SARM réadmis sur l'ensemble des patients hospitalisés, près de la moitié des anciens patients porteurs étant réadmis au moins une fois dont les 2/3 moins de trois mois après leur sortie. L'informatique fournit aujourd'hui des outils puissants pour surveiller les BMR, sous condition que les critères de paramétrage de la base d'épidémiologie soient précis, normalisés et reproductibles. Elle est une source d'information irremplaçable pour détecter précocement les patients porteurs de BMR et/ou de BHR et les patients contact BHR.

Les travaux colligés dans cette thèse ont également montré que la forte incidence des patients colonisés et/ou infectés par des EBLSE en réanimation, concerne très majoritairement des cas importés. Ils ont souligné la discontinuité de portage au cours du séjour, aucune stratégie de dépistage n'assurant une identification de 100% des patients porteurs, hormis la collecte quotidienne d'un échantillon biologique. A ce propos, l'inflation des échantillons parvenant au laboratoire de bactériologie peut, dans une certaine mesure, être absorbée grâce au déploiement d'instruments robotisés et à l'utilisation de milieux de culture plus spécifiques, optimisant l'isolement et l'identification des EBLSE. Enfin, il a été montré dans ce manuscrit qu'une politique proactive de ciblage de l'antibiothérapie (remplacement total de l'utilisation de la ceftriaxone par le cefotaxime) pouvait permettre de ralentir la progression de l'incidence de certaines BMR (HP-CASE dans ce cas précis).

Ceci posé, après 15 années d'étude sur la maîtrise de la diffusion des BMR à l'HEGP, l'ensemble de ces résultats peuvent apparaître contrastés. Lorsque j'ai commencé à mettre en place des processus de surveillance, je pensais qu'une politique de santé publique axée sur la lutte contre la résistance bactérienne n'était qu'une question de volontarisme et de moyens mis en œuvre. En regardant rétrospectivement l'intégralité de cette période, force est de constater que la proportionnalité entre les moyens déployés et les résultats obtenus reste à démontrer. Malgré des moyens modernes liés à son statut d'hôpital "neuf et tout informatique", l'HEGP a assisté, comme les autres, au croisement des courbes d'incidence des SARM et des EBLSE suggérant que les professionnels hospitaliers sont, dans une certaine mesure, plus spectateurs qu'acteurs de la diffusion intra-hospitalière des BMR. La raison n'en incombe pas qu'à

l'institution. L'hôpital est en bout de chaîne et la ville contribue fortement à la diffusion de la résistance : consommation massive d'antibiotiques (90% de la consommation totale française est communautaire) et forte importation d'EBLSE communautaires. La contribution de la campagne n'est pas négligeable non plus, en lien avec la surutilisation des antibiotiques dans la production alimentaire. De plus, chaque hôpital met en place des processus, qui, s'ils suivent les recommandations nationales, ne sont pas liés entre eux. J'en veux pour preuve l'alerte informatique BMR, déployée localement dans plusieurs centres hospitaliers, mais sans connexion inter-établissements, et donc parfaitement inefficace dans le cas de mouvements de patients inter-sites entrecoupés de séjours domestiques. Les interventions locales, pour intéressantes qu'elles soient, doivent s'inscrire dans un processus général de maîtrise du risque infectieux lié aux BMR. Malgré ces réserves, l'hôpital a son rôle à jouer pour limiter la diffusion des BMR si tant est qu'on lui en donne les moyens. Une politique de lutte ambitieuse ne peut être conduite à moyens constants, et nos décideurs sont trop frileux à libérer des crédits dès lors qu'il s'agit de préventif et non de curatif. Pourtant, de très nombreuses études médico-économiques ont démontré le coût astronomique des infections hospitalières à BMR. À défaut d'entendre les arguments scientifiques du problème posé par les BMR, nos responsables politiques pourraient être plus sensibles aux arguments financiers. Charge aux scientifiques de renom de faire passer le message.

Puisque l'on parle de moyens, imaginons l'espace d'un instant une politique de lutte contre les BMR implémentée dans un hôpital neuf, et qui serait affranchie des contraintes budgétaires. En premier lieu, l'établissement serait constitué de 100% de chambres individuelles, et j'y prévoirai un secteur dédié au cohorting des patients porteurs de BMR et/ou à la prise en charge de toute épidémie à BMR ou à micro-organisme d'intérêt (*A. baumannii* par exemple). Cette unité permettrait de circonscrire au plus vite toute épidémie naissante, sans fermer les unités de soins dont sont issus les patients. J'instaurerai une politique de dépistage systématique de SARM, BLSE, HP-CASE, EPC et ERV pour tous les patients, à la fois lors de leur admission, mais également lors de leur sortie. Le dépistage à l'admission serait réalisé au laboratoire *via* des techniques de biologie moléculaire (et de culture classique) permettant d'identifier au plus vite les patients porteurs. En sortie, le dépistage basé sur la culture serait suffisant, hors transfert dans un autre hôpital. Cette politique, associée à un système de prescription antibiotique obligatoirement informatisé, suivrait au cas par cas toute sélection/acquisition/émergence de BMR/BHR, et fournirait à terme des informations cruciales sur la dynamique d'acquisition hospitalière. Je préconiserais également l'abolition des précautions complémentaires contact pour mettre l'accent sur les précautions standards, tout patient devant être considéré comme potentiellement porteur de

BMR. Cette action serait pilotée par une équipe d'hygiène renforcée, intégrant un représentant de l'EOHH par pôle, ce qui permettrait à la fois d'optimiser la pédagogie envers les nouveaux personnels, et de rappeler, au quotidien, les règles élémentaires aux anciens. Au final, je serais assez curieux de connaître la rentabilité médico-économique d'un tel projet, et la quantification du retour sur investissement serait intéressante à effectuer après quelques années, tant sur plan médical (incidence, morbidité, mortalité) que financier.

Pour autant, les infrastructures préexistantes et les contraintes budgétaires actuelles ne doivent pas être un frein à la poursuite des expérimentations. La progression de nos connaissances est indispensable pour lutter plus efficacement contre la diffusion des BMR au sein de nos établissements de santé, et quatre axes de recherche sont à mon agenda pour 2018 : technologie innovante de laboratoire, audit de portage un jour donné (épidémiologie), antibiothérapie ciblée, et outil informatique.

La première étude concerne l'évaluation des performances d'un système de spectrométrie de masse à infrarouge dans le typage des souches d'EPC et d'ERV (IR Biotyper, Bruker Daltonik, Bremen, Allemagne). Un panel d'isolats d'entérobactéries et d'entérocoques, déjà typés par technologie MLST (MultiLocus Sequence Typing), sera testé sur la machine qui sera mise à disposition du laboratoire de bactériologie de l'HEGP. Ce type de technologie, précise, rapide, et peu coûteuse, a déjà montré sa capacité à typer des clones bactériens d'*E. coli* uro et entéro-pathogènes (25,142). Son apport sur les BMR semble prometteur.

Le deuxième projet, multicentrique, ciblera l'ensemble des patients hospitalisés dans sept hôpitaux de l'AP-HP via un audit collectif un jour donné. L'hypothèse testée est que la prévalence du portage d'EPC est sous-diagnostiquée, et qu'il existe des différences significatives de prévalence de portage entre les différents établissements, en fonction de i) leur type (aigu, moyen ou long séjour) ; ii) leur démographie (adulte, gériatrie, pédiatrie) ; iii) leur fréquence de contact avec des zones endémique. Cette étude nous permettra d'estimer à sa juste valeur la prévalence réelle des EPC de chaque hôpital et d'identifier les « porteurs cachés » qui ne remplissent pas les critères « classiques » de dépistage (séjour à l'étranger sans hospitalisation, habitude alimentaire...), cela afin d'adapter les mesures d'hygiène recommandées au sein de chaque établissement évalué. Les échantillons collectés sur chaque établissement seront concentrés au laboratoire de bactériologie de l'HEGP.

Le troisième projet concerne la mise en place de l'antibiogramme restreint, ayant pour but de ne cibler que les antibiotiques d'intérêt. Cette recommandation institutionnelle de l'HAS qui date d'avril 2008 concerne la "stratégie d'antibiothérapie et prévention des résistances bactériennes en établissement de santé", en particulier son chapitre 3.2.1 : "Aide au diagnostic de l'infection, à l'initiation et au suivi de l'antibiothérapie". Le bénéfice de

l'antibiogramme restreint est validé par la littérature scientifique puisque des études ont montré que le rendu de l'antibiogramme influence la prescription des antibiotiques par les cliniciens (143). L'expérimentation débutera avec l'ECBU, examen le plus fréquemment demandé au laboratoire de bactériologie.

Enfin, le dernier projet qui est en gestation, concerne l'extension de l'alerte BMR, aujourd'hui fonctionnelle sur le seul GHU Paris-ouest, au niveau supra GH avec HEGP-Necker-Cochin. Pour l'instant, un ancien patient porteur issu de Necker ne conduit pas à l'émission d'une alerte informatique lors de son admission ultérieure à l'HEGP ou à Cochin. Le déploiement d'un système unique d'alerte sur le niveau supra GH permettrait de repérer en temps réel tous les patients porteurs de BMR/BHR et contact BHR. La réflexion est déjà amorcée avec la direction informatique de l'HEGP. Au moment de la rédaction de ces lignes, le contact avec les deux autres hôpitaux n'en est qu'aux prémices. Si le projet aboutit, son extension à l'ensemble de l'AP-HP pourrait être envisagée, et entrerait en résonnance avec le déploiement du dossier patient unique basé sur le logiciel ORBIS.

9 **BIBLIOGRAPHIE DE LA THESE**

1. RAISIN. Surveillance des bactéries multiresistantes dans les établissements de santé en France / 2017 / Maladies infectieuses / Rapports et synthèses / Publications et outils / Accueil [Internet]. [cited 2017 Oct 8]. Available from: <http://invs.santepubliquefrance.fr/Publications-et-outils/Rapports-et-syntheses/Maladies-infectieuses/2017/Surveillance-des-bacteries-multiresistantes-dans-les-etablissements-de-sante-en-France>
2. SFHH. Prévention de la transmission croisée : précautions complémentaires contact - Consensus formalisé d'experts - 2009 - SF2H_prevention-transmission-croisee-2009.pdf [Internet]. 2017 [cited 2017 Apr 16]. Available from: https://sf2h.net/wp-content/uploads/2009/01/SF2H_prevention-transmission-croisee-2009.pdf
3. Rubini M, Zaio P, Roberts C. Tuberculosis and leprosy in Italy: new skeletal evidence. *Homo Int Z Vgl Forsch Am Menschen*. 2014 Feb;65(1):13–32.
4. Walker MJ, Zapata J, Lombardi AV, Trinkaus E. New evidence of dental pathology in 40,000-year-old Neandertals. *J Dent Res*. 2011 Apr;90(4):428–32.
5. Jean Vitaux. Histoire de la peste. PUF.
6. Patrick Berche. Une histoire des microbes. John Libbey Eurotext.
7. Human Microbiome Jumpstart Reference Strains Consortium, Nelson KE, Weinstock GM, Highlander SK, Worley KC, Creasy HH, et al. A catalog of reference genomes from the human microbiome. *Science*. 2010 May 21;328(5981):994–9.
8. Carlet J. The gut is the epicentre of antibiotic resistance. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2012 Nov 27;1(1):39.
9. Fleming A. On the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. 1929. *Bull World Health Organ*. 2001;79(8):780–90.
10. Duckett S. Ernest Duchesne and the concept of fungal antibiotic therapy. *Lancet Lond Engl*. 1999 Dec 11;354(9195):2068–71.
11. Raju TN. The Nobel chronicles. 1939: Gerhard Domagk (1895-1964). *Lancet Lond Engl*. 1999 Feb 20;353(9153):681.
12. Schatz A, Bugie E, Waksman SA. Streptomycin, a substance exhibiting antibiotic activity against gram-positive and gram-negative bacteria. 1944. *Clin Orthop*. 2005 Aug;(437):3–6.
13. Mitchison DA. The diagnosis and therapy of tuberculosis during the past 100 years. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005 Apr 1;171(7):699–706.
14. Barber M, Rozwadowska-Dowzenko M. Infection by penicillin-resistant staphylococci. *Lancet Lond Engl*. 1948 Oct 23;2(6530):641–4.
15. Rolinson GN, Stevens S, Batchelor FR, Wood JC, Chain EB. Bacteriological studies on a new penicillin-BRL. 1241. *Lancet Lond Engl*. 1960 Sep 10;2(7150):564–7.

16. Barber M. Methicillin-resistant staphylococci. *J Clin Pathol*. 1961 Jul;14:385–93.
17. Stewart GT, Holt RJ. Evolution of natural resistance to the newer penicillins. *Br Med J*. 1963 Feb 2;1(5326):308–11.
18. Palumbi SR. Humans as the world's greatest evolutionary force. *Science*. 2001 Sep 7;293(5536):1786–90.
19. Knight V, Holzer AR. Studies on staphylococci from hospital patients. I. Predominance of strains of group III phage patterns which are resistant to multiple antibiotics. *J Clin Invest*. 1954 Sep;33(9):1190–8.
20. Benner EJ, Morthland V. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrobial susceptibility. *N Engl J Med*. 1967 Sep 28;277(13):678–80.
21. Michael CA, Dominey-Howes D, Labbate M. The antimicrobial resistance crisis: causes, consequences, and management. *Front Public Health*. 2014;2:145.
22. Aminov RI. The role of antibiotics and antibiotic resistance in nature. *Environ Microbiol*. 2009 Dec;11(12):2970–88.
23. Marston HD, Dixon DM, Knisely JM, Palmore TN, Fauci AS. Antimicrobial Resistance. *JAMA*. 2016 Sep 20;316(11):1193–204.
24. Baharoglu Z, Mazel D. SOS, the formidable strategy of bacteria against aggressions. *FEMS Microbiol Rev*. 2014 Nov;38(6):1126–45.
25. Davis R, Paoli G, Mauer LJ. Evaluation of Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy and chemometrics as a rapid approach for sub-typing *Escherichia coli* O157:H7 isolates. *Food Microbiol*. 2012 Sep;31(2):181–90.
26. Grohs P, Houssaye S, Aubert A, Gutmann L, Varon E. In vitro activities of garenoxacin (BMS-284756) against *Streptococcus pneumoniae*, viridans group streptococci, and *Enterococcus faecalis* compared to those of six other quinolones. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003 Nov;47(11):3542–7.
27. Dortet L, Poirel L, Nordmann P. Worldwide Dissemination of the NDM-Type Carbapenemases in Gram-Negative Bacteria. *BioMed Res Int* [Internet]. 2014 [cited 2017 Jun 10];2014. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3984790/>
28. Temkin E, Adler A, Lerner A, Carmeli Y. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: biology, epidemiology, and management. *Ann N Y Acad Sci*. 2014 Sep;1323:22–42.
29. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*. 1999 May 21;284(5418):1318–22.
30. Verraes C, Van Boxtael S, Van Meervenne E, Van Coillie E, Butaye P, Catry B, et al. Antimicrobial resistance in the food chain: a review. *Int J Environ Res Public Health*. 2013 Jun 28;10(7):2643–69.
31. Powers JH. Antimicrobial drug development--the past, the present, and the future. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. 2004 Nov;10 Suppl 4:23–31.

32. Brown ED, Wright GD. Antibacterial drug discovery in the resistance era. *Nature*. 2016 Jan 21;529(7586):336–43.
33. Spellberg B, Guidos R, Gilbert D, Bradley J, Boucher HW, Scheld WM, et al. The epidemic of antibiotic-resistant infections: a call to action for the medical community from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2008 Jan 15;46(2):155–64.
34. Roca I, Akova M, Baquero F, Carlet J, Cavaleri M, Coenen S, et al. The global threat of antimicrobial resistance: science for intervention. *New Microbes New Infect*. 2015 Jul;6:22–9.
35. Carlet J. The world alliance against antibiotic resistance: consensus for a declaration. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2015 Jun 15;60(12):1837–41.
36. Angoulvant F, Cohen R, Doit C, Elbez A, Werner A, Béchet S, et al. Trends in antibiotic resistance of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* isolated from nasopharyngeal flora in children with acute otitis media in France before and after 13 valent pneumococcal conjugate vaccine introduction. *BMC Infect Dis* [Internet]. 2015 Jun 21 [cited 2017 Jun 11];15. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4475293/>
37. Jones DS, Podolsky SH, Greene JA. The burden of disease and the changing task of medicine. *N Engl J Med*. 2012 Jun 21;366(25):2333–8.
38. Goossens H, Ferech M, Vander Stichele R, Elseviers M, ESAC Project Group. Outpatient antibiotic use in Europe and association with resistance: a cross-national database study. *Lancet Lond Engl*. 2005 Feb 12;365(9459):579–87.
39. Bell BG, Schellevis F, Stobberingh E, Goossens H, Pringle M. A systematic review and meta-analysis of the effects of antibiotic consumption on antibiotic resistance. *BMC Infect Dis*. 2014 Jan 9;14:13.
40. Huttner B, Goossens H, Verheij T, Harbarth S, CHAMP consortium. Characteristics and outcomes of public campaigns aimed at improving the use of antibiotics in outpatients in high-income countries. *Lancet Infect Dis*. 2010 Jan;10(1):17–31.
41. ESAC. antimicrobial-consumption-ESAC-Net-summary-2015.pdf [Internet]. 2017 [cited 2017 Apr 16]. Available from: <http://ecdc.europa.eu/en/eaad/antibiotics-news/Documents/antimicrobial-consumption-ESAC-Net-summary-2015.pdf>
42. Guillemot D, Maison P, Carbon C, Balkau B, Vauzelle-Kervroëdan F, Sermet C, et al. Trends in antimicrobial drug use in the community--France, 1981-1992. *J Infect Dis*. 1998 Feb;177(2):492–7.
43. ANSM. ANSM - Bien utiliser les antibiotiques [Internet]. 2016 [cited 2016 Nov 19]. Available from: [http://ansm.sante.fr/Dossiers/Antibiotiques/Bien-utiliser-les-antibiotiques/\(offset\)/0](http://ansm.sante.fr/Dossiers/Antibiotiques/Bien-utiliser-les-antibiotiques/(offset)/0)
44. ECDC. antimicrobial-resistance-europe-2015.pdf [Internet]. 2017 [cited 2017 Apr 16]. Available from: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/antimicrobial-resistance-europe-2015.pdf>

45. WHO. Bulletin of the World Health Organization. Les antibiotiques, c'est pas automatique.pdf [Internet]. 2016 [cited 2016 Nov 19]. Available from: <http://www.who.int/bulletin/volumes/89/1/11-030111.pdf?ua=1>
46. Marshall BM, Levy SB. Food Animals and Antimicrobials: Impacts on Human Health. *Clin Microbiol Rev*. 2011 Oct;24(4):718–33.
47. Sørum H, Sunde M. Resistance to antibiotics in the normal flora of animals. *Vet Res*. 2001 May 1;32(3–4):227–41.
48. Cetinkaya Y, Falk P, Mayhall CG. Vancomycin-Resistant Enterococci. *Clin Microbiol Rev*. 2000 Oct;13(4):686–707.
49. Cattoir V, Leclercq R. Twenty-five years of shared life with vancomycin-resistant enterococci: is it time to divorce? *J Antimicrob Chemother*. 2013 Apr;68(4):731–42.
50. Smaldone G, Marrone R, Cappiello S, Martin GA, Oliva G, Cortesi ML, et al. Occurrence of antibiotic resistance in bacteria isolated from seawater organisms caught in Campania Region: preliminary study. *BMC Vet Res*. 2014 Jul 15;10:161.
51. Plan EcoAntibio 2012-2017 : lutte contre l'antibiorésistance | Alim'agri [Internet]. [cited 2017 May 6]. Available from: <http://agriculture.gouv.fr/plan-ecoantibio-2012-2017-lutte-contre-lantibioresistance>
52. HAS. Bon usage des antibiotiques_Recommandations.wbk - bon_usage_des_antibiotiques_recommandations.pdf [Internet]. 2016 [cited 2016 Nov 19]. Available from: http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/bon_usage_des_antibiotiques_recommandations.pdf
53. Malgaigne M. Statistics of Amputations performed at the Parisian Hospitals. *Prov Med J Retrospect Med Sci*. 1842 Jun 11;4(89):191–2.
54. Noskin GA, Peterson LR. Engineering infection control through facility design. *Emerg Infect Dis*. 2001 Apr;7(2):354–7.
55. Pittet D, Hugonnet S, Harbarth S, Mourouga P, Sauvan V, Touveneau S, et al. Effectiveness of a hospital-wide programme to improve compliance with hand hygiene. Infection Control Programme. *Lancet Lond Engl*. 2000 Oct 14;356(9238):1307–12.
56. WHO. WHO_IER_PSP_2009.07_Hygiène des mains.pdf [Internet]. 2017 [cited 2017 Feb 26]. Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/70469/1/WHO_IER_PSP_2009.07_fre.pdf
57. SFHH. Recommandations pour l'hygiène des mains [Internet]. 2017 [cited 2017 Feb 26]. Available from: https://sf2h.net/wp-content/uploads/2009/07/SF2H_recommandations_hygiene-des-mains-2009.pdf
58. RAISIN. Surveillance des infections du site opératoire dans les établissements de santé français / 2017 / Maladies infectieuses / Rapports et synthèses / Publications et outils / Accueil [Internet]. [cited 2017 Oct 11]. Available from: <http://invs.santepubliquefrance.fr/Publications-et-outils/Rapports-et-syntheses/Maladies-infectieuses/2017/Surveillance-des-infections-du-site-operatoire-dans-les-etablissements-de-sante-francais>

59. HCSP. Prévention de la transmission croisée des « Bactéries Hautement Résistantes aux antibiotiques émergentes » (BHRe) [Internet]. Paris: Haut Conseil de la Santé Publique; 2013 Jul [cited 2017 Apr 16]. Available from: <http://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=372>
60. INVS. Episodes impliquant des entérobactéries productrices de carbapénèmases en France. Situation épidémiologique du 4 septembre 2015. / Entérobactéries productrices de carbapénèmases (EPC) / Surveillance des infections associées aux soins (IAS) / Infections associées aux soins / Maladies infectieuses / Dossiers thématiques / Accueil [Internet]. 2017 [cited 2017 Jun 18]. Available from: <http://invs.santepubliquefrance.fr/fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Infections-associees-aux-soins/Surveillance-des-infections-associees-aux-soins-IAS/Enterobacteries-productrices-de-carbapenemases-EPC/Episodes-impliquant-des-enterobacteries-productrices-de-carbapenemases-en-France.-Situation-epidemiologique-du-4-septembre-2015>
61. INVS. Entérocoques résistants aux glycopeptides dans les établissements de santé en France : données épidémiologiques du signalement des infections nosocomiales, juillet 2001-juin 2015 - doc_num.php [Internet]. 2017 [cited 2017 Jun 18]. Available from: http://opac.invs.sante.fr/doc_num.php?explnum_id=10439
62. Harbarth S, Sudre P, Dharan S, Cadenas M, Pittet D. Outbreak of *Enterobacter cloacae* related to understaffing, overcrowding, and poor hygiene practices. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 1999 Sep;20(9):598–603.
63. Daud-Gallotti RM, Costa SF, Guimarães T, Padilha KG, Inoue EN, Vasconcelos TN, et al. Nursing workload as a risk factor for healthcare associated infections in ICU: a prospective study. *PloS One*. 2012;7(12):e52342.
64. Borg MA. Bed occupancy and overcrowding as determinant factors in the incidence of MRSA infections within general ward settings. *J Hosp Infect*. 2003 Aug;54(4):316–8.
65. Stapleton PJM, Murphy M, McCallion N, Brennan M, Cunney R, Drew RJ. Outbreaks of extended spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in neonatal intensive care units: a systematic review. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2016 Jan;101(1):F72-78.
66. Abad CL, Pulia MS, Safdar N. Does the nose know? An update on MRSA decolonization strategies. *Curr Infect Dis Rep*. 2013 Dec;15(6):455–64.
67. George S, Leasure AR, Horstmanshof D. Effectiveness of Decolonization With Chlorhexidine and Mupirocin in Reducing Surgical Site Infections: A Systematic Review. *Dimens Crit Care Nurs DCCN*. 2016 Aug;35(4):204–22.
68. Vergnano S. Decolonization and decontamination: what's their role in infection control? *Curr Opin Infect Dis*. 2015 Jun;28(3):207–14.
69. Hetem DJ, Bootsma MCJ, Bonten MJM. Prevention of Surgical Site Infections: Decontamination With Mupirocin Based on Preoperative Screening for *Staphylococcus aureus* Carriers or Universal Decontamination? *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2016 Mar 1;62(5):631–6.
70. Vandenbroucke-Grauls C. Epidemiology of staphylococcal infections--a European perspective. *J Chemother Florence Italy*. 1994 Apr;6 Suppl 2:67–70.

71. Voss A, Milatovic D, Wallrauch-Schwarz C, Rosdahl VT, Braveny I. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol*. 1994 Jan;13(1):50–5.
72. Monnet DL. Toward multinational antimicrobial resistance surveillance systems in Europe. *Int J Antimicrob Agents*. 2000 Jul;15(2):91–101.
73. Tiemersma EW, Bronzwaer SLAM, Lyytikäinen O, Degener JE, Schrijnemakers P, Bruinsma N, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe, 1999–2002. *Emerg Infect Dis*. 2004 Sep;10(9):1627–34.
74. Vos MC, Ott A, Verbrugh HA. Successful search-and-destroy policy for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in The Netherlands. *J Clin Microbiol*. 2005 Apr;43(4):2034; author reply 2034–2035.
75. Souverein D, Houtman P, Euser SM, Herpers BL, Kluytmans J, Den Boer JW. Costs and Benefits Associated with the MRSA Search and Destroy Policy in a Hospital in the Region Kennemerland, The Netherlands. *PloS One*. 2016;11(2):e0148175.
76. Nulens E, Broex E, Ament A, Deurenberg RH, Smeets E, Scheres J, et al. Cost of the methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* search and destroy policy in a Dutch university hospital. *J Hosp Infect*. 2008 Apr;68(4):301–7.
77. Holzknecht BJ, Hardardottir H, Haraldsson G, Westh H, Valsdottir F, Boye K, et al. Changing epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Iceland from 2000 to 2008: a challenge to current guidelines. *J Clin Microbiol*. 2010 Nov;48(11):4221–7.
78. Bartels MD, Kristoffersen K, Boye K, Westh H. Rise and subsequent decline of community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* ST30-IVc in Copenhagen, Denmark through an effective search and destroy policy. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. 2010 Jan;16(1):78–83.
79. Björholt I, Haglind E. Cost-savings achieved by eradication of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (EMRSA)-16 from a large teaching hospital. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol*. 2004 Sep;23(9):688–95.
80. Brun-Buisson C, Legrand P, Rauss A, Richard C, Montravers F, Besbes M, et al. Intestinal decontamination for control of nosocomial multiresistant gram-negative bacilli. Study of an outbreak in an intensive care unit. *Ann Intern Med*. 1989 Jun 1;110(11):873–81.
81. de Champs CL, Guelon DP, Garnier RM, Poupart MC, Mansoor OY, Dissait FL, et al. Selective digestive decontamination by erythromycin-base in a polyvalent intensive care unit. *Intensive Care Med*. 1993;19(4):191–6.
82. Gastinne H, Wolff M, Delatour F, Faurisson F, Chevret S. A controlled trial in intensive care units of selective decontamination of the digestive tract with nonabsorbable antibiotics. The French Study Group on Selective Decontamination of the Digestive Tract. *N Engl J Med*. 1992 Feb 27;326(9):594–9.
83. Textoris J, Leone M, Boyle WA, Martin C. [Selective digestive decontamination: the light as changed from red to green]. *Ann Fr Anesth Reanim*. 2005 Apr;24(4):366–76.

84. Camus C, Sauvadet E, Tavenard A, Piau C, Uhel F, Bouju P, et al. Decline of multidrug-resistant Gram negative infections with the routine use of a multiple decontamination regimen in ICU. *J Infect*. 2016 Sep;73(3):200–9.
85. REMIC. REMIC2015 [Internet]. 2017 [cited 2017 Apr 16]. Available from: http://www.sfm-microbiologie.org/UserFiles/files/REFERENTIELS/Sommaire_REMIC2015.pdf
86. CASFM. CASFMV1_0_MARS_2017.pdf [Internet]. 2017 [cited 2017 Apr 16]. Available from: http://www.sfm-microbiologie.org/UserFiles/files/casfm/CASFMV1_0_MARS_2017.pdf
87. SPILF. Meningites_consensus-long.pdf [Internet]. 2016 [cited 2016 Nov 19]. Available from: http://www.infectiologie.com/UserFiles/File/medias/_documents/consensus/Meningites_consensus-long.pdf
88. SPILF 2014 - 2014-infections_urinaires-court.pdf [Internet]. [cited 2016 Nov 15]. Available from: http://www.infectiologie.com/UserFiles/File/medias/Recos/2014-infections_urinaires-court.pdf
89. Clark AE, Kaleta EJ, Arora A, Wolk DM. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry: a fundamental shift in the routine practice of clinical microbiology. *Clin Microbiol Rev*. 2013 Jul;26(3):547–603.
90. Sparbier K, Schubert S, Weller U, Boogen C, Kostrzewa M. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry-based functional assay for rapid detection of resistance against β -lactam antibiotics. *J Clin Microbiol*. 2012 Mar;50(3):927–37.
91. EUCAST. EUCAST 2017 [Internet]. [cited 2017 Oct 10]. Available from: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_7.1_Breakpoint_Tables.pdf
92. CLSI. CLSI Publishes Revised AST Breakpoints Document [Internet]. [cited 2017 Oct 10]. Available from: <https://clsi.org/press-releases/clsi-publishes-revised-ast-breakpoints-document/>
93. Magiorakos A-P, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. 2012 Mar;18(3):268–81.
94. Ott E, Bange F-C, Reichardt C, Graf K, Eckstein M, Schwab F, et al. Costs of nosocomial pneumonia caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Hosp Infect*. 2010 Dec;76(4):300–3.
95. Filice GA, Nyman JA, Lexau C, Lees CH, Bockstedt LA, Como-Sabetti K, et al. Excess costs and utilization associated with methicillin resistance for patients with *Staphylococcus aureus* infection. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2010 Apr;31(4):365–73.
96. Lee SY, Kotapati S, Kuti JL, Nightingale CH, Nicolau DP. Impact of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species on clinical outcomes

- and hospital costs: a matched cohort study. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2006 Nov;27(11):1226–32.
97. Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L, Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Management of multidrug-resistant organisms in health care settings, 2006. *Am J Infect Control*. 2007 Dec;35(10 Suppl 2):S165-193.
 98. INVS. Morbidité et mortalité des infections à bactéries multi-résistantes aux antibiotiques en France en 2012 / 2015 / Maladies infectieuses / Rapports et synthèses / Publications et outils / Accueil [Internet]. 2017 [cited 2017 Jun 18]. Available from: <http://invs.santepubliquefrance.fr/fr/Publications-et-outils/Rapports-et-syntheses/Maladies-infectieuses/2015/Morbidite-et-mortalite-des-infections-a-bacteries-multi-resistantes-aux-antibiotiques-en-France-en-2012>
 99. Gardete S, Tomasz A. Mechanisms of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest*. 2014 Jul;124(7):2836–40.
 100. Xu Z, Hou Y, Peters BM, Chen D, Li B, Li L, et al. Chromogenic media for MRSA diagnostics. *Mol Biol Rep*. 2016 Nov;43(11):1205–12.
 101. Simner PJ, Gilmour MW, DeGagne P, Nichol K, Karlowsky JA. Evaluation of five chromogenic agar media and the Rosco Rapid Carb screen kit for detection and confirmation of carbapenemase production in Gram-negative bacilli. *J Clin Microbiol*. 2015 Jan;53(1):105–12.
 102. Bernabeu S, Dortet L, Naas T. Evaluation of the β -CARBATM test, a colorimetric test for the rapid detection of carbapenemase activity in Gram-negative bacilli. *J Antimicrob Chemother*. 2017 Mar 10;
 103. Sun K, Xu X, Yan J, Zhang L. Evaluation of Six Phenotypic Methods for the Detection of Carbapenemases in Gram-Negative Bacteria With Characterized Resistance Mechanisms. *Ann Lab Med*. 2017 Jul;37(4):305–12.
 104. Tato M, Ruiz-Garbajosa P, Traczewski M, Dodgson A, McEwan A, Humphries R, et al. Multisite Evaluation of Cepheid Xpert Carba-R Assay for Detection of Carbapenemase-Producing Organisms in Rectal Swabs. *J Clin Microbiol*. 2016 Jul;54(7):1814–9.
 105. Otto M. MRSA virulence and spread. *Cell Microbiol*. 2012 Oct;14(10):1513–21.
 106. Shore AC, Coleman DC. Staphylococcal cassette chromosome mec: recent advances and new insights. *Int J Med Microbiol IJMM*. 2013 Aug;303(6–7):350–9.
 107. Hiramatsu K, Cui L, Kuroda M, Ito T. The emergence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol*. 2001 Oct;9(10):486–93.
 108. Moellering RC. MRSA: the first half century. *J Antimicrob Chemother*. 2012 Jan;67(1):4–11.
 109. Fernandez R, Paz LI, Rosato RR, Rosato AE. Ceftaroline is active against heteroresistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strains despite associated mutational mechanisms and intermediate levels of resistance. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014 Oct;58(10):5736–46.

110. Andrey DO, François P, Manzano C, Bonetti EJ, Harbarth S, Schrenzel J, et al. Antimicrobial activity of ceftaroline against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates collected in 2013-2014 at the Geneva University Hospitals. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol*. 2017 Feb;36(2):343–50.
111. Lelièvre H, Lina G, Jones ME, Olive C, Forey F, Roussel-Delvallez M, et al. Emergence and spread in French hospitals of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with increasing susceptibility to gentamicin and other antibiotics. *J Clin Microbiol*. 1999 Nov;37(11):3452–7.
112. Dauwalder O, Lina G, Durand G, Bes M, Meugnier H, Jarlier V, et al. Epidemiology of invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones collected in France in 2006 and 2007. *J Clin Microbiol*. 2008 Oct;46(10):3454–8.
113. Lindsay JA. Hospital-associated MRSA and antibiotic resistance-what have we learned from genomics? *Int J Med Microbiol IJMM*. 2013 Aug;303(6–7):318–23.
114. McGuinness WA, Malachowa N, DeLeo FR. Vancomycin Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Yale J Biol Med*. 2017 Jun;90(2):269–81.
115. Guzman Prieto AM, van Schaik W, Rogers MRC, Coque TM, Baquero F, Corander J, et al. Global Emergence and Dissemination of Enterococci as Nosocomial Pathogens: Attack of the Clones? *Front Microbiol*. 2016;7:788.
116. Enquête nationale de prévalence (hopital) des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, France, mai-juin 2012 / 2013 / Maladies infectieuses / Rapports et synthèses / Publications et outils / Accueil [Internet]. [cited 2017 Dec 4]. Available from: <http://invs.santepubliquefrance.fr/Publications-et-outils/Rapports-et-syntheses/Maladies-infectieuses/2013/Enquete-nationale-de-prevalence-des-infections-nosocomiales-et-des-traitements-anti-infectieux-en-etablissements-de-sante-France-mai-juin-2012>
117. Enquête nationale de prévalence (HAD) des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements d'hospitalisation à domicile (HAD), France, mai-juin 2012 / 2015 / Maladies infectieuses / Rapports et synthèses / Publications et outils / Accueil [Internet]. [cited 2017 Dec 4]. Available from: <http://invs.santepubliquefrance.fr/Publications-et-outils/Rapports-et-syntheses/Maladies-infectieuses/2015/Enquete-nationale-de-prevalence-des-infections-nosocomiales-et-des-traitements-anti-infectieux-en-etablissements-d-hospitalisation-a-domicile-HAD-France-mai-juin-2012>
118. Pitout JDD, Laupland KB. Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. *Lancet Infect Dis*. 2008 Mar;8(3):159–66.
119. Mathers AJ, Peirano G, Pitout JDD. The role of epidemic resistance plasmids and international high-risk clones in the spread of multidrug-resistant Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Rev*. 2015 Jul;28(3):565–91.
120. Calbo E, Garau J. The changing epidemiology of hospital outbreaks due to ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae*: the CTX-M-15 type consolidation. *Future Microbiol*. 2015;10(6):1063–75.

121. D'Andrea MM, Arena F, Pallecchi L, Rossolini GM. CTX-M-type β -lactamases: a successful story of antibiotic resistance. *Int J Med Microbiol IJMM*. 2013 Aug;303(6–7):305–17.
122. Coque TM, Baquero F, Canton R. Increasing prevalence of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Euro Surveill Bull Eur Sur Mal Transm Eur Commun Dis Bull*. 2008 Nov 20;13(47).
123. Nicolas-Chanoine M-H, Jarlier V, Robert J, Arlet G, Drieux L, Leflon-Guibout V, et al. Patient's origin and lifestyle associated with CTX-M-producing *Escherichia coli*: a case-control-control study. *PloS One*. 2012;7(1):e30498.
124. Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, Domenech-Sanchez A, Biddle JW, Steward CD, et al. Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001 Apr;45(4):1151–61.
125. Scanvic A, Denic L, Gaillon S, Giry P, Andreumont A, Lucet JC. Duration of colonization by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* after hospital discharge and risk factors for prolonged carriage. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2001 May 15;32(10):1393–8.
126. Mammeri H, Guillon H, Eb F, Nordmann P. Phenotypic and biochemical comparison of the carbapenem-hydrolyzing activities of five plasmid-borne AmpC β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010 Nov;54(11):4556–60.
127. Muller A, Lopez-Lozano JM, Bertrand X, Talon D. Relationship between ceftriaxone use and resistance to third-generation cephalosporins among clinical strains of *Enterobacter cloacae*. *J Antimicrob Chemother*. 2004 Jul;54(1):173–7.
128. Ballesterio-Téllez M, Docobo-Pérez F, Rodríguez-Martínez JM, Conejo MC, Ramos-Guelfo MS, Blázquez J, et al. Role of inoculum and mutant frequency on fosfomycin MIC discrepancies by agar dilution and broth microdilution methods in Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. 2017 May;23(5):325–31.
129. Rogers C, Sharma A, Rimland D, Stafford C, Jernigan J, Satola S, et al. Duration of colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an acute care facility: a study to assess epidemiologic features. *Am J Infect Control*. 2014 Mar;42(3):249–53.
130. Enright MC, Robinson DA, Randle G, Feil EJ, Grundmann H, Spratt BG. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 May 28;99(11):7687–92.
131. Woerther P-L, Burdet C, Chachaty E, Andreumont A. Trends in human fecal carriage of extended-spectrum β -lactamases in the community: toward the globalization of CTX-M. *Clin Microbiol Rev*. 2013 Oct;26(4):744–58.
132. Nicolas-Chanoine M-H, Jarlier V, Robert J, Arlet G, Drieux L, Leflon-Guibout V, et al. Patient's origin and lifestyle associated with CTX-M-producing *Escherichia coli*: a case-control-control study. *PloS One*. 2012;7(1):e30498.

133. Zahar J-R, Poirel L, Dupont C, Fortineau N, Nassif X, Nordmann P. About the usefulness of contact precautions for carriers of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. *BMC Infect Dis*. 2015 Nov 12;15:512.
134. Goddard S, Muller MP. The efficacy of infection control interventions in reducing the incidence of extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in the nonoutbreak setting: A systematic review. *Am J Infect Control*. 2011 Sep;39(7):599–601.
135. Grice EA, Kong HH, Renaud G, Young AC, NISC Comparative Sequencing Program, Bouffard GG, et al. A diversity profile of the human skin microbiota. *Genome Res*. 2008 Jul;18(7):1043–50.
136. Albiger B, Glasner C, Struelens MJ, Grundmann H, Monnet DL, European Survey of Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* (EuSCAPE) working group. Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in Europe: assessment by national experts from 38 countries, May 2015. *Euro Surveill Bull Eur Sur Mal Transm Eur Commun Dis Bull*. 2015;20(45).
137. Poirel L, Fernández J, Nordmann P. Comparison of Three Biochemical Tests for Rapid Detection of Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae*. *J Clin Microbiol*. 2016 Feb;54(2):423–7.
138. Souverein D, Euser SM, van der Reijden WA, Herpers BL, Kluytmans J, Rossen JWA, et al. Clinical sensitivity and specificity of the Check-Points Check-Direct ESBL Screen for BD MAX, a real-time PCR for direct ESBL detection from rectal swabs. *J Antimicrob Chemother*. 2017 Sep 1;72(9):2512–8.
139. Nakamura A, Komatsu M, Kondo A, Ohno Y, Kohno H, Nakamura F, et al. Rapid detection of B2-ST131 clonal group of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* by matrix-assisted laser desorption ionization-time-of-flight mass spectrometry: discovery of a peculiar amino acid substitution in B2-ST131 clonal group. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2015 Nov;83(3):237–44.
140. Lau AF, Wang H, Weingarten RA, Drake SK, Suffredini AF, Garfield MK, et al. A rapid matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry-based method for single-plasmid tracking in an outbreak of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. *J Clin Microbiol*. 2014 Aug;52(8):2804–12.
141. Shaw AG, Vento TJ, Mende K, Kreft RE, Ehrlich GD, Wenke JC, et al. Detection of methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* colonization of healthy military personnel by traditional culture, PCR, and mass spectrometry. *Scand J Infect Dis*. 2013 Oct;45(10):752–9.
142. Dawson SE, Gibreel T, Nicolaou N, AlRabiah H, Xu Y, Goodacre R, et al. Implementation of Fourier transform infrared spectroscopy for the rapid typing of uropathogenic *Escherichia coli*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol*. 2014 Jun;33(6):983–8.
143. McNulty CAM, Lasseter GM, Charlett A, Lovering A, Howell-Jones R, Macgowan A, et al. Does laboratory antibiotic susceptibility reporting influence primary care prescribing in urinary tract infection and other infections? *J Antimicrob Chemother*. 2011 Jun;66(6):1396–404.

10 ETUDES PERSONNELLES PUBLIEES ET PRESENTEES

1. Kac G, Grohs P, Durieux P, Trinquart L, Gueneret M, Rodi A, Boiron P, Guillemain R, Leglise J, Meyer G. 2007. Impact of electronic alerts on isolation precautions for patients with multidrug-resistant bacteria. *Arch Intern Med.* 167:2086-2090.
2. Grohs P, Pineau B, Kac G, Gutmann L, Meyer G. 2013. Readmission of known MRSA carriers and MRSA colonization pressure in hospital. *Epidemiol Infect.* 141:1181-1186.
3. Grohs P, Podglajen I, Guerot E, Bellenfant F, Caumont-Prim A, Kac G, Tillecovidin B, Carbonnelle E, Chatellier G, Meyer G, Fagon JY, Gutmann L. 2014. Assessment of five screening strategies for optimal detection of carriers of third-generation cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae in intensive care units using daily sampling. *Clin Microbiol Infect.* 20:879-886.
4. Grohs P, Kernéis S, Sabatier B, Lavollay M, Carbonnelle E, Rostane H, Souty C, Meyer G, Gutmann L, Mainardi JL. 2014. Fighting the spread of AmpC-hyperproducing Enterobacteriaceae: beneficial effect of replacing ceftriaxone with cefotaxime. *J Antimicrob Chemother.* 69:786-789.
5. Grohs P, Tillecovidin B, Caumont-Prim A, Carbonnelle E, Day N, Podglajen I, Gutmann L. 2013. Comparison of five media for detection of extended-spectrum Beta-lactamase by use of the wasp instrument for automated specimen processing. *J Clin Microbiol.* 51:2713-2716

11 ANNEXES : ETUDES PERSONNELLES CITEES NON INTEGREES DANS LE CORPUS DE LA THESE

1. Grohs P, Kac G. 2005. Selection of relevant duplicate criteria in the monitoring of *Staphylococcus aureus* methicillin resistance trends. *Pathol Biol (Paris)*. 53:476-480.
2. Grohs P, Kac G. 2007. Influence of surveillance period length on the incidence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Med Mal Infect*. 37:297-298.
3. Grohs P, Kac G, Frazier I, Castano A, Meyer G, Podglajen I. 2008. L'hôpital participe-t-il à la diffusion des souches de *E. coli* BLSE ? Poster n° 4420, Congrès de la RICAI, Paris.
4. Grohs P. 2009. Trends in *Staphylococcus aureus* antimicrobials susceptibilities: is methicillin still a relevant multiresistance marker? *Pathol Biol (Paris)*. 57:1-8.



Sélection de critères de doublons pertinents pour le suivi du taux de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline

Selection of relevant duplicate criteria in the monitoring of *Staphylococcus aureus* methicillin resistance trends

P. Grohs ^{a,*}, G. Kac ^b

^a Service de microbiologie, hôpital européen Georges-Pompidou, 20–40, rue Leblanc, 75908 Paris cedex 15, France

^b Service d'hygiène hospitalière, hôpital européen Georges-Pompidou, 20–40, rue Leblanc, 75908 Paris cedex 15, France

Reçu le 1 juillet 2005 ; accepté le 7 juillet 2005

Disponible sur internet le 09 août 2005

Résumé

Objectif. – La surveillance du taux de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) est un problème crucial à l'hôpital, mais la variabilité de son résultat est liée au mode d'exclusion des isolats redondants ou doublons. Le but de cette étude était d'évaluer l'impact de différentes méthodes d'élimination des doublons sur la détermination du taux de SARM.

Matériel et méthodes. – Les taux de résistance de *S. aureus* à la méticilline d'un hôpital universitaire ont été calculés sur une période de quatre ans par un logiciel dédié. Un doublon de référence a été défini remplissant les critères suivants : moins d'une différence majeure et trois différences mineures ainsi qu'un délai inférieur à 30 jours entre deux isolats, étaient requis pour considérer le deuxième isolat comme doublon du premier. Des variations concernant les critères phénotypiques et de temps ont été étudiées et comparées au doublon de référence. La méthode du rang de germe NCCLS fondée sur les résultats du premier isolat par patient par période d'étude et celle phénotypique préconisée par l'ONERBA, ont également été étudiées.

Résultats. – En utilisant le doublon de référence, le taux de SARM était de 31,1 %. Quand les doublons n'étaient pas éliminés, le taux de SARM a augmenté de manière significative à 34,0 % ($p = 0,002$). En suivant les recommandations du NCCLS, le taux de SARM a significativement diminué à 27,6 % ($p = 0,002$), tandis qu'il augmentait significativement à 33,8 % ($p = 0,01$) en suivant celles de l'ONERBA. Quand aucune différence n'était tolérée dans le profil antibiotique ou quand la période de temps était raccourcie à cinq jours entre deux isolats, le taux de SARM a augmenté de manière significative à 34,3 et 34,2 % respectivement ($p = 0,003$ pour chacun).

Conclusion. – Ces résultats montrent que les critères utilisés pour éliminer les doublons doivent être soigneusement choisis puisqu'ils influent sur le résultat du taux de SARM.

© 2005 Elsevier SAS. Tous droits réservés.

Abstract

Objective. – Monitoring methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) rates is crucial in hospital settings, but its calculation is hampered by variations according to duplicate isolates. The aim of this study was to assess the impact of applying different methods for duplicate isolate removal on the MRSA rates.

Materials and methods. – Trends in *S. aureus* resistance were analysed from isolates collected in a teaching hospital during a 4-year period by using a specifically designed software. Reference duplicate (RD) criteria were defined as one major and three minor differences in antibiotic patterns and a 30-day time period between two isolates. Variations in antibiotic patterns and time period were studied and compared to RD. NCCLS recommendations based upon results from the first isolate of a species per patient per study period, and the ONERBA recommendations based on phenotypic method, were also studied.

Results. – MRSA rate was 31.1% when using RD. When duplicates were not eliminated, the MRSA rate significantly increased to 34.0% ($P = 0.002$). When using NCCLS and ONERBA recommendations, the MRSA rate significantly decreased to 27.6% ($P = 0.002$) and signi-

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : Patrick.GROHS@hop.egp.ap-hop-paris.fr (P. Grohs).

ficantly increased to 33.8% ($P = 0.002$) respectively. When no difference was tolerated in antibiotic pattern or when the time period was set at five days, the MRSA rate significantly increased to 34.3 and 34.2%, respectively ($p = 0.003$ for each).

Conclusions. – These results suggest that criteria used to remove duplicates should be carefully selected to assess accurate MRSA trends. © 2005 Elsevier SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline ; Surveillance ; Doublons

Keywords: Méthicilline-resistant-*Staphylococcus aureus*; Monitoring; Duplicates

1. Introduction

Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline (SARM) est un germe endémique dans la plupart des pays depuis de nombreuses années. Dans les hôpitaux français, la proportion d'isolats de SARM au sein de l'espèce *S. aureus*, est généralement supérieure à 30 % [1]. Ce taux est préoccupant, puisqu'en plus de la méthicilline, d'autres marqueurs de résistance sont généralement associés chez SARM, offrant des solutions thérapeutiques limitées. Ce taux est variable à la fois d'un pays à l'autre, et entre les différents hôpitaux d'un même pays. Dans l'étude européenne SENTINELLE, le taux de SARM représentait 25 % de tous les isolats de *S. aureus*, avec des valeurs extrêmes allant de 2 à 58 % selon les pays [2].

La surveillance locale de la résistance aux antibiotiques est nécessaire dans les hôpitaux pour détecter des variations dans la sensibilité des germes, et évaluer de ce fait la politique de prescription des anti-infectieux. Pour obtenir des taux de résistance précis, les microbiologistes et les épidémiologistes se heurtent rapidement au problème des isolats redondants également appelés doublons. Il a été démontré que les taux de résistance des microorganismes pathogènes nosocomiaux pouvaient changer sensiblement, selon que les isolats répétitifs étaient ou non exclus des calculs [3–5]. Le doublon est généralement défini comme un isolat de la même espèce isolé chez un même patient pendant la période d'étude. Cependant, cette définition facile à utiliser ne tient pas compte de paramètres importants comme les différences dans le profil antibiotique ou la période de temps entre deux isolats, paramètres qui peuvent aujourd'hui être étudiés grâce aux systèmes informatisés maintenant disponibles [6–8].

Il n'existe aucun consensus international sur la méthode d'élimination des doublons. Le comité national américain qui établit les normes cliniques et de laboratoire (NCCLS) a proposé une méthode dite du rang de germe, où le calcul des taux de résistance ne prend en compte que le premier isolat de chaque espèce isolée pour un même patient par période d'étude, indépendamment du profil antibiotique [9,10]. De son côté, l'observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques (ONERBA) préconise une comparaison phénotypique pour éliminer les isolats de la même espèce chez un même patient sans tenir compte du délai entre deux isolats. D'autres méthodes se fondant sur des critères de temps ont également été décrites [6,7]. Enfin, depuis l'ouverture de l'HEGP, nous utilisons une méthode interne

d'élimination des doublons alliant critères phénotypiques et critères de temps.

Le but de cette étude a donc été d'évaluer l'impact sur le calcul du taux de SARM des différentes méthodes d'élimination des doublons.

2. Matériels et méthodes

L'étude a eu lieu à l'hôpital européen Georges-Pompidou (HEGP, Assistance publique–hôpitaux de Paris), hôpital universitaire de 750 lits qui a ouvert en juin 2000, sur une période de quatre ans (1^{er} juillet 2000 au 30 juin 2004). Durant cette période, tous les *S. aureus* isolés par le laboratoire de microbiologie ont été inclus dans l'étude.

2.1. Antibiogrammes

Les antibiogrammes de *S. aureus* ont été réalisés par la méthode de diffusion sur gélose de Mueller-Hinton (BioMérieux, Marcy l'Étoile, France) selon les recommandations préconisées par le Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CASFM) [11]. Les 21 antibiotiques testés étaient : pénicilline G, oxacilline, céfoxitine, kanamycine, tobramycine, gentamycine, streptomycine, érythromycine, lincomycine, pristnamycine, rifampicine, tétracycline, minocycline, péfloxacin, acide fusidique, chloramphénicol, triméthoprim, fosfomycine, sulfamides, teicoplanine et vancomycine. Cette batterie d'antibiotiques est systématiquement testée sur tous les *S. aureus* isolés dans notre laboratoire. Puisque l'ensemble de ces marqueurs n'est pas obligatoirement recherché par tous les laboratoires, nous avons également analysé les résultats en utilisant un sous-ensemble de 11 antibiotiques considérés comme agents antistaphylococciques primaires : pénicilline G, oxacilline, céfoxitine, gentamycine, érythromycine, lincomycine, rifampicine, tétracycline, péfloxacin, sulfamide et vancomycine.

Toutes les boîtes de Mueller-Hinton ont été lues sur le Sirscan 2000 (I2 A, Montpellier, France), un analyseur d'image automatisé, qui associe une lecture optique des antibiogrammes, un système expert d'interprétation des résultats, et une base de données [12]. Pour chaque antibiotique testé, les souches ont été classées comme sensibles, intermédiaires ou résistantes selon des valeurs définies par le CASFM [11]. Ainsi, pour chaque souche, la base de données contient les résultats bruts après mesure des diamètres de zone d'inhibition, et les

Tableau 1

Comparaison des taux de SARM obtenus avec différentes méthodes d'élimination des doublons

	Nombre d'isolats de <i>S. aureus</i>	Nombre de SARM	% de SARM	<i>p</i>
Méthode HEGP (doublon de référence exclu)	3663	1139	31,1	/
Tous les isolats (doublons non exclus)	8340	2835	34,0	0,002
Méthode NCCLS (seul le 1 ^{er} isolat est compté)	3107	856	27,6	0,002
Méthode ONERBA (pas de différence majeure entre deux isolats)	3794	1285	33,8	0,01

résultats interprétés donnés par le système expert. Toute souche dont le résultat brut a été trouvé résistant à l'oxacilline et/ou intermédiaire ou résistant à la céfoxitine, a été interprétée résistante à l'oxacilline. Dans la base de données, les souches de *S. aureus* interprétées comme résistantes à l'oxacilline ont été étiquetées informatiquement SARM.

2.2. Définition des méthodes de dédoublement

Tout patient est identifié dans la base de données par son nom, prénom, date de naissance et numéro permanent.

2.2.1. Méthode du rang de germe (NCCLS)

Seule la première souche de *S. aureus* isolée pour chaque patient pour une année d'étude a été incluse dans le calcul du taux de SARM, que celle-ci soit sensible ou non à la méticilline. Toutes les autres souches de *S. aureus* ont été considérées comme des doublons.

2.2.2. Méthodes phénotypiques

Toutes les méthodes phénotypiques sont fondées sur la comparaison des antibiogrammes, et sur la quantification de différences majeures et mineures entre le premier isolat de *S. aureus* et le deuxième, candidat potentiel à l'appellation de doublon. Une différence majeure concerne un antibiotique dont le premier résultat est sensible tandis que le second est résistant (et réciproquement). Une différence mineure concerne un antibiotique dont le résultat change, de sensible à intermédiaire (et réciproquement) ou d'intermédiaire à résistant (et réciproquement).

∞ONERBA : deux isolats de *S. aureus* provenant d'un même patient sont considérés comme identiques s'ils ne présentent pas de différence majeure dans leurs profils antibiotiques respectifs.

∞HEGP : deux isolats de *S. aureus* provenant d'un même patient sont considérés comme identiques s'ils ne présentent pas plus d'une différence majeure et trois différences mineures dans leurs profils antibiotiques respectifs. De plus, moins d'un mois doit séparer les deux isolats pour considérer le deuxième comme doublon du premier. Ce doublon de référence intègre donc deux critères : C1, critère phénotypique et C2, critère de temps.

∞Ces deux critères ont été soumis à variation : Le taux de SARM a d'abord été calculé avec C1 ne tolérant aucune différence majeure mais tolérant deux différences mineures, puis aucune différence majeure et aucune différence mineure. Puis, le taux de SARM a été calculé en faisant varier C2 à cinq jours et à six mois. Ces variations ont été

étudiées sur la base d'une comparaison de 21 antibiotiques dans un premier temps, puis de 11 antibiotiques.

2.5. Analyse statistique

Le test du χ^2 ou test exact de Fisher, a été utilisé pour comparer les taux de SARM obtenus par les différentes méthodes de dédoublement. Un résultat inférieur à 0,05 conférerait une différence significative entre les valeurs de deux taux.

3. Résultats

Durant les quatre années d'étude, 8340 isolats de *S. aureus* ont été isolés chez 2892 patients. Cent quarante-sept patients soit 5,1 % ont été colonisés ou infectés à la fois par un SARM et par un *S. aureus* sensible à la méticilline (SASM). Quand les doublons définis selon le mode « doublon de référence » étaient exclus des calculs, le taux de SARM était de 31,1 %. Quand les doublons n'étaient pas éliminés, le taux de SARM augmentait de manière significative de 31,1 à 34,0 % ($p = 0,002$). En utilisant la méthode NCCLS, le taux de SARM diminuait significativement de 31,1 à 27,6 % ($p = 0,002$). Enfin, ce taux augmentait significativement de 31,1 à 33,8 % ($p = 0,01$) quand la méthode ONERBA était appliquée (Tableau 1).

Quand 21 antibiotiques étaient pris en compte pour comparer les phénotypes des isolats d'un même patient, et qu'on abaissait le seuil de tolérance de similitude phénotypique entre deux isolats à zéro différence majeure et deux différences mineures, le taux de SARM a légèrement mais non significativement augmenté de 31,1 à 32,5 %. En revanche, quand aucune différence n'a été tolérée, le taux de SARM a significativement augmenté de 31,1 à 34,3 % ($p = 0,003$). Quand le délai accepté entre deux isolats a été augmenté de 30 jours à six mois, le taux de SARM a légèrement diminué de manière non significative de 31,1 à 30,1 %. A contrario, quand ce délai a été ramené à cinq jours, le taux de SARM a significativement augmenté de 31,1 à 34,2 % ($p = 0,003$).

Quand 11 antibiotiques étaient pris en compte pour comparer les phénotypes des isolats d'un même patient, le taux de SARM obtenu en éliminant ce doublon de référence bis était de 28,9 %. Quand le seuil de tolérance de similitude phénotypique entre deux isolats était abaissé à zéro différence majeure et deux différences mineures, le taux de SARM était identique (28,9 contre 29,0 %). Il augmentait légèrement mais non significativement quand aucune tolérance

Tableau 2

Comparaison des taux de SARM obtenus en fonction de la variation des critères phénotypiques (C1) et de temps (C2)

Variation des critères C1 et C2		Nombre d'isolats de <i>S. aureus</i>	Nombre de SARM	% de SARM	<i>p</i>
Doublon de référence fondé sur 21 antibiotiques		3663	1139	31,1	/
C1 :	0 différence majeure–2 différences mineures	3847	1249	32,5	0,2
	0 différence majeure–0 différence mineure	4085	1399	34,3	0,003
C2 :	Six mois entre deux isolats	3370	1014	30,1	0,37
	Cinq jours entre deux isolats	4214	1443	34,2	0,003
Doublon de référence fondé sur 11 antibiotiques		3393	982	28,9	/
C1 :	0 différence majeure–2 différences mineures	3405	987	29,0	0,99
	0 différence majeure–0 différence mineure	3562	1097	30,8	0,096
C2 :	Six mois entre deux isolats	3161	903	28,6	0,76
	Cinq jours entre deux isolats	4161	1415	34,0	< 0,001

n'était acceptée (28,9 contre 30,8 %). Quand le délai entre deux isolats passait de 30 jours à six mois, le taux de SARM était pratiquement inchangé (28,9 contre 28,6 %). Enfin, quand ce délai était abaissé à cinq jours, le taux de SARM augmentait significativement de 28,9 à 34,0 % ($p < 0,001$) (Tableau 2).

4. Discussion

Des variations importantes du taux de MRSA ont été observées selon la méthode utilisée pour éliminer les doublons. Le taux de SARM obtenu en conservant toutes les souches, et celui trouvé en utilisant les méthodes HEGP et NCCLS de dédoublement, étaient significativement différents. Ces données sont conformes avec celles d'études précédentes effectuées sur plusieurs microorganismes différents, et confirment que les doublons doivent être exclus, afin d'évaluer au sein de l'hôpital l'évolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques [3–5,8].

Quand le nombre de différences tolérées dans la comparaison des antibiogrammes était abaissé, nous avons observé une augmentation du taux de SARM. Cela est probablement le reflet de deux mécanismes indépendants et complémentaires ; en premier lieu, ce peut être la marque d'une variabilité de l'expression phénotypique d'une même souche isolée de prélèvements différents. Par exemple, pour des antibiotiques comme la fosfomycine dont il n'existe pas de zone intermédiaire et dont le statut (sensible ou résistant) peut être lu différemment suivant les isolements. Cela peut également provenir de mutations ponctuelles issues de traitement pouvant se produire chez la même souche, et diminuant de ce fait sa sensibilité. Enfin, certains artefacts techniques comme l'effet inoculum peuvent induire une légère variabilité de résultat. C'est pourquoi une tolérance d'une différence majeure et de trois différences mineures a été considérée comme un critère pertinent pour la définition de notre doublon de référence.

À l'inverse, quand on augmente la tolérance sur les différences phénotypiques, on diminue le taux de SARM. Dans la méthode du rang de germe NCCLS, les différences phénotypiques n'ont plus de valeur ; la comparaison n'est plus phénotypique puisque seule la première souche de *S. aureus* est

retenue dans l'étude, quel que soit le phénotype des isolats suivants. Le taux de SARM s'en trouve fortement réduit par rapport aux méthodes phénotypiques ONERBA ou HEGP.

Si on diminue le nombre d'antibiotiques testés, on diminue également l'importance des différences majeures et mineures et les taux de SARM ne sont plus significativement différents en fonction des critères phénotypiques puisque ces critères sont moins discriminants.

Le raccourcissement du délai entre deux isolats chez le même patient, de 30 à cinq jours (durée moyenne du séjour dans notre établissement) entraîne une augmentation significative du taux de SARM. Ce phénomène peut être lié à la multiplicité des prélèvements à SARM chez les patients hospitalisés pour des longues périodes [13]. Ces résultats sont cohérents avec ceux de deux études européennes récentes sur l'influence des critères de temps sur le taux de SARM [6,7]. À l'inverse, une légère et non significative diminution du taux de SARM a été observée quand le délai passait de 30 jours à six mois. De même, aucune différence significative n'a été notée quand le délai était d'une année plutôt qu'un mois (données non démontrées). En raison du portage prolongé du SARM, un délai à cinq jours est probablement trop court, et pour un calcul précis du taux de SARM certains auteurs préconisent un délai à six mois [7].

5. Conclusion

Ces résultats montrent que les différentes méthodes d'élimination des doublons conduisent à des résultats de taux de SARM différents. Quand les doublons ne sont pas exclus des calculs, on a tendance à surestimer le taux de SARM. Plus on augmente la tolérance dans les différences phénotypiques et le délai entre deux isolats, plus on diminue le taux de SARM. La méthode du rang de germe NCCLS conduit de ce fait à sous-estimer le taux de SARM.

Le choix de la méthode est essentiellement dépendant de l'outil informatique permettant de produire le taux de SARM. Pour des laboratoires peu équipés, la méthode du rang de germe a le mérite d'être simple et reproductible à défaut d'être juste. Si la base de données est plus sophistiquée, une méthode phénotypique donnera des résultats plus proches de la réalité

mais sera moins reproductible et plus ardue à mettre en place. En tout état de cause, l'important est le suivi intrahospitalier de l'évolution du taux de SARM d'année en année, avec la même méthodologie, quelle que soit la technique de dédoublement utilisée. En revanche, une harmonisation des méthodes serait nécessaire pour permettre une comparaison inter-hospitalière interprétable. Quoi qu'il en soit, une description précise de la méthode de dédoublement utilisée devrait apparaître dans la partie (matériels et méthodes) de tout rapport scientifique traitant de taux de résistance aux antibiotiques.

Références

- [1] Lepelletier D, Richet H. Surveillance and control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in French hospitals. *Infect Contr Hosp Epidemiol* 2001;22:677–82.
- [2] Fluit AC, Wielders CLC, Verhoef J, et al. Epidemiology and susceptibility of 3,051 *Staphylococcus aureus* isolates from 25 University hospitals participating in the European SENTRY study. *J Clin Microbiol* 2001;39:3727–32.
- [3] Horvat RT, Klutman NE, Lacy MK, et al. Effect of duplicate isolates of methicillin-susceptible and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on antibiogram data. *J Clin Microbiol* 2003;41:4611–6.
- [4] Jarlier V, Fosse T, Philippon A. Antibiotic susceptibility in aerobic gram-negative bacilli isolates in intensive care units in 39 French teaching hospitals (ICU study). *Intensive Care Med* 1996;22:1057–65.
- [5] Huovinen P. Recording of antimicrobial resistance of urinary tract isolates-effect of repeat samples on resistance levels. *J Antimicrob Chemother* 1985;16:443–7.
- [6] Rodriguez JC, Sirvent E, Lopez-Lozano JM, et al. Criteria of time and antibiotic susceptibility in the elimination of duplicates when calculating resistance frequencies. *J Antimicrob Chemother* 2003;52:132–4.
- [7] Shannon KP, French GL. Antibiotic resistance: effect of different criteria for classifying isolates as duplicates on apparent resistance frequencies. *J Antimicrob Chemother* 2002;49:201–4.
- [8] White RL, Friedrich LV, Burgess DS, et al. Effect of removal of duplicate isolates on cumulative susceptibility reports. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2001;39:251–6.
- [9] National committee for clinical laboratory standards. Analysis and presentation of cumulative antimicrobial susceptibility test data-Proposed Guideline M39-P. Wayne, PA, United states: NCCLS; 2000.
- [10] Shannon KP, French GL. Validation of the NCCLS proposal to use results only from the first isolate of a species per patient in the calculation of susceptibility frequencies. *J Antimicrob Chemother* 2002;50:965–9.
- [11] Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie report 2003. *Int J Antimicrob Agents* 2003;21:364–91.
- [12] Medeiros A, Crellin J. Evaluation of the Sirscan automated zone reader in a clinical microbiology laboratory. *J Clin Microbiol* 2000;38:1688–93.
- [13] Scanvic A, Denic L, Gaillon S, et al. Duration of colonization by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* after hospital discharge and risk factors for prolonged carriage. *Clin Infect Dis* 2001;32:1393–8.

Influence de la durée de la période de surveillance sur l'incidence du *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline

Influence of surveillance period length on the incidence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

Mots clés : SARM ; Surveillance

Keywords: MRSA; Surveillance

1. Introduction

Le *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) fait partie des principales bactéries multirésistantes isolées dans les établissements de soins. Une politique de prévention de la diffusion du SARM nécessite la mise en place d'indicateurs de suivi. En France, chaque établissement de soins devra prochainement produire annuellement un tableau de bord intégrant cinq indicateurs dont la densité d'incidence de SARM rapporté à 1000 journées d'hospitalisation [1].

Certains réseaux de surveillance nationaux collectent des données sur une période inférieure à un an afin d'alléger le travail de recueil des établissements impliqués dans cette surveillance (réseau BMR RAISIN). Mais la comparaison de données issues d'une surveillance discontinue du taux de SARM sur une période inférieure à un an et celles issues d'une surveillance continue annuelle, n'a pas été effectuée sur une longue période. Le but de cette étude était donc d'évaluer l'influence de la durée de la période de surveillance sur la densité d'incidence de SARM sur une période de cinq ans dans un hôpital universitaire.

2. Matériels et méthodes

Toutes les souches de *S. aureus* isolées entre 2001 et 2005 par le laboratoire de microbiologie de l'hôpital européen

Georges-Pompidou (Assistance publique–Hôpitaux de Paris) à partir des prélèvements à visée diagnostique (prélèvements de dépistage exclus) issus des services cliniques de l'hôpital (consultations et hôpital de jour exclus) ont été incluses dans l'étude.

Les antibiogrammes de *S. aureus* ont été réalisés par la méthode de diffusion sur gélose de Mueller-Hinton (BioMérieux, Marcy l'Etoile, France) selon les recommandations préconisées par le Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie (CASFM) [2]. Toutes les souches résistantes à l'oxacilline et/ou intermédiaires ou résistantes à la céfoxitine ont été marquées informatiquement « SARM » dans la base de données du SirScan 2000 (I2a, Montpellier, France). L'élimination des doublons a été effectuée selon la méthode préconisée par l'Observatoire national de l'épidémiologie de la résistance aux antibiotiques [3]. La densité d'incidence de SARM, nombre d'isolats de SARM dédoublonnés rapporté à l'ensemble des journées d'hospitalisation de plus de 24 heures (JH), a été calculée sur des périodes de deux, trois, six mois et comparée aux taux annuels sur une période de cinq ans, soit de 2001 à 2005.

3. Résultats–discussion

La densité d'incidence annuelle de SARM était respectivement de 1,6 ; 1,3 ; 1,2 ; 1,1 et 0,8 pour 1000 JH pour les années 2001 à 2005. Cette diminution est concordante avec la baisse générale du taux de SARM et de l'incidence observée en France depuis plusieurs années. En effet, le réseau de surveillance des hôpitaux de l'Assistance publique de Paris a observé une diminution régulière de l'incidence du SARM qui est passée entre 1996 et 2004 de 0,86 à 0,74 pour l'ensemble des hôpitaux, et de 1,16 à 0,77 pour les établissements de court séjour [4]. Une baisse similaire a été constatée par le réseau Franc-Comtois de lutte contre les infections nosocomiales : 0,73 en 1999 contre 0,58 en 2003 [5].

Quand la densité d'incidence a été calculée sur une base semestrielle, la différence relative par rapport à la valeur annuelle variait de –12 à +10 % suivant les semestres

Tableau 1

Comparaison des densités d'incidence de SARM rapporté à 1000 journées d'hospitalisation de plus de 24 h, calculées sur une base annuelle, semestrielle, trimestrielle et bimestrielle

	2001		2002		2003		2004		2005	
	DI ^a	Variation ^b	DI	Variation	DI	Variation	DI	Variation	DI	Variation
Année	1,57	–	1,25	–	1,16	–	1,11	–	0,78	–
Semestre 1	1,65	+5	1,38	+10	1,27	+9	1,22	+10	0,78	0
Semestre 2	1,51	–4	1,10	–12	1,03	–11	0,99	–10	0,78	0
Trimestre 1	1,60	+2	1,62	+30	1,34	+16	1,24	+12	0,62	–21
Trimestre 2	1,69	+8	1,14	–9	1,19	+3	1,20	+8	0,95	+22
Trimestre 3	1,65	+5	1,21	–3	1,21	+4	1,12	+1	0,92	+18
Trimestre 4	1,39	–11	1,01	–19	0,89	–23	0,89	–20	0,66	–15
Bimestre 1	1,56	–1	1,55	+24	1,30	+12	1,28	+15	0,63	–19
Bimestre 2	1,70	+8	1,53	+23	1,46	+26	1,11	0	0,79	+1
Bimestre 3	1,67	+6	1,06	–15	1,04	–10	1,28	+15	0,92	+18
Bimestre 4	1,96	+25	1,34	+7	1,33	+14	1,05	–5	1,06	+35
Bimestre 5	1,15	–27	1,28	+3	0,68	–42	0,97	–12	0,67	–13
Bimestre 6	1,49	–5	0,73	–41	1,14	–2	0,97	–13	0,65	–17

^a Densité d'incidence pour 1000 jours d'hospitalisation > 24 heures.

^b Variation relative exprimée en pourcentage entre la densité d'incidence annuelle et celle calculée sur une période inférieure à un an.

(Tableau 1). Sur une base trimestrielle, elle variait de –23 à +30 %. Enfin, sur une base bimestrielle, elle variait de –42 à +35 %.

Ces écarts sont d'autant plus grands que la période d'étude est plus courte. De plus, si la tendance régulière à la baisse est respectée dans le calcul par semestre, il n'en va pas de même pour tous les trimestres et bimestres qui présentent pour certains des variations contradictoires (trimestre 2, bimestres 3 et 6).

La variabilité de la densité d'incidence de SARM peut être expliquée par plusieurs facteurs : tout d'abord par le ratio personnel/patient avec une baisse de ce ratio pendant les mois d'été (essentiellement juillet et août) [6], qui entraîne probablement une augmentation du nombre de contacts entre les personnels soignants et les patients. Dans notre étude, l'incidence de SARM mesurée pour les deux mois estivaux est majoritairement supérieure à la moyenne annuelle : en effet, quatre fois sur cinq, l'incidence calculée pour le bimestre 4, correspondant aux mois de juillet et d'août (Tableau 1), est supérieure à l'incidence annuelle, confirmant l'impact du ratio personnel/patient. La variabilité de la densité d'incidence de SARM est ensuite explicable par la variabilité du nombre de souches de SARM isolées. Par exemple, 121 souches, ont en moyenne, été isolées sur le premier semestre, tandis que seulement 100 souches étaient isolées en moyenne pour le second semestre, soit une différence relative de 17 %. Pendant le même temps, le nombre moyen de journées d'hospitalisation sur notre établissement était de 98 261 pour le premier semestre et 93 024 pour le second, soit une différence relative de 5 %, et celui des admis était de 13 253 et 12 329 respectivement, soit une différence relative de 7 %. Il y a donc eu moins de SARM isolés de prélèvements diagnostiques au deuxième semestre qu'au premier mais le nombre de patients admis et de journées d'hospitalisation n'a pas baissé d'autant, expliquant que sur ces cinq années, la densité d'incidence de SARM ait toujours été égale ou inférieure le deuxième semestre par rapport au premier.

Le SARM ne faisant pas l'objet d'un dépistage systématique à l'admission, l'incidence des SARM acquis ne peut être déterminée avec précision dans notre établissement. Le ratio entre les SARM issus des prélèvements à visée diagnostique prélevés plus de 48 heures après l'admission des patients, et l'ensemble des SARM issus des prélèvements à visée diagnostique baisse entre 2001 et 2005 (56, 60, 56, 56, 50 %, respectivement). Le calcul de l'incidence des SARM « potentiellement acquis » c'est-à-dire isolés de prélèvement diagnostiques plus de 48 heures après l'admission pourrait apporter une information complémentaire dans le tableau de bord des infections nosocomiales.

4. Conclusion

Le calcul de la densité d'incidence de SARM sur une période inférieure à 12 mois pourrait entraîner des sous-estimations ou des surestimations importantes. Le tableau de bord devrait donc intégrer un taux d'incidence de SARM calculé sur l'année entière, et si possible incluant les SARM potentiellement acquis.

Références

- [1] Arrêté du 8 mars 2006 relatif au bilan annuel des activités de lutte contre les infections nosocomiales dans les établissements de santé. Journal officiel de la République française n° 67.
- [2] Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie. Int J Antimicrob Agents 2003;21:364–91.
- [3] Recommandations méthodologiques pour la surveillance de la résistance aux antibiotiques dans les laboratoires de microbiologie. http://www.onerba.org/download/guide_onerba.pdf (décembre 2006).
- [4] Rapports du réseau de la collégiale de bactériologie-virologie-hygiène des hôpitaux universitaires de Paris (APHP). http://www.onerba.org/IMG/pdf/Rapport_2004_BMR_AP-HP.pdf (décembre 2006).
- [5] Bertrand X, Claude B, Chantelat P, Paolini MC, Petitboulanger N, Julienne C, et al. Regional surveillance of the evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): what results for what teaching? Med Mal Infect 2004;34:264–9.
- [6] Eveillard M, Lancien E, Hidri N, Barnaud G, Gaba S, Benlolo JA, et al. Estimation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* transmission by considering colonization pressure at the time of hospital admission. J Hosp Infect 2005;60:27–31.

P. Grohs*

Service de microbiologie,
hôpital européen Georges-Pompidou,
20–40, rue Leblanc, 75908 Paris cedex 15, France
Adresse e-mail : patrick.grohs@hop.egp.ap-hop-paris.fr
(P. Grohs).

G. Kac

Hygiène hospitalière, hôpital européen Georges-Pompidou,
20–40, rue Leblanc, 75908 Paris cedex 15, France

Reçu le 22 décembre 2006 ; accepté le 27 février 2007

Disponible sur internet le 18 avril 2007

*Auteur correspondant.

0399-077X/\$ - see front matter © 2007 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.
doi:10.1016/j.medmal.2007.02.006

163

Évolution de la sensibilité de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques : la méticilline est-elle encore un marqueur de multirésistance ?

Trends in *Staphylococcus aureus* antimicrobials susceptibilities: Is methicillin still a relevant multiresistance marker?

P. Grohs

Service de microbiologie, hôpital européen Georges-Pompidou, AP-HP, 20–40, rue Leblanc, 75908 Paris cedex 15, France

Reçu le 15 avril 2008 ; accepté le 16 mai 2008

Disponible sur Internet le 30 juin 2008

Résumé

But de l'étude. – De récents changements ont été notés dans l'épidémiologie de *Staphylococcus aureus*, notamment pour les souches résistantes à la méticilline (SARM) non multirésistantes aux antibiotiques et pour les souches sensibles à la méticilline (SASM) multirésistantes aux antibiotiques. Aussi, une étude rétrospective de six années a été conduite pour suivre l'évolution de la résistance aux antibiotiques chez *S. aureus* et déterminer si la méticilline était toujours un marqueur pertinent de multirésistance.

Patients et méthodes. – Tous les isolats de *S. aureus* (doublons exclus) isolés entre 2001 et 2006 à l'hôpital européen Georges-Pompidou, hôpital universitaire de 800 lits, ont été inclus dans l'étude.

Résultats. – Quatre mille quatre cent cinquante-cinq isolats provenant de 3602 patients ont été identifiés entre 2001 et 2006. Les taux et incidence de SARM pour 1000 journées d'hospitalisation ont significativement diminué, respectivement de 34,7 à 22,6 % et de 1,3 à 0,6 % ($p < 0,001$). Une baisse significative de la multirésistance a été observée pour les SARM multirésistants (72,9 % versus 46,3 %, $p < 0,001$), alors qu'aucun changement n'était noté pour les SASM multirésistants (2,9 à 3,4 %). Parmi les 186 profils antibiotiques isolés, quatre phénotypes de SARM ont significativement diminué, tandis que deux phénotypes de SASM ont significativement augmenté. Le principal phénotype de SARM, résistant à la kanamycine, tobramycine, macrolides-lincosamides-streptograminesB et aux fluoroquinolones, a significativement baissé de 11,9 à 5,9 % ($p < 0,001$). Le phénotype de Glycopeptide Intermediate *S. aureus* (GISA) a disparu.

Conclusion. – La méticilline reste encore un marqueur pertinent de multirésistance dans notre établissement mais la tendance est en train de changer.

© 2008 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Abstract

Objective. – Recent change was noted in *S. aureus* epidemiology, especially for none multiresistant methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) and for multiresistant methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA). So, a six-year retrospective study was conducted to follow trends in antimicrobials resistance and to determine if methicillin remained a relevant multiresistant marker.

Methods. – All *S. aureus* isolates (duplicates excluded) isolated between 2001 and 2006 in a French 800-beds-teaching-hospital were included in the study.

Results. – Four thousand four hundred and fifty-five isolates providing from 3602 patients were identified between 2001 and 2006. MRSA rate and incidence for 1000 hospitalization-days significantly decreased from 34.7 to 22.6% and 1.3 to 0.6% respectively ($p < 0.001$). Significant decrease was observed for multiresistant MRSA (72.9 to 46.3%, $p < 0.001$), while no change was observed for multiresistant MSSA (2.9 to 3.4%). Among the 186 different antibiotic patterns isolated, four MRSA-phenotypes significantly decreased whereas two MSSA-phenotypes significantly increased. The main MRSA phenotype, resistant to kanamycin, tobramycin, macrolides-lincosamides-streptograminsB, and fluoroquinolones, significantly decreased from 11.9 to 5.9% ($p < 0.001$). The Glycopeptide Intermediate *S. aureus* (GISA) phenotype disappeared.

Adresse e-mail : patrick_grohs@yahoo.fr.

and fluoroquinolones, significantly decreased from 11.9 to 5.9% ($p < 0.001$). Glycopeptide Intermediate *S. aureus* (GISA) phenotypes disappeared.

Conclusion. – At this date, methicillin remains in our institution a relevant marker of multiresistance but trend is changing.

© 2008 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : *S. aureus* ; Phénotypes ; SARM ; SASM ; Multirésistance

Keywords: *S. aureus*; Antibiotics pattern; MRSA; MSSA; Multiresistance

1. Introduction

Staphylococcus aureus est une source majeure d'infections sévères, qu'elles soient d'origine hospitalières ou communautaires, et reste l'une des plus importantes causes d'infection acquise à l'hôpital [1]. Selon la dernière enquête nationale de prévalence de 2006, 19 % des infections nosocomiales étaient dues à *S. aureus* [2].

L'émergence de souches résistantes à la pénicilline en 1948 et à la méthicilline en 1961 a eu lieu peu d'années après l'introduction de ces molécules sur le marché [3,4]. Depuis cette date, les souches de *S. aureus* résistant à la méthicilline (SARM) ont largement diffusé et sont devenues endémiques dans de nombreux pays [5–10]. Par la suite, *S. aureus* est devenu résistant à la plupart des autres classes d'agents anti-infectieux, incluant également les glycopeptides depuis 1997 [11], et la multirésistance chez *S. aureus* est devenue un problème majeur de santé publique [12]. Puisque les isolats de SARMS sont le plus souvent résistants à d'autres classes d'antibiotiques [8], elles sont considérées comme des bactéries multirésistantes, et la résistance à la méthicilline est depuis lors utilisée comme marqueur de multirésistance.

Jusqu'à une période récente, les souches de SARM concernaient les patients hospitalisés, et les facteurs de risque d'acquisition incluaient une hospitalisation prolongée, un séjour dans une unité de soins intensifs ou de réanimation, un antécédent de traitement antimicrobien, une opération chirurgicale et la proximité avec un patient porteur de SARM [13,14]. Depuis quelques années, on note un changement dans l'épidémiologie du SARM. Une augmentation de la prévalence des SARM d'acquisition communautaire a été décrite chez des patients sans facteurs de risque, comme un contact récent avec une unité de soins ou une utilisation importante d'antibiotiques [15–18]. Ces souches sont moins résistantes que celles habituellement isolées chez les patients hospitalisés ou exposés à des facteurs de risque [17]. De plus, une augmentation des SARM non multirésistant isolés de bactériémies a récemment été décrite en France [19]. Enfin, l'émergence communautaire de *S. aureus* sensible à la méthicilline (SASM) et multirésistant aux antibiotiques [20,21], et l'épidémie de souches de *S. aureus* virulent porteurs du gène de la toxine de Panton-Valentine leukocidine (PVL), principalement SARM mais également SASM, ont été rapportés [22–24].

Aujourd'hui, pour limiter la diffusion du SARM à l'hôpital, des mesures d'hygiène sont recommandées telle que l'isolement des patients porteurs en chambre unique (voire le regroupement des patients porteurs), le lavage des mains avant et après tout contact avec le patient (précautions standards) et le

port des gants pour tout contact avec des produits biologiques [25,26]. La modification des résistances associées à celle de la méthicilline soulève la question de la pertinence d'un isolement systématique des patients porteurs de SARM sans résistance associées et l'absence de recommandations pour la conduite à tenir face à un SASM multirésistant.

Aussi, une étude rétrospective sur six ans a été conduite dans notre hôpital pour analyser l'évolution de la résistance aux antibiotiques chez *S. aureus*, déterminer si de nouveaux phénotypes étaient émergents et établir si la méthicilline était toujours un marqueur pertinent de multirésistance.

2. Matériels et méthodes

Cette étude a été réalisée à l'hôpital européen Georges-Pompidou (HEGP), hôpital universitaire de 800 lits d'aigus, comprenant 23 services (12 services de médecine, six services de chirurgie, deux services de soins intensifs et trois réanimations) ; cet établissement accueille environ 35 000 patients chaque année. Tous les isolats de *S. aureus* isolés entre 2001 et 2006 de prélèvements à visée diagnostique (prélèvements de dépistage exclus) issus des services d'hospitalisation conventionnelle (séjour supérieur à 24 heures) ont été inclus dans l'étude.

2.1. Antibiogrammes

La sensibilité de *S. aureus* a été réalisée par la méthode de diffusion en gélose sur milieu de Mueller-Hinton (BioMérieux, Marcy l'Étoile, France) en accord avec les recommandations du comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie [27]. Les 21 antibiotiques testés quotidiennement incluaient la pénicilline G, l'oxacilline, la céfoxitine, la kanamycine, la tobramycine, la gentamicine, la streptomycine, l'érythromycine, la lincomycine, la pristnamycine, la rifamycine, la tétracycline, la minocycline, la péfloxacinine de 2001 à 2002, puis l'ofloxacinine de 2003 à 2006, l'acide fusidique, le chloramphénicol, le triméthoprim, la fosfomycine, les sulfamides, la téicoplanine et la vancomycine. L'analyse phénotypique a été réalisée sur la base de 13 marqueurs antibiotiques majeurs : pénicilline G, oxacilline, kanamycine, tobramycine, gentamicine, érythromycine, lincomycine, rifamycine, tétracycline, fluoroquinolone (incluant la péfloxacinine ou l'ofloxacinine en fonction de l'année étudiée), l'acide fusidique, la téicoplanine et la vancomycine. Les antibiogrammes ont été lus sur le Sirscan 2000 (I2A, Montpellier, France), automate de lecture associant un analyseur d'image, une base de données et un système expert d'analyse

interprétative [28]. La diminution de sensibilité aux glycopeptides a été établie par la méthode des E-test [29].

2.2. Analyse des données

Les souches redondantes de *S. aureus* (doublons) ont été éliminées de la base de données du Sirscan par une méthode phénotypique, précédemment décrite [30]. Le taux de SARM a été calculé à partir du nombre de souches de SARM isolées, tandis que la densité d'incidence SARM pour 1000 journées d'hospitalisation de plus de 24 heures a été calculée à partir du nombre de patients porteurs de SARM chaque année. Ainsi, trois isolats phénotypiquement différents isolés chez un même patient ont été intégrés au calcul du taux de SARM, alors que le patient n'était compté qu'une seule fois par an pour le calcul de la densité d'incidence.

Les données ont ensuite été extraites de la base de données du Sirscan et analysées sur les logiciels Access et Excel. Tous les résultats « intermédiaire » ont été convertis en « résistant ». Le test du Khi-2 a été effectué sur le logiciel Epi Info pour comparer les pourcentages. Un résultat inférieur à 0,05 a été considéré comme significatif.

3. Résultats

Quatre milles quatre cent cinquante-cinq isolats de *S. aureus* provenant de 3602 patients ont été identifiés entre 2001 et 2006, soit une moyenne de 742 isolats par an.

3.1. Résistance à la méticilline

Le taux de SARM a significativement diminué ($p < 0,001$) entre 2001 et 2006 de 34,7 à 22,6 % (Fig. 1). Durant cette période, l'incidence pour 1000 jours d'hospitalisation a également baissé de 1,3 à 0,6 ($p < 0,001$).

3.2. Diversité des profils phénotypiques

Les 4263 isolats dont le résultat pour les 13 marqueurs de résistance était disponible (96 % de l'ensemble des isolats) ont été inclus dans l'étude phénotypique. Sur les six années d'étude, 186 profils phénotypiques différents ont été observés, le nombre d'isolement par phénotype étant compris entre un et 1812 isolats (respectivement 0,1 et 42,5 % de l'ensemble des isolats). Les 35 phénotypes dont au moins dix isolats ont été isolés sur la période d'étude, représentaient 91,5 % de l'ensemble des isolats inclus (Tableau 1). Le phénotype le plus abondant, correspondant aux isolats uniquement résistants à la pénicilline, concernait 42,5 % de l'ensemble des isolats. Seuls 22 phénotypes ont été isolés au moins une fois par an, soit 87,2 % des isolats.

3.3. Tendances

Durant la période d'étude, la fréquence d'isolement a significativement diminué pour quatre phénotypes de SARM et un phénotype de SASM. Pendant le même temps, la fréquence

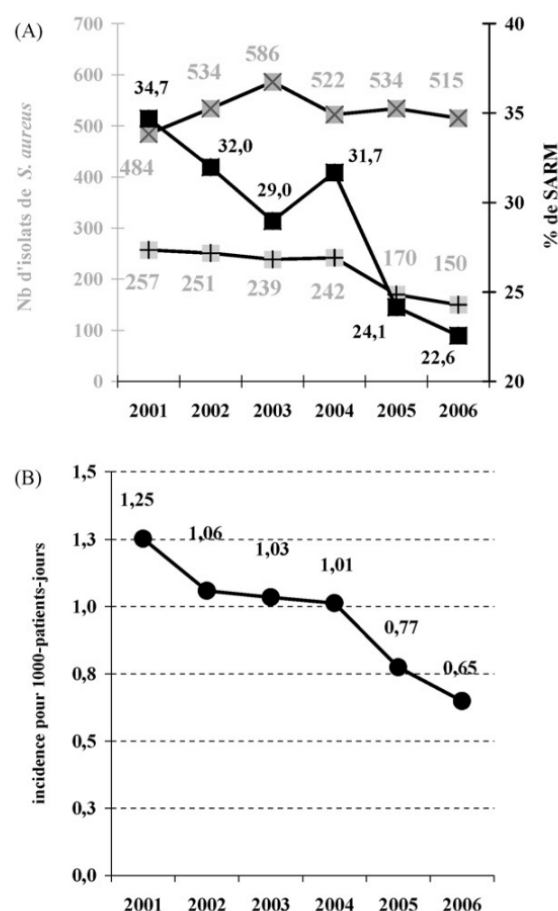


Fig. 1. Taux de résistance et d'incidences entre 2001 et 2006. A, le taux de SARM a été calculé à partir du nombre d'isolats de SARM rapporté à l'ensemble des isolats de *S. aureus*. ■, nombre d'isolats de *S. aureus*; ●, nombre d'isolats de SARM. B, la densité d'incidence pour 1000 journées a été déterminée à partir du nombre de patients porteurs de SARM.

d'isolement de deux phénotypes de SASM a significativement augmenté (Tableau 1). Le phénotype de SARM majoritaire, correspondant aux isolats résistants à la kanamycine (Km), à la tobramycine (Tm), aux macrolides-lincosamides-streptograminesB (MLS_B) et aux fluoroquinolones (FQ) a significativement diminué de 11,9 % en 2001 à 5,9 % en 2006. Les deux phénotypes de *glycopeptide intermediate* *S. aureus* (GISA) qui étaient résistants à l'ensemble des antibiotiques sauf la vancomycine (et l'acide fusidique pour l'un des deux), ont disparu entre 2001 et 2006.

3.4. Taux de résistance aux antibiotiques en fonction de la résistance à la méticilline

Pour les SASM, la sensibilité des 13 marqueurs antibiotiques n'a pas significativement évolué durant la période d'étude (Fig. 2A). Cependant, la sensibilité à l'érythromycine a significativement diminué ($p = 0,02$) de 82,8 % en 2002 à 77,6 % en 2006. Inversement, excepté pour la pénicilline et l'oxacilline qui étaient toujours résistants, les 11 autres

Tableau 1
Trente-cinq phénotypes majeurs parmi les 186 profils antibiogrammes

P	OXA	Km	Tm	GM	ERY	LIN	RIF	TET	FQ	FA	TEC	VM	2001		2002		2003		2004		2005		2006		2001–2006		Tendance significative
													Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	
R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	255	40,0	328	42,8	335	42,8	291	39,4	308	44,3	295	46,0	1812	42,5	
R	R	R	R	S	R	R	S	S	R	S	S	S	76	11,9	89	11,6	76	9,7	94	12,7	57	8,2	38	5,9	430	10,1	Oui
R	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	38	6,0	42	5,5	46	5,9	54	7,3	54	7,8	52	8,1	286	6,7	Oui
S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	31	4,9	44	5,7	61	7,8	48	6,5	38	5,5	36	5,6	258	6,1	
R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	38	6,0	41	5,3	52	6,6	32	4,3	27	3,9	41	6,4	231	5,4	
R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	16	2,5	19	2,5	20	2,6	14	1,9	21	3,0	17	2,6	107	2,5	
R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	10	1,6	20	2,6	14	1,8	16	2,2	17	2,4	19	3,0	96	2,3	
S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	11	1,7	5	0,7	18	2,3	15	2,0	16	2,3	17	2,6	82	1,9	Oui
R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	13	2,0	4	0,5	7	0,9	9	1,2	15	2,2	9	1,4	57	1,3	
R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	6	0,9	9	1,2	11	1,4	9	1,2	10	1,4	9	1,4	54	1,3	
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	17	2,7	19	2,5	9	1,1	4	0,5	6	0,9	1	0,2	50	1,2	Oui
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	5	0,8	11	1,4	4	0,5	8	1,1	6	0,9	2	0,3	36	0,8	
R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S	8	0,9	8	1,0	4	0,5	5	0,7	7	1,0	4	0,6	34	0,8	
R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S	8	1,3	4	0,5	4	0,5	8	1,1	2	0,3	3	0,5	29	0,7	
R	R	R	R	S	S	R	S	S	R	S	S	S	4	0,6	3	0,4	5	0,6	7	0,9	8	1,2	2	0,3	29	0,7	
R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	S	S	S	4	0,6	3	0,4	2	0,3	8	1,1	5	0,7	6	0,9	28	0,7	
R	S	S	S	S	R	R	S	S	R	S	S	S	7	1,1	7	0,9	5	0,6	3	0,4	3	0,4	2	0,3	27	0,6	Oui
R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	1	0,2	6	0,8	4	0,5	3	0,4	7	1,0	3	0,5	24	0,6	
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	8	1,3	6	0,8	2	0,3	3	0,4	2	0,3	1	0,2	22	0,5	Oui
R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S	5	0,8	4	0,5	3	0,4	3	0,4	3	0,4	2	0,3	20	0,5	
S	S	S	S	S	R	R	S	S	R	S	S	S	3	0,5	4	0,5	4	0,5	4	0,5	4	0,6	1	0,2	20	0,5	
R	R	R	R	S	R	R	S	S	R	S	S	S	3	0,5	3	0,4	6	0,8	2	0,3	2	0,3	2	0,3	16	0,4	
R	R	R	R	S	R	R	S	S	R	S	S	S	2	0,3	4	0,5	3	0,4	1	0,1	5	0,7			15	0,4	
R	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	1	0,2	2	0,3	6	0,8	3	0,4	2	0,3	1	0,2	15	0,4	
R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	1	0,2	2	0,3	3	0,4	2	0,3	1	0,1	4	0,6	13	0,3	
R	R	R	R	S	R	R	S	S	R	R	S	S	2	0,3	4	0,5	2	0,3	4	0,5	2	0,3	2	0,3	12	0,3	
R	S	S	S	S	R	S	S	S	R	S	S	S			2	0,3	4	0,5	2	0,3	2	0,3	2	0,3	12	0,3	
R	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	S	S			2	0,3	2	0,3	2	0,3	3	0,4	3	0,5	12	0,3	
R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S			2	0,3	2	0,3	4	0,5	1	0,1	5	0,8	12	0,3	
R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S			1	0,1	3	0,4	4	0,5	2	0,3	1	0,2	11	0,3	
R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	2	0,3	3	0,4	1	0,1	3	0,4	1	0,1	1	0,2	11	0,3	Oui
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	11	1,7											11	0,3	
R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	1	0,2	4	0,5	1	0,1	2	0,3			2	0,3	10	0,2	
R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S			2	0,3			4	0,5	2	0,3	2	0,3	10	0,2	
S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	3	0,5	2	0,3	2	0,3	2	0,3			1	0,2	10	0,2	

P : pénicilline ; OXA : oxacilline ; Km : kanamycine ; Tm : Tobramycine ; GM : gentamicine ; ERY : érythromycine ; LIN : lincomycine ; RIF : rifamycine ; TET : tétracycline ; FQ : fluoroquinolones, c'est-à-dire péfloxacin de 2001 à 2002 et ofloxacin de 2003 à 2006 ; FA : acide fusidique ; TEC : téicoplanine ; VM : vancomycine ; Nb : nombre d'isolats de *S. aureus* présentant ce phénotype ; % : pourcentage d'isolats présentant ce phénotype rapporté à l'ensemble des isolats de *S. aureus*.
Les résultats intermédiaires ont été convertis en résultats résistants.

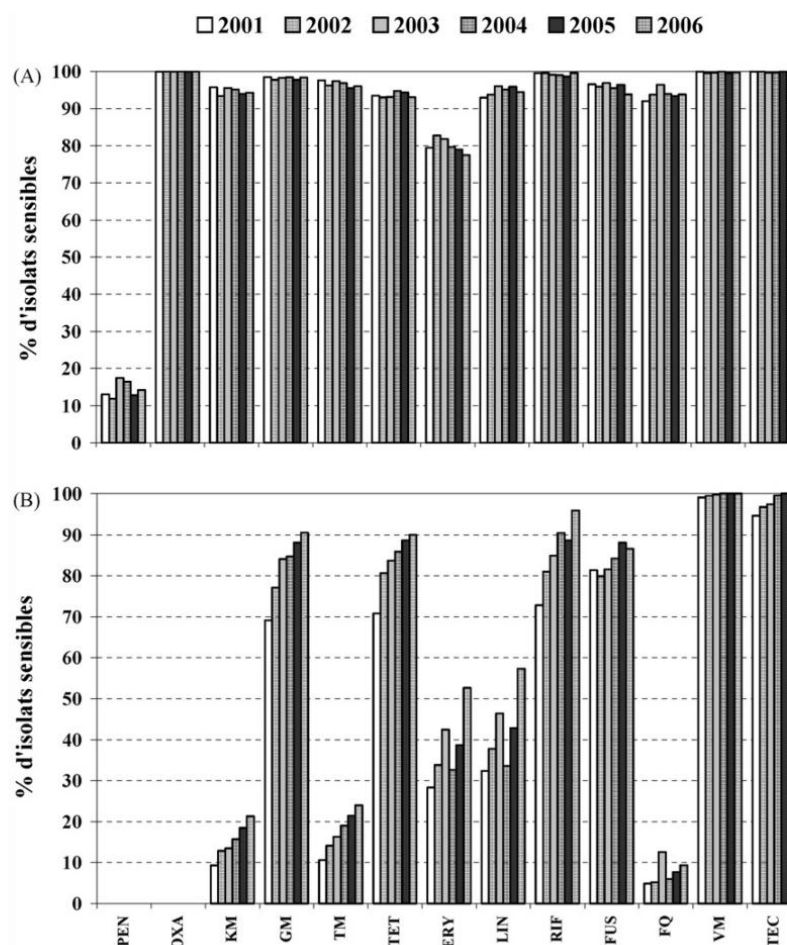


Fig. 2. Comparaison de la sensibilité des antibiotiques chez *S. aureus* en fonction de la sensibilité à la méticilline. A : SASM ; B : SARM ; PEN : pénicilline ; OXA : oxaciline ; KM : kanamycine ; GM : gentamicine ; TM : tobramycine ; TET : tétracycline ; ERY : érythromycine ; LIN : lincomycine ; RIF : rifamycine ; FUS : acide fusidique ; FQ : fluoroquinolones (péfloxacine ou ofloxacine selon l'année étudiée) ; VM : vancomycine ; TEC : téicoplanine.

marqueurs étaient significativement plus sensibles chez les SARM en 2006 qu'en 2001 (Fig. 2B).

3.5. Nombre de marqueurs de résistance

Les isolats de *S. aureus* ont été stratifiés en fonction du nombre d'antibiotiques résistants (Fig. 3). Les isolats présentant sept, dix, 11, 12, et 13 marqueurs ont significativement diminués durant la période d'étude, alors que les isolats présentant un et deux marqueurs, affichaient une augmentation significative en 2006 par rapport à 2001.

3.6. Étude de la multirésistance en fonction de la résistance à la méticilline

La multirésistance aux antibiotiques, définie par la résistance à au moins trois familles d'antibiotiques (autre que les bêtalactamines), a été étudiée à la fois pour les SASM et pour les SARM (Tableau 2). La proportion d'isolats de SASM multirésistants rapportée à l'ensemble des isolats de SASM n'a pas significativement diminué entre 2001 et 2006 (2,9 et 3,4 %

respectivement), tandis qu'une diminution significative était observée pour la proportion d'isolats de SARM rapportée à l'ensemble des isolats de SARM pour la même période (72,9 % versus 46,3 %, $p < 0,001$).

4. Discussion

Cette étude a été réalisée pour analyser l'évolution de la résistance aux antibiotiques chez *S. aureus*. Tout d'abord, une baisse importante de la résistance à la méticilline a été observée entre 2001 et 2006 dans notre hôpital ; si pour la période 2001–2003, la diminution du taux de SARM était essentiellement due à l'augmentation du nombre de SASM, celle de 2005–2006 correspond à une diminution spectaculaire du nombre d'isolats de SARM. En parallèle, la densité d'incidence du SARM pour 1000 jours d'hospitalisation de plus de 24 heures baisse régulièrement au cours de la période d'étude, attestant de la réelle diminution du nombre de patients colonisés et/ou infectés par un SARM. Ces données sont cohérentes avec la tendance générale observée en France depuis quelques années [31,32] ; après l'augmentation constante des années 1980 à 1990, cette

que, si la multirésistance chez les SARM semble stable entre 2001 et 2006, une forte diminution de la multirésistance chez les SARM a été notée pendant la même période, en particulier en 2006. Cette nouveauté semble confirmer un changement dans l'épidémiologie de *S. aureus*, avec notamment l'émergence récente des SARM communautaires, qui ont été décrits comme plus sensibles que les SARM acquis à l'hôpital [15,17,18,35]. Étonnamment, très peu de souches (15) correspondant au phénotype PVL récemment décrit en France (SARM communautaire sensible à la gentamicine, à la tobramycine, aux fluoroquinolones et résistant à l'acide fusidique et à la kanamycine [23]) ont été isolées pendant les six années. De plus, la résistance à l'acide fusidique, marqueur représentatif des *S. aureus* communautaires, est stable depuis 2001.

5. Conclusion

Cette étude a montré les faits suivants :

- dans notre institution, la résistance à la méthicilline reste aujourd'hui un marqueur de multirésistance pertinent chez *S. aureus* mais la tendance est en train de changer ;
- les phénotypes des isolats de *S. aureus* ont changé en six ans, en particulier pour le clone français de SARM le plus usuel (Kana-Tobra-FQ-MLS_B) qui a régressé et les GISA qui ont disparu ;
- *S. aureus*, et en particulier SARM, est plus sensible aujourd'hui qu'il y a six ans.

Le contrôle de la prescription antibiotique est important pour diminuer la pression de sélection et pour limiter la progression de la résistance. Aujourd'hui, à l'hôpital, le traitement probabiliste d'une infection due à *S. aureus* avec des bêta-lactamines est proscrit ; dans les prochaines années, cette famille d'antibiotiques pourrait être réautorisée si le taux de SARM descendait sous la barre des 10 %. À cause de son changement potentiel, l'évolution de l'épidémiologie de *S. aureus* doit être suivie régulièrement que ce soit au niveau local ou national, et la surveillance des phénotypes de *S. aureus* est importante pour définir les politiques antibiotiques et d'hygiène hospitalière.

Références

- [1] Lowy FD. Staphylococcus aureus infections. N Engl J Med 1998;339: 520–32.
- [2] Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales 2006. http://www.invs.sante.fr/publications/2007/enp2006_resultats_preliminaires/enp_2006_resultats_preliminaires.pdf.
- [3] Barber M, Rozwadowska-Dowzenko M. Infection by penicillin-resistant staphylococci. Lancet 1948;1:641–4.
- [4] Jevons MP. Celbenin-resistant staphylococci. Br Med J 1961;1:124–5.
- [5] Chaves F, García-Martínez J, de Miguel S, Sanz F, Otero JR. Epidemiology and clonality of methicillin-resistant and methicillin-susceptible Staphylococcus aureus causing bacteremia in a tertiary-care hospital in Spain. Infect Control Hosp Epidemiol 2005;26:150–6.
- [6] Diekema DJ, Pfaller MA, Turnidge J, Verhoef J, Bell J, Fluit AC, et al., Sentry Participants Group. Genetic relatedness of multidrug-resistant, methicillin (oxacillin)-resistant Staphylococcus aureus bloodstream isolates from SENTRY Antimicrobial Resistance Surveillance Centers worldwide. Microb Drug Resist 1998;6:213–21.
- [7] Kim HB, Jang HC, Nam HJ, Lee YS, Kim BS, Park WB, et al. In vitro activities of 28 antimicrobial agents against Staphylococcus aureus isolates from tertiary-care hospitals in Korea: a nationwide survey. Antimicrob Agents Chemother 2004;48:1124–7.
- [8] Speller DC, Johnson AP, James D, Marples RR, Charlett A, George RC. Resistance to methicillin and other antibiotics in isolates of Staphylococcus aureus from blood and cerebrospinal fluid, England and Wales, 1989–95. Lancet 1997;350:323–5.
- [9] Shittu AO, Lin J. Antimicrobial susceptibility patterns and characterization of clinical isolates of Staphylococcus aureus in KwaZulu-Natal province, South Africa. BMC Infect Dis 2006;6:125.
- [10] Zinn CS, Westh H, Rosdahl VT. Sarisa Study Group. An international multicenter study of antimicrobial resistance and typing of hospital Staphylococcus aureus isolates from 21 laboratories in 19 countries or states. Microb Drug Resist 2004;10:160–8.
- [11] Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. J Antimicrob Chemother 1997;40:135–6.
- [12] Guerin F, Buu-Hoi A, Mainardi JL, Kac G, Colardelle N, Vaupré S, et al. Outbreak of methicillin-resistant Staphylococcus aureus with reduced susceptibility to glycopeptides in a Parisian hospital. J Clin Microbiol 2000;38:2985–8.
- [13] Boyce JM. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus detection, epidemiology, and control measures. Infect Dis Clin North Am 1989;3:901–13.
- [14] Thompson RL, Cabezo I, Wenzel RP. Epidemiology of nosocomial infections caused by methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Ann Intern Med 1982;97:309–17.
- [15] Boyce JM. Are the epidemiology and microbiology of methicillin-resistant Staphylococcus aureus changing? JAMA 1998;279:623–4.
- [16] Chambers HF. The changing epidemiology of Staphylococcus aureus? Emerg Infect Dis 2001;7:178–82.
- [17] Herold BC, Immergluck LC, Maranan MC, Lauderdale DS, Gaskin RE, Boyle-Vavra S, et al. Community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus in children with no identified predisposing risk. JAMA 1998;279:593–8.
- [18] Nimmo GR, Coombs GW, Pearson JC, O'Brien FG, Christiansen KJ, Turnidge JD, et al. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in the Australian community: an evolving epidemic. Med J Aust 2006;184: 384–8.
- [19] Van der Mee-Marquet N, Epinette C, Loyau J, Arnault L, Domelier AS, Losfelt B, et al., Bloodstream Infection Study Group of the Relais d'Hygiène du Centre. Staphylococcus aureus strains isolated from bloodstream infections changed significantly in 2006. J Clin Microbiol 2007;45: 851–7.
- [20] Donnio PY, Février F, Bifani P, Dehem M, Kervégan C, Wilhelm N, et al., Study group of the Collège de Bactériologie-Virologie-Hygiène des Hôpitaux de France. Molecular and epidemiological evidence for spread of multiresistant methicillin-susceptible Staphylococcus aureus in hospitals. Antimicrob Agents Chemother 2007;51:4342–50.
- [21] Rayner C, Munckhof WJ. Antibiotics currently used in the treatment of infections caused by Staphylococcus aureus. Intern Med J 2006;36: 142–3.
- [22] Jarraud S, Mougé C, Thioulouse J, Lina G, Meunier H, Forey F, et al. Relationships between Staphylococcus aureus genetic background, virulence factors, agr groups (alleles), and human disease. Infect Immun 2002;70:631–41.
- [23] Robert J, Etienne J, Bertrand X. ONERBA (Observatoire National de l'Épidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques). Methicillin-resistant Staphylococcus aureus producing Pantone-Valentine leukocidin in a retrospective case series from 12 French hospital laboratories, 2000–2003. Clin Microbiol Infect 2005;11:585–7.
- [24] Vandenesch F, Naimi T, Enright MC, Lina G, Nimmo GR, Heffernan H, et al. Community-acquired methicillin resistant Staphylococcus aureus carrying Pantone-Valentine Leukocidin genes: worldwide emergence. Emerg Infect Dis 2003;9:978–84.

- [25] Wenzel RP. Prevention and control of nosocomial infection, 3rd ed., Baltimore: Williams and Wilkins; 1997.
- [26] 100 recommandations pour la surveillance et la prévention des infections nosocomiales. <http://www.sante.gouv.fr/htm/pointsur/nosoco/guide/sommaire.html>. (Consulté le 09.06.08).
- [27] Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Emerg Infect Dis 2003;21:364–391. <http://www.sfm.asso.fr/publi/general>. (Consulté le 09.06.08)
- [28] Medeiros A, Crellin J. Evaluation of the Sirscan automated zone reader in a clinical microbiology laboratory. J Clin Microbiol 2000;38:1688–93.
- [29] Walsh TR, Bolmström A, Qwärnström A, Ho P, Wootton M, Howe RA, et al. Evaluation of current methods for detection of staphylococci with reduced susceptibility to glycopeptides. J Clin Microbiol 2001;39: 2439–44.
- [30] Grohs P, Kac G. Selection of relevant duplicate criteria in the monitoring of *Staphylococcus aureus* methicillin resistance trends. Pathol Biol 2005;53:476–80.
- [31] Bertrand X, Claude B, Chantelat P, Paolini MC, Petitboulanger N, Julienne C, et al. Regional surveillance of the evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): what results for what teaching? Med Mal Infect 2004;34:264–9.
- [32] Surveillance des bactéries multi-résistantes à partir du laboratoire dans les hôpitaux de l'inter-région Paris-Nord. http://www.cclinparisnord.org/BMR/2005/Rapport_BMR2005.pdf. (Consulté le 09.06.08).
- [33] Lelièvre H, Lina G, Jones ME, Olive C, Forey F, Roussel-Delvallez M, et al. Emergence and spread in French hospitals of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with increasing susceptibility to gentamicin and other antibiotics. J Clin Microbiol 1999;37:3452–7.
- [34] Enright MC, Robinson DA, Randle G, Feil EJ, Grundmann H, Spratt BG. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Proc Natl Acad Sci U S A 2002;99:7687–92.
- [35] Jung SI, Shin DH, Park KH, Shin JH. Antimicrobial susceptibility and clonal relatedness between community- and hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from blood cultures. J Microbiol 2006;44:336–43.

12 AUTRES PUBLICATIONS DE L'AUTEUR

1. Grohs P, Taieb G, Morand P, Kaibi I, Podglajen I, Lavollay M, Mainardi JL, Compain F. 2017. In Vitro Activity of Ceftolozane-Tazobactam against Multidrug-Resistant Nonfermenting Gram-Negative Bacilli Isolated from Patients with Cystic Fibrosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 24;61(4). pii: e02688-16
2. Grohs P, Trieu-Cuot P, Podglajen I, Grondin S, Firon A, Poyart C, Varon E, Gutmann L. 2012. Molecular basis for different levels of tet(M) expression in *Streptococcus pneumoniae* clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 56:5040-5045.
3. Carbonnelle E, Grohs P, Jacquier H, Day N, Tenza S, Dewailly A, Vissouarn O, Rottman M, Herrmann JL, Podglajen I, Raskine L. 2012. Robustness of two MALDI-TOF mass spectrometry systems for bacterial identification. *J Microbiol Methods.* 89:133-136.
4. Grohs P, Janoir C, Grondin S, Simon S, Bonnet G, Henry L, Gutmann L, Varon E. 2011. Accuracy of MIC determination for *Streptococcus pneumoniae* using the Sirscan2000 automatic MIC determination system. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 70:399-403.
5. Grohs P, Fantin B, Lefort A, Wolff M, Gutmann L, Mainardi JL. 2011 Differences in daptomycin and vancomycin ex vivo behaviour can lead to false interpretation of negative blood cultures. *Clin Microbiol Infect.* 17:1264-1267.
6. Grohs P, Mainardi JL, Podglajen I, Hanras X, Eckert C, Buu-Hoï A, Varon E, Gutmann L. 2007. Relevance of routine use of the anaerobic blood culture bottle. *J Clin Microbiol.* 45:2711-2715
7. Mallat H, Grohs P, Levy A, Mainardi JL. 2004. Retrospective study of bacteremia diagnosed in an emergency department: frequency, susceptibility of microorganisms, and impact on therapeutic management. *Med Mal Infect.* 34:310-315.
8. Grohs P, Podglajen I, Gutmann L. 2004. Activities of different fluoroquinolones against *Bacillus anthracis* mutants selected in vitro and harboring topoisomerase mutations. *Antimicrob Agents Chemother.* 48:3024-3027.
9. Grohs P, Houssaye S, Aubert A, Gutmann L, Varon E. 2003. In vitro activities of garenoxacin (BMS-284756) against *Streptococcus pneumoniae*, viridans group streptococci, and *Enterococcus faecalis* compared to those of six other quinolones. *Antimicrob Agents Chemother.* 47:3542-3547.
10. Grohs P, Kitzis MD, Gutmann L. 2003. In vitro bactericidal activities of linezolid in combination with vancomycin, gentamicin, ciprofloxacin, fusidic acid, and rifampin against *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 47:418-420.
11. Grohs P, Gutmann L, Legrand R, Schoot B, Mainardi JL. 2000. Vancomycin resistance is associated with serine-containing peptidoglycan in *Enterococcus gallinarum*. *J Bacteriol.* 182:6228-6232.

RESUME

Cette thèse recouvre une période de 15 ans de lutte contre la diffusion hospitalière des bactéries multi-résistantes aux antibiotiques (BMR) au sein d'un CHU parisien pilote. Elle intègre plusieurs études axées sur les outils informatiques de surveillance, la maîtrise de la transmission croisée, et le bon usage des antibiotiques. La configuration d'une base de données dédiée, concentrant l'ensemble des données de la résistance, doit intégrer des critères de requêtes épidémiologique précis, normalisés, et reproductibles. Des variations significatives du taux de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) ont été observées en fonction de la méthode d'élimination des doublons utilisée (de 27,6% à 33,8%), et l'extrapolation des résultats annuels à partir de données colligées sur des unités de temps plus courtes, mésestime la valeur annuelle de l'incidence du SARM (de -42% à +30%). Ces variations peuvent influencer sur l'interprétation des indicateurs relatifs au SARM. L'alerte électronique BMR, en avertissant les soignants de la réadmission d'un patient porteur au sein de leur unité, a permis d'optimiser la compliance aux mesures de précautions contact complémentaires (15% avant vs 90,2% après), et de participer à la diminution de l'incidence du SARM (1,07 en 2002 vs 0,37 en 2012). Elle a également mis en évidence la forte pression de colonisation due aux patients SARM réadmis, 46% des patients porteurs étant réadmis au moins une fois dont les 2/3, moins de trois mois après leur sortie. En réanimation, 1/5 des patients sont porteurs d'Entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre étendu (EBLSE) et/ou hyperproductrices de céphalosporinase (HP-CASE), les taux de portage à l'admission étant respectivement de 79,2% et 48,1% rapportés à l'ensemble des patients porteurs. Aucune stratégie de dépistage n'assure une identification de 100% des patients porteurs, la discontinuité de portage au cours du séjour concernant la majorité des patients. Le remplacement de la ceftriaxone par le cefotaxime a permis de ralentir la progression de l'incidence des HP-CASE. Enfin, l'optimisation du dépistage des EBLSE par l'évaluation puis l'utilisation de robots et de milieux de culture dédiés, a permis de gérer l'inflation des échantillons de dépistage.

Mots clés : antibio-résistance, informatique, hôpital, dépistage, SARM, BLSE, épidémiologie

ABSTRACT

This work describes 15 years of fight against the spread of multi-drug resistant bacteria (MRB) in a tertiary care hospital, and includes several published studies focused on monitoring systems, cross-transmission control, and antibiotics policy. Data processing plays a crucial role in monitoring MRB. The configuration of a dedicated database, concentrating all resistance data, has to include accurate, standardized, and reproducible epidemiological settings. Significant changes in the methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA) rate were observed, according to the method used to remove duplicates (27.6% to 33.8%), and the extrapolation of annual results from data collected from shorter period length, underestimates the annual value of MRSA incidence (from -42% to + 30%). These variations may affect the interpretation of MRSA official indicators. The MRB electronic alert, used to warn the staff of the readmission of a previously known colonized patient, conducted to increase the compliance for implementation of infection control measures (15% before vs 90.2% after), and participated in reducing the MRSA incidence (1.07 in 2002 vs. 0.37 in 2012). It also highlighted the strong colonization pressure due to readmitted MRSA colonized patients, since 46% of them were readmitted at least once, readmissions occurring less than three months after discharge in 2/3 cases. In intensive care units, 1/5 patient are colonized by Enterobacteriaceae producing broad spectrum beta-lactamase (ESBL) and/or high level cephalosporinase (HL-CASE), rates at admission being respectively 79.2% and 48.1% when considering all colonized patients. No screening strategy is able to detect 100% of colonization situations, the discontinuity of colonization during the hospital stay concerning a majority of patients. A significant inflexion in the slope in the HL-CASE incidence curve occurred after the substitution of ceftriaxone by cefotaxime. Finally, the optimization of ESBL screening by the assessment and then the use of a robot and dedicated culture media, allowed managing the increased number of screening specimens.

Key words: multi-drug resistance, data management, hospital, screening, MRSA, ESBL, epidemiology