UNIVERSITÉ PARIS XIII - SORBONNE PARIS NORD
ÉCOLE DOCTORALE SCIENCES, TECHNOLOGIES, SANTÉ, GALILÉE
DISCIPLINE : Sciences de la vie et de la Santé
ET
UNIVERSITÉ SAINT-JOSEPH DE BEYROUTH
ÉCOLE DOCTORALE SCIENCES ET SANTÉ
DISCIPLINE : Sciences pharmaceutiques et biologiques

THÈSE DE DOCTORAT

Entérobactéries Productrices de Carbapénémases, Comment Maitriser le Risque Pandémique Dans les Pays à Revenus Moyens ou Faibles ?

Présentée par :
Rindala SALIBA

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ PARIS XIII - SORBONNE PARIS NORD ET DE L'UNIVERSITÉ SAINT-JOSEPH DE BEYROUTH

Soutenue le 25/03/2022
Devant le jury d'examen constitué de :

JOIN-LAMBERT Olivier, Université de Caen Normandie, Rapporteur
SAMAHA Roula, Lebanese American University, Rapporteur
LE-MONNIER Alban, Université Paris Saclay, Examinateur
COHEN Yves, Université Paris Sorbonne Nord, Examinateur
ZAHAR Jean-Ralph, Université Paris Sorbonne Nord, Directeur de thèse
KARAM-SARKIS Dolla, Université Saint-Joseph, Co-directrice de thèse

UMR 1137 – IAME, Université de Paris 7 Denis Diderot, Faculté de Médecine, 16 rue Henri Huchard, B.P. 416 – 75870 Paris cedex 18 France.
Laboratoire des agents pathogènes, Université Saint-Joseph De Beyrouth, Rue de Damas, B.P. 11-5076 - Riad El Solh, Beyrouth 1107 2180 Liban.

LABORATOIRES D'ACCUEIL

Université de Paris 7 Denis Diderot
Faculté de Médecine
UMR 1137
16 rue Henri Huchard
B.P. 416 – 75870 Paris cedex 18 France

Hôpital Avicenne
Service de Microbiologie Clinique
125 Rue de Stalingrad, 93000 Bobigny, France

Université Saint-Joseph De Beyrouth
Campus de l'innovation et du sport
Laboratoire des agents pathogènes
Rue de Damas
B.P. 11-5076 - Riad El Solh
Beyrouth 1107 2180 Liban

FINANCEMENTS

Ce travail a été possible grâce au soutien financier du Conseil de la Recherche de l'Université Saint Joseph de Beyrouth (numéro du projet FPH95).

La thèse a été financée par le Centre National de la recherche scientifique – Liban (CNRS-L) et le financement du Partenariat Hubert Curien (PHC) Franco-Libanais du programme CEDRE.

RÉSUMÉ

Entérobactéries Productrices de Carbapénémases, Comment Maitriser le Risque Pandémique Dans les Pays à Revenus Moyens ou Faibles ?

Contexte. La résistance aux antibiotiques et les bactéries multi-résistantes (BMR) constituent un véritable problème de santé mondial. La diffusion des BMR est associée à des surcoûts et une surmortalité certaine. La dynamique de transmission inclue les patients colonisés ou infectés (réservoir), le personnel soignant (vecteur direct) et l'environnement (vecteur indirect). Plusieurs points d'intervention ont été définis, constituant la base des politiques internationales de lutte contre la diffusion des BMR. Ces recommandations reposent sur la stratégie de dépistage, isolement et cohorting des patients colonisés. Leur application, en France et au Liban, présente plusieurs défis. A part leur coût d'application élevé, elles nécessitent des ressources humaines et matérielles supplémentaires.

Objectifs. Evaluation de la place des nouvelles méthodes diagnostiques et les risques réels de diffusion liés aux Bactéries Hautement Résistantes émergentes (BHRe), afin d'adapter les politiques aux moyens des pays à revenus moyens ou faibles : (1) Est-il possible d'éviter l'arrêt de l'activité médicale en utilisant des moyens diagnostics qui permettent d'identifier en cas de découverte fortuite les patients contact ayant acquis une BHRe dès J0 ? (2) Existe-t-il une différence de contamination de l'environnement liée aux différentes espèces et mécanismes de résistance ; différence qui pourrait justifier un isolement ou le renforcement du bio-nettoyage ? Pouvons-nous identifier les caractéristiques cliniques de patients et/ou situations particulières de soins, nécessitant la mise en place de mesures de prévention renforcées ? (3) Existe-t-il un risque lié à l'isolement des patients colonisés ou infectés par une BHRe ?

Méthodes. ***1ère partie liée à la sensibilité et la spécificité des techniques moléculaires*** – (1) Revue systématique de la littérature, jusqu'au 1er octobre 2019 et méta-analyse selon la méthode PRISMA. (2) Etude multicentrique rétrospective entre janvier 2015 et octobre 2018, incluant tous les patients contact d'un patient index colonisé ou infecté par une BHRe, non isolé, découvert fortuitement. Pour les patients contact, une PCR a été réalisée à J0 directement sur les écouvillons rectaux et 3 cultures à une semaine d'intervalle. ***2ème partie liée à l'étude de dissémination des BMR et l'identification des facteurs de risque*** – (1) Etude de cohorte prospective entre mai 2018 et février 2020 à l'Hôpital Avicenne et l'Hôpital Hôtel Dieu de France de Beyrouth. 125 patients colonisés par une entérobactérie productrice de BLSE, EPC ou ERV ont été inclus. Pour chacun, une quantification dans les selles, des prélèvements environnementaux de 6 sites différents et une collecte de données cliniques ont été réalisés. (2) Etude de cohorte prospective entre mai 2019 et juillet 2020 incluant 19 patients colonisés par une EPC et hospitalisés pour une durée supérieure à 3 jours. Une détermination de l'abondance fécale relative en EPC à l'admission et toutes les 72h a été effectuée. ***3ème partie liée à la problématique des effets indésirables associés à l'isolement des patients*** – Revue systématique de la littérature, du 1er mai 2009 au 31 janvier 2020 et méta-analyse selon la méthode PRISMA.

Résultats. ***1ère partie*** – Les techniques moléculaires semblent avoir une sensibilité de 95% et une spécificité de 99% pour la détection des EPC directement à partir des écouvillons rectaux. En cas de découverte fortuite d'un patient colonisé ou infecté par une BHRe, non isolé, la réalisation d'une PCR sur les écouvillons rectaux des patients contact à J0 permet d'identifier les cas secondaires, avec une valeur prédictive négative de 98%. ***2ème partie*** – Le seul facteur de risque associé à la contamination de l'environnement était le portage rectal d'un ERV. Des variations importantes de l'abondance fécale relative en EPC existe chez un même patient durant son hospitalisation. ***3ème partie*** – Il n'existe pas d'événements indésirables physiques ou psychologiques associés à l'isolement des patients.

Conclusions. Les données présentées dans cette thèse nous permettent d'envisager une politique de maitrise du risque de diffusion des BHRe, adaptée aux moyens médicaux et structures sanitaires des pays à revenus moyens ou faible, comme le Liban. Cette politique consisterait à réserver l'application des précautions complémentaires contact uniquement aux patients colonisés ou infectés par un ERV. A l'inverse et concernant les patients colonisés ou infectés par une EPC, la stratégie de maitrise du risque de diffusion pourrait se limiter au respect des précautions standard et à un haut niveau de compliance à l'hygiène des mains, tout en respectant la politique de bon usage des antibiotiques.

Mots clés. Bactéries multi-résistantes ; Bactéries hautement résistantes émergentes ; Entérobactéries productrice de beta-lactamases à spectre étendu ; Entérobactéries productrices de carbapénémases ; Entérocoques résistants à la vancomycine ; Hygiène hospitalière.

ABSTRACT

Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* in Low to Middle Income Countries, How Can We Control the Future Pandemic?

Background. Antibiotic resistance and multi-resistant bacteria (MDR) are a real global health problem. The spread of MDR is associated with additional costs and higher mortality rates. The transmission dynamics include the colonized or infected patients (reservoir), the healthcare professionals (direct vector) and the environment (indirect vector). Several points of intervention have been defined, forming the basis of international policies to limit the spread of MDR. These recommendations are based on the screening, isolation and cohorting strategies. Its application, in France and Lebanon, presents several challenges. Apart from the high cost of application, it requires additional human and material resources.

Objectives. Assessment of the new diagnostic methods and real risks of dissemination of MDR, in order to adapt international policies to the capabilities of low to middle income countries: (1) Is it possible to avoid the cessation of medical activity by using molecular diagnostic techniques in order to identify at Day0, in the event of a fortuitous discovery, the contact patients who have acquired the MDR? (2) Is there a difference in environmental contamination related to different species and resistance mechanisms; difference that could justify the isolation or reinforcement of bio-cleaning? Can we identify the clinical characteristics of patients and/or particular care situations, requiring implementation of reinforced preventive measures? (3) Is there a risk in isolating colonized patients or patients infected with MDR?

Methods. ***1st part related to the sensitivity and specificity of molecular techniques*** – (1) Systematic review of the literature, until October 1, 2019 and meta-analysis according to the PRISMA method. (2) Retrospective multicenter study between January 2015 and October 2018, including all contact patients of a none isolated index patient colonized or infected with MDR, discovered incidentally. Each contact patient was investigated at Day0 by a PCR performed directly on rectal swabs and by the recommended three-weekly screenings**.** ***2nd part related to the MDR dissemination study and the identification of risk factors*** – (1) Prospective cohort study between May 2018 and February 2020 at Avicenne Hospital and Hôtel-Dieu de France Hospital in Beirut. 125 patients colonized by an ESBL-producing-*enterobacteriaceae*, a CPE or a VRE were included. For each patient, quantification of MDR in stool was undertaken, plus a qualitative evaluation of the presence of MDR in 6 different environmental sites. Clinical data was also collected. (2) Prospective cohort study between May 2019 and July 2020 including 19 patients colonized by a CPE and hospitalized for more than 3 days. A determination of the relative fecal abundance in CPE on admission and every 72 hours was carried out. ***3rd part related to the adverse events associated with patient isolation*** – Systematic literature review, from May 1, 2009 to January 31, 2020 and meta-analysis according to the PRISMA method.

Results. ***1st part*** – Molecular techniques appear to have 95% sensitivity and 99% specificity for detecting CPE directly from rectal swabs. In case of an accidental discovery of a none isolated patient colonized or infected by a MDR, the performance of a PCR on the rectal swabs of the contact patients on Day0 makes it possible to identify the secondary cases, with a negative predictive value of 98%. ***2nd part*** – The only risk factor associated with environmental contamination was rectal carriage of VRE. Significant variations in relative fecal CPE abundance exist in the same patient during hospitalization. ***3rd part*** – There are no physical or psychological adverse events associated with patient isolation.

Conclusions. A policy for controlling the spread of MDR adapted to the medical means and health structures of low to middle income countries, such as Lebanon, can be implemented. It would consist of reserving the application of contact precautions to patients colonized or infected with VRE. Conversely, concerning patients colonized or infected with CPE, the strategy for controlling the risk of dissemination could be limited to the application of standard precautions and a high level of compliance with hand hygiene, while adopting an efficient antibiotic stewardship program.

Keywords. Multi-resistant bacteria; Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*; Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*; Vancomycin-resistant *Enterococci*; Infection control.

VALORISATIONS SCIENTIFIQUES

Publications scientifiques :

R. Saliba, L-S. Aho-Glélé, D. Karam-Sarkis, J-R. Zahar. Evaluation of polymerase chain reaction assays for direct screening of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* from rectal swabs: a diagnostic meta-analysis.
J Hosp Infect. 2020 Mar;104(3):381–9. https://doi.org/10.1016/j.jhin.2019.11.017.

R. Saliba, C. Neulier, D. Seytre, A. Fiacre, F. Faibis, P. Leduc, M. Amara, F. Jauréguy, E. Carbonnelle, J-R. Zahar, L. Marty. Can Real-Time PCR Allow a Faster Recovery of Hospital Activity in Cases of an Incidental Discovery of Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* and Vancomycin-Resistant *Enterococci* Carriers?
J Hosp Infect. 2019 Jul 4;1532-2939. https://doi.org/10.1016/j.jhin.2019.07.004.

R. Saliba, T. Ghelfenstein-Ferreira , A. Lomont , B. Pilmis , E. Carbonnelle, D. Seytre, E. Nasser Ayoub, J.-R. Zahar, D. Karam-Sarkis. Risk Factors for the Environmental Spread of Different Multidrug-Resistant Organisms: a Prospective Cohort Study.
J Hosp Infect. 2021 May;111:155–61. https://doi.org/10.1016/j.jhin.2021.01.029

R. Saliba, A. Lemont, J-L. Eudesson, D. Seytre, J-R. Zahar and B. Pilmis. Significant Variation in the Fecal Relative Abundance of Carbapenemase-Producing-*Enterobacteriaceae* of Colonized Patients During Hospitalization: A preliminary study.
Int J Antimicrob Agents. 2021 Nov 18;106479. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2021.106479

R. Saliba, D. Karam-Sarkis, J-R. Zahar, L.S. Aho-Glélé. Adverse Events Associated with Patient Isolation : a Systematic Literature Review and Meta-analysis.
J Hosp Infect. 2021 October;1532-2939. https://doi.org/10.1016/j.jhin.2021.09.023

R. Saliba, A. Mizrahi, P-D-P. Gauthier, A. Le Monnier, J-R. Zahar and B. Pilmis. Antimicrobial Stewardship Program : Reducing Antibiotic's Spectrum of Activity Is not the Solution to Limit the Emergence of Multidrug-Resistant Bacteria.
Antibiotics. 2022, *11*(1), 70. https://doi.org/10.3390/antibiotics11010070

Communications scientifiques :

R. Saliba, C. Neulier, D. Seytre, A. Fiacre, F. Faibis, P. Leduc, M. Amara, F. Jauréguy, E. Carbonnelle, J-R. Zahar, L. Marty. Effectiveness of Real-Time PCR (Cefeid GeneXpert) as a Screening Tool for Infection Control Management.
ECCMID 2019. (Poster)

R. Saliba, T. Ghelfenstein-Ferreira , A. Lomont , B. Pilmis , E. Carbonnelle, D. Seytre, E. Nasser Ayoub, J.-R. Zahar, D. Karam-Sarkis. Risk factors for the environmental spread of different multidrug-resistant organisms.
RICAI 2019. (Poster)

REMERCIEMENTS

« On ne peut applaudir d'une seule main »
Morgan Sportès

Arrivée au terme de cette thèse, il m'est particulièrement agréable d'exprimer ma gratitude et mes remerciements à tous ceux qui, par leur enseignement, leur soutien et leurs conseils, m'ont aidé à sa réalisation.

A mon directeur, **Pr Jean-Ralph ZAHAR**, je ne sais pas par où commencer. Vous m'avez accompagné depuis que j'étais interne à Paris. Vous avez cru en moi et m'avez montré un grand soutien à tous les niveaux, tout au long de mon parcours et face à toutes les contraintes que j'ai vécues. Tout au long de ce travail, vous avez su m'apporter une disponibilité, une écoute et une confiance. Vos connaissances, conseils et critiques constructifs m'ont permis de mener à bien ce travail. Je suis ravie d'avoir travaillé en votre compagnie car, outre votre appui scientifique, vous avez toujours été là pour me guider, au cours de l'élaboration de cette thèse. J'ai beaucoup appris de vous et je continue. Merci pour tout.

A mon co-directeur, **Pr Dolla KARAM SARKIS**, je vous remercie d'avoir accepté de codiriger ce travail. Votre bonne humeur, votre sens de compréhension et votre ardeur au travail, m'ont permis, tout au long de ces années de travailler dans une atmosphère de confiance et de sécurité. Soyez assurée de ma sincère gratitude et mes vifs remerciements.

Ma gratitude va également au **Pr Etienne CARBONNELLE** et son équipe de microbiologie clinique à l'hôpital Avicenne, qui m'ont honorée de leur confiance en acceptant de m'accueillir au sein de leur unité, ou j'ai beaucoup appris. Une pensée particulière au **Pr Ludwig Serge AHO GLÉLÉ**, qui m'a bien encadré dans la partie épidémiologique de ce travail. Merci d'avoir été tout le temps disponible et pédagogique.

Par ailleurs, la réalisation d'une partie du travail a été rendue possible grâce aux soutiens financiers de la Faculté de Pharmacie, représentée par son Doyen **Pr Marianne ABI FADEL**, le conseil de recherche de l'Université Saint-Joseph de Beyrouth, et le CNRS-L que je remercie infiniment.

Enfin, au terme de ces remerciements, je souhaiterai rendre hommage à chacun des membres de ma famille : ma mère **Samira**, mes sœurs **Rania** et **Lana** et en particulier mon père, **Jean SALIBA** ; pour sa générosité, son dévouement, son amour et son soutien incommensurable tout au long de mes études. Puissiez-vous trouver dans cette thèse l'empreinte de mon éternelle reconnaissance et mon indéfectible affection. Aussi, une mention spéciale à mes amies **Melissa HACHEM**, **Mary HAWAT** et **Yara DARZI**, pour leur soutien moral inconditionnel. Merci d'avoir été de vraies sœurs. A **Milio GHANEM**, ton soutien a été sans faille et tes conseils sages ont été des mains tendues, surtout pendant les moments les plus difficiles. Merci « achta ».

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION GÉNÉRALE 13

DONNÉES BIBLIOGRAPHIQUES 18

1. Etat actuel des connaissances relatives aux BHRe 18

1.1. Généralités 18

1.1.1. Les carbapénémases 18

1.1.2. Les ERV 23

1.2. Epidémiologie générale 25

1.2.1. Epidémiologie des EPC 25

1.2.2. Epidémiologie des ERV 32

1.3. Les méthodes de détection microbiologique des EPC 33

2. Physiopathologie de la transmission des BHRe 36

2.1. Les mécanismes génétiques liés à la résistance 36

2.2. Les mécanismes liés à la colonisation intestinale 41

2.3. La diffusion en milieu hospitalier et en communautaire 52

2.4. Le poids de l'antibiothérapie 61

3. Les politiques de maitrise de la diffusion des BHRe 66

3.1. La surveillance 68

3.2. La chambre individuelle 72

3.3. L'hygiène des mains 73

3.4. Les précautions complémentaires contact 76

3.5. Le cohorting 77

3.6. La maitrise de l'antibiothérapie 81

3.7. Les contraintes d'application 84

3.7.1. Relatives aux pays à revenus élevés 84

3.7.2. Spécifiques aux pays à revenus moyens et faibles 85

LES OBJECTIFS DE LA THÈSE 89

MÉTHODES, RÉSULTATS ET DISCUSSION 91

1- Eviter la diffusion des BHRe sans arrêter l'activité des services hospitaliers 91

a. Evaluer l'efficacité des méthodes moléculaires réalisées directement sur les écouvillons rectaux dans le dépistage des patients colonisés par une EPC. 92

b. Déterminer la sensibilité et spécificité de la PCR GeneXpert (Cepheid®) réalisée à J0 sur les écouvillons rectaux des patients contact d'un patient colonisé ou infecté par une EPC ou un ERV, non isolé, découvert fortuitement. 104

2- La contamination de l'environnement hospitalier autour de différentes espèces bactériennes, colonisant ou infectant des patients avec des caractéristiques cliniques différentes ou nécessitant des types de soins particuliers. 113

a. Exploration de la dissémination des BMR dans l'environnement hospitalier à travers l'identification des facteurs de risque de dissémination des entérobactéries productrices de BLSE, EPC et ERV au sein de la structure hospitalière. 113

b. Dynamique de la colonisation chez les patients hospitalisés : étude de l'évolution dans le temps de la colonisation par une EPC chez les patients colonisés. 130

3- La problématique des effets indésirables liés à l'isolement des patients. 134

DISCUSSION GÉNÉRALE 149

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES 151

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 153

LISTE DES ABRÉVIATIONS

APHP : Assistance publique des hôpitaux de Paris

BHRe : Bactéries hautement résistantes aux antibiotiques émergentes

BLSE : Beta-lactamases à spectre étendu

BMR : Bactéries multi-résistantes

C3G : Céphalosporines de 3ème génération

CLIN : Comité de lutte contre les infections nosocomiales

CMI : Concentrations minimales inhibitrices

EARS : European Antimicrobial Resistance Surveillance Network

ECDC : European Center for Disease Control

EPC : Entérobactéries productrices de carbapénémases

ERV : Entérocoques résistants à la vancomycine

HCase : Entérobactéries productrices d'une céphalosporinase déréprimée

LFIA : Tests immunologiques à flux latéral

OMS : L'Organisation mondiale de la santé

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline

SHA : Solution hydro-alcoolique

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Spectre d'activité enzymatique clinique des ß-lactamases à activité carbapénémase de différentes classes d'Ambler. 21

Figure 2 : Distribution globale des EPC par pays en 2017. (Adapté de (99)..... 26

Figure 3 : Prévalence des souches de K. pneumoniae résistantes aux carbapénèmes en 2019 en Grèce, Italie, Roumanie, Portugal, Espagne, France, Bélgique, Royaume-Unis, Allemagne et Danemark. (Adapté de (100) 27

Figure 4 : Evolution de la prévalence des souches de K. pneumoniae résistantes aux carbapénèmes de 2005 à 2019, en Grèce, Italie, Roumanie, Portugal, Espagne, France, Bélgique, Royaume-Unis, Allemagne et Danemark. Adapté de (100) 28

Figure 5 : Mécanismes de transfert horizontal de gènes. (Adapté de (148) 38

Figure 6 : Principaux mécanismes d'inhibition directe de la colonisation par des bactéries exogènes multi-résistantes. (Adapté de (195)..... 45

Figure 7 : Mécanismes d'inhibition indirecte de la colonisation à bactéries exogènes multi-résistantes. (Adapté de (195) 48

Figure 8 : Représentation schématique de l'arbre phylogénétique des bactéries du microbiote intestinal. (Adapté de (242) 50

Figure 9 : Schéma expliquant les mécanismes d'émergence de la résistance. 61

Figure 10: L'incidence d'acquisition nosocomiale mensuelle d'EPC dans 27 hôpitaux israéliens, entre janvier 2005 et septembre 2010. (Adapté de (37,412) 79

Figure 11 : L'incidence d'EPC et les proportions d'épidémies résultantes dans 38 hôpitaux français, entre 2004 et 2015. (Adapté de (36) 80

Figure 12 : L'incidence d'ERV et les proportions d'épidémies résultantes dans 38 hôpitaux français, entre 2004 et 2015. (Adapté de (36) 80

Figure 13 : Organigramme du processus de sélection des études. Adapté de Moher et al., 2009.93

Figure 14 : Schéma illustrant la technique de quantification des BMR dans les selles..... 116

Figure 15 : Schéma illustrant la méthodologie des prélèvements des échantillons de l'environnement..... 117

Figure 16 : Organigramme du processus de sélection des études. Adapté de Moher et al., 2009. 135

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Exemples des premières carbapénémases décrites chez les entérobactéries, leurs familles, espèces bactériennes, localisations génétiques et pays d'origine respectifs. (Adapté de (75)..... 22

Tableau II : Phénotypes de résistance à la vancomycine retrouvés chez les entérocoques. (Adapté de (91,95) 24

Tableau III : Epidémiologie des EPC rapportées dans différents pays du Moyen-Orient. (Adapté de (107)..... 30

Tableau IV : Sensibilité et spécificité des différentes méthodes microbiologiques de détection des EPC, comme rapportées par les auteurs. 35

Tableau V : Détails des BMR isolées de l'environnement communautaire au Liban. 58

Tableau VI : Récapitulatif de l'impact des principales mesures de lutte contre la diffusion des BHRe en milieu hospitalier et leurs limites d'application..... 83

Tableau VII : Résumé des différents moyens rapportés par les hôpitaux participants à l'enquête. 86

INTRODUCTION GÉNÉRALE

La résistance aux antibiotiques et les bactéries multi-résistantes (BMR) constituent un véritable problème de santé mondial. La diffusion des BMR est associée à des surcoûts et une surmortalité certaine. L'organisation mondiale de la santé (OMS) a classé la lutte contre la diffusion des BMR comme une priorité « critique ». (1)

La multi-résistance est observée lorsqu'une bactérie accumule des résistances naturelles et/ou acquises vis-à-vis de plusieurs familles d'antibiotiques. Il suffit, en effet, que la souche bactérienne acquiert une résistance à au moins deux antibiotiques différents, appartenant à des familles différentes et par des mécanismes indépendants, pour qu'elle soit qualifiée de multi-résistante. La résultante en est que seul un petit nombre d'antibiotiques utilisables en thérapeutique, restent actifs sur les BMR avec un risque d'échec thérapeutique possible. (2,3) Le développement de ces résistances pourrait conduire à terme à des impasses thérapeutiques.

Ces deux dernières décennies, nous avons assisté dans le monde entier à l'apparition et la diffusion de nombreux mécanismes de résistances au sein des bactéries, commensales et fréquemment responsables d'infections. Une des particularités redoutables de certains mécanismes de résistance réside dans leur caractère transférable, car portés par des éléments génétiques mobiles tels que les intégrons, transposons et plasmides. (4) Dans un premier temps, il s'agissait de β-lactamases à spectre étendu (BLSE), mécanisme de résistance qui inactive l'ensemble des β-lactamines à l'exception des carbapénèmes, mais, pour lequel, de nombreuses options thérapeutiques étaient encore possibles. Nous avons assisté depuis à l'émergence et la diffusion d'entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC) et des entérocoques résistants à la vancomycine (ERV), rassemblés sous l'acronyme de « Bactéries Hautement Résistantes émergentes aux antibiotiques » (BHRe) dans les pays francophones et qui posent de réels problèmes thérapeutiques, dans la mesure où, jusqu'à très récemment, il n'existait que peu ou pas d'options thérapeutiques.

La nécessité de lutter contre la diffusion des BHRe réside dans les faits suivants : le vecteur plasmidique de la résistance, la diffusion au sein d'espèces commensales, l'implication fréquente de ces espèces commensales dans la survenue des infections communautaires et associées aux soins et le fait que l'hôpital reste à ce jour l'épicentre de la résistance.

Une attention particulière est apportée aux infections causées par les BMR dans les établissements hospitaliers, du fait de leur prévalence élevée et leurs conséquences pour les patients. Les patients

hospitalisés, particulièrement les plus sévères, cumulent plusieurs facteurs de risque de colonisation et d'infection à BMR, tels que, l'administration d'antibiotiques, la présence de dispositifs invasifs à demeure et une durée prolongée de séjour à l'hôpital. (5–8)

En outre, les membres du personnel soignant et l'environnement hospitalier peuvent constituer une voie de transmission directe et indirecte des BMR. (9–13) La détection de la contamination de l'environnement hospitalier a été principalement étudiée pour divers germes à Gram positif. (14) Plusieurs études ont suggéré un risque élevé de contamination de l'environnement autour des porteurs de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) et ERV. (15,16) Parmi les bacilles à Gram négatif, une contamination environnementale a été décrite pour les entérobactéries productrices de BLSE (17,18) et les EPC et semble variable selon l'espèce. (14) La dynamique de transmission inclue donc les patients colonisés ou infectés (réservoir), le personnel soignant (vecteur direct) et enfin l'environnement (vecteur indirect).

La colonisation à BMR expose à un sur-risque d'infections communautaires et nosocomiales, pouvant conduire à une inadéquation thérapeutique, voire à des échecs thérapeutiques et donc à une surmortalité. Aux États-Unis, plus de 2,8 millions d'infections résistantes aux antibiotiques surviennent chaque année, entraînant 35 000 décès. (19) En 2015 en France, les BMR étaient impliquées dans 158 000 infections dont 12 400 décès. (20)

Si la colonisation à BMR est associée à un haut risque d'infection et à une mortalité attribuable importante, les infections à BHRe entrainent de plus une hausse des coûts d'hospitalisation. (21) Ceci s'explique par les séjours hospitaliers plus prolongés, la nécessité de traiter la morbidité résultant des infections et l'utilisation de nouveaux antibiotiques à coût très élevé. (22,23) Un rapport d'experts a estimé que 700 000 décès dans le monde par année étaient liés à la résistance aux antibiotiques et prédit qu'une augmentation continue de la résistance entraînera 10 millions de décès par an et coûtera jusqu'à 100 000 milliards de dollars d'ici 2050. (24) En parallèle, la société américaine des maladies infectieuses a estimé que les infections à BMR causent 21 à 34 millions de jours d'hospitalisation supplémentaires par an aux États-Unis. (25)

Les BMR en milieu communautaire reçoivent moins d'attention, mais contribuent également au fardeau global des effets néfastes sur la santé. Les entérobactéries productrices de BLSE, par exemple, sont passées d'agents pathogènes principalement nosocomiaux, à des BMR prévalent en communautaire. (26,27) Les ERV sont encore considérés comme des bactéries principalement acquises en milieu hospitalier. Cependant, certaines études en communautaire ont montré que la

prévalence de la colonisation par les ERV allait de 5 à 38%, indiquant que leur présence en communautaire pouvait être plus importante qu'on ne le pensait auparavant. (28–33) En parallèle, les porteurs de BMR en communautaire peuvent également les réintroduire dans les établissements hospitaliers à leur admission. Le potentiel d'un cycle de transmission de BMR entre les milieux communautaires et hospitaliers existe et la résolution de ce problème permettrait de maitriser le fardeau causé par les BMR. (34)

L'augmentation de la prévalence des BHRe en milieux hospitaliers et communautaires, associée à une augmentation de la morbidité, la mortalité et des coûts de soins, ainsi qu'à la crainte d'une impasse thérapeutique, justifient l'intérêt de la lutte contre l'acquisition et la transmission des BHRe. Ceci constitue un véritable défi pour les cliniciens, les microbiologistes et les autorités de santé. (22)

Plusieurs points d'intervention ont été définis, constituant la base des politiques internationales de prévention des infections. Depuis 2004, les BHRe sont sous haute surveillance en France. En 2009, des recommandations ont été émises par le Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales (CLIN) central de l'Assistance Publique des Hôpitaux de Paris (APHP), suivies en 2013, par des recommandations nationales pour la prévention de la transmission inter-hospitalière des BHRe, émises par le Haut Conseil de Santé Publique. (35) Ces recommandations reposent sur les stratégies de dépistage, isolement et cohorting des patients colonisés. Ces stratégies ont largement fait leurs preuves dans la littérature française et internationale. (36,37)

En Europe et en France particulièrement, l'augmentation de l'incidence des BHRe observée depuis quelques années est particulièrement préoccupante. (4,38–40) L'épicentre actuel de la résistance sont les pays à revenus moyens et faibles, particulièrement les pays du pourtour méditerranéen, dont le Liban. Les données sur la résistance en clinique chez les bacilles à Gram négatif, en particulier chez les entérobactéries, sont limitées dans les pays à revenus moyens ou faibles, y compris le Liban. (41,42) La France est particulièrement concernée du fait de ses relations privilégiées avec les pays du bassin méditerranéen. L'ouverture des frontières, les problèmes géopolitiques et les échanges humains avec la France sont à la base des inquiétudes scientifiques et épidémiologiques actuelles. La maitrise de la diffusion des BMR dans les pays riches uniquement n'est pas suffisante pour contenir la propagation mondiale de la résistance et éviter la pandémie.

L'application des politiques internationales de maitrise du risque de diffusion des BHRe, en France et au Liban, présentent quand même plusieurs défis. A part leur coût d'application élevé, ces recommandations nécessitent des ressources humaines et matérielles supplémentaires. (43) Des défis supplémentaires s'y ajoutent. En effet, les dernières années ont mis en évidence une augmentation de la prévalence de la colonisation par une BHRe dans la population générale (44) et l'augmentation de l'incidence en milieu hospitalier, (40) se traduisant par l'augmentation du réservoir de la résistance, qui aurait comme conséquences directes : (1) la difficulté de maintenir tous les patients colonisés en chambre individuelle ; (2) la difficulté de suivre les patients contact sur une période de 3 semaines ; (3) les évènements indésirables potentiellement liés à l'isolement des patients. (9) En parallèle, dans les pays à revenus moyens et faibles, dont le Liban, en plus des défis déjà cités, le manque de ressources et les difficultés du système de santé à moitié privatisé, constituent des contraintes supplémentaires à l'application des politiques internationales de maitrise du risque de diffusion des BHRe. Par ailleurs, des publications récentes ont suggéré que les politiques d'isolement des patients contact et/ou les chambres individuelles pour les patients colonisés ou infectés par des BMR ne présentaient pas d'avantages supplémentaires par rapport aux politiques standards de contrôle des infections. (45,46)

Le but de mon travail de thèse de Doctorat s'inscrit dans ce contexte et visait à évaluer les moyens économiques des organisations sanitaires locales des pays à revenus moyens ou faibles, qui permettraient une meilleure maitrise du risque de diffusion des BHRe, en particulier les EPC. Il a consisté à étudier les différents aspects du risque de dissémination des BHRe dans l'environnement.

Le premier chapitre de cette thèse s'ouvre sur la présentation de l'épidémiologie générale des EPC et ERV, de même que la physiopathologie de leur transmission, allant de leurs propriétés microbiologiques, aux mécanismes de colonisation, leur diffusion dans l'environnement et le poids additionnel causé par l'antibiothérapie. Une description des politiques de maitrise du risque de leur diffusion, testée à ce jour, sera ensuite exposée, tout en discutant leurs contraintes d'application. Dans ce contexte, nous présenterons les objectifs spécifiques de cette thèse.

Le second chapitre rassemble les méthodes et résultats présentés successivement en 3 parties et les discute. La première partie détaillera le volet lié à la sensibilité et la spécificité des techniques moléculaires dans le dépistage des patients colonisés par une BHRe. La deuxième partie sera

consacrée à l'étude de dissémination des BMR dans l'environnement hospitalier et l'identification des facteurs de risque de dissémination. La troisième partie abordera la problématique des effets indésirables liés à l'isolement des patients.

Le troisième chapitre constitue la discussion générale. Le quatrième chapitre est consacré à la conclusion et les perspectives de ce travail de thèse.

DONNÉES BIBLIOGRAPHIQUES

Ce chapitre a pour objectif de faire le point sur l'épidémiologie des BHRe en générale, des EPC en particulier et le mécanisme de leur transmission. L'état actuel des connaissances relatives aux BHRe, y compris leur épidémiologie dans le monde, notamment en France et au Liban et les méthodes microbiologiques de leur détection, seront détaillés dans la première partie. Ensuite, la physiopathologie de leur transmission sera exposée dans la deuxième partie. Enfin, une troisième partie envisagera l'état de l'art sur les politiques de maitrise de la diffusion des BHRe, leur succès et les contraintes liées à leur application.

1. Etat actuel des connaissances relatives aux BHRe

1.1. Généralités

1.1.1. Les carbapénémases

Comme toutes les autres ß-lactamases, les carbapénémases peuvent être classées selon leurs propriétés moléculaires (Classification d'Ambler) ou fonctionnelles (Classification de Bush-Jacoby-Medeiros). Selon la classification d'Ambler la plus commune, les carbapénémases sont catégorisées en classes A, B, C et D. Le spectre d'activité enzymatique clinique pour chaque classe de β-lactamases à activité carbapénémase est résumé dans la Figure 1. Plusieurs β-lactamases à activité carbapénémase de classe A, utilisant une sérine pour l'hydrolyse du noyau lactame, ont été identifiées avec un large profil d'hydrolyse conférant une résistance à toutes les β-lactamines, à l'exception des céphamycines. (47) Les bactéries exprimant ces enzymes sont caractérisées par une sensibilité diminuée à l'imipénème avec des concentrations minimales inhibitrices (CMI) pouvant être peu ou très élevées. (48) Certaines carbapénémases de classe A sont chromosomiques, d'autre plasmidiques. Les différentes carbapénémases de classe A identifiées dans la littérature chez les entérobactéries, sont présentées dans le Tableau I, décrivant les premières enzymes isolées et leur famille, les espèces bactériennes respectivement concernées, leur localisation moléculaire dans le génome bactérien, ainsi que leur pays d'origine. Les carbapénémases chromosomiques de classe A n'ont jamais été décrites sur un élément génétique mobile, ce qui explique leur diffusion en mode sporadique autour du monde. (49) Parmi les carbapénémases plasmidiques de classe A, la plus inquiétante est KPC, du fait qu'elle est codée par un plasmide conjugatif et fréquemment associée à *Klebsiella pneumoniae*. La première KPC a été décrite en Caroline du Nord en 1996.

(50) Peu de temps après, des épidémies à *K. pneumoniae* KPC-2 et KPC-3 ont été rapportée à New York. (51,52) Plus tard, ces carbapénémases se sont propagées dans les pays de l'Europe de l'Est et ont disséminé au sein d'autres entérobactéries, phénomène résultant de l'expansion clonale et le transfert horizontal des plasmides. (53) En quelques années, les entérobactéries productrices de KPC sont devenues mondiales, rapportées aux Nord et Sud de l'Amérique, le Moyen-Orient, la Grèce, l'Italie et la Chine, considérée actuellement comme pays endémique à KPC. (54) A ce jour, plus de 20 variants différents de KPC sont décrits.

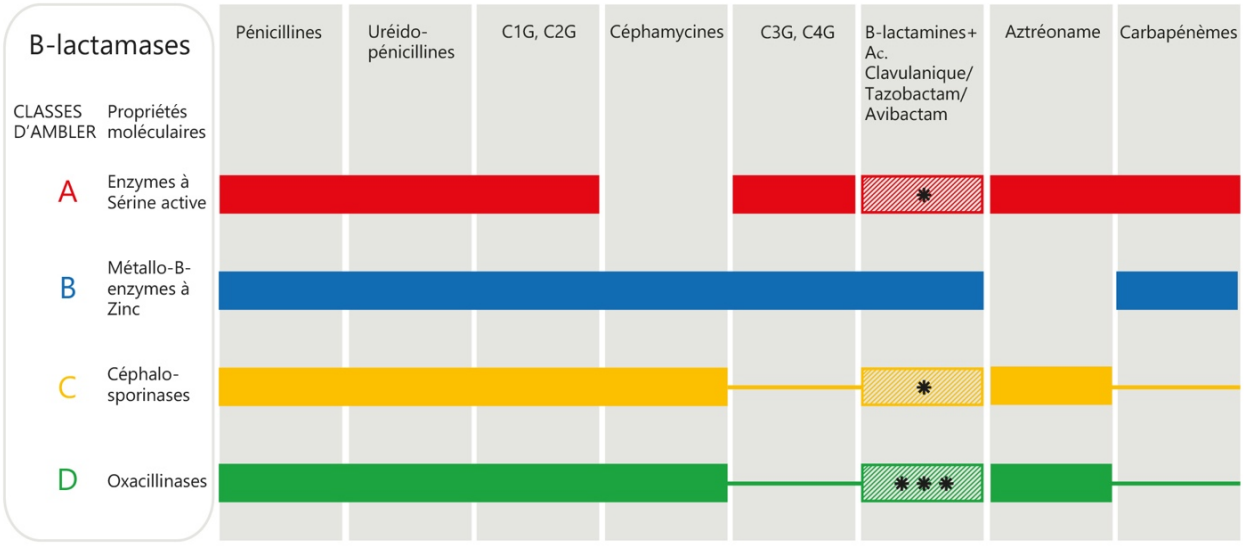
Les β-lactamases à activité carbapénémase de classe B ont un spectre d'action large qui englobe toutes les β-lactamines à l'exception de l'aztréonam. (55) Initialement, les premières métallo-β-lactamases étaient des enzymes chromosomiques ubiquitaires, identifiées il y a plus de 50 ans chez les bactéries opportunistes, comme *Bacillus cereus*, *Aeromonas* spp., *Legionella gormanii*, *Pseudomonas stutzeri, Shewanella* spp., et *Stenotrophomonas maltophilia*. (48,56,57) Les métallo-β-lactamases chromosomiques ne sont pas facilement transférables et de ce fait, n'ont pas été à l'origine d'épidémies. La première métallo-β-lactamases transférable a été isolée chez *Pseudomonas aeruginosa* en 1991 et a été nommée IMP-1. (58) Rapidement, cette même carbapénémase a été transférée aux entérobactéries et identifiée en premier chez *Serratia marcescens* au Japon. Les pays d'Asie Sud-Est restent, jusqu'à présent, le plus grand réservoir de carbapénémases de type IMP. (56) Actuellement, le nombre de variant IMP décrits à travers le monde est aux alentours de 50. (48) IMP-27 a été isolé chez des entérobactéries dans l'environnement et les prélèvements rectaux d'animaux aux Etats-Unis. (59) De ce fait, les carbapénémases de la famille IMP peuvent jouer un rôle dans la dissémination d'EPC chez les hommes, les animaux et l'environnement. Parmi les carbapénémases de classe B chez les entérobactéries, les plus préoccupantes sont les NDM. En effet, l'enzyme initiale, NDM-1, a été isolée d'une souche de *K. pneumoniae* résistante aux carbapénèmes à partir des urines d'un patient suédois qui a voyagé à New Delhi. (60) En 2010, NDM-1 a été introduite à des pays autres que l'Inde, y compris les pays européens et les États-Unis. Néanmoins, le continent indien reste le réservoir de ces carbapénémases. (61) Par ailleurs, des entérobactéries productrices d'NDM ont été décrites dans l'environnement hospitalier, (62) chez les volailles (63) et chez les blessés victimes de guerre au Moyen-Orient. (64)

Les β-lactamases à activité carbapénémase de classe D ou oxacillinases sont les plus récemment décrites. Ces carbapénémases étaient relativement rares et toujours médiées par un plasmide. (65)

Elles sont appelées oxacillinases du fait qu'elles sont capables d'hydrolyser les isoxazolylpenicillines comme l'oxacilline, la méthicilline et la cloxacilline, plus rapidement que les pénicillines classiques, et sont relativement moins efficaces sur les céphalosporines de 1ère génération. (66) Le site actif de ces enzymes est constitué d'une structure sérine très conservée, caractéristiquement non inhibée par les inhibiteurs des β-lactamases ou l'EDTA. (67) La première carbapénémase de type oxacillinase, OXA-23, a été identifiée sur un plasmide chez une souche d'*Acinetobacter baumannii* multi-résistante, isolée d'une hémoculture d'un patient hospitalisé en Écosse en 1985. (68) Les oxacillinases, particulièrement décrites chez les entérobactéries, sont les OXA-48-like. Ces dernières sont les carbapénémases les plus préoccupantes, du fait de leur prévalence mondiale croissante depuis 10 ans. La première OXA-48 a été décrite chez *K. pneumoniae* en Turquie. (69) Ces carbapénémases sont redoutables en microbiologie clinique, comme leur activité sur les carbapénèmes est modeste, se traduisant par une légère augmentation des CMI aux carbapénèmes, rendant leur identification au laboratoire parfois difficile. (65) Les réservoirs d'EPC de type OXA-48-like les plus importants sont la Turquie, l'Inde, le Moyen-Orient et les pays de l'Afrique du Nord. En parallèle, une dissémination à l'état sporadique des OXA-48-like sont décrites dans plusieurs pays européens, dont, la France, l'Allemagne, les Pays-Bas, l'Italie, la Belgique, la Grande-Bretagne, l'Irlande, la Slovénie, la Suisse et l'Espagne. (70)

Enfin, plus récemment, des études ont décrit de rares β-lactamases de classe C, ou céphalosporinases chez les entérobactéries possédant une activité sur carbapénèmes (Figure 1, Tableau I). Il s'agit de céphalosporinases AmpC portées par des plasmides de type CMY-2, ACT-1 et DHA-1, capables de favoriser l'émergence d'une résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries caractérisées par une perte de porines associée. (71,72) CMY-10 était la première décrite parmi les céphalosporinases plasmidiques de classe C. (73) Différentes études ont montré que ces rares céphalosporinases peuvent provoquer une résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries, si associées à des mécanismes de résistance supplémentaires, y compris l'imperméabilité et/ou la surproduction de pompes à efflux. (72,74)

Figure 1 : Spectre d'activité enzymatique clinique des ß-lactamases à activité carbapénémase de différentes classes d'Ambler.



C1G : Céphalosporines de 1ère génération. C2G : Céphalosporines de 2ème génération. C3G : Céphalosporines de 3ème génération. C4G : Céphalosporines de 4ème génération.
**Activité enzymatique couvrant les associations ß-lactamines +inhibiteurs, sauf ß-lactamines -Avibactam.*
****Activité enzymatique couvrant les associations ß-lactamines +inhibiteurs, y compris ß-lactamines -Avibactam.*
Activité enzymatique importante.
Activité enzymatique faible.

Tableau I : Exemples des premières carbapénémases décrites chez les entérobactéries, leurs familles, espèces bactériennes, localisations génétiques et pays d'origine respectifs.
(Adapté de (75)

Classe d'Ambler	Famille de ß-lactamases	ß-lactamases à activité carbapénémase	Pays de détection	Espèces d'entérobactéries	Localisation génétique	Réf.
Classe A	NmcA	NmcA	France	*Enterobacter cloacae*	C	(76)
	SME	SME-1	Royaume-Unis	*Serratia marcescens*	C	(77)
		SME-4	Argentine	*Serratia marcescens*	C	(78)
	IMI	IMI-1	États-Unis	*Enterobacter cloacae*	C	(79)
		IMI-2	États-Unis	*Enterobacter asburiae*	P	(49)
		IMI-3	Hong-Kong	*Enterobacter cloacae*	P	(49)
		IMI-5	Canada	*Enterobacter cloacae*	P	(49)
		IMI-6	Canada	*Enterobacter cloacae*	P	(80)
	KPC	KPC-1	États-Unis	*Klebsiella pneumoniae*	P	(81)
		KPC-2	États-Unis	*Klebsiella pneumoniae*	P	(51)
		KPC-3	États-Unis	*Klebsiella pneumoniae*	P	(51,82)
Classe B	IMP	IMP-4	États-Unis	*Klebsiella pneumoniae*	P	(83)
	NDM	NDM-1	Inde	*Klebsiella pneumoniae*	P	(60)
		NDM-3	Japon	*Escherichia coli*	P	(84)
		NDM-4	Inde	*Escherichia coli*	P	(85)
		NDM-5	Royaume-Unis	*Escherichia coli*	P	(86)
Classe C	ACT	ACT-28	France	*Enterobacter cloacae*	C	(87)
	CMY	CMY-10	Corée	*Enterobacter cloacae*	P	(55)
Classe D	OXA	OXA-48	Turquie	*Klebsiella pneumoniae*	C , P	(69,88–90)

NmcA = not metalloenzyme carbapenemase A. SME = Serratia marcescens enzyme. IMI = imipenem-hydrolyzing-lactamase. KPC = Klebsiella pneumoniae carbapenemase. IMP = imipenemase. NDM = New Delhi metallo--lactamase. ACT = AmpC type. CMY = cephamycinase. OXA = oxacillinase.
C = Localisation chromosomique. P = Localisation plasmidique. Réf. : Références.

1.1.2. Les ERV

La résistance acquise des entérocoques aux glycopeptides, vancomycine et teicoplanine, a initialement été décrite en Europe en 1986, sans nécessairement impliquer des souches multi-résistantes ou des patients hospitalisés. (91,92) Neuf types de résistance aux glycopeptides ont été décrits jusqu'à présent, chacun associé à différents éléments génétiques codant pour un précurseur de la paroi cellulaire de la bactérie, ayant une affinité réduite pour la vancomycine. Trois sont rencontrés plus fréquemment : le phénotype VanA qui confère une résistance inductible élevée à la vancomycine et à la teicoplanine, le phénotype VanB qui confère une résistance inductible modérée à élevée à la vancomycine seulement, et le phénotype VanC qui confère une résistance constitutive de bas niveau à la vancomycine. Six autres phénotypes de résistance décrits ne sont rencontrés que rarement, soit les phénotypes VanD, VanE, VanG, VanL, VanM et VanN. (93–96) Seuls les gènes VanA et VanB sont transférables et sont régulièrement associés, en milieu hospitalier, à des épidémies d'ERV. Il est important de distinguer l'*E. gallinarum* et l'*E. casseliflavus* des autres espèces d'entérocoques. Ces derniers possèdent une résistance de bas niveau, de type intrinsèque à la vancomycine, liée à des gènes non transférables (VanC) et n'ayant pas d'intérêt épidémiologique. (91,95) Les différents phénotypes de résistance à la vancomycine chez les entérocoques, ainsi que le détail de leurs expressions génétiques respectives, sont résumés dans le Tableau II.

Tableau II : Phénotypes de résistance à la vancomycine retrouvés chez les entérocoques.
(Adapté de (91,95)

	Résistance acquise								Résistance intrinsèque
Phénotype	*VanA*	*VanB*[c]	*VanD*[c]	*VanE*	*VanG*[c]	*VanL*	*VanM*	*VanN*	*VanC*[c]
CMI à la Vancomycine (mg/L)	16-1000	4-32	64-128	8-32	16	8	>256	16	2-32
CMI à la Teicoplanine (mg/L)	16-512	0.5-1	4-64	0.5	0.5	Sensible	96	0.5	0.5-1
Expression du gène	Ind.	Ind.	Cons.	Ind.	Ind.	Ind.	Ind.	Cons.	Cons. ou Ind.
Localisation du gène	P ou C	P ou C	C	C	C	Inconnue	P	P	C
Transfert du gène par conjugaison	Oui	Oui	Non	Non	Oui	Inconnue	Oui	Oui	Non
Espèces impliquées	*E. faecium* *E. faecalis* *E. durans* *E. hirae* *E. gallinarum*[a] *E. casseliflavus*[a.b] *E. raffinosus* *E. avium* *E. mundtii*	*E. faecium* *E. faecalis* *E. durans* *E. gallinarum*[a]	*E. faecium* *E. faecalis* *E. raffinosus*	*E. faecalis*	*E. faecalis*	*E. faecalis*	*E. faecium*	*E. faecium*	*E. gallinarum* *E. casseliflavus*[b]

[a] *Acquisition du gène VanA ou VanB en plus du gène VanC chromosomique (évènement rare)*
[b] *Les souches d'E. flavescens sont des souches d'E. casseliflavus*
[c] *Des sous-types existent : VanB1-3, VanC1-4, VanD1-5 et VanG1-2*
CMI : Concentration minimale inhibitrice. Ind. : Inductible. Cons. : Constitutive. P : Plasmidique. C : Chromosomique.

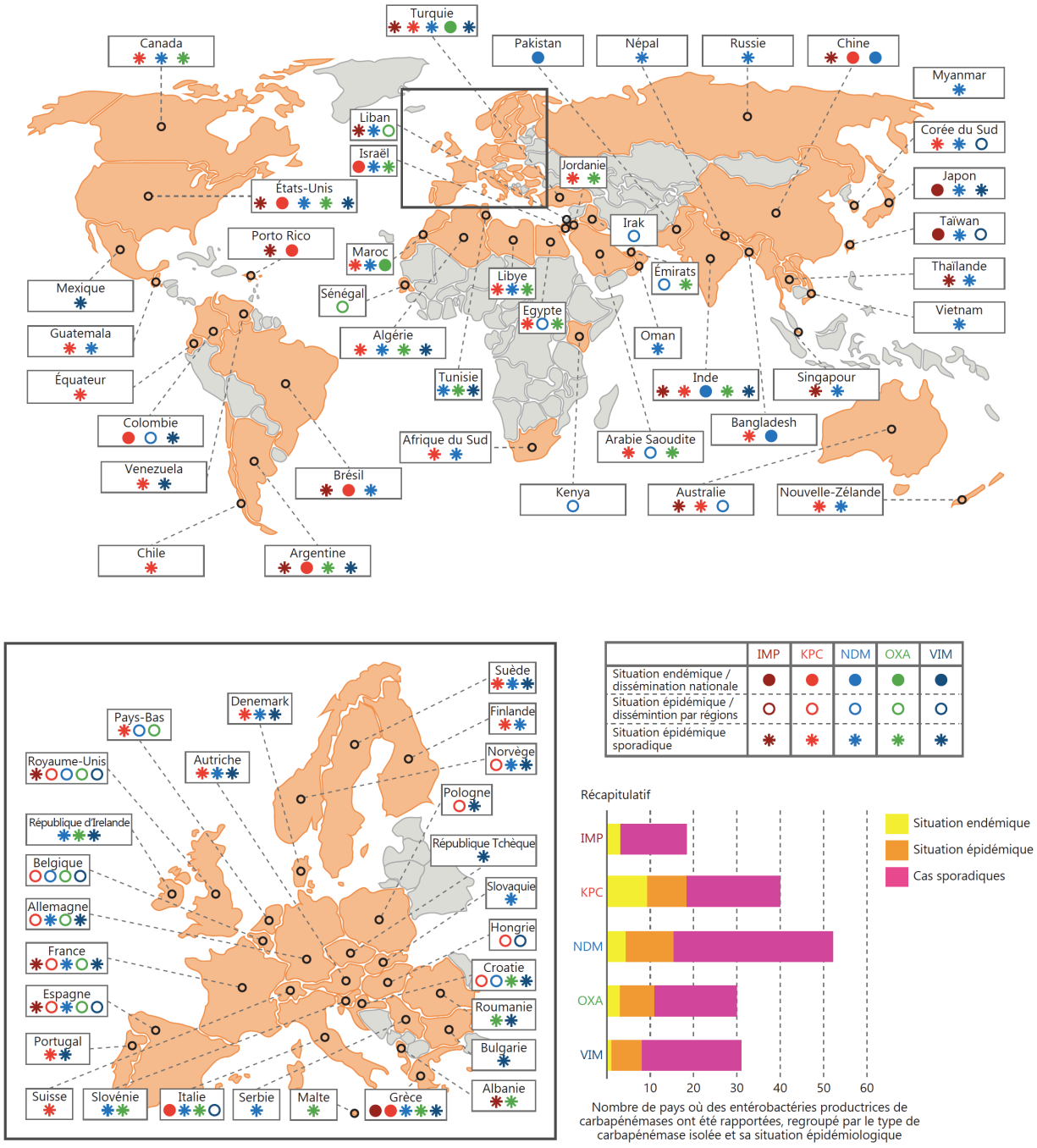
1.2. Epidémiologie générale

1.2.1. Epidémiologie des EPC

L'OMS, se basant sur les rapports nationaux de différents pays, a noté une résistance aux antibiotiques dans plus de 50% des isolats parmi les bactéries responsables couramment d'infections communautaires et associées aux soins, notamment 1) *K. pneumoniae* résistant aux céphalosporines de 3ème génération (C3G) dans les six régions de l'OMS : africaine, américaine, Asie du Sud-Est, européenne, méditerranéenne orientale et la région du Pacifique occidental 2) *E. coli* résistant aux C3G, *E. coli* résistant aux fluoroquinolones et SARM dans cinq des six régions de l'OMS 3) *K. pneumoniae* résistant aux carbapénèmes dans deux des six régions de l'OMS. (1) Depuis l'introduction des carbapénèmes en thérapeutique dès le début des années 80, la description d'une résistance par une hydrolyse enzymatique chez les entérobactéries ne fut établie qu'en 2001, date à laquelle fut publiée la première souche de *K. pneumoniae* hébergeant une carbapénèmase de type KPC. (50) Entre 2006 et 2007, une étude englobant 463 hôpitaux américains montrait déjà une prévalence de souches de *K. pneumoniae* productrices de KPC de 10%. A partir de 2005, plusieurs épidémies étaient décrites en Grèce, Israël et Italie. (4) Ce succès rapide a reposé sur la diffusion du gène de résistance bla_{KPC} chez un clone prédominant, le clone ST-258, qu'on retrouvera dans les différentes épidémies. Depuis, d'autres gènes conférant la résistance aux carbapénèmes ont été retrouvés dans des épidémies à travers la planète. (4) A ce jour, de nombreux foyers endémiques perdurent sur le pourtour méditerranéen et au Sud de l'Europe. Certains pays déclarent une très forte prévalence de résistance aux carbapénèmes, y compris l'Italie, la Grèce, la Turquie, Israël, Chypre et Malte. (38,70,97,98)

Une carte du monde montrant la distribution géographique et l'endémicité des différentes carbapénémases décrites chez les entérobactéries en 2017 est représentée dans la Figure 2.

Figure 2 : Distribution globale des EPC par pays en 2017. (Adapté de (99)



Nombre de pays où des entérobactéries productrices de carbapénémases ont été rapportées, regroupé par le type de carbapénémase isolée et sa situation épidémiologique

Les données du réseau de l'« European Antimicrobial Resistance Surveillance Network » ou EARS de 2019 indiquent des taux de résistance aux carbapénèmes chez *K. pneumoniae* de 58.3% en Grèce, 28.5% en Italie, 32.3% en Roumanie et 10.9% au Portugal, contre 4.4% en Espagne, 1% en France et en Belgique et moins que 1% aux Royaume-Unis, en Allemagne et au Danemark (Figure 3). (100) La Figure 4 montre l'évolution de ces taux de résistance depuis 2005. En parallèle, les taux de résistance aux carbapénèmes chez *E. coli* en 2019 sont de 1,6% en Espagne, 1% en Grèce et inférieurs à 1% dans tous les autres pays européens. (100)

Figure 3 : Prévalence des souches de K. pneumoniae résistantes aux carbapénèmes en 2019 en Grèce, Italie, Roumanie, Portugal, Espagne, France, Bélgique, Royaume-Unis, Allemagne et Danemark. (Adapté de (100)

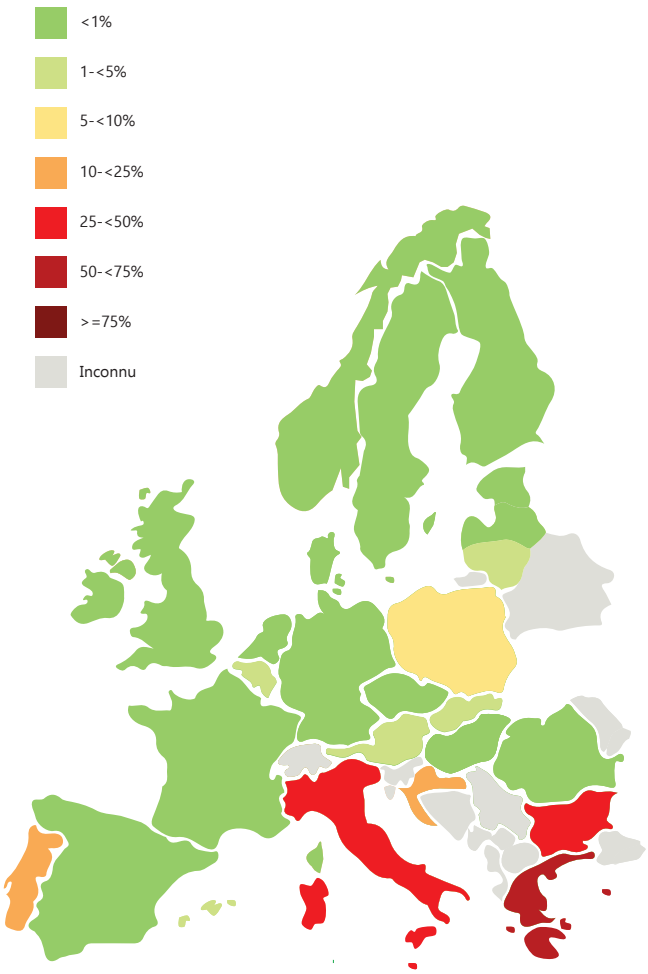
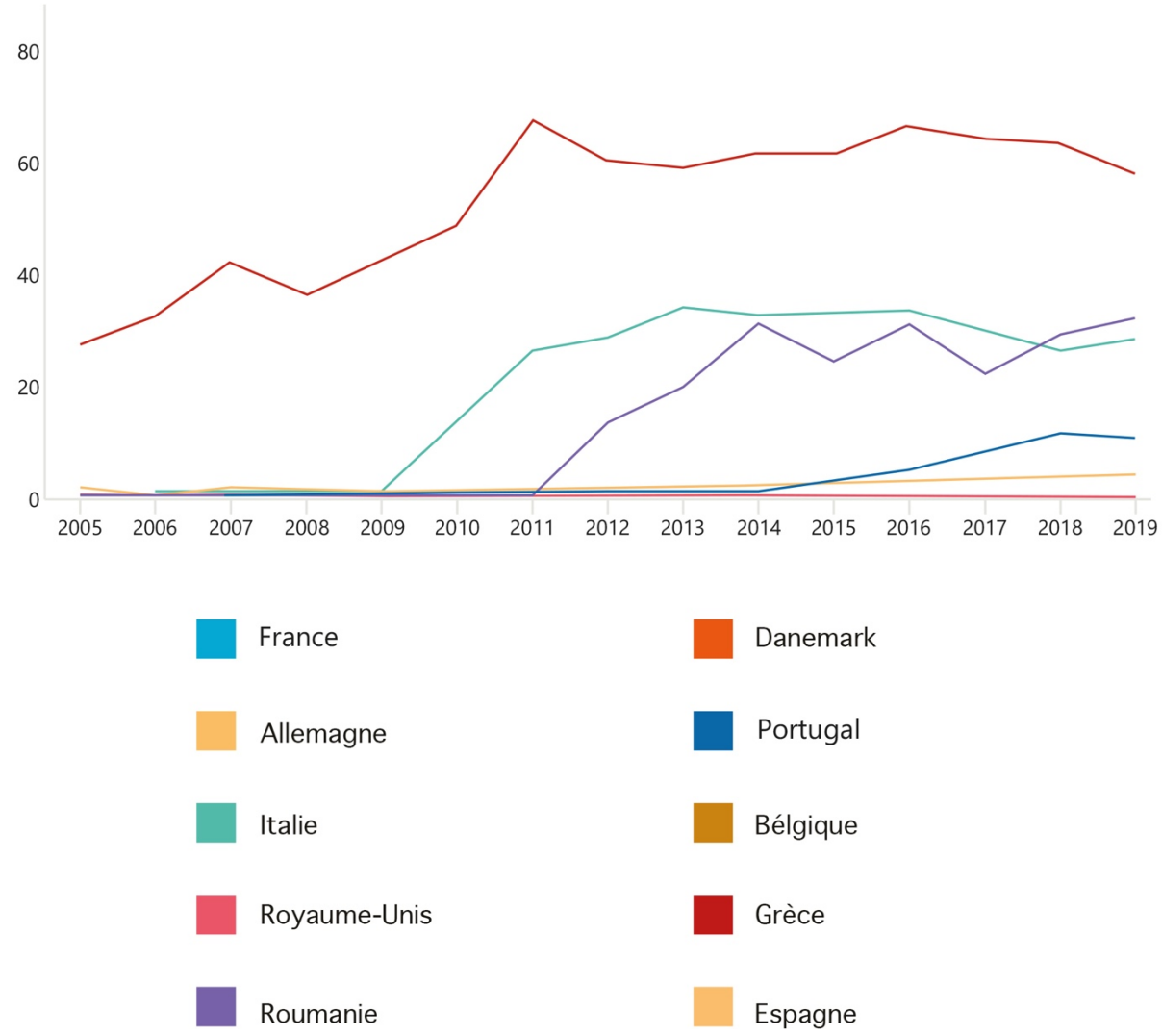


Figure 4 : Evolution de la prévalence des souches de K. pneumoniae résistantes aux carbapénèmes de 2005 à 2019, en Grèce, Italie, Roumanie, Portugal, Espagne, France, Bélgique, Royaume-Unis, Allemagne et Danemark. Adapté de (100)



En France, la première épidémie impliquant une EPC a été décrite en 2003. (101) (102) Dans une étude multicentrique conduite sur 3 mois en 2012 dans des hôpitaux du Sud de la France et incluant à la fois des patients hospitalisés et des patients en consultation, la prévalence globale des EPC sur sept hôpitaux était de 0,7% (8 patients sur 1135). (103) Le nombre de souches d'EPC a cependant doublé en France entre 2012 et 2013, puis entre 2013 et 2014. (40) A ce jour, ces souches diffusent en France sur un mode sporadique ou épidémique limité. Ces dernières années, on a constaté une augmentation des cas acquis sur le territoire. En effet, entre 2004 et le 4 septembre 2015, 2026

épidémies à EPC ont été signalées dont 1048 (52%) n'avaient aucun lien avec l'étranger (ni hospitalisation, ni voyage). (39)

D'autres régions du monde sont également très touchées par les EPC, comme le continent indien, où la dissémination a débuté au milieu des années 2000; (104) il est estimé que la prévalence actuelle du portage des EPC de type NDM en Inde est de 5 à 15%. (105) Une étude américaine conduite sur 6 mois dans des établissements de court et moyen séjours rapporte des taux de colonisation à EPC de type KPC de 3.3% et 30.4%, respectivement. (106)

L'épicentre actuel de la résistance est localisé dans les pays à revenus moyens et faibles, particulièrement ceux du Moyen-Orient. Le Liban, comme de nombreux pays du Moyen-Orient est particulièrement concerné. Cependant, les données sur la résistance en clinique chez les bacilles à Gram négatif, en particulier chez les entérobactéries, sont limitées dans ces pays. (41,42) Une revue systématique de la littérature réalisée entre 2010 et 2020 détaille l'épidémiologie rapportée des EPC dans les pays du Moyen-Orient. (107) Les données de cette revue sont résumées dans le Tableau III.

Tableau III : Epidémiologie des EPC rapportées dans différents pays du Moyen-Orient.
(Adapté de (107)

Pays	Total de souches résistantes aux carbapénèmes rapportées (N)	Familles de carbapénémases détectées (%)				
		KPC	*IMP*	*NDM*	*VIM*	*OXA*
Liban	250	NA	NA	13.6	NA	48.8
Egypte	298	2.3	5	53	20.5	53
Arabie Saoudite	186	10.2	NA	31.8	4.3	72.6
Tunisie	390	6.1	6.4	11	12.8	67.2
Iran	392	1.3	0.5	31.7	1.8	38.1
Émirats Arabes Unis	179	1.1	NA	49.2	0.6	52.5
Iraq	35	2.9	31.4	2.9	51.4	20
Kuwait	149	4.7	NA	16.1	12.8	13.4
Libbie	14	NA	NA	28.6	NA	71.4
Maroc	16	NA	6.25	12.5	NA	62.5
Oman	24	NA	NA	58.3	NA	25
Jordanie	76	13.2	NA	28.9	1.3	18.4
Yémen	37	NA	NA	81	NA	27
Soudan	207	12.6	17.9	7.7	20.8	10.1
Palestine	92	4.3	19.6	NA	8.8	NA
Syrie	42	NA	NA	61.9	NA	38.1
Pakistan	183	NA	1.1	61.2	10.4	NA
Afghanistan	1	NA	NA	100	NA	NA

NA : absence de données.

Au Liban, il n'existe pas de système de surveillance de la résistance aux antibiotiques au niveau national. La première souche d'EPC, *K. pneumoniae* productrice de carbapénémase de type OXA-48, fut rapportée en 2008. (108) En 2012, une étude réalisée dans 10 hôpitaux Libanais, répartis entre Beyrouth, Mont Liban, Liban Nord, Liban Sud et la Bekaa, rapporte 102 (1.2%) EPC parmi les 8717 entérobactéries isolées de prélèvements cliniques, principalement urines et crachats. Parmi les 44 souches d'EPC étudiées dans ce travail, 31 (70.5%) étaient porteuses du gène $bla_{\text{OXA-48}}$. (74) Dans une étude réalisée en 2014 dans un hôpital à Tripoli (Nord du Liban), une recherche de colonisation par écouvillonnage rectal a été réalisée chez 41 patients hospitalisés en oncologie. Neuf (22%) patients étaient colonisés par une EPC. (109) Dans une autre étude effectuée sur 130 souches d'entérobactéries (76 *E. coli* et 54 *K. pneumoniae*) issues de prélèvements cliniques, collectées entre 2008 et 2014 dans un centre hospitalier à Beyrouth, 47 (36%) possédaient le gène $bla_{\text{OXA-48}}$ et 31 (24%) le gène $bla_{\text{NDM-1}}$. Des données épidémiologiques de ce même centre hospitalier suggéraient une augmentation de la prévalence des EPC entre 2008 et 2014, passant de 0% à 1% chez *E. coli* et 4% chez *K. pneumoniae*. (110) Par ailleurs, une étude multicentrique rétrospective effectuée dans 13 hôpitaux libanais, incluant des prélèvements cliniques, y compris des urines, prélèvements respiratoires, hémocultures et liquides de différentes origines, a montré une prévalence d'EPC de 3%, entre 2015 et 2016. (111) Sur la période de 2015 à 2017, un total de 6103 bactéries à Gram négatif, isolées principalement de prélèvements urinaires, respiratoires et pus, de deux hôpitaux situés dans le Nord du pays, a révélé que la prévalence d'EPC était passée de 1,7% en 2015 à 1,71% en 2016 et 5,19% en 2017. (112) D'autre part, plusieurs études ont été réalisées sur un nombre limité d'EPC montrant une variété de gènes de résistance aux carbapénèmes détectés, y compris $bla_{\text{OXA-181}}$,(113) $bla_{\text{NDM-5}}$, (114) et $bla_{\text{NDM-7}}$. (115)

Dans notre expérience en 2021, 7% des entérobactéries isolées de prélèvements cliniques étaient productrices de carbapénémases et 28% productrices de BLSE (Hôtel Dieu de France de Beyrouth, données personnelles). Les données quant à l'épidémiologie des différentes familles de carbapénémases ne sont malheureusement pas disponibles.

1.2.2. *Epidémiologie des ERV*

Les entérocoques sont des micro-organismes fréquemment retrouvés dans les infections liées aux soins. Depuis la première description d'une souche d'*E. faecium* résistante à la vancomycine en 1988, les ERV ont diffusé à travers le monde pour atteindre des taux de résistance très élevés dans certains pays. L'apparition de cette résistance a été attribuée à la sélection causée par l'avoparcine, un glycopeptide utilisé en médecine vétérinaire comme facteur de croissance. (116) Les données du réseau EARS de 2019 montrent une prévalence d'ERV élevée en Chypre (50%), Grèce (47%), Irlande (38.4%), Roumanie (35,7%), Allemagne (26,3%), Royaume-Unis (22,2%) et Italie (21,3%), contre moins de 1% en France et en Belgique. (100) Selon les mêmes données, si la proportion d'ERV a significativement augmenté en Europe depuis 2002, elle reste stable et inférieure à 2% en France depuis 2007 (0,5% en 2014 et 0.7% en 2019). En revanche, une étude colligeant l'ensemble des signalements d'infection à ERV déclarés entre 2001 et 2015 montre que 29,9% d'entre eux concernent des patients hospitalisés en Île-de-France. (117) Aux États-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. (118)

Au Liban, les données concernant les ERV sont encore plus rares comparativement aux EPC. En effet, nous retrouvons 2 études dans la littérature. La première a analysé 153 souches d'entérocoques consécutivement collectées de prélèvements cliniques, entre 1998 et 1999 dans un seul centre hospitalier à Beyrouth. Trente-cinq (23%) étaient des souches d'*E. faecium* isolées principalement de prélèvements urinaires et biliaires. Les auteurs ont noté l'absence d'ERV. (119) La deuxième étude effectuée dans le même centre hospitalier sur l'ensemble des BMR isolées de prélèvements cliniques entre 2000 et 2011, montre une prévalence de 3% d'ERV. (120) Dans notre expérience en 2021, la prévalence d'ERV s'est élevée à 37% dans les prélèvements cliniques à l'Hôtel-Dieu de France de Beyrouth (données personnelles).

Sur la base de ces données épidémiologiques disponibles, nous pouvons noter une prévalence croissante des BHRe au cours des années dans le monde, plus particulièrement en France et au Liban. Comprendre les mécanismes de résistance sous-jacents et la physiopathologie de la transmission des BHRe est de ce fait crucial.

1.3. Les méthodes de détection microbiologique des EPC

La détection des patients infectés et colonisés participe à la limitation de la diffusion des BHRe. Les politiques internationales de maitrise de la diffusion des BHRe visent à promouvoir le dépistage et l'isolement des patients à haut risque. (121) Par conséquent, son application nécessite la mise en œuvre de techniques microbiologiques sensibles et rapides pour l'identification du réservoir. La technique de référence actuelle pour le dépistage rectal des EPC est la culture sur des milieux sélectifs, avec ou sans pré-enrichissement dans des bouillons contenant des carbapénèmes. Cet enrichissement permettrait d'augmenter la sensibilité du dépistage. Cette technique est habituellement suivie de tests de confirmation phénotypiques et/ou moléculaires, réalisés sur les isolats bactériens suspectés EPC. (122) Les tests phénotypiques pour la détection de l'activité carbapénèmase comprennent : (i) le test de Hodge modifié, basé sur la production in-vivo de carbapénèmase. Ce test, dont l'exécution prend du temps, peut manquer de spécificité (entérobactéries productrices d'une céphalosporinase déréprimée (HCase) de type AmpC) et de sensibilité (faible détection des carbapénémases de type NDM) ; (ii) les tests avec inhibiteurs de β-lactamases (test de disques combinés, tests de synergie de doubles disques, E-test) basés sur l'observation in-vitro d'une augmentation de la zone d'inhibition ou réduction de la CMI de l'isolat, testé en présence d'une carbapénème associée à un inhibiteur de carbapénèmase, par rapport à la zone d'inhibition ou CMI de la même carbapénème testée seule. Ces tests demandent une incubation de 24h supplémentaires et, de ce fait, prolongent le délai de diagnostic. Ils sont difficiles à lire en cas de présence simultanée de plusieurs types de carbapénémases chez une même bactérie et peuvent manquer de spécificité ; (iii) les tests biochimiques, basés sur l'hydrolyse du noyau β-lactam de l'imipénème par la souche testée, suivie de changement de couleur d'un indicateur de pH. Ces tests semblent être très sensibles et spécifiques. Dans un travail réalisé sur 862 souches d'entérobactéries résistantes aux carbapénèmes, isolées de prélèvements cliniques à travers le monde, 172 souches étaient des EPC. Parmi les 172 EPC, 65% étaient des souches de *K. pneumoniae*, 15% *E. coli*, 13% *Enterobacter* spp., 5% *C. freundii*, 1% *S. marcescens* et 1% *Salmonella enterica*. Les carbapénémases identifiées étaient OXA-48 (72%), KPC (15%), NDM (6%), VIM (6%) et IMI (1%). Les auteurs ont comparé la détection de ces différentes EPC par le test biochimique CarbaNP à une technique de biologie moléculaire. Ils ont mis en évidence une sensibilité, une spécificité, une valeur prédictive négative et une valeur prédictive positive de 100%. (123) Ces tests biochimiques sont bon marché, faciles à utiliser et nécessitent un temps de

réalisation inférieur à 2h. Ils détectent toutes les carbapénémases et permettent d'identifier également toute nouvelle carbapénémase émergente. (74,124) Plus récemment, des tests biochimiques commercialisés permettraient de discriminer entre les différents types de carbapénémases (classes A, B et D) chez les entérobactéries et les souches de *Pseudomonas* spp. Le test CarbaNP II, par exemple, combine une excellente sensibilité (100%) et spécificité (100%), à une rentabilité et rapidité de production de résultat, grâce aux propriétés discriminantes du tazobactam et de l'EDTA, inhibiteurs des carbapénémases de classes A et B, respectivement. (125) (iv) Les tests immunologiques à flux latéral (LFIA), qui détectent les carbapénémases grâce à l'utilisation d'anticorps spécifiques. Plusieurs LFIA ont été récemment développés et permettent en général la détection des carbapénémases les plus fréquemment isolées. Les données disponibles sur les LFIA suggèrent leur facilité de réalisation et leur capacité à produire des résultats précis en 15 min. Dans une revenue de la littérature récente, la spécificité rapportée de ces tests était de 100% et la sensibilité de 95%. (126) Les LFIA ont également été utilisés directement sur les prélèvements rectaux. Toutefois, peu d'études ont évalué leur performance dans ce cadre. Lorsqu'ils sont utilisés sur des prélèvements rectaux, les LFIA semblaient être très spécifiques mais avec une sensibilité réduite, comparée à celle des LFIA réalisés sur des isolats bactériens. (127)

Néanmoins, les tests de confirmation de la production de carbapénémases sur les isolats bactériens suspectés être des EPC reposent sur l'utilisation de techniques moléculaires. Différents tests moléculaires ont été développés et ont montré leur efficacité dans l'identification des gènes de résistance aux carbapénèmes en 2 à 6 h, avec une excellente sensibilité (71 à 100% selon le type de gène carbapénémase) et spécificité (100%). (54,128) De nombreuses études ont évalué la performance des tests moléculaires et ont montré des limites de détection inférieures aux techniques de culture conventionnelle. (122,129–131) Récemment, ces tests moléculaires se sont avérés fiables pour la détection rapide des EPC lorsqu'ils sont utilisés sur des flacons d'hémoculture, réduisant considérablement le temps de diagnostic. (132,133) Étant donné que la rapidité des tests de dépistage d'une colonisation par une EPC permettrait de mettre en œuvre les mesures d'hygiène pour la lutte contre leur diffusion de façon plus rapide, cela justifie la nécessité d'utiliser une méthode rapide et précise de détection des EPC directement dans les prélèvements rectaux. Cependant, peu d'études ont testé la performance des techniques moléculaires lorsqu'elles sont utilisées directement sur des prélèvements rectaux et, surtout, il n'existe aucune preuve

scientifique de leur intérêt dans la maitrise des phénomènes épidémiques. Par ailleurs, le coût par test de réalisation de ces techniques moléculaires est supérieur aux techniques de cultures standards. (122,129,131)

Le Tableau IV résume la sensibilité et la spécificité des différentes méthodes microbiologiques de détection des EPC.

Tableau IV : Sensibilité et spécificité des différentes méthodes microbiologiques de détection des EPC, comme rapportées par les auteurs.

Méthodes	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	Références
Milieux de culture sélectifs			
CHROMagar mSuperCARBA	Classe A : 100 Classe B : 92 Classe C : 100	Toutes les classes : 60.7	(134)
Thermo Scientific Brilliance CRE Agar	Classe A : 85 Classe B : 78.4 Classe D : 69.8	Toutes les classes : 57.1	(134)
CHROMagar KPC	Classe A : 70 Classe B : 58.8 Classe C : 11.4	Toutes les classes : 67.8	(134)
Tests de confirmation phénotypiques			
Test de Hodge modifié	Toutes les classes : 77.4	Toutes les classes : 38.9	(135)
Test avec inhibiteurs de ß-lactamases	Classe A : 100 Classe B : 95 Classe D : 96	Classe A : 100 Classe B : 96 Classe D : 98	(136) (137) (138)
Test CarbaNP	Toutes les classes : 73-100	Toutes les classes : 100	(139)
Test immunologique à flux latéral	Toutes les classes : 95	Toutes les classes : 100	(140)
Tests de confirmation moléculaires			
PCR en temps réel multiplexe	Toutes les classes : 71-100	Toutes les classes : 100	(54)

2. Physiopathologie de la transmission des BHRe

2.1. Les mécanismes génétiques liés à la résistance

Les bactéries acquièrent des gènes de résistance par le biais, d'une part de la survenue de mutations dans le génome bactérien lors de la réplication, dont résulte une transmission verticale de la résistance, et d'autre part, par l'acquisition de gènes de résistance exogènes, conséquence d'une transmission horizontale de la résistance ; mécanismes bien démontrés in vitro. (141,142)

Dans le monde bactérien, le processus de réplication de l'ADN n'est pas totalement sécurisé. En moyenne, sur une population de 10^8 bactéries, une mutation se produit dans un gène particulier du génome d'une bactérie donnée. En effet, le taux de mutants spontanément résistants dans une population de bactéries sensibles est fonction de l'antibiotique : un taux élevé de mutations, de l'ordre de 10^{-4}, a été décrit pour les quinolones et la rifampicine par exemple, contre un taux faible de mutation, de 10^{-8}, pour les β-lactamines et les aminosides. Si le gène muté fournit à la bactérie un avantage compétitif en termes de survie en présence de l'agent antimicrobien (par rapport à la population bactérienne d'origine portant le gène sauvage sensible), la population mutante va survivre et peut remplacer la population d'origine qui sera inhibée. C'est le principe de base qui explique la capacité des antibiotiques à sélectionner des bactéries résistantes. (143) Deux types de mutations ont été décrits : les mutations au niveau d'un gène de structure codant pour la cible de l'antibiotique et les mutations au niveau d'un gène régulateur du génome bactérien.

Bien que la mutation joue un rôle important dans l'évolution de la résistance des bactéries aux antibiotiques, l'acquisition de gènes de résistances exogènes constitue le facteur prédominant dans l'émergence et la dissémination des résistances, notamment chez les EPC et les ERV. Le transfert horizontal de gènes de résistance résulte d'un ensemble de multiples systèmes impliquant, d'une part le transfert de gènes d'une bactérie à une autre, et d'autre part, le transfert de gènes d'un endroit à un autre au sein du génome d'une même bactérie. (144) Ainsi, les éléments génétiques mobiles se répartissent en deux groupes : les éléments qui peuvent se déplacer d'une cellule bactérienne à une autre (plasmides et transposons conjugatifs) et les éléments qui peuvent se déplacer d'un endroit à un autre au sein du génome d'une même bactérie (transposons, cassettes de gènes et intégrons). (145)

Trois mécanismes génétiques fondamentaux de transfert horizontal ou flux de gènes de résistance sont connus : la conjugaison, la transformation et la transduction ; la conjugaison étant la plus importante en termes de fréquence et par conséquent d'implications épidémiologiques. (143) Le

transfert de fragments d'ADN a lieu naturellement dans un contexte physiologique comme celui de l'intestin humain. Ce flux de gènes est le plus souvent la résultante d'un transfert de plasmides et transposons par conjugaison. La transformation naturelle et la transduction par des phages contribuent également au transfert de gènes dans une même espèce bactérienne ou entre des groupes d'espèces étroitement liées. Cependant, la contribution de ces derniers mécanismes au transfert de gènes de résistance entre les bactéries n'est toujours pas claire. (146)

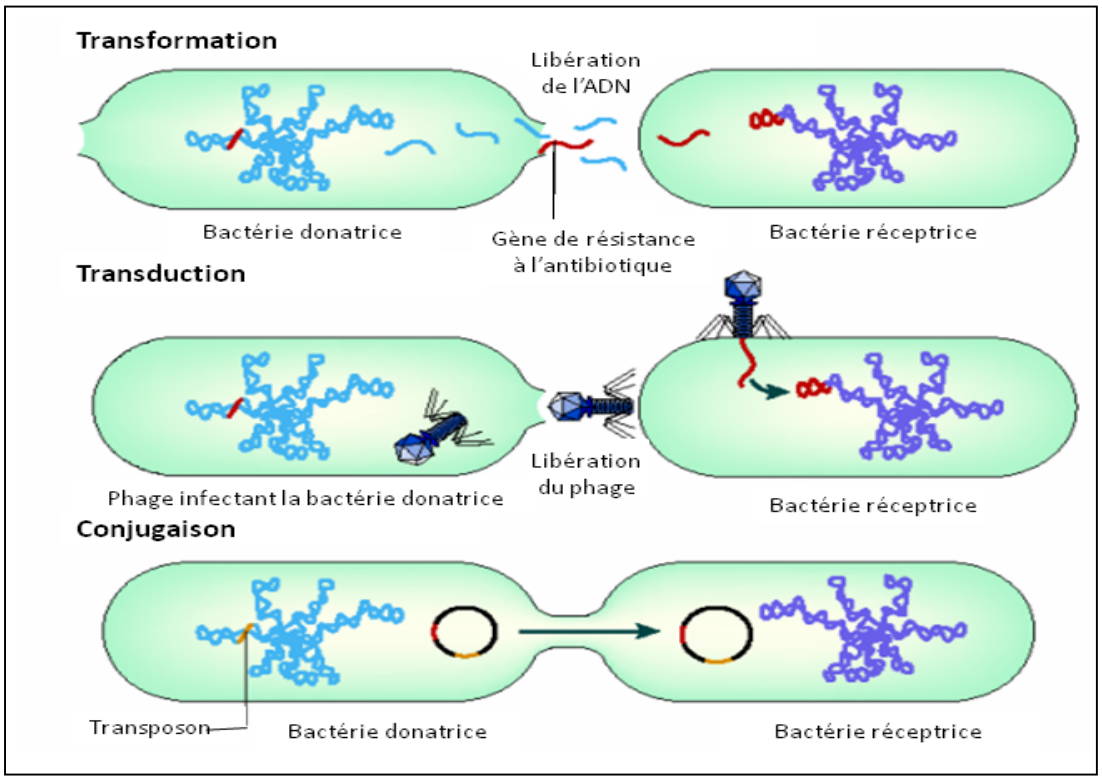
La **conjugaison bactérienne** est un processus sexuel strict, nécessitant un contact préalable et un appariement entre une bactérie donatrice (munie d'un facteur de sexualité ou de fertilité F permettant la synthèse de pilis sexuels donnant la polarité au chromosome) et une bactérie réceptrice. Le transfert d'ADN chromosomique ou plasmidique est donc à sens unique, orienté et progressif. Le transfert d'ADN chromosomique est suivi d'une recombinaison homologue. Il est spécifique (intra-espèces), mais limité en particulier aux espèces à Gram négatif (*E.coli, Salmonella* spp*., P. aeruginosa*) et au bactéries du genre *Streptococcus* spp. Ce transfert de plasmides conjugatifs est très répandu dans le monde bactérien. Toutefois, la spécificité de ce transfert est variable selon le type de plasmide. (146,147)

La **transformation** est le processus par lequel certaines bactéries sont capables de capter un ADN exogène nu de leur environnement libéré par une bactérie donatrice (suite à sa mort en général et la dégradation en fragments de son ADN), puis l'incorporer dans leur génome par recombinaison homologue. Pour que la bactérie puisse capter l'ADN, elle doit être en état de compétence naturel. Comme un nombre faible de bactéries est capable de transformation naturelle, ce processus reste d'une moindre importance en clinique. Un des exemples de transformation les plus importants est celui de *Streptococcus pneumoniae* résistant aux pénicillines. Cette résistance résulte de la recombinaison entre les gènes codant pour des PLP et ceux codant pour des PLP d'affinité réduite provenant d'autres souches de *Streptococcus* (comme les *Streptococcus* spp. oraux). Un autre exemple est celui de la résistance des bactéries du genre *Neisseria* spp. aux pénicillines et aux sulfamides. (143,146)

La **transduction** est un mécanisme de transfert de gènes de résistance médié par des bactériophages, virus capables d'incorporer des fragments d'ADN à partir d'un organisme l'ayant parasité. En effet, quand ils infectent une bactérie, ils peuvent transférer, en plus de leurs propres gènes, de l'ADN bactérien. Ce mécanisme a été lié à la transmission de gènes de β-lactamases, surtout chez *S. aureus*, à la résistance des *Staphylococcus spp.* à la méthicilline, à la résistance des

Staphylococcus epidermidis à l'erythromycine et à la multi-résistance d'*E.coli* par des gènes de porines mutés. (143,146) Ces mécanismes sont résumés dans la Figure 5.

Figure 5 : Mécanismes de transfert horizontal de gènes. (Adapté de (148)



Les entérobactéries peuvent devenir résistantes aux carbapénèmes par trois mécanismes : l'hyper-activation des pompes à efflux, la perte ou mutation des porines et la production de carbapénèmase, qui reste le principal mécanisme de résistance. (97) Contraitement aux carbapénémases qui ciblent spécifiquement les antibiotiques de la famille des β-lactamines, y compris les carbapénèmes, la surexpression des pompes à efflux, ainsi que les modifications des porines, sont associées à la multi-résistance aux antibiotiques de différentes classes pharmacologiques. Une combinaison de différents mécanismes de résistance chez une même bactérie est aussi décrite. (149) Les pompes à efflux de la famille des RND sont les plus répandues chez les entérobactéries. Parmi les différents

systèmes d'efflux de cette famille, AcrAB-TolC RND est le plus commun et a été identifié parmi les souches d'*E. cloacae*, (150) *E. coli* (151) et *K. pneumoniae* résistantes aux carbapénèmes. (152) L'altération de la synthèse des porines, telle que le déficit en OmpK-35 et 36 chez *K. pneumoniae*, (153,154) et la perte d'OmpF et d'OmpC chez *E. coli*, (155) ont été décrits chez des souches HCase et des souches résistantes aux carbapénèmes. Des études suggèrent que les souches avec des porines mutées ou à expressions réduites n'ont généralement pas le potentiel de dissémination en communautaire, mais peuvent être à l'origine d'un risque de diffusion en milieu hospitalier. (149) Néanmoins, les carbapénémases sont actuellement considérées comme le principal mécanisme de résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries, même si ce n'était pas le cas dans les années 2000, lorsque la plupart des carbapénémases étaient spécifiques à *P. aeruginosa*, avec seulement quelques rapports anecdotiques chez les entérobactéries. (56,156)

Il faut noter que les plasmides, y compris les plasmides de résistance, portent des gènes accessoires qui aident leurs hôtes à s'adapter à une multitude d'environnements. Malgré leur abondance dans les populations bactériennes et les avantages potentiels liés à leur acquisition, ces éléments génétiques produisent généralement des altérations physiologiques dans leurs hôtes bactériens, conduisant à une réduction de leur « *fitness* » ou une augmentation des coûts énergétiques nécessaires à leur survie et multiplication. Ces coûts énergétiques rendent difficile à expliquer le fait que les plasmides de résistance sont maintenus conservés dans les populations bactériennes sur le long terme. Différentes explications ont été proposées. En effet, les bactéries ayant acquis un plasmide de résistance peuvent diminuer le coût de cette acquisition par la survenue de mutations supplémentaires améliorant leur niveau d'adaptation. Il s'agit du phénomène de compensation, contribuant à la persistance des plasmides de résistance, tout en réduisant les effets de leur portage sur les coûts énergétiques de survie de la bactérie. Un exemple illustrant ce phénomène est celui de la résistance aux fluoroquinolones chez *E. coli* par mutation dans les gènes *gyrA* et *marR*. Une mutation de compensation supplémentaire extra-génique au niveau du gène *parC* a comme conséquence une résistance avec des coûts énergétiques diminués des souches d'*E.coli*. (157–159) Une autre explication à la persistance des plasmides de résistance dans les populations bactériennes suppose qu'un taux de conjugaison élevé peut favoriser la survie des plasmides comme parasites génétiques. (160,161)

Une étude récente a évalué l'effet du plasmide conjugatif pOXA-48-K8, ou plasmide pOXA-48-like, vecteur du gène bla_{OXA-48}, sur les coûts énergétiques de survie de 50 souches humaines sauvages d'entérobactéries. Les auteurs ont montré que, malgré l'augmentation des coûts énergétiques nécessaires à la survie des bactéries causée par le plasmide, l'incorporation du plasmide a produit des effets bénéfiques sur la survie et la multiplication de plusieurs isolats bactériens étudiés, associés à la présence de gènes spécifiques appelés gènes de signature. Ces résultats permettent d'expliquer la forte prévalence des plasmides dans les communautés microbiennes naturelles très diverses. (162)

La propagation mondiale du clone ST258 de *K. pneumoniae* productrice de carbapénémases représente un prototype du rôle des plasmides épidémiques dans la dissémination des EPC. Ceci est similaire à la dissémination internationale réussie du clone ST131 d'*E. coli* productrice de BLSE, en particulier CTX-M-15. (163) Le clone de *K. pneumoniae* ST258, décrit comme un « clone à haut risque », se caractérise par une capacité accrue à coloniser, se propager et persister dans une variété de niches écologiques. Ces clones ont acquis certains traits adaptatifs augmentant leur pathogénicité et leur capacité de survie dans l'environnement. Aussi, ces clones possèdent la persistance et la flexibilité nécessaires pour accumuler et échanger des gènes de résistance et de virulence avec d'autres entérobactéries. (164,165) Dans ce contexte, la pandémie causée par les souches de *K. pneumoniae* ST258 a bouleversé la communauté médicale et scientifique. À l'origine, Kitchel et al. (166) ont montré dans une étude nationale multicentrique aux États-Unis en 2009, que 70% des *K. pneumoniae* productrices de carbapénémase de type KPC appartenaient au seul clone ST258. Peu de temps après, des souches de *K. pneumoniae* KPC ST258 ont été rapportées dans de nombreux pays tels que : le Mexique, (167) le Canada, (168) le Brésil (169) et les pays de l'Équateur. (170) En dehors du continent américain, ST258 a été détecté en Espagne, (171) en Grèce, (172) en Allemagne, (173) en Italie, (174) en Norvège, (175) en Chine (176) et en Corée. (177) De plus, une étude récente en Croatie a décrit pour la première fois la présence de *K. pneumoniae* productrice de carbapénémase de type KPC ST258 dans les eaux des rivières. Ces souches avaient persisté pendant 50 jours dans l'environnement, ce qui confirme leur capacité de diffusion environnementale. (178) Le support génétique, bla_{KPC} chez les souches de *K. pneumoniae* appartenant au clone ST258, a été identifié sur une variété de plasmides capables d'une réplication clonale et d'un transfert horizontal entre différentes espèces d'entérobactéries.

(179,180) Dans l'ensemble, l'épidémiologie génétique mondiale des EPC de type KPC montre toujours que *K. pneumoniae* est l'espèce la plus commune et ST258 est le clone prédominant. Cela suggère l'avantage sélectif de ce clone lié, non seulement à la simple résistance aux carbapénèmes, mais également à l'accumulation de plusieurs facteurs de virulence et la capacité de survie dans l'environnement. D'autres clones à succès ont été décrits par la suite, dont, plus récemment, ST147 et ST307 chez des souches de *K. pneumoniae*. (181)

2.2. Les mécanismes liés à la colonisation intestinale

Un microbiote intestinal sain constitue une barrière de défense importante contre la colonisation par une bactéries exogènes. (182) L'acquisition et la persistance de la colonisation par une BMR est plus fréquente en cas de dysbiose. L'altération du microbiote intestinal peut être causée par l'antibiothérapie, les infections intestinales et les modifications de la diète alimentaire. (183) Pour les patients déjà colonisés, l'altération du microbiote intestinal par l'antibiothérapie favorise la colonisation à forte densité par une BMR. (184) Le microbiote intestinal est constitué à 99% de bactéries anaérobies strictes, faisant l'objet de toutes premières études des années 1970. Ces études avaient montré que la perte de la flore anaérobie est corrélée à la prédisposition aux infections ou colonisations par des bactéries opportunistes. (185,186) Les entérobactéries et les entérocoques représentent une partie sous dominante du microbiote intestinal humain sain. Cependant, leur prolifération est habituellement liée à l'altération du microbiote. (187)

Le microbiote intestinal peut inhiber la colonisation par des bactéries pathogènes ou opportunistes par plusieurs mécanismes dont 2 principaux : un mécanisme direct par compétition et un mécanisme indirect par modulation des défenses immunitaires de l'hôte. (188)

L'inhibition directe est la résultante de plusieurs mécanismes, résumés dans la Figure 6. Parmi les mécanismes d'inhibition directe, existe le système de sécrétion de type VI (T6SS). Il s'agit d'une nano-machine à protéines largement répandue chez les bactéries à Gram négatif et utilisée pour transférer des protéines effectrices directement dans les cellules voisines. T6SS représente une arme bactérienne polyvalente, jouant un rôle clé dans la compétition inter-bactérienne et les interactions bactériennes avec les cellules eucaryotes. (189) Certaines bactéries à Gram négatif utilisent le système de sécrétion de type VI (T6SS) pour injecter des toxines dans le cytoplasme d'une cellule cible adjacente. T6SS nécessite un contact étroit avec la cellule cible pour être efficace. Plus de 109 événements de déclenchement du T6SS se produisent par minute et par gramme de selles. (190) T6SS a été comparé à l'utilisation d'une arbalète dans un « club de combat

bactérien ». (191) T6SS est une arme bactérienne utilisée par des bactéries pathogènes pour coloniser une niche écologique et par les bactéries commensales pour offrir une résistance à la colonisation. (192) Des gènes codant pour des protéines du système T6SS ont été détectés dans 63% des bactéries de genre *Bacteroides* spp., très abondantes dans la flore intestinale humaine. Ceci suggère un rôle du T6SS dans les interactions bactériennes. (193) T6SS a également été décrit chez les entérobactéries, dont des souches probiotiques, comme *E. coli* Nissle. (194) Les souches commensales d'*E. coli* pourraient potentiellement utiliser le système T6SS pour inhiber la colonisation par des BMR. La préservation des bactéries productrices de T6SS et l'implantation de probiotiques producteurs de T6SS seraient un objectif pour les recherches futures sur la résistance du microbiote intestinal à la colonisation par des BMR. (195)

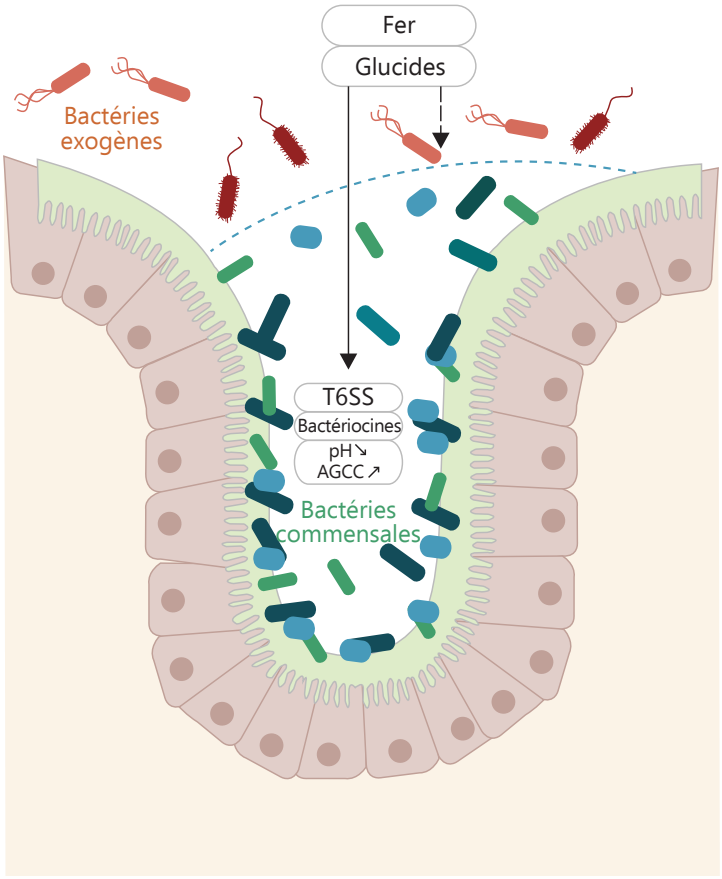
Le deuxième mécanisme d'inhibition directe consiste à la production de bactériocine. Les bactériocines sont des peptides antimicrobiens produits par les bactéries du microbiote intestinal : microcines produites par les bactéries à Gram négatif et lantibiotiques produites par les bactéries à Gram positif. Les souches probiotiques d'*E. coli* Nissle produisent des microcines, capables de réduire l'expansion des entérobactéries au cours de l'inflammation intestinale. (196) Parmi les études génomiques publiées, 34,1% des souches d'*E. coli* possèdent des séquences de gènes codant pour des microcines, contre seulement 4,7% des souches d'*K. pneumoniae* et 3,3% des souches d'*Citrobacter freundii*. (197) La forte proportion d'*E. coli* productrices de microcines pourrait expliquer leur succès en tant que bactéries commensales de la flore intestinale. Les microcines pourraient inhiber la croissance de souches virulentes ou multi-résistantes d'*E. coli*. (198,199) Par ailleurs, les lantibiotiques ont fourni une résistance à la colonisation par des souches d'ERV. (200) Une augmentation de l'expression des gènes codant pour des lantibiotiques était corrélée à une réduction d'ERV dans les selles des patients. Aussi, dans un modèle murin de souris stériles transplantées avec des selles humaines, des souches de *Blautia producta* productrices de lantibiotiques ont également réduit la croissance d'ERV. (200) Des stratégies probiotiques basées sur des souches productrices de lantibiotiques pourraient ainsi être développées pour traiter la colonisation à ERV. (195) Le troisième mécanisme engage la compétition pour l'acquisition des nutriments, fer et glucides. En effet, le fer est un élément nécessaire à la survie des bactéries. Les bactéries produisent des sidérophores, molécules chélatrices du fer, leur donnant un avantage concurrentiel dans l'acquisition du fer et la colonisation de l'hôte. (201) Chez *K. pneumoniae* le sidérophore *ybt* est présent dans 40% des souches productrices de carbapénémases, 88% des

souches appartenant au clone hypervirulent 23 et 32% des autres isolats. (202) De plus, certaines bactéries, ayant perdu la capacité de produire des sidérophores, peuvent continuer à bénéficier des sidérophores produits par d'autres bactéries. (203) En effet, la production de sidérophores présente un coût énergétique pour les bactéries. Au sein du microbiote intestinal, une compétition pour le fer entre les bactéries commensales, opportunistes et exogènes se produit. Dans un modèle intestinal de fermentation colique inoculé par des selles humaines, une diminution de la disponibilité du fer a été associée à une réduction de l'abondance des entérobactéries. (204) Ainsi, des composés conjugués à des sidérophores ont été développés pour limiter la croissance de bactéries nosocomiales. (200) D'autre part, les bactéries sont aussi en compétition pour l'utilisation des glucides présents dans les aliments ingérés. Une étude génomique sur des isolats de *K. pneumoniae* producteurs de carbapénémases a révélé que les gènes impliqués dans le métabolisme des glucides étaient cruciaux pour obtenir une colonisation intestinale stable. (205) L'altération du microbiote intestinal suite à l'antibiothérapie augmente la quantité de monosaccharides disponibles dans les intestins et favorise la croissance des bactéries pathogènes ou opportunistes. (206) Les bactéries des genres *Bacteroides* spp. et *Clostridium* spp. métabolisent les polysaccharides complexes, que les autres bactéries ne peuvent pas utiliser. (207) Les entérobactéries, métabolisant les mêmes glucides, entrent en compétition entre elles. (208) Ainsi, la restauration des principales espèces protectrices du microbiote intestinal pourrait réduire la densité de colonisation par des BMR. (188) A ces mécanismes, s'ajoute la capacité des bactéries du microbiote intestinal commensal à produire des acides gras à chaîne courte, y compris l'acétate, le propionate et le butyrate, après fermentation des fibres alimentaires. La production d'acides gras à chaine courte diminue le pH intestinal extracellulaire. À pH faible, les acides gras à chaine courte se mettent sous forme non ionisée, capable de diffuser à travers la membrane bactérienne et d'acidifier le cytoplasme bactérien. (209) In vitro, les acides gras à chaine courte inhibent directement la croissance des entérobactéries multi-résistantes, y compris les souches de *K. pneumoniae* productrices de carbapénémases. Cette inhibition, par diminution du pH intracellulaire, dépend de la concentration en acides gras à chaine courte et du pH extracellulaire. Ces résultats ont été confirmés in vivo à l'aide d'un modèle murin. Chez les patients sous antibiothérapie, la diminution observée des acides gras à chaine courte a été associée à une expansion des entérobactéries. (210) De plus, l'abondance des bactéries commensales productrices d'acides gras à chaine courte a été associée à une diminution des EPC chez les patients colonisés.

(211) D'autre part, les bactéries du microbiote intestinal sont capables de produire des métabolites à partir du catabolisme du tryptophane, existant en concentrations importantes dans l'alimentation. Le tryptophane est métabolisé en dérivés contenant de l'indole et en kynurénines par les bactéries du microbiote, ou en sérotonine par les cellules entérochromaffines humaines. L'indole est le métabolite du tryptophane le plus étudié. Il peut être produit par les bactéries qui possèdent l'enzyme tryptophanase, comme *E. coli*. L'indole affecte directement les souches de *P. aeruginosa* en réduisant l'expression de leurs facteurs de virulence. (212) D'autres dérivés de l'indole, tels que le 3-indolylacétonitrile, peuvent également altérer la virulence des bactéries, en réduisant la formation de biofilm par *P. aeruginosa* et par les souches d'*E. coli* entérohémorragique. (213) En parallèle, les bactéries du microbiote intestinal interviennent dans le métabolisme des acides biliaires synthétisés dans le foie et leur transformation en une large gamme d'acides biliaires secondaires. (214) Les acides biliaires secondaires sont de puissants agents antimicrobiens, empêchant potentiellement l'expansion des agents pathogènes intestinaux. Chez les patients cirrhotiques, la diminution de la conversion des acides biliaires primaires en secondaires observée, a été associée à l'expansion des entérobactéries. (215) Après traitement par vancomycine per os, la concentration en acides biliaires secondaires était également diminuée, entrainant une altération du microbiote intestinal même après la fin du traitement. (216) De récentes études ont montré l'existence d'acides biliaires secondaires spécifiques dans le microbiote intestinal de centenaires, réduisant potentiellement le risque d'infection à bactéries pathogènes. En particulier, l'acide isoallo-lithocholique a montré une puissante activité antimicrobienne contre l'ERV, *Clostridium difficile* et le SARM, mais non contre les bactéries à Gram négatif. (217) Enfin, il est à noter que la modulation des concentrations en oxygène dans la lumière intestinale peut également jouer un rôle dans la prolifération bactérienne. Une augmentation des concentrations en oxygène peut favoriser la prolifération des entérobactéries et entérocoques. En effet, contrairement à la majorité des bactéries du microbiote intestinal qui sont anaérobies stricts, les entérobactéries et entérocoques sont des bactéries anaérobies facultatives tolérant des concentrations en oxygène plus importantes. (218) Un lien entre les taux du butyrate et d'oxygène a été démontré. Les cellules du côlon utilisent le butyrate via les voies de β-oxydation. Des études ont montré que les taux de butyrate diminuent en post-antibiothérapie suite à l'épuisement de la flore anaérobie commensale productrice de butyrate. Par conséquent, une prolifération d'entérobactéries a été favorisée. (218) Le rôle de la concentration en oxygène a ensuite été confirmé à l'aide d'un modèle métabolique

expérimental d'un biofilm multi-spécifique, concluant que des concentrations d'oxygène de 1µM pourraient déclencher une augmentation significative de l'abondance en *E. coli*. (219)

Figure 6 : Principaux mécanismes d'inhibition directe de la colonisation par des bactéries exogènes multi-résistantes. (Adapté de (195)



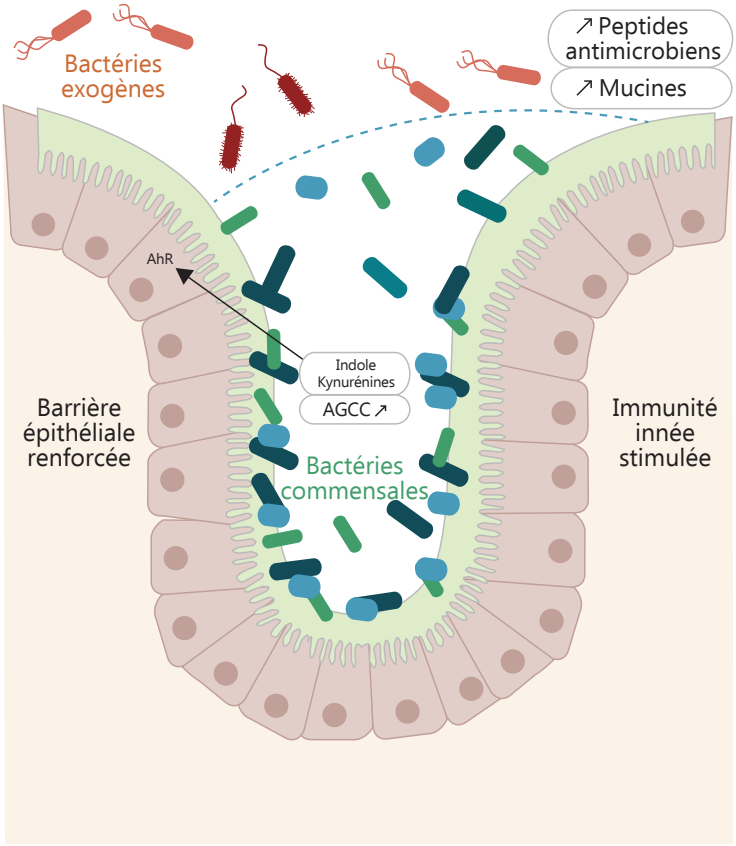
En plus des mécanismes d'inhibition directe, le microbiote intestinal stimule également l'épithélium intestinal et l'immunité de l'hôte pour fournir une barrière supplémentaire de résistance à la colonisation et aux infections par des bactéries exogènes. Ceci constitue le mécanisme d'inhibition indirecte réalisable via la production de peptides antimicrobiens d'une part et la stimulation de l'immunité innée par les métabolites intestinaux, d'autre part. Les mécanismes d'inhibition indirecte sont résumés dans la Figure 7. Les peptides antimicrobiens sont synthétisés par les cellules de l'hôte et contribuent aux défenses contre l'installation de bactéries pathogènes ou opportunistes. Les métabolites dérivant du métabolisme des bactéries du microbiote intestinal

et la colonisation intestinale par *E. coli* a induit l'expression de peptides antimicrobiens appartenant à la famille Reg3. (220,221) L'abondance de bactéries strictement anaérobies, notamment du genre *Clostridium* spp., était augmentée chez les souris transgéniques exprimant le Reg3A humain. (222) Ceci met en évidence le potentiel des peptides antimicrobiens à remodeler la composition du microbiote intestinal. (223) Des études ont montré que l'antibiothérapie à large spectre a diminué l'expression muqueuse de Reg3g, capable de tuer les bactéries à Gram positif, et par conséquent, a été associée à une expansion d'ERV. (224) Inversement, la stimulation de production des peptides antimicrobiens peut réduire la densité de BMR dans les selles. Résiquimod, une molécule synthétique capable de stimuler le système immunitaire inné en imitant l'ADN virale simple brin, a restauré la résistance à la colonisation par les ERV en augmentant l'expression de Reg3g. (225) Cependant, Résiquimod a été associé à des effets indésirables liés à l'induction systémique des cytokines, limitant son utilisation en pratique clinique. (226)

D'autre part, les acides gras à chaine courte sont également impliqués dans l'inhibition indirecte de la prolifération des entérobactéries, par l'amélioration des fonctions intestinales barrières, en stimulant l'immunité innée de l'hôte. En effet, le butyrate a augmenté la production de mucines et de peptides antimicrobiens par les cellules épithéliales intestinales. (227) De plus, la supplémentation orale en butyrate a favorisé l'expression des peptides antimicrobiens (Reg3g et β-défensines) et a diminué l'abondance des entérobactéries. (228) Il est intéressant de noter que la plupart des souches de *Klebsiella* productrices de BLSE sont très sensibles aux β-défensines. (229) Le butyrate régule la fonction des macrophages intestinaux en réduisant la production de médiateurs pro-inflammatoires. (230) Les macrophages ont joué un rôle protecteur contre la colonisation et la transmission de souches de *K. pneumoniae* productrices d'OXA-48, dans un modèle murin. La restauration de la dysbiose intestinale par des bactéries du genre *Bacteroides* spp. a également empêché la transmission d'EPC chez la souris, mettant en évidence un rôle potentiel de la stimulation des macrophages dans le contrôle des infections. (231) Les métabolites du tryptophane, en particulier l'indole et la kynurénine, stimulent également l'immunité innée de l'hôte. Ces molécules agissent comme des ligands du récepteur aryle-hydrocarboné (AhR), impliqués dans la réponse immunitaire innée et le maintien de l'intégrité de la barrière intestinale. (232) La production d'IL-22 via AhR était liée à la résistance à la colonisation par les bactéries pathogènes. (233) L'administration de probiotiques tels que *Lactobacillus reuteri*, associée à un régime riche en tryptophane, pourrait avoir le potentiel d'activer le récepteur AhR dans d'intestin.

(234) De plus, le tryptophane possède une voie métabolique supplémentaire aboutissant à la synthèse de sérotonine à travers les cellules entérochromaffines. Plus de 90% de la sérotonine est produite dans l'intestin par les cellules entérochromaffines. (232) La sérotonine augmente le péristaltisme intestinal et la motilité, ce qui peut aider à réduire la prolifération bactérienne. (235) De plus, la sérotonine est capable d'augmenter l'activité phagocytaire des macrophages sous concentrations physiologiques d'interféron-γ. (236) Même si la sérotonine est produite par l'hôte, sa synthèse peut être améliorée par les bactéries microbiote intestinal. (237) Plus précisément, dans un modèle murin, les acides gras à chaine courte produits par le microbiote intestinal induit la synthèse de sérotonine. (238) En parallèle, la sérotonine joue un rôle sur la composition du microbiote intestinal. Des niveaux élevés de sécrétion de sérotonine dans la lumière intestinale étaient à l'origine de l'augmentation de l'abondance relative des bactéries sporulées, dont *Clostridium* spp., conduisant à une interaction bidirectionnelle entre l'hôte et le microbiote intestinal médiée par la sérotonine. (239) L'immunosuppression est un facteur de risque associé à la colonisation par des EPC chez les patients hospitalisés. (240) Une fois colonisés, les patients immunodéprimés sont également à risque plus élevé de développer des infections à EPC. (241) Le renforcement de l'immunité innée de l'hôte a le potentiel de favoriser la résistance à la colonisation par des BMR. D'autres études se concentrant sur les interactions entre l'hôte et les BMR seront nécessaires pour confirmer ces constatations.

Figure 7 : Mécanismes d'inhibition indirecte de la colonisation à bactéries exogènes multi-résistantes. (Adapté de (195)



Le microbiote intestinal est propre à chaque individu, d'un point de vue qualitatif et quantitatif. Les microorganismes majoritairement retrouvés dans le microbiote intestinal sont les bactéries. On estime que chez chaque individu on retrouve près de 400 espèces bactériennes différentes de type anaérobie strict ou anaérobie facultative. Certaines espèces dominantes, présentes chez la majorité des individus, restent stables et permettent d'effectuer les fonctions essentielles du microbiote. Elles sont associées à des populations minoritaires variables entre les individus (Figure 8). Les bactéries dominantes du microbiote intestinal sont réparties en 3 phyla bactériens majeurs : (242)

- Le phylum des Firmicutes : bactéries à Gram positif, représentant plus de la moitié des micro-organismes de la flore et comportant 3 classes de bactéries : Clostridia qui comprend les bactéries des genres *Clostridium* spp., *Ruminococcus* spp. et *Faecalibacterium* spp.; Mollicutes contenant les bactéries du genre *Mycoplasma* spp. ; et la classe des Bacilli

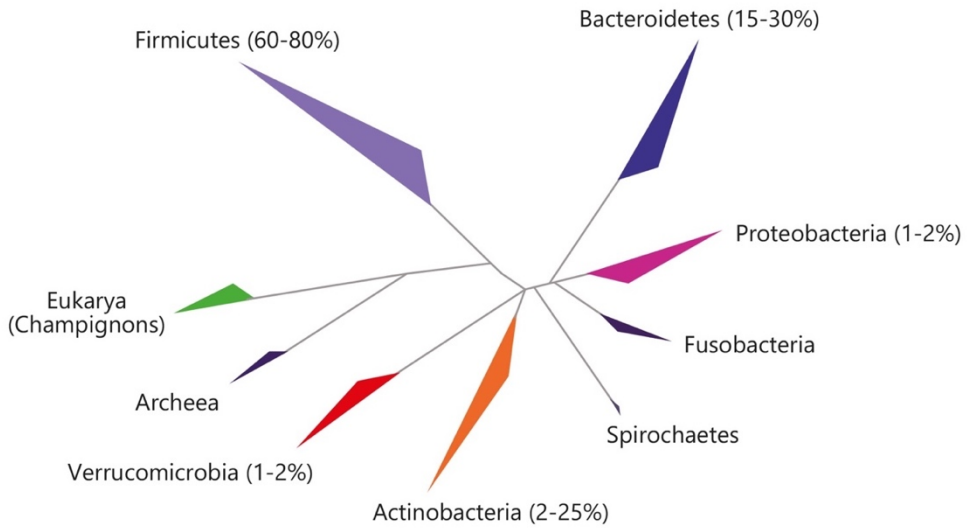
comprenant les bactéries des genres *Listeria* spp., *Staphylococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Enterococcus* spp. et *Streptococcus* spp.

- Le phylum des Bacteroidetes : représente jusqu'à 30% de la population bactérienne. Il comprend les bactéries des genres *Bacteroides* spp. et *Prevotella* spp.
- Le phylum des Actinobacteria : représente en général moins de 10% de la population du microbiote. Ce sont des bactéries à Gram positif, notamment appartenant aux genres *Actinomyces* spp., *Mycobacterium* spp. ou *Bifidobacterium* spp.

Le microbiote intestinal est composé également de bactéries du phylum des Proteobacteria, comprenant l'ordre des Entérobacteriales, bactéries anaérobies facultatives que l'on retrouve en faible quantité. Aussi, de façon minoritaire, on retrouve des bactéries des phyla Fusobacteria, Verrucomicrobia et Spirochaetes.

Aux bactéries du microbiote intestinal s'ajoute la composante fongique, constituée de champignons et de levures, ainsi que les archées. Ces derniers sont des microorganismes unicellulaires procaryotes, longtemps considérés comme des bactéries, jusqu'à ce que les analyses génétiques et les méthodes de classification phylogénétique ont permis de les considérer comme un groupe distinct de microorganismes.

Figure 8 : Représentation schématique de l'arbre phylogénétique des bactéries du microbiote intestinal. (Adapté de (242)



Au sein d'une population en bonne santé, la composition du microbiote varie, tandis que les voies métaboliques restent stables. (243) En effet, différents taxons bactériens partagent les mêmes fonctions métaboliques. Ainsi, une diminution de l'abondance d'un taxon peut être compensée par un autre taxon capable d'une activité métabolique similaire. Une antibiothérapie à large spectre, incluant une association de méropénème, vancomycine et gentamicine, chez une personne en bonne santé, a considérablement réduit la diversité du microbiote intestinal. (244) Une diminution des bactéries anaérobies produisant des acides gras à chaine courte a été observée, compensée par une augmentation des bactéries de la classe des Enterobacterales (*Klebsiella* spp., *E. coli*) et du genre *Enterococcus* spp. Six mois après l'antibiothérapie, la diversité des microbiotes intestinaux a récupéré spontanément. Ce retour à l'état d'équilibre précédent montre la résilience du microbiote intestinal suite à une perturbation externe causée par l'antibiothérapie. Cependant, le microbiote intestinal n'est pas toujours résilient. En effet, l'antibiothérapie peut également provoquer un passage à un état stable de dysbiose. (245) La dysbiose se caractérise par une baisse de la diversité bactérienne et une perte des bactéries essentielles, entraînant des altérations métaboliques dans le fonctionnement du microbiote. Une durée d'antibiothérapie prolongée augmente le risque de dysbiose. Chez les nouveau-nés exposés aux antibiotiques, chaque jour supplémentaire de traitement était associé à une diminution de la population bactérienne anaérobie stricte, en

particulier celle productrice de butyrate. (246) Une diminution des bactéries productrices de butyrate est considérée comme l'un des principaux facteurs responsables du passage à l'état de dysbiose. (247) Suite à une antibiothérapie, toute exposition à des BMR peut conduire à une colonisation réussie à long terme. En effet, la résilience spontanée du microbiote intestinal peut nécessiter du temps pour se produire. Dans un modèle murin de colonisation intestinale par des souches de *K. pneumoniae* productrices de carbapénémase de type NDM, une seule injection de clindamycine dans un délai inférieur ou égal à une semaine avant ou après l'exposition à cette EPC, a induit une colonisation réussie et persistante jusqu'à 100 jours. Ainsi, une colonisation spécifique par une EPC peut être déterminée par la durée d'exposition à cette EPC et le moment d'administration des antibiotiques. (248)

D'autre part, une étude s'est intéressée à évaluer le rôle du microbiote intestinal dans l'acquisition de BMR et leur clairance. En effet, les auteurs ont analysé la composition du microbiote intestinal de 43 voyageurs avant leur départ, à leur retour et un mois après leur voyage dans des pays tropicaux de l'Asie, l'Afrique Sub-Saharienne et l'Amérique Latine. Dix-sept voyageurs avaient acquis une entérobactérie multi-résistante (entérobactérie productrice de BLSE, HCase et/ou EPC) pendant leur séjour et 6 sont restés colonisés un mois après leur retour. L'acquisition d'une entérobactérie multi-résistante n'a été associée à une composition particulière de microbiote ni avant le voyage, ni au retour. Cependant, la composition du microbiote intestinal des voyageurs qui sont restés colonisés un mois après leur retour différait significativement de celle des voyageurs ayant éliminé l'entérobactérie multi-résistante. Ainsi, chez ces derniers, les bactéries du genre *Clostridium* spp. étaient significativement plus abondantes. De plus, les voyageurs, qui sont restés colonisés un mois après leur retour, avaient un microbiote à diversité et richesse bactériennes plus faibles avant le voyage, comparé au microbiote des voyageurs ayant éliminé l'entérobactérie multi-résistante. Ces résultats supportent le rôle du microbiote intestinal dans la clairance de la colonisation par une BMR chez les individus sains, n'ayant pas reçu d'antibiotiques. (249)

2.3. La diffusion en milieu hospitalier et en communautaire

Pendant de nombreuses années, les bactéries productrices de BLSE ont été limitées au milieu hospitalier avec essentiellement des épidémies d'espèces d'entérobactéries dites « hospitalières », *K. pneumoniae* ou *Enterobacter* spp., productrices d'enzymes de type TEM ou SHV. (250,251) L'émergence et la dissémination des entérobactéries productrices de BLSE de type CTX-M à travers le monde ont bouleversé cette épidémiologie. (252) L'enzyme CTX-M a été retrouvé chez *E. coli*, première bactérie responsable d'infections communautaires, mais également commensale du microbiote intestinal de l'homme et des animaux. Le nombre de porteurs d'entérobactéries productrices de BLSE dans le monde est estimé à 1,5 milliards avec des prévalences dans la population générale extrêmement variables d'un pays à l'autre, estimées à 70%, 35% et 15% respectivement en Asie, dans l'Est du bassin méditerranéen et en Afrique. En Europe, la prévalence est plus faible, estimée autour de 10%. (253) Des données récentes montrent qu'en France, la prévalence dans la population générale est de l'ordre de 5 à 10%. (254,255) Une étude menée dans une population parisienne sans facteurs de risque en 2011 a montré une augmentation du taux de colonisation par des entérobactéries productrices de BLSE en communautaire de 10 fois, comparée à une étude identique menée en 2006. (256)

Comme pour les BLSE, les carbapénémases ont également été isolées fréquemment dans l'espèce *E. coli.* Si la dissémination des EPC dans les hôpitaux a été très largement décrite, (257,258) peu de données existent quant à leur diffusion dans la communauté. Néanmoins, de nombreux rapports ont mis en garde contre la propagation probable des EPC dans la communauté à partir des hôpitaux, comme on l'observe déjà pour les entérobactéries productrices de BLSE. (44) En effet, les données sur la prévalence des EPC en communautaire sont rares. (44) Les données sur la prévalence des infections à EPC d'origine communautaire sont aussi rares. Une revue de la littérature, publiée en 2017, a décrit des proportions de 0 à 29,5% d'infections à EPC acquises dans la communauté ou d'apparition communautaire, toutefois une exposition antérieure à l'environnement hospitalier avait été enregistrée de manière incohérente. (259) Des cas d'infections à EPC d'origines communautaires chez des patients sans contact avec le milieu hospitalier au cours des trois mois précédents ont également été signalés récemment en Europe. (260)

Les BHRe peuvent être portées par des individus colonisés ou infectés et sont excrétées dans l'environnement à partir de plusieurs sites corporels, y compris les sécrétions respiratoires et les matières fécales, contribuant à leur diffusion et transmission. (11) En effet, les individus colonisés ou infectés peuvent excréter ces BHRe pendant des mois ou des années, engendrant un risque de transmission à long terme. (261,262) De plus, les patients colonisés peuvent être moins susceptibles de contaminer leur environnement que les patients infectés, ayant une charge bactérienne plus élevée. (263) L'environnement hospitalier contaminé par les BHRe peut servir de source de propagation directe ou indirecte, via le personnel soignant. (264,265) Des études ont suggéré que la contamination de l'environnement est associée à des risques plus élevés de colonisation ou infection. (266) Deux études françaises, effectuées dans une situation épidémo-endémique, suggéraient que le risque de diffusion en milieu hospitalier était corrélé à la charge en soins, la pression de sélection antibiotique et au fait que les patients contact les plus à risque d'acquisition étaient ceux qui se situaient dans les chambres avoisinantes du patient index. (267,268) Toutefois, dans ces deux études, les auteurs étaient dans l'incapacité de prendre en compte le risque lié au réservoir individuel.

Afin que la transmission de BHRe se produise d'un patient à un autre à travers l'environnement, plusieurs étapes sont nécessaires. Premièrement, un porteur doit disséminer la BHRe, ceci à travers un contact direct avec l'environnement par la peau colonisée, ou par l'excrétion de fluides corporels contaminés. Une fois dans l'environnement, la BHRe doit survivre pour être transférée à d'autres patients. Les facteurs de risque liés à la diffusion des BHRe en milieu hospitalier peuvent être classés en 4 catégories : (1) catégorie bactérienne : espèce bactérienne, clones à succès, capacité de survie dans l'environnement ; (2) catégorie liée à l'hôte : composition du microbiote intestinal, pression de sélection antibiotique et non-antibiotique ; (3) catégorie organisationnelle : charge en soin, bio-nettoyage ; (4) catégorie épidémiologique : fonction du caractère endémique ou épidémique et donc de la pression de colonisation.

En ce qui concerne l'espèce bactérienne, différentes études publiées avaient démontré que la contamination de l'environnement était plus fréquente autour des patients colonisés par des bactéries du genre *Klebsiella* spp. qu'autour des patients colonisés par des souches d'*E coli.* En fait, ces études suggèrent que *Klebsiella* spp., de par son pouvoir de former des biofilms, pourrait

survivre de façon prolongée dans l'environnement. Cette contamination environnementale pourrait participer à la diffusion intra-hospitalière de *Klebsiella* spp., expliquant leur taux de transmission croisée plus important et leur potentiel élevé de provoquer des épidémies. (17,18,269,270)

La survie des BHRe sur les surfaces augmente également le risque de transmission dans l'environnement. De longues durées de survie des BHRe dans l'environnement peuvent créer des réservoirs facilitant cette transmission. La détection d'une contamination de l'environnement hospitalier a été principalement étudiée pour les bactéries à Gram positif, avec des taux de contamination allant jusqu'à 64% et 94% autour des patients colonisés par des SARM et ERV, respectivement. (14–16) Parmi les bactéries à Gram négatif, la prévalence de la contamination de l'environnement par les entérobactéries productrices de BLSE a été rapportée entre 4% et 19%, selon les espèces. (17,18) Lerner et al. ont décrit également une contamination de l'environnement autour des patients porteurs d'EPC. (14) Ainsi, les patients en contact direct avec les environnements contaminés peuvent acquérir la BHRe. En effet, différentes études ont montré que les patients admis dans une chambre précédemment occupée par un patient colonisé ou infecté par une BMR ou une BHRe, tels que SARM, ERV ou *Acinetobacter* spp. ont une probabilité accrue de développer une colonisation ou infection par ces pathogènes. (15,271–273)

L'identification des facteurs de risque de diffusion environnementale liés au patient permettrait de caractériser parmi les patients hospitalisés, ceux qui devraient être des disséminateurs, et ceci dans le but de mieux cibler le bio-nettoyage de l'environnement et de minimiser les risques de transmission. Il peut s'agir de facteurs de risque associés au profil clinique des patients colonisés ou infectés, tels qu'un degré élevé de dépendance ou d'incontinence fécale, et/ou une abondance fécale élevée de BMR. (274) De nombreuses études ont suggéré une relation entre le profil clinique d'un patient et la contamination environnementale. Ainsi, dans un travail, les patients colonisés par une BMR, diarrhéiques, contaminaient leur environnement dans 59% des cas. (275) Dans un autre travail, les auteurs ont identifié que l'incontinence fécale était le seul facteur prédictif, parmi les caractéristiques démographiques et cliniques étudiés, indépendamment corrélé à la contamination de l'environnement des patients colonisés par une EPC. (274) Une autre étude révèle que les plaies infectées par des BMR constituent également une voie de contamination (36% des cas), à travers une dissémination possible des BMR suite à un contact physique direct ou à travers les sécrétions de fluides. (276) Les recherches autour des patients à risque de contamination de leur environnement hospitalier ont été abordées de plusieurs façons. En effet, quelques auteurs

ont tenté d'identifier les facteurs de risque individuels liés à la contamination de l'environnement autour des patients colonisés par des BHRe. Ainsi, des anciens travaux avaient suggéré une corrélation entre l'abondance relative d'ERV dans les selles et le pourcentage de prélèvements environnementaux positifs. De même, la colonisation individuelle, définit par le nombre de site positifs, était corrélée à la contamination environnementale. (184,277) Pour les EPC, une seule étude suggérait une corrélation entre la contamination environnementale et l'abondance relative. Toutefois, il s'agissait d'une étude de prévalence de type un jour donné et les auteurs n'avaient pas déterminé de facteurs de risque individuels permettant d'identifier les patients disséminateurs. (14) De plus, d'autres auteurs ont suggéré une corrélation entre le taux de colonisation rectale et la contamination environnementale. (184,278) Cependant, dans une étude récente, Lerner et al. ont évalué la diffusion environnementale des EPC en quantifiant la contamination au voisinage de 34 patients colonisés. Les auteurs ont identifié, parmi 26 patients disséminateurs, un groupe distinct de six (18%) appelé « superspreaders », qui étaient responsables de 79% de la contamination environnementale détectée. De plus, ces « superspreaders » étaient susceptibles d'avoir des concentrations rectales élevées en EPC. Par conséquent, les auteurs ont suggéré que seulement 20% des patients colonisés sont responsables de 80% de la dissémination environnementale des EPC. (274)

D'autre part, la transmission des BMR d'un patient hospitalisé à un autre peut se faire par l'intermédiaire d'un vecteur, tel qu'un membre du personnel soignant. Wilson et al. ont observé sur 585 interactions entre les patients et le personnel soignant, une contamination des gants et des blouses par les BMR dans 120 (20,5%) cas. (279) Dans une étude de cohorte effectuée autour de patients colonisés par des bacilles à Gram négatif multi-résistants, les auteurs ont suggéré que certains types de soins, notamment la toilette du périnée, et la prescription d'antibiotiques, étaient les seuls facteurs associés à la contamination des mains du personnel soignant. Toutefois, cette contamination était rare, ne touchant que 7% des mains du personnel soignant. (280) Ainsi, les données de la littérature montrent que la transmission de bacilles à Gram négatif au sein des structures hospitalières dépend, non seulement du respect des précautions standards, mais probablement de l'importance de la source.

Comme la démonstration de la transmission directe et l'acquisition de BMR à travers l'environnement n'est pas réalisable expérimentalement, la littérature révèle que les mécanismes nécessaires à la transmission sont possibles. Cependant, à ce jour, aucune étude n'a permis d'identifier les facteurs de risque associés à la contamination de l'environnement. En effet, la plupart des études antérieures ont été menées lors d'épidémies et/ou n'ont pas pris en compte les facteurs de confusion liés aux facteurs de risque individuels de dissémination dans l'environnement. (17) En outre, aucune d'entre elles n'a corrélé la quantification des BMR dans les selles au risque de dissémination.

Par ailleurs, les sources potentielles de la diffusion des BMR dans la communauté sont multiples et plusieurs réservoirs ont été identifiés comme à risque d'introduction en milieu communautaire. (281) Premièrement, un patient ayant acquis une BMR à l'hôpital peut réintégrer cette BMR à son domicile. (266) Dans une étude récente prospective au Pays-Bas, le risque de transmission à partir d'un patient porteur dans un foyer était estimé à 67% en 18 mois. (282) Deuxièmement, un voyage en zone d'endémie peut être à l'origine d'une importation de BMR. En effet, un taux d'acquisition d'entérobactéries productrices de BLSE a été mesuré à 50% au retour d'un voyage en zone tropicale. Aussi, un taux d'acquisition d'EPC a été mesuré à 5% après un retour de l'Inde. (283) Au retour d'un voyage, la transmission d'une entérobactérie productrice de BLSE d'un voyageur colonisé à un autre membre de sa famille a été estimée à 12%. (284) Troisièmement, l'alimentation (viandes ou légumes) contaminée peut constituer une source potentielle. Par exemple, la présence d'entérobactéries productrices de BLSE a été détectée dans 50% de la volaille à la découpe, dans plusieurs études européennes (260,285) et dans 92% de la volaille, récemment en France. (286) D'autre part, les EPC sont de plus en plus détectées dans les aliments d'origine animale, y compris les porcs, la volaille, les bovins, les fruits de mer, les chiens, les chats, les chevaux, les oiseaux de compagnie, les hirondelles, les sangliers, les cigognes sauvages, les goélands et les milans noirs. (287–290) La production de carbapénémase a également été signalée chez une bactérie d'origine alimentaire, *Salmonella enterica*. (291) Il existe de plus en plus des preuves que des souches d'*E. coli* peuvent être transmises à l'homme via la chaîne alimentaire à partir d'une source animale destinée à l'alimentation. Les voies de contamination oro-fécale ou via la chaîne alimentaire ont le potentiel de transmettre les EPC à une population plus grande, en meilleure santé et plus jeune. Après ingestion d'aliments contaminés par des EPC, ces EPC pourraient faire partie de la flore

intestinale de leurs hôtes ; ces derniers pourraient être en bonne santé et ne pas avoir été exposés à un environnement hospitalier ou aux antibiotiques. (292) Une dernière source de dissémination des BMR en communautaire est l'environnement, comme observé dans les effluents de la ville et de l'hôpital de Besançon. (293) Des EPC ont aussi été détectées dans des échantillons d'eau de mer provenant d'un site de baignade en Irlande, d'un écosystème fluvial espagnol et d'eaux usées au Royaume-Uni, indiquant des réservoirs environnementaux potentiels pour une diffusion ultérieure. (294–296)

Au Liban, les données de la littérature suggèrent une diffusion importante des BMR dans l'environnement en communautaire. A ce jour, 15 études sur le sujet ont été publiées. Une étude a décrit la présence de BMR dans les légumes crus, (297) une autre dans le lait cru de bovins. (298) D'autres études se sont intéressées aux BMR chez les animaux d'élevage. Une étude a retrouvé des BMR chez les bétails en bonne santé, (299) une autre chez les porcs, (300) et 3 autres chez la volaille. (301–304) Une étude supplémentaire a identifié la présence de BMR chez les truites en aquaculture. (305) D'autre part, 6 travaux se sont concentrés sur la contamination des eaux de différentes origines par des BMR : les eaux usées hospitalières, (306) les eaux des rivières, (307,308) les eaux d'arrosage, (309) les eaux des estuaires (310) et les eaux des égouts domestiques. (311) Les principaux résultats de toutes ces études sont détaillés dans le Tableau V.

Tableau V : Détails des BMR isolées de l'environnement communautaire au Liban.

Auteurs	Année	Origine	Echantillon (N)	BMR isolées n(%)			Réf.
				Entérobactéries productrices de BLSE	***EPC***	***Entérobactéries résistantes à la Colistine (mcr-1)***	
Klingbeil et al.	2016	Légumes crus de la vallée de la Bekaa	60 souches d'*E. coli*	36 (60%) de souches résistantes à 3 des antibiotiques suivants : cotrimoxazole; ampicilline, céphalotine, gentamicine; sulfonamides, colistine, streptomycine, et tétracycline			(297)
Diab et al.	2017	Lait cru de bovins, 63 fermes du Nord du Liban	154 échantillons de lait	43 (27.9%)	1 (0.6%) OXA-48	NA	(298)
Diab et al.	2017	Bétails en bonne santé, 31 fermes différentes du Nord et Sud du Liban	171 prélèvements rectaux	39 (22.9%)	NA	NA	(299)
Hmede et al.	2018	Poulet, 3 fermes	93 prélèvements rectaux	NA	NA	91 (98%)	(301)
Dandachi et al.	2018	Poulet, une ferme	200 prélèvements rectaux	106 (53%)	NA	85 (42.5%)	(302)
Dandachi et al.	2019	Porc, 3 fermes du Sud du Liban	114 prélèvements rectaux	108 (94.5%)	NA	NA	(300)
Dandachi et al.	2020	Poulet, une ferme	200 prélèvements rectaux	118 (59%)	NA	200 (100%)	(303)
Mikhayel et al.	2021	Poulet, 56 fermes sur tout le Liban	280 prélèvements rectaux	168 (60%)	NA	52 (8.6%)	(304)
Hassan et al.	2020	Truites, une ferme sur la rivière Assi dans la vallée de la Bekaa	6 prélèvements d'estomac	NA	NA	5 (83%)	(305)
Daoud et al.	2018	Eaux usées des stations d'épuration de 2 hôpitaux Beyrouth et Nord du Liban	70 souches d'entérobactéries	70 (100%)	2 (2.8%) NDM-1	NA	(306)

Diab et al.	2018	Eaux des estuaires de la région de Tripoli, Nord du Liban	22 échantillons d'eau	13 (59.1%)	4 (18.2%) OXA-48, OXA-244	NA	(310)
Hmede et al.	2019	Eaux d'arrosage des 2 majeures zones agricoles, Sud du Liban et la vallée de la Beqaa	27 échantillons d'eau	12 (45.5%)	NA	12 (45.5%)	(309)
Sulaiman et al.	2019	Echantillons composites d'eau potable et eau des égouts de 2 camps de réfugiés Syriens au Liban	12 échantillons composites, 36 souches *d'E. coli* isolées	31 (86%)	1 (2.8%) OXA-48	36 (100%)	(311)
Dagher et al.	2021	Eaux de 14 rivières sur tout le Liban	132 échantillons d'eau, dont 378 souches *d'E. coli* isolées	173 (45.8%) souches résistantes à 3 des antibiotiques suivants : ampicilline, amoxicilline + ac. clavulanique, céfépime, cefotaxime, céphalexine, céfixime, doripénème, imipénème, gentamicine, kanamycine, streptomycine, tétracycline, ciprofloxacine, norfloxacine, triméthoprime-sulfamethoxazole et chloramphénicol.			(307)
Moussa et al.	2021	Eaux de 5 rivières majeures de tout le Liban	91 souches d'entérobactéries isolées	25 (27.5%)	1 (1.1%) NDM-5	NA	(308)

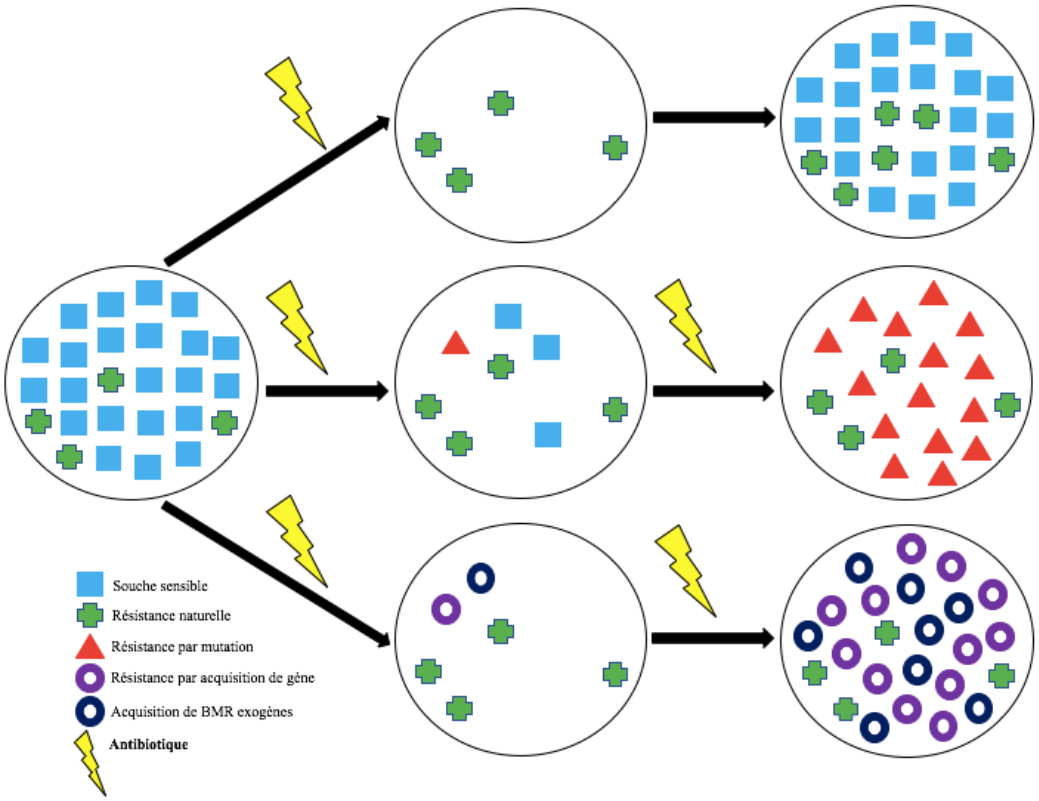
BMR : Bactéries multi-résistantes ; EPC : Entérobactéries productrices de carbapénémases ; BLSE : ß-lactamases à spectre étendu ; NA : données non disponibles ; Réf. : Références.

La propagation des entérobactéries productrices de BLSE, principalement *E. coli*, dans la communauté au cours de la dernière décennie démontre à quelle vitesse ces bactéries peuvent disséminer. (54) Les entérobactéries productrices de BLSE peuvent servir de modèle pour la propagation des EPC, du fait qu'il s'agit des mêmes espèces bactériennes impliquées et que les gènes de résistance en question sont tous portés par des plasmides. Bien que peu visibles à l'échelon individuel, les enjeux de la dissémination des EPC en communautaire sont majeurs. En effet, la dissémination des EPC en communautaire augmente, d'une part le risque d'inadéquation thérapeutique pour les infections communautaires sévères, notamment les pyélonéphrites et d'autre part, le risque d'introduction de ces mécanismes de résistance à l'hôpital, entrainant une augmentation du risque de transmission des gènes de résistance à d'autres espèces bactériennes.

2.4. Le poids de l'antibiothérapie

Il est évident que la surconsommation d'antibiotiques aux niveaux humain, animal et environnemental a aggravé le phénomène de résistance. Il est aussi évident que l'utilisation d'antibiotiques est responsable de dysbiose intestinale, accusée d'être à l'origine de l'émergence de résistances bactériennes. (312–314) Au niveau individuel, la pression de sélection provoquée par les antibiotiques sur le microbiote intestinal favorise la colonisation à BMR. Cela peut être la résultante de : (1) la prolifération des bactéries présentant une résistance intrinsèque ou acquise à l'antibiotique administré et (2) l'acquisition de BMR exogènes pandémiques (Figure 9). (315,316)

Figure 9 : Schéma expliquant les mécanismes d'émergence de la résistance.



L'administration d'un antibiotique a des conséquences sur différents microbiotes : cutané, vaginal, respiratoire, urinaire et principalement digestif. Ce dernier semble être le plus impacté en raison de sa richesse et de sa diversité (100 000 milliards de bactéries par gramme de selles). De nombreuses études longitudinales, à méthodologies variables, ont montré des modifications importantes du microbiote intestinal après administration d'antibiotiques. (317,318) Ces variations, bien que difficilement comparables, suggèrent des changements dans la composition du microbiote intestinal en termes de richesse et de diversité et sont associées à l'émergence d'espèces bactériennes naturellement résistantes à l'antibiotique administré et/ou d'espèces ayant acquis des mécanismes de résistance. Tous les antibiotiques ont des conséquences écologiques et leurs effets sont durables jusqu'à 24 mois après administration, pour un certain nombre de molécules. (319) Comme suggéré par Woerther et al., l'activité pharmacocinétique et anti-anaérobie d'un antibiotique semble avoir un rôle important dans l'émergence et l'acquisition de BMR. (320)

La subdivision des antibiotiques disponibles en 2 catégories : les antibiotiques à spectre d'activité étroit et les antibiotiques à large spectre d'activité, est apparue dans les années 1980 avec la première commercialisation des céphalosporines. A l'origine, cette catégorisation artificielle servait à mettre en évidence le spectre d'activité plus large des céphalosporines sur les entérobactéries, y compris les espèces ayant acquis des mécanismes de résistance principalement par l'acquisition de pénicillinases. Par la suite, certaines études se sont concentrées sur l'évaluation de l'impact de chaque classe d'antibiotiques sur le microbiote intestinal. Cependant, ces études étaient méthodologiquement discutables et ne comparaient pas l'impact d'une classe d'antibiotiques à une autre. Pendant de nombreuses années, il semble exister une confusion entre le large spectre d'activité d'un antibiotique et son impact écologique. En effet, de nombreux auteurs ont tenté de définir et de classer les effets écologiques liés à l'administration de différents antibiotiques. (321,322) De plus, malgré le grand nombre d'études suggérant la sécurité de la désescalade en antibiothérapie, (323–325) les bénéfices écologiques sur le microbiote intestinal et sur l'acquisition de BMR n'ont jamais été démontrés. (326) D'autre part, dans une récente revue de littérature visant à identifier les facteurs de risque associés à l'acquisition et l'émergence d'EPC, les auteurs ont suggéré une corrélation entre l'utilisation, non seulement des carbapénèmes, mais aussi de nombreuses autres classes d'antibiotiques (les fluoroquinolones, les C3G et autres) et le risque élevé d'acquisition d'EPC. (327) Ces résultats, ainsi que l'effet paradoxal observé avec

certains autres antibiotiques, y compris la vancomycine, devraient conduire à reconsidérer le risque écologique associé aux différentes classes d'antibiotiques. (328,329)

Par ailleurs, l'effet des antibiotiques sur le microbiote intestinal peut se résumer par différents points : (1) la libération spatiale de la niche écologique, (2) la mise à disposition d'une quantité supplémentaire de nutriments, (3) la destruction des espèces bactériennes sensibles et l'émergence de bactéries résistantes, (4) la modification de la diversité et la richesse du microbiote. Ces effets dépendent de plusieurs facteurs, y compris : (1) la composition initiale du microbiote, (2) les niveaux de concentration d'antibiotiques variables, voire leurs effets variables dans les différentes parties du tube digestif, (3) l'activité des antibiotiques sur les bactéries anaérobies.

La concentration d'antibiotiques dans le microbiote intestinal semble être un facteur majeur associé au risque d'acquisition de BMR. La diffusion variable d'un antibiotique à différents niveaux du tube digestif aura probablement des conséquences sur la concentration totale de l'antibiotique affectant le microbiote intestinal. Pendant de nombreuses années, l'idée de diffusion digestive d'un antibiotique a été considérée comme le seul facteur associé au risque d'émergence de résistances. On aurait donc pu supposer à tort que des molécules d'une même classe d'antibiotiques pouvaient avoir des impacts différents sur le microbiote intestinal. En effet, suite aux premiers travaux de Michea Hamzepour, nous avons considéré une différence d'impact sur le microbiote intestinal entre la ceftriaxone, antibiotique à élimination biliaire et le céfotaxime, antibiotique à élimination urinaire. (330) Par ailleurs, les études sur des souris, visant à évaluer le rôle des antibiotiques dans l'acquisition et la persistance de souches de *K. pneumoniae* productrices de BLSE, ont suggéré que certaines classes d'antibiotiques, considérées avoir un effet écologique élevé, étaient capables d'inhiber la colonisation par des bactéries à Gram négatif. Dans ces études, l'ertapénème (carbapénème) administré permettait d'inhiber toute colonisation par des souches de *K. pneumoniae* productrices de BLSE contrairement à l'imipénème-cilastatine. Ces résultats ont été expliqués par les concentrations élevées de l'ertapénème excrété dans le tractus intestinal, contrairement aux concentrations intestinales insuffisantes de l'imipénème-cilastatine, incapables d'altérer le microbiote intestinal. (331,332)

En parallèle, des études cliniques ont montré que les concentrations d'antibiotiques dans le tractus intestinal constituent un facteur important associé à la dysbiose et l'émergence de BMR. Dans une étude récente portant sur l'effet de l'imipénème sur la composition du microbiote intestinal, les

auteurs ont été surpris par un taux de colonisation élevé et inattendu par des souches d'*E. coli* productrices de BLSE sensibles à l'imipénème avant l'administration d'antibiotiques (70,6%), qui est resté stable malgré l'administration d'imipénème-cilastatine. Les auteurs ont suggéré que l'absence d'impact observé pourrait s'expliquer par la faible élimination biliaire connue de l'imipénem-cilastatine. En effet, les antibiotiques appartenant à la classe des carbapénèmes diffèrent par leur élimination biliaire. (331,333) Ainsi, comprendre l'impact d'un antibiotique sur la flore intestinale nécessite la considération des propriétés pharmacocinétiques de cet antibiotique, y compris sa concentration à différents niveaux du tube digestif.

Plus récemment, deux études, l'une menée sur des sujets sains (334) et l'autre sur des patients hospitalisés colonisés par des BMR, (335) ont démontré, bien qu'ayant des mécanismes d'élimination différents, aucune différence significative entre la ceftriaxone et le céfotaxime, vis-à-vis de leur impact sur le microbiote intestinal et l'émergence de BMR. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que les concentrations digestives totales de ces antibiotiques, résultante des posologies thérapeutiques utilisées et des voies d'éliminations correspondantes à chaque molécule, sont équivalentes.

D'autres molécules antibiotiques à large spectre d'activité et faible concentration intestinale ont été également étudiées. En effet, une étude incluant 9 patients, colonisés par des entérobactéries productrices de BLSE et traités par de l'amikacine, n'a montré aucun impact de l'amikacine sur le microbiote intestinal. (336) Une autre étude, menée sur un groupe de 7 femmes présentant des infections urinaires récurrentes, a montré que la nitrofurantoïne n'avait également pas d'impact sur microbiote intestinal pendant la durée du traitement. Dans cette étude, aucune souche résistante de bactéries à Gram négatif n'a été détectée. (337) Par ailleurs, d'autres études se sont intéressées à des molécules d'antibiotiques à spectre d'activité plus étroit mais ayant des propriétés pharmacocinétiques différentes. Par exemple, le métronidazole est un antibiotique anti-anaérobie, complètement absorbé dans l'intestin grêle, quand il est administré par voie orale. Par conséquent, les concentrations intestinales de métronidazole diminuent de manière significative le long du tractus gastro-intestinal, avec des concentrations minimales atteignant le côlon. En revanche, la vancomycine, antibiotique anti-bactéries à Gram positif, est mal absorbée au niveau digestif, quand elle est administrée par voie orale. Ceci entraine le maintien de concentrations de vancomycine élevées tout au long du tractus gastro-intestinal. De ce fait, le métronidazole administré par voie

orale peut avoir moins d'effet sur le microbiote intestinal que la vancomycine orale. En effet, dans une étude récente, les auteurs ont démontré que la vancomycine administrée par voie orale induit des changements importants et constants dans le microbiote intestinal humain, avec une diminution importante des bactéries du genre *Bacteroides* spp. et une expansion des entérobactéries, y compris *E. coli* et *K. pneumoniae*. (338)

Si la concentration intestinale des antibiotiques joue un rôle majeur dans l'émergence de résistances, plusieurs études suggèrent que l'impact d'un antibiotique sur le microbiote intestinal semble être un phénomène rapide, se produisant dès les premières doses administrées. Ainsi, une étude, évaluant l'impact de la dicloxacilline, la clindamycine, le céfuroxime, le céfotaxime et la ciprofloxacine sur le microbiote intestinal de souris, a montré un impact significatif pour la clindamycine et la dicloxacilline, observé dès le 2ème jour d'administration. (339)

Enfin, il est important aussi de souligner que les différences dans la composition bactérienne du microbiote intestinal entre les individus pourraient entrainer des inégalités dans l'hydrolyse bactérienne d'un même antibiotique administré, (340) ainsi que dans la clairance des BMR exogènes, acquises. (341) En effet, des études ont mis en évidence l'importance de certaines espèces bactériennes dans l'acquisition de BMR et/ou leur clairance. (249,342,343) Dans une étude évaluant les concentrations de ceftriaxone dans les selles de 5 volontaires sains ayant tous reçu les mêmes doses de ceftriaxone, sa concentration résiduelle dans les selles était variable, voire totalement absente chez certains. (340) De même, d'autres études, réalisées sur le microbiote intestinal de patients en long séjour, ont montré des différences significatives dans la composition du microbiote chez les patients colonisés par des entérobactéries productrices de BLSE, comparés à des patients non colonisés. (342)

3. Les politiques de maitrise de la diffusion des BHRe

La diffusion des BHRe survient à la fois en milieux hospitaliers et communautaires. (156,344,345) Les patients colonisés ou qui acquièrent des BHRe sont exposés à un sur-risque d'infections secondaires. Ces dernières sont associées à des risques élevés de morbidité et de mortalité, à des prolongations des séjours et sont responsables de coûts de soins plus élevés. (346,347) Les facteurs de risque liés à la diffusion des BHRe en milieu hospitalier, comme déjà détaillés, peuvent être classés en 4 catégories : les facteurs de risque liés à l'espèce bactérienne, à l'hôte, à l'organisation hospitalière et à l'épidémiologie de la BHRe.

A titre individuel, l'acquisition d'une BHRe chez un patient hospitalisé survient de façon directe, à travers les mains du personnel ou de façon indirecte, à travers l'environnement.

Devant l'importance de la problématique et les conséquences individuelles et collectives, de nombreuses sociétés savantes ont élaboré des recommandations pour aider les équipes soignantes à la maitrise du phénomène. (269) Elles comprennent une série de mesures de contrôle, basée essentiellement sur une politique de « dépistage et contrôle » avec principalement la surveillance microbiologique qui consiste à détecter précocement les patients colonisés et/ou infectés, la mise en place de mesures barrières allant de l'hospitalisation en chambre individuelle avec la mise en place des précautions contact jusqu'au cohorting des patients dans une unité dédiée avec ou sans personnel dédié. (348) Si ces recommandations sont admises par tous, il est cependant important de noter que les preuves de leur efficacité en dehors des épisodes épidémiques font défaut ; comme le souligne une revue récente de la littérature, décrivant les mesures de prévention initiées lors de survenue d'épisodes épidémiques, menée par le centre européen de contrôle des maladies infectieuses (ECDC). (349)

Les épidémies rapportées dans la littérature offrent l'occasion d'évaluer les mesures de lutte contre la diffusion des BHRe. Dans une récente revue systématique de la littérature, incluant 98 épisodes épidémiques à EPC, dont 80% au moins liés à la diffusion de *K. pneumoniae*, et détaillant les mesures de contrôle appliquées, les auteurs soulignaient le fait que la maitrise du phénomène épidémique avait nécessité la mise en place d'un ensemble de mesures. (350) De ce fait, l'analyse de la littérature ne permet pas d'évaluer, au sein de cet ensemble de mesures, le rôle, l'efficacité et le poids de chacune de ces mesures prises séparément, dans la maitrise du risque infectieux. Il est par ailleurs important de souligner la fréquence des études observationnelles, pouvant être

sujettes à de nombreux biais difficiles à éviter. Les résultats de ces études doivent donc être interprétés avec une certaine prudence.

Parmi les mesures introduites, nous pouvons noter : (1) le renforcement des précautions standard, dans un premier temps et quelles que soient les épidémies décrites ; (2) l'introduction d'une surveillance microbiologique avec la réalisation du dépistage des patients hospitalisés au moment de l'épisode épidémique, ainsi qu'à toute nouvelle admission, dans 85 (87%) des épisodes épidémiques décrites ; (3) la mise en place de précautions complémentaires contact dans 78 (80%) épisodes ; (4) la réalisation d'audit d'observation et la promotion de l'observance de l'hygiène des mains dans 61 (62%) épisodes ; (5) la formation du personnel soignant dans 57 (58%) épisodes ; (6) l'amélioration du bio-nettoyage et le renforcement de la maitrise du risque environnemental dans 56 (57%) épisodes ; (7) le regroupement des patients (cohorting) et/ou le recours à un personnel dédié dans 52 (53%) épisodes ; et (8) l'isolement des patients colonisés ou infectés dans des chambres individuelles dans 51 (52%) des épisodes. Parmi les mesures les moins couramment utilisées il est à noter : (1) la recherche d'une contamination environnementale uniquement dans 35 (36%) des épisodes ; (2) la maitrise de la prescription antibiotique, y compris la restriction d'utilisation des carbapénèmes dans 18 (18%) épisodes ; et (3) l'arrêt des transferts des patients positifs et de l'admission de nouveaux patients dans le service en question dans 13 (13%) épisodes (bien que dans d'autres épidémies, des restrictions temporaires avaient été imposées aux nouvelles admissions).

Avec la mise en œuvre de ces mesures, les auteurs ont souligné une maitrise du phénomène dans la majorité des situations (73 épisodes, 75%). Cependant, le délai nécessaire pour la maitrise des phénomènes épidémiques variait considérablement, allant de quelques semaines/mois à plusieurs années.

Il est a noté que dans 9 (9%) situations épidémiques, les mesures de contrôle ont été jugées insuffisantes, du fait de l'apparition de nouveaux cas secondaires.

Par ailleurs, pour les 16 (16%) situations épidémiques restantes, l'efficacité des mesures mises en place n'était pas concluante, soit du fait qu'elles n'étaient pas non signalées, soit du fait que le phénomène, de façon paradoxale, est devenue endémique dans le milieu hospitalier, malgré le succès des mesures adoptées dans le contrôle de l'épidémie. (350)

Dans cette même revue, 7 études ont été identifiées comme fournissant les meilleures preuves disponibles quant à l'efficacité des politiques de lutte contre la transmission des EPC. Il s'agissait

de 3 épidémies contrôlées avec succès aux États-Unis (351–353) : une épidémie à EPC, dont l'espèce n'était pas définie, dans une unité de soins intensifs et deux autres épidémies à *K. pneumoniae* productrice de carbapénémase dans deux hôpitaux de long séjour ; et 4 autres épidémies à *K. pneumoniae* productrice de carbapénémase à l'échelle de 3 différents hôpitaux en Israël. (354–357) Les sept études ont indiqué avoir utilisé les moyens de maitrise suivant : une surveillance active incluant le dépistage de tous les patients à l'admission dans un service et/ou de tous les patients du service, associée à la recherche systématique de cas secondaires parmi les patients contact, l'utilisation d'une politique de cohorting dans 100% des situations impliquant les patients et/ou et le personnel soignant, le renforcement des précautions standards dans 100% des situations et enfin, l'application des précautions complémentaires contacts. Il est intéressant de noter que seules 3 des 7 études ont signalé l'adoption d'une politique de bon usage des antibiotiques. (351,355,356) Enfin, aucune des 7 études n'a signalé l'arrêt de l'activité de soins et donc la fermeture du service/unité/hôpital aux nouvelles admissions.

Dans cette partie, nous discutons chacune des mesures principales proposées pour la maitrise du risque de diffusion des BHRe. Le Tableau VI récapitule l'impact de ces mesures sur la lutte contre la diffusion des BHRe en milieu hospitalier et leurs limites d'application.

3.1. La surveillance

L'identification précoce des patients infectés ou colonisés par des BHRe permet leur isolement rapide et de ce fait entraine une probable réduction du risque de diffusion. L'identification du réservoir basée sur une politique de dépistage et d'isolement secondaire (search and isolate) ne peut se limiter aux patients avec un prélèvement clinique positif. En effet, la majorité du réservoir est lié à une colonisation asymptomatique et seuls 10 à 30% des patients colonisés par une BHRe ont un prélèvement clinique positif. (358) L'identification des patients colonisés, de par leur potentiel de diffusion équivalent aux patients infectés, est essentielle pour éviter toute épidémie. (359) La plupart des études évaluant l'efficacité de cette politique de dépistage montrent un impact positif sur la réduction de la transmission des BHRe. (360) En effet, une étude, dont l'objectif était de décrire l'effet de la surveillance active par culture, appliquée aux patients admis dans des services à haut risque à la recherche d'une colonisation par un ERV, sur le taux d'incidence d'ERV à l'échelle d'un hôpital aux Etats-Unis, a révélé une réduction de l'incidence de 40 à 60%.

L'incidence d'ERV a augmenté quand cette politique de dépistage fut interrompue. (361) Une autre étude visait à décrire l'effet de la mise en œuvre de différentes mesures, y compris l'isolement des patients colonisés ou infectés dans une chambre individuelle, leur cohorting par un personnel dédié et la réalisation d'un dépistage systématique par écouvillonnage rectal de tous les patients admis aux urgences et dans les unités de soins intensifs, sur la maitrise d'une épidémie à *K. pneumoniae* résistant aux carbapénèmes dans un centre hospitalier en Israël. Les auteurs ont montré que la politique de dépistage systématique adoptée, associée au cohorting des patients par un personnel dédié, a effectivement mis fin à la diffusion épidémique de *K. pneumoniae* résistant aux carbapénèmes. (357) Cependant, une étude séquentielle en trois phases, réalisée dans 13 unités de soins intensifs de 8 pays européens, avait pour objectif d'évaluer l'impact des mesures d'hygiène des mains associées aux bains à la chlorhexidine, au dépistage et à l'isolement des patients colonisés par un SARM, un ERV ou une entérobactérie multi-résistante, sur la prévention du risque d'acquisition. Les auteurs ont montré que, dans un contexte de niveau élevé de compliance à l'hygiène des mains, le dépistage et l'isolement des patients colonisés n'a pas réduit les taux d'acquisition de BMR, que le dépistage soit effectué par méthode conventionnelle de culture ou par méthodes moléculaires rapides. (362)

Si la politique de dépistage systématique semble importante, il existe de nombreuses limites. En effet, la sensibilité du dépistage dépend, non seulement des données pré-analytiques (population cible, qualité du dépistage), mais aussi de la problématique des milieux de culture utilisés et de la sensibilité des différentes techniques de diagnostic microbiologique.

En effet, le succès d'une politique de dépistage réside dans notre capacité à définir les populations à risque, afin de mieux cibler les indications. Ceci est possible à travers l'identification des facteurs de risque de colonisation à BHRe. De nombreuses études effectuées dans des situations épidémiques ont cherché à définir les facteurs de risques de colonisation par une BHRe. Parmi les facteurs identifiés dans la littérature on note : tout patient ayant un antécédent d'hospitalisation dans les 12 derniers mois, les patients de dialyse et ceux ayant subi une chimiothérapie dans les 12 derniers mois et les patients connus colonisés ou ayant été en contact avec un patient colonisé par une BHRe dans les 12 derniers mois. (363) Toutefois, dans d'autres situations épidémiologiques, d'autres facteurs ont été identifiés, y compris : les receveurs de greffe de cellules souches hématopoïétiques, en particulier s'ils avaient déjà reçu un traitement par des

carbapénèmes, et les nouveau-nés. (364,365) En outre, dans certains services où les patients présentent un risque élevé d'infection, y compris les unités de soins intensifs et les services d'hématologie-oncologie, un dépistage rectal à la recherche d'une colonisation par une BHRe, à l'admission et tout au long du séjour à l'hôpital, peut être envisagé. (269) Une des limites majeures de ces travaux réside dans le fait qu'ils ont été effectués en périodes épidémiques ou dans des pays à faible prévalence, ne permettant pas de les extrapoler aux situations endémiques ou aux régions à haute prévalence.

En réalité, aucune étude n'a évalué les facteurs de risque de colonisation à BHRe en communautaire dans les pays à situation endémique. Conséquence probable d'une pression de sélection antibiotique importante en médecine humaine, animale et industrielle, la résistance bactérienne s'est étendue à de nombreux domaines extrahospitaliers, avec un impact différent selon le pays concerné. (366) Dans une étude suédoise, 262 touristes étaient dépistés avant et après leur retour d'un pays étranger. Le taux de colonisation à BMR au retour d'un voyage touristique était de 2,3 à 30% en moyenne, pouvant atteindre 80% chez les touristes de retour de certains pays à risque, comme l'Inde et jusqu'à 30% de certains pays européens, comme le Portugal. (367) L'expansion communautaire des BMR endémiques est également aggravée par une colonisation pouvant être prolongée chez le patient sortant de réanimation, avec une possible transmission à l'entourage, responsable d'une transmission interhumaine communautaire importante et prouvée. (368,369) Le contexte de modification épidémiologique avec expansion communautaire des BMR endémiques, pose la question du rapport bénéfice/risque et de la rationalisation de la prescription des cultures de surveillance.

D'autre part, le dépistage est une technique qui peut sous-évaluer le taux de patients colonisés par une BMR (environ 30% de dépistage par écouvillonnage rectal sont faussement négatifs). (370) Cette sous-évaluation est tout d'abord en lien avec des facteurs liés à l'hôte, dont le portage peut être intermittent, et en lien avec des facteurs liés aux techniques de dépistage elles-mêmes, avec des seuils de charge bactérienne minimaux pour être mis en évidence par culture ou PCR. (371) En effet, la détection fiable des BHRe au laboratoire est une première étape essentielle dans la politique de surveillance. Les méthodes de diagnostic pour la détection des BHRe ont évolué. Des méthodes traditionnelles, basées sur la culture, peuvent être utilisées et des méthodes moléculaires ont également été développées pour identifier les mécanismes de résistance. (350) Plusieurs

auteurs ont soulevé des inquiétudes indirectes quant à l'interprétation des techniques de dépistage rectal. Dans un premier temps, Friedmann et al., dans leur étude de dépistage de tous les patients admis dans le service de médecine interne d'un centre hospitalier israélien, ont noté une augmentation de 8 à 16% du nombre de patients colonisés par des entérobactéries productrices de BLSE, dans un délai de 3 jours faisant suite à leur hospitalisation, suggérant un probable manque de sensibilité de la technique de dépistage à l'admission. (372) Plus récemment, Kluytmans-van den Bergh et al., dans une étude visant à déterminer la prévalence du portage rectal d'entérobactéries productrices de BLSE, par la réalisation d'un dépistage de tous les patients hospitalisés d'un hôpital hollandais de 850 lits, ont évalué la valeur ajoutée d'une pré-culture sélective dans des bouillons d'enrichissement, par rapport à la culture standard directe. Dans leur étude, la colonisation digestive a été identifié chez 4,8% des patients hospitalisés. Vingt-six pour cent des porteurs d'entérobactéries productrices de BLSE ont été identifiés uniquement après la réalisation d'une pré-culture sélective dans des bouillons d'enrichissement, suggérant également un manque de sensibilité des techniques de culture conventionnelle. (373)

Par ailleurs, les méthodes basées sur la culture classique pour détecter les BHRe sont souvent longues et peuvent prendre plusieurs jours (2 à 5 jours). Les techniques moléculaires, y compris la PCR en temps réel Xpert® Carba-R (Cépheid, France), sont désormais largement utilisées dès le premier jour d'admission des patients considérés « à haut risque » de colonisation par une BHRe. Ces tests, réalisables directement sur un prélèvement rectal, écouvillonnage ou selles, permettent d'obtenir des résultats plus rapidement (en moins d'une heure), toutefois, la détection moléculaire des gènes codant pour les carbapénémases se limite aux gènes les plus fréquemment retrouvés et ne permet pas de mettre en évidence des mécanismes de résistance émergents. (374) Cependant, la non-détection de l'EPC, à l'aide de Xpert® Carba-R directement à partir d'écouvillons rectaux, a été récemment rapportée chez des patients avec un faible niveau de colonisation. (375) A titre d'exemple, chez un patient considéré à haut risque de colonisation par une BHRe, un dépistage par écouvillonnage rectal a été réalisé à son admission dans un hôpital français. La PCR Xpert® Carba-R réalisée directement sur le prélèvement, ainsi que la culture standard, étaient négatives. Cependant, après enrichissement dans un bouillon cœur-cervelle supplémenté de 5µg/mL d'ertapénèm, la culture se positive avec une seule colonie d'*E. coli* OXA-48-like. (375) Enfin, outre les limites de la méthode, il est important de souligner le coût de ces techniques qui restent un problème pour les laboratoires de microbiologie clinique. (374)

3.2. La chambre individuelle

L'isolement des patients identifiés colonisés ou infectés par une BHRe est une mesure barrière capitale pour lutter contre le risque de transmission des BHRe entre les patients et les membres du personnel soignant. Il s'agit de mesures d'isolement géographique, de préférence dans une chambre individuelle, avec mise en place d'une signalisation et des précautions complémentaires contact. (370)

L'intérêt de l'isolement et son efficacité seraient liés à la diminution du risque de colonisation des mains du personnel soignant. En effet, la signalisation d'un risque potentiel et la prise en compte de la zone géographique à risque amèneraient les soignants et les visiteurs à un meilleur respect des indications de l'hygiène des mains. Une étude effectuée dans un centre hospitalier américain, a comparé le niveau de compliance à l'hygiène des mains dans 2 unités de soins intensifs, avant et après contact avec des patients colonisés par un ERV ou un SARM, placés sous précautions complémentaires contact, et avant et après contact avec ceux qui ne l'étaient pas. Durant 170 heures d'observation, 1619 événements d'hygiène des mains ont été enregistrés. Le respect des mesures d'hygiène des mains après contact avec les patients placés sous précautions complémentaires contact était significativement plus important (43% contre 28%, $p<0.001$). (376) D'autres études ont rapporté la valeur ajoutée des chambres individuelles dans la lutte contre le risque de diffusion des BMR en milieu hospitalier, mais toutes étaient des études observationnelles. Dans une étude de cohorte réalisée dans un centre hospitalier coréen, les auteurs ont visé à évaluer l'efficacité de l'isolement des patients colonisés dans une chambre individuelle sur le risque de transmission d'ERV. La fréquence d'acquisition d'ERV était significativement plus faible lorsque les patients colonisés étaient isolés dans des chambres individuelles, par rapport aux chambres à plusieurs lits. (377) Cependant, dans une étude de cohorte prospective observationnelle effectuée aux États-Unis et incluant 11 centres hospitaliers universitaires, les auteurs avaient mis en évidence une corrélation inverse entre le pourcentage de patients isolés dans un service donné et l'observance de l'hygiène des mains. (378) Dans une autre étude observationnelle incluant tous les patients colonisés par des souches d'*E. coli* productrices de BLSE, admis dans un hôpital suisse et non isolés, la transmission à des patients contact a été de 1.5% seulement. (379) Ainsi, la nécessité d'utiliser des chambres individuelles est actuellement débattue. (380,381). Plus récemment, une étude de non infériorité randomisée en cluster, réalisée dans des services médico-chirurgicaux de 16 centres hospitaliers aux Pays-Bas, a visé à comparer

les patients colonisés par une entérobactérie productrice de BLSE, isolés dans des chambres individuelles, à ceux placés dans des chambres à plusieurs lits. Cette étude a montré que la stratégie d'isolement dans une chambre à plusieurs lits n'était pas inférieure à la stratégie d'isolement dans une chambre individuelle, dans la maitrise du risque de transmission croisée. (45)

Enfin, la stratégie d'isolement des patients dans des chambres individuelles a aussi été critiquée en raison des effets délétères suggérés sur la qualité des soins et la survenue d'événements indésirables. Plusieurs auteurs se sont intéressés à ce sujet. Les principales conséquences de l'isolement des patients dans des chambres individuelles étaient : que les patients isolés sont moins surveillés par le personnel soignant (durée et nombre de visites) et ce, quel que soit le statut du soignant (médical ou paramédical) ; (382) que les patients isolés sont sujets à un risque augmenté d'effets indésirables évitables, y compris une dysglycémie, une pneumopathie acquise sous ventilation mécanique et des erreurs de prescriptions d'anticoagulants; (383) une augmentation de la durée totale de prise en charge hospitalière en médecine ainsi qu'en réanimation pour les patients isolés; (379) et des conséquences psychologiques chez les patients isolés, y compris anxiété et dépression. (9)

3.3. L'hygiène des mains

L'application des règles d'hygiène simples et efficaces constitue l'étape clé du contrôle de la transmission des BMR. L'hygiène des mains, via l'utilisation de solution hydro-alcoolique (SHA), revêt en ce sens une importance considérable. L'application de SHA est réalisée avant et après tout contact avec le patient ou son environnement immédiat. Depuis les années 2000, l'utilisation, de plus en plus répandue de ces solutés, est en grande partie associée à la diminution de l'incidence des colonisations et infections par des SARM. Dans une méta-analyse, Tschudin-Sutter et al. ont suggéré une corrélation linéaire entre le pourcentage de consommation des SHA et la prévalence du SARM en réanimation. (385) Une autre étude, réalisée dans un centre hospitalier en Allemagne, semble observer les mêmes effets sur les entérobactéries productrices de BLSE. (386) Dans ce travail, une augmentation de 1% de l'utilisation des SHA a été associée à une diminution de l'incidence des colonisations et infections par des entérobactéries productrices de BLSE de 6,73%, après une période allant jusqu'à 4 mois. (386) D'autre part, certains auteurs ont démontré que la contamination des mains du personnel soignant dépend des types de soins. Ainsi, une étude, réalisée dans 7 établissements d'hébergement pour personnes âgées dépendantes (EHPAD) aux

États-Unis, a visé à examiner la contamination des mains du personnel soignant par des bactéries à Gram négatif multi-résistantes, suite à différents types de soins. Ce travail a consisté à réaliser un dépistage par écouvillonnage rectal chez les résidents, ainsi que des écouvillonnages au niveau des gants des membres du personnel soignant, à la recherche de bactéries à Gram négatif multi-résistantes par culture. Le taux de transmission par type de soins a été estimé comme le nombre d'interactions pendant un type particulier de soins entre le personnel soignant et les résidents qui ont conduit à la transmission, sur le nombre total d'interactions pour ce type de soins. Les types de soins les plus à risque de transmission des bactéries à Gram négatif multi-résistantes étaient (1) baigner les patients (Odd ratio 5.6, $p<0.01$) et (2) leur fournir une assistance aux toilettes (Odd ratio 2.46, $p=0.01$). De ce fait, l'application des règles d'hygiène à ces deux types de soins devrait être priorisé. (280)

La compliance du personnel soignant à l'application des règles de l'hygiène des mains est un point important. (387–389) Une compliance de 100% empêcherait toute transmission de BMR à travers les mains du personnel soignant. Le niveau d'observance est donc important. De nombreuses études ont montré que l'observance du personnel soignant aux gestes d'hygiène des mains reste insuffisante. Su et al. ont montré, que dans cinq services de réanimation chinois l'observance avant toute intervention n'était que de 51%. Après une période de formation intensive de trois mois, l'observance n'atteignait que 67%. (390) Toutefois, il est difficile de mesurer le niveau d'observance. En effet, les études concernant la mesure de l'adhésion du personnel soignant à l'hygiène des mains sont fondées sur des données collectées par un observateur externe présent dans l'unité de soin. Cette observation directe peut être à l'origine d'un biais avec une sur-estimation de l'adhésion, appelé l'effet Hawthorne. En effet, certaines études ont montré une augmentation de l'adhésion liée à ce phénomène passant de 29 à 45% lorsque le personnel soignant se sait observé. (391) Pour diminuer ce biais d'observation, de nouvelles modalités d'évaluation émergent comme l'utilisation de vidéos, de capteurs électroniques ou l'évaluation de la consommation totale de SHA, au sein d'un service hospitalier.(392) Des calculs empiriques en réanimation ont estimé, en fonction du nombre de contacts moyens par jour et par patient, la nécessité d'une consommation entre 450 et 500 ml de SHA par jour et par patient. La consommation mensuelle de SHA constitue pour les services d'hygiène hospitalière, un critère indirect du respect des précautions standard. Elle est ainsi corrélée à l'incidence de BMR. En France, en 2010, une consommation de SHA en réanimation s'est élevée à environ 108 ml par

journée-patient, quantité bien inférieure à la quantité théoriquement nécessaire par jour et par patient. (393) Dans le but d'évaluer l'impact des mesures d'hygiène des mains associées aux bains à la chlorhexidine et à l'isolement des patients colonisés par un SARM, un ERV ou une entérobactérie multi-résistante, sur la prévention du risque d'acquisition, Derde et al. ont réalisé une étude séquentielle en trois phases dans 13 unités de soins intensifs de 8 pays européens. (362) Cette étude se déroulait en trois périodes. La première, d'une durée de six mois, était la période témoin, observationnelle, avec un recueil des données à l'état de base. La deuxième période, interventionnelle, sur une durée de six mois, consistait à l'association d'un programme d'amélioration de l'observance de l'hygiène des mains, avec des audits et rétro-informations aux équipes soignantes associés à une politique de décontamination cutanée quotidienne par toilette à la chlorhexidine appliquée à tous les patients. La troisième période, interventionnelle, d'une durée de 12 mois, permettait d'adjoindre aux mesures préalables, une politique de dépistage et la mise en place des précautions complémentaires contact pour les patients identifiés colonisés ou infectés par une BMR. Les principaux résultats étaient une réduction significative du taux d'acquisition de SARM à partir de la deuxième période d'intervention, après amélioration de l'observance de l'hygiène des mains et l'introduction de la toilette à la chlorhexidine (observance de l'hygiène des mains passant de 52% en période 1 à 69% en période 2, puis 77% en période 3), mais la non réduction du taux d'acquisition de BMR, après introduction des politiques de dépistage et isolement des patients colonisés. Cette étude souligne une nouvelle fois l'importance de l'hygiène des mains et la nécessité d'atteindre une observance élevée de l'hygiène des mains, qui ici, était de plus de 70%. (362)

D'autre part, il est possible que la maitrise du risque de transmission soit conditionnée par un certain niveau seuil de compliance à l'hygiène des mains. (360) En effet, dans une étude observationnelle prospective visant à surveiller l'observance à l'hygiène des mains et l'incidence de BMR dans les prélèvements cliniques, Trick et al. ont montré une diminution significative de l'incidence de BMR quand la compliance à l'hygiène des mains s'est élevée de 23 à 46%. Cependant, dans les hôpitaux où l'amélioration de la compliance était proportionnellement plus faible, aucun impact sur l'incidence de BMR n'a été observé. (394) Le renforcement de la compliance à l'hygiène des mains fait partie de l'ensemble des mesures de lutte contre la diffusion des BMR et constitue généralement l'intervention avec le plus grand impact dans les modèles de simulations mathématiques. (350,395)

3.4. Les précautions complémentaires contact

L'efficacité des précautions standard fondées principalement sur l'hygiène des mains semble démontrée. Cependant, elles sont en règle générale insuffisamment respectées. Ainsi, l'adjonction de mesures de précautions complémentaires contact parait rationnelle pour limiter le risque de transmission croisée de BHRe. Celle-ci inclus l'utilisation de gants et sur-blouses au contact des patients isolés et l'utilisation d'équipements de soins dédiés, quand cela est possible.

Un des intérêts démontrés des précautions complémentaires contact réside dans l'amélioration de la qualité et du respect des mesures d'hygiène des mains. Dans une étude observationnelle réalisée dans un centre hospitalier au Mexique, Almaguer et al. ont démontré que l'observance aux gestes d'hygiène des mains était améliorée lors de l'utilisation des précautions complémentaires contact, pouvant dépasser 90%, contre seulement 68,9% en son absence. (396) Cependant, l'usage systématique de gants n'a pas été associé à une diminution du taux d'acquisition de BMR, mais à l'effet inverse, puisqu'il a été démontré dans plusieurs travaux que l'utilisation systématique de gants était associée à une diminution de l'observance de l'hygiène des mains. Leur utilisation doit être donc limitée aux actes à haut risque, notamment lors de contact avec des liquides biologiques, et ne doit pas limiter le respect des précautions standard. (397,398)

Toutefois, il est difficile d'évaluer l'impact réel des précautions complémentaires contact, du fait que la plupart des études associent les précautions complémentaires contact aux autres interventions. L'application des mesures de précautions complémentaires contact aux patients colonisés par des souches d'*E. coli* productrices de BLSE et des souches d'*K. pneumoniae* productrices de BLSE, découverts suite à un dépistage extensif au niveau de tout un centre hospitalier, n'était pas associée à une réduction de la transmission nosocomiale de ces BMR. (399) De même, des études ont montré que ces précautions n'avaient aucun impact sur la transmission des ERV. (397,400) De plus, des publications récentes ont suggéré que les politiques de précautions complémentaires contact autour des patients colonisés ou infectés par des entérobactéries productrices de BLSE ne présentaient pas d'avantages supplémentaires par rapport aux politiques de précautions standards. (45,46) En effet, dans une étude récente en clusters croisés randomisée réalisée dans 20 services médicaux et chirurgicaux de 4 hôpitaux universitaires européens, les auteurs ont cherché à déterminer l'avantage possible des précautions complémentaires contact par rapport aux précautions standards, sur la prévention du risque

d'acquisition d'entérobactéries productrices de BLSE. Les patients, hospitalisés pendant au moins une semaine, ont été inclus et ont reçu un dépistage rectal dans les 3 jours suivant leur admission, une fois par semaine et à leur sortie. Le critère de jugement principal était la densité d'incidence d'entérobactéries productrices de BLSE, définie par le taux d'acquisition pour 1000 jours-patients. Cette étude montre que l'application des précautions complémentaires contact n'a aucun avantage ajouté à l'application des précautions standards dans la prévention de la dissémination des entérobactéries productrices de BLSE. (46)

Comme les entérobactéries productrices de BLSE partagent plusieurs points communs avec les EPC, y compris le vecteur plasmidique de la résistance et la diffusion au sein d'espèces commensales du tube digestif, nous pouvons imaginer que l'application des précautions complémentaires contact autour des porteurs d'EPC n'aurait également pas de valeur ajoutée à l'application des précautions standards, dans la maitrise du risque de diffusion hospitalière.

3.5. Le cohorting

Le cohorting est définie comme « la pratique consistant à regrouper des patients colonisés ou infectés par une même BMR, afin de confiner leurs soins à une zone et d'éviter tout contact avec d'autres patients sensibles ». (401) L'objectif du cohorting est d'empêcher la transmission croisée par les mains du personnel soignant ou par l'environnement. (402)

En 1999, Austin et al. ont placé le cohorting comme méthode centrale visant à arrêter la transmission croisée des ERV dans les établissements de santé. Suite à l'augmentation des cas d'ERV aux Etats-Unis, le regroupement des patients et du personnel soignant a diminué significativement le nombre de cas d'acquisition secondaire généré par un patient index colonisé. (403) Cependant, ce n'est qu'en 2007 que le ministère israélien de la santé a publié la première directive nationale recommandant le regroupement du personnel soignant et des patients pour contrôler une épidémie de *K. pneumoniae* productrice de carbapénémase. Une association a ensuite été observée entre l'augmentation de la compliance au cohorting des patients par un personnel dédié et la réduction du taux d'incidence de *K. pneumoniae* productrice de carbapénémases. (404) La diminution drastiquement des nouvelles acquisitions nosocomiales d'EPC à l'échelle nationale en Israël, dès le 3ème mois du début de l'exécution de la politique du cohorting, est illustrée dans la Figure 10.

En 2017, l'OMS a publié des recommandations fondées sur des preuves pour la prévention du risque de diffusion des BMR, y compris les EPC, dans les établissements de santé. Le cohorting et l'isolement des patients sont fortement recommandés, au même niveau que la compliance à l'hygiène des mains, le bio-nettoyage de l'environnement et l'application des précautions complémentaires contact, mais avec une qualité de preuves plutôt faible. (405) Le cohorting est également recommandé par d'autres sociétés scientifiques, notamment le « Center for Disease Control and Prevention » (CDC) et l'ECDC. (37,363,406) Par ailleurs, plusieurs publications ont mis en évidence le rôle du cohorting dans le contrôle de la diffusion des EPC. (407–410) En France, la mise en place d'une politique de cohorting de patients et d'un personnel dédié, dans les deux jours suivant l'admission des patients colonisés ou infectés par une EPC, a permis de limiter le nombre de personnes atteintes dans les épidémies, comparé à d'autres mesures de prévention, dont l'application des précautions standards et des précautions complémentaires contact. (36) Les réductions des épidémies nosocomiales à EPC et ERV à l'échelle nationale en France, suite à l'exécution de la politique du cohorting, sont illustrées dans les Figures 11 et 12, respectivement.

Une revue systématique de la littérature récente a montré que la majorité des établissements de santé, ayant appliqué la politique du cohorting, ont réussi à réduire le taux d'incidence des EPC. (411) Le cohorting a également été intégrée dans les protocoles d'hygiène hospitalière de nombreux pays, comme le montre la revue de la littérature évaluant l'efficacité des mesures de contrôle sur la diffusion des EPC. En effet, 52 des 98 publications incluses (53%) ont mis en place un cohorting des patients colonisés et/ou du personnel soignant. (350)

Figure 10: L'incidence d'acquisition nosocomiale mensuelle d'EPC dans 27 hôpitaux israéliens, entre janvier 2005 et septembre 2010. (Adapté de (37,412)

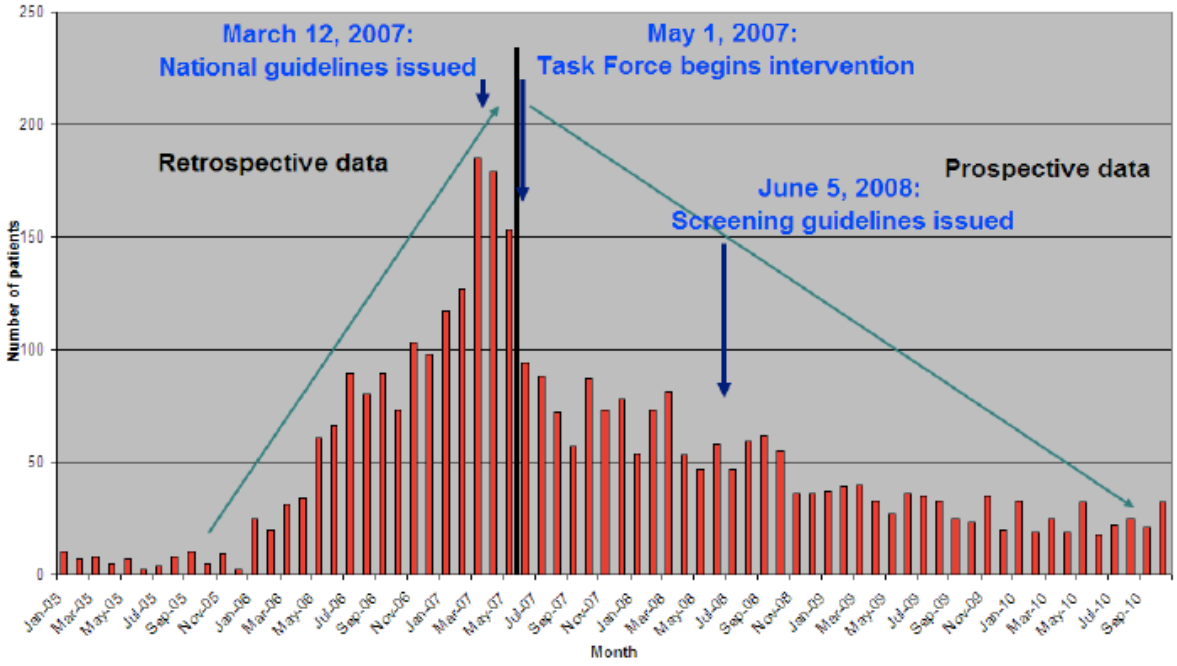


Figure 11 : L'incidence d'EPC et les proportions d'épidémies résultantes dans 38 hôpitaux français, entre 2004 et 2015. (Adapté de (36)

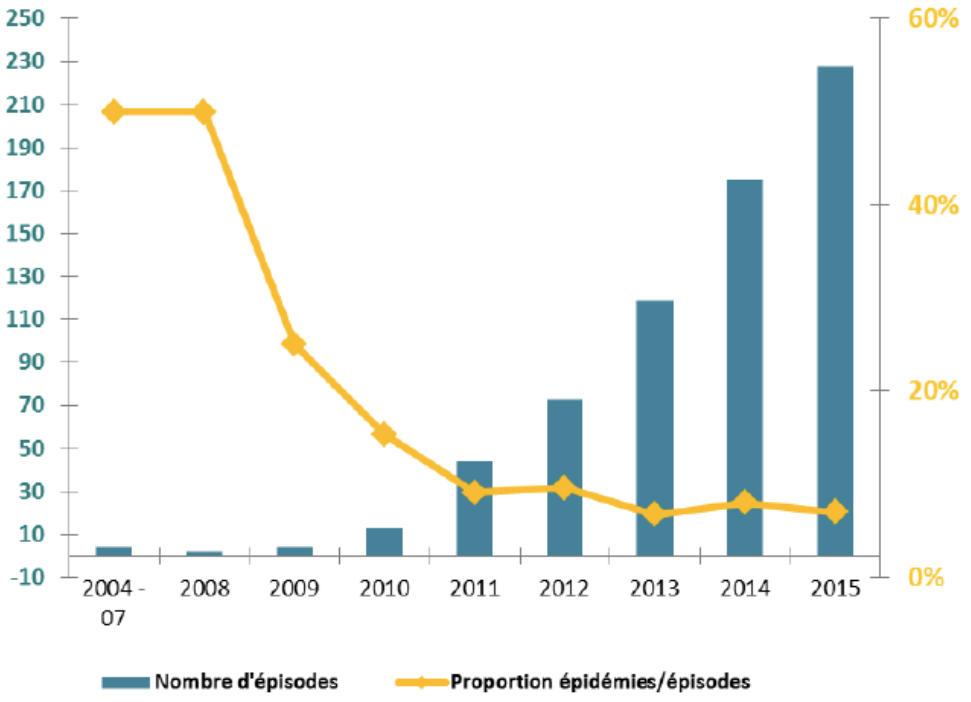
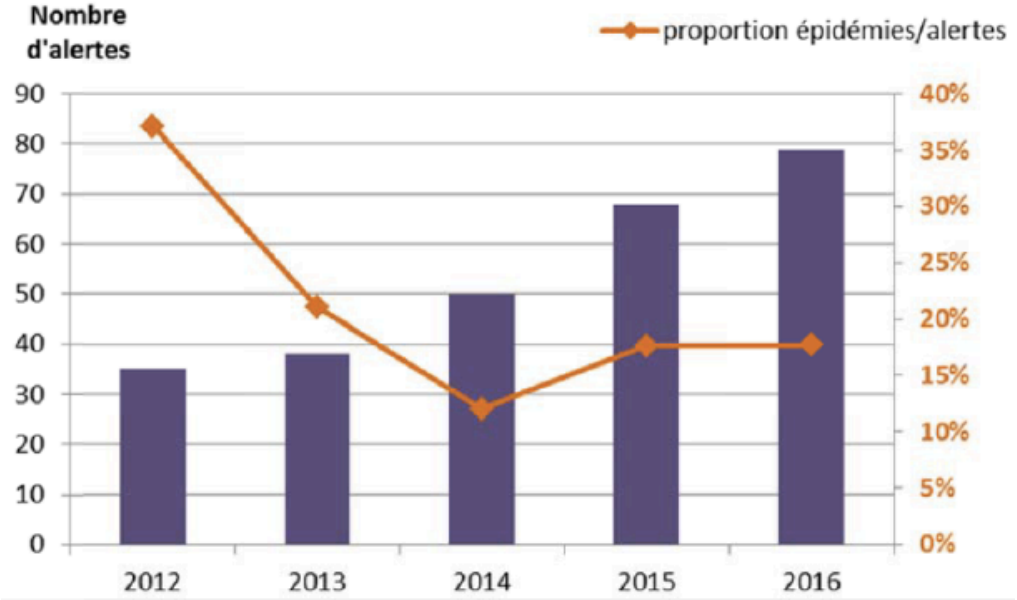


Figure 12 : L'incidence d'ERV et les proportions d'épidémies résultantes dans 38 hôpitaux français, entre 2004 et 2015. (Adapté de (36)



Ainsi, de nombreuses études ont montré l'efficacité du cohorting, dans le contrôle épidémies, qu'elles soient intra-hospitalières (36) ou au niveau national. (404) Cependant, il n'existe aucune étude contrôlée randomisée évaluant le rôle du cohorting dans le contrôle de la diffusion des BMR, y compris les EPC, en dehors d'un contexte épidémique. Une revue de la littérature récente a montré que la plupart des études publiées présentaient plusieurs limites, y compris leur nature observationnelle, ou le fait qu'elles ne tenaient pas compte des principaux facteurs confondants ; tels que l'amélioration de la compliance à l'hygiène des mains ou la politique de gestion des antibiotiques. (401) De plus, l'application des politiques de cohorting de patients avec ou sans personnel dédié est coûteuse. Les établissements de soins ne sont pas toujours en mesure de mettre en place cette politique par manque de ressources financières, matérielles et humaines, notamment dans les pays à revenus moyens ou faibles. En effet, ces recommandations semblent difficilement applicables, non seulement dans les pays à revenus moyens ou faibles, mais également dans les pays à revenus élevés, comme le suggère une enquête nationale menée en France, mettant en évidence des moyens disponibles hétérogènes d'un hôpital français à un autre. (413)

3.6. La maitrise de l'antibiothérapie

Un point important dans la maitrise de la diffusion des BMR et BHRe est le bon usage des antibiotiques. La mise en œuvre de programmes complets de gestion de l'usage des antibiotiques, ou « antimicrobial stewardship », est recommandée. (269) Une revue systématique et méta-analyse récente de la littérature a visé à évaluer les différentes interventions sur la maitrise du risque de transmission des entérobactéries multi-résistantes aux patients hospitalisés. Dans cette revue, 63 études ont été incluses. Les interventions évaluées les plus courantes étaient les politiques de bon usage des antibiotiques et la procédure de décolonisation sélective orale ou digestive. Les auteurs ont suggéré que seuls les mesures de bon usage des antibiotiques réduisaient considérablement la colonisation par des entérobactéries multi-résistantes, en particulier celles appartenant à l'espèce *E. coli* ($p<0.0001$). (414) Dans l'étude séquentielle en trois phases de Derde et al., l'amélioration de l'hygiène des mains a été associée à une réduction de l'acquisition de SARM, mais pas des ERV ou des entérobactéries multi-résistantes. (362) Ceci pourrait être expliqué par l'absence, dans leur travail, des politiques de bon usage des antibiotiques, parmi les mesures de lutte contre la diffusion des BMR adoptées.

Enfin, un concept supplémentaire à considérer lors de l'étude de la dynamique de transmission des BMR est la « pression de colonisation », où la prévalence des individus colonisés par la même

BMR dans un même service hospitalier à un temps donné. Certains auteurs ont montré une association entre une pression de colonisation élevée et un risque de transmission élevé. (415,416) Bonten et al. ont cherché à évaluer l'effet de la « pression de colonisation » sur la transmission des ERV, dans une unité de soins intensifs aux Pays-Bas. Les auteurs ont réalisé un dépistage rectal quotidien et tout au long de 19 semaines, à la recherche d'une colonisation par un ERV, chez 181 patients consécutivement admis. Ils ont constaté que pour toute augmentation de 1% de la prévalence des patients colonisés par un ERV, le risque de nouvelles acquisitions est multiplié par 3,2. (415) En parallèle, Dalben et al. ont réalisé des cultures de surveillance chez tous les patients au 3ème jour de leur admission dans l'unité de soins intensifs d'un centre hospitalier au Brésil, et de façon hebdomadaire durant leur séjour, à la recherche d'une colonisation par des souches de *P. aeruginosa* résistant aux carbapénèmes et *Acinetobacter* spp. multi-résistant. Les auteurs ont trouvé que pour toute augmentation de 1% de la pression de colonisation par *Pseudomonas* spp. et *Acinetobacter* spp., il y a une augmentation de 2% de l'incidence des transmissions croisées. (417) Pour *Clostridium difficile*, EPC et SARM, cette relation s'est également avérée vraie dans des situations endémiques. (418–422) Une prévalence supérieure à 10% de patients colonisés par une EPC était un facteur de risque indépendant de nouvelles acquisitions parmi les patients hospitalisés, comme le montre Torres-Gonzales et al. dans leur étude de cohorte réalisée dans un centre hospitalier au Mexique, pendant une épidémie à *K. pneumoniae* productrice de carbapénémase de type NDM-1. (421) D'autre études ont montré que lorsque la pression de colonisation par les ERV est supérieure à 50%, défini comme un niveau critique, le risque de transmission croisée est si élevé que l'effet de toutes les mesures de lutte contre la diffusion des BHRe, y compris le respect de l'hygiène des mains, devient non significatif. (415,417) Ainsi, dans un contexte endémique, la surveillance de la pression de colonisation par une BHRe, dans des unités de soins spécifiques, constituerait un moyen indirect de maitrise du risque de transmission croisée des BHRe et d'épidémies. (360)

Tableau VI : Récapitulatif de l'impact des principales mesures de lutte contre la diffusion des BHRe en milieu hospitalier et leurs limites d'application.

Mesures	Définition	Impact	Limites
Surveillance	Identification précoce des patients infectés/colonisés	Réduction du taux d'incidence de BHRe à l'échelle hospitalière	-Disponibilité des techniques de dépistage et leur coût -Sensibilité des méthodes de diagnostic microbiologique -Définition des populations à risque, tenant compte du contexte épidémiologique et l'expansion en communautaire
Chambre individuelle	Isolement géographique avec mise en place d'une signalisation et des précautions complémentaires contact	Diminution du risque de colonisation des mains du personnel soignant, conséquence d'une meilleure observance à l'hygiène des mains	-Disponibilité -Nécessité débattue. Non-infériorité des chambres à plusieurs lits -Risque augmenté d'effets indésirables physiques et psychologiques évitables
Hygiène des mains	Application des solutions hydro-alcooliques avant et après tout contact avec le patient ou son environnement immédiat	Réduction de la transmission des BHRe à travers les mains du personnel soignant	-Compliance à l'application -Audits et formations continues du personnel soignant
Précautions complémentaires contact	Utilisation de gants et sur-blouses au contact des patients isolés ou leur environnement et utilisation d'équipements de soins dédiés	Amélioration de la qualité et du respect des mesures d'hygiène des mains	-Coût d'application -Nécessité débattue. Pas d'avantage ajouté à l'application des précautions standards
Cohorting	Regroupement des patients colonisés ou infectés par une même BHRe afin de confiner leurs soins à une zone avec ou sans personnel dédié	Empêcher la transmission croisée par les mains du personnel soignant ou par l'environnement	-Coût d'application -Nécessité de ressources matérielles et humaines supplémentaires
Maitrise de l'antibiothérapie	Politique de bon usage des antibiotiques ou « antimicrobial stewardship »	Réduction de la consommation d'antibiotique, diminuant la pression de sélection et donc le risque de colonisation	-Nécessité d'une équipe pluridisciplinaire -Compliance à l'application

3.7. Les contraintes d'application

3.7.1. Relatives aux pays à revenus élevés

Les recommandations sont basées sur l'hypothèse que la plupart des patients colonisés par une BHRe sont à haut risque de contamination des mains du personnel soignant et de l'environnement, et que l'isolement en chambre individuelle, les précautions complémentaires contact, encore moins les précautions standards, n'évitaient pas la transmission des BHRe. Dans ce contexte, la seule possibilité de maitrise résiderait dans la mise en place du cohorting. Toutefois, ces politiques, incluant aussi la surveillance microbiologique, sont difficiles à mettre en œuvre et nécessitent des ressources humaines et matérielles supplémentaires. Ces ressources sont absentes des pays à revenus moyens ou faibles. De plus, l'arrêt des activités (admissions et transferts des patients colonisés ou infectés et des patients contact en cas de découverte fortuite) entraine une diminution considérable de l'offre des soins et des revenus hospitaliers. (43)

Le coût lié à la survenue d'une épidémie est élevé. Dans une étude multicentrique incluant 3 hôpitaux français, dont objectif était d'évaluer les coûts associés à la mise en œuvre d'une stratégie stricte de dépistage et d'isolement pour lutter contre la diffusion des BHRe, les auteurs soulignaient des surcoûts liés à cette stratégie. Dans ce travail, les auteurs ont souligné que les coûts étaient directs et indirects, liés aux moyens humains supplémentaires, aux coûts des techniques de diagnostic microbiologique ainsi qu'à l'interruption des nouvelles admissions. Ce travail montre, qu'en moyenne, le coût associé à la gestion d'un seul cas, identifié dès l'admission ou dans les 48 premières heures post-admission, était de 4 443 euros ± 11 552 ou de 11 445 euros ± 15 743, respectivement ($p<0.01$). Le surcoût lié à un épisode épidémique variait de 14 864 euros ± 17 734 pour une épidémie avec un seul cas secondaire, à 136 525 euros ± 151 231 lorsqu'une épidémie engendre plusieurs cas secondaires. Dans le cas d'un patient colonisé découvert à l'admission et isolé, l'application des précautions complémentaires contact et les techniques de dépistage microbiologique représentaient 51% et 30% du coût global, respectivement. En cas d'épidémie, les coûts liés à l'interruption des nouvelles admissions représentaient 77 à 94% du coût total, représentant l'impact financier le plus important. (43) Par ailleurs, une évaluation du coût moyen associé à une épidémie à EPC dans 5 hôpitaux aux Royaume-Uni a été estimée à environ 1,1 million d'euros sur 10 mois. (423)

Malgré le coût élevé d'application cette politique de maitrise du risque de diffusion des BHRe, elle reste applicable dans la plupart des pays à revenus élevés. Cependant, les données récentes de la littérature autour de la maitrise du risque de diffusion des entérobactéries productrices de BLSE suggèrent que l'adoption d'une politique différente est possible. Cette considération devrait d'autant plus être discuté que les dernières années ont mis en évidence une augmentation de la prévalence de la colonisation par des BHRe dans la population générale (44) et une augmentation de l'incidence en milieu hospitalier, (40) se traduisant par l'augmentation du réservoir de la résistance, qui aurait comme conséquences directes : (1) la difficulté de maintenir tous les patients colonisés en chambre individuelle ; (2) la difficulté de suivre les patients contact sur 3 semaines ; (3) les évènements indésirables potentiellement liés à l'isolement des patients. (9)

3.7.2. Spécifiques aux pays à revenus moyens et faibles

Pour les pays à revus moyens ou faibles, ce sujet est bien plus problématique. Ces pays témoignent d'un niveau élevé d'utilisation des antibiotiques chez l'homme, les animaux et en agriculture, combiné à une infrastructure médiocre des systèmes de santé publique : systèmes d'égouts inadéquats, eau potable de mauvaise qualité et surpeuplement. Ceci expliquerait la diffusion des BHRe au sein de la population générale. (424) De plus, la plupart de ces pays manque d'expertise microbiologique et de ressources pour cultiver et identifier les BMR et BHRe. La possibilité de mise en place des politiques internationales de maitrise du risque de diffusion des BHRe dans ces pays est remise en cause. (425) En effet, les ressources humaines et matérielles limitées de la majorité des établissements de santé dans les pays à revenus moyens ou faibles rendent l'application des précautions complémentaires contact difficile. De plus, les coûts impliqués dans l'utilisation de sur-blouses et gants sont parfois prohibitifs. (360) Une enquête internationale réalisée auprès des épidémiologistes de différents hôpitaux de pays à revenus moyens ou faibles a constaté que la présence de chambres individuelles était peu fréquente. En outre, les ressources matérielles et humaines inadéquates et l'absence de soutien administratif étaient des obstacles supplémentaires à l'application des politiques de maitrise du risque de diffusion des BMR dans ces pays. (426)

Nous avons réalisé une enquête auprès de 21 centres hospitaliers libanais, répartis sur toutes les régions du pays, 4 algériens et un tunisien, dans le but d'évaluer les moyens dont ils disposent pour la maitrise du risque de diffusion des BMR (données non publiées). Les détails de cette enquête

sont présentés dans le Tableau VII. Au Liban, en Algérie et en Tunisie, il n'existe pas de recommandations nationales pour la maitrise de la diffusion des BMR.

Tableau VII : Résumé des différents moyens rapportés par les hôpitaux participants à l'enquête.

Caractéristiques	Hôpitaux Libanais, n(%)	Hôpitaux Algériens, n(%)	Hôpitaux Tunisiens, n(%)
Type des hôpitaux			
Privés	19 (90)	0	0
Publiques	2 (10)	4 (100)	1 (100)
Nombre de lits			
<200	*15 (71)*	*1 (25)*	*0*
Entre 200 et 500	*6 (29)*	*0*	*0*
>500	*0*	*3 (75)*	*1 (100)*
Catégorisation des bactéries en BMR, XDR et PDR	15 (71)	3 (75)	1 (100)
Différenciation entre BLSE et carbapénémases	20 (95)	3 (75)	1 (100)
Différenciation entre EPC, *P. aeruginosa*-CarbaR. et *A. baumanii*-CarbaR.	17 (81)	3 (75)	1 (100)
Mesures d'hygiènes			
EPC			
Dépistage et isolement des porteurs	*5 (24)*	*0*	*0*
Précautions contacts pour les porteurs	*7 (33)*	*0*	*0*
Cohorting des patients infectés uniquement	*2 (10)*	*1 (25)*	*0*
Précautions contacts pour les patients infectés uniquement	*7 (33)*	*3 (75)*	*1 (100)*
ERV			
Dépistage et isolement des porteurs	*3 (14)*	*0*	*0*
Précautions contacts pour les porteurs	*7 (33)*	*0*	*0*
Cohorting des patients infectés uniquement	*4 (19)*	*1 (25)*	*0*
Précautions contacts pour les patients infectés uniquement	*7 (33)*	*3 (75)*	*1 (100)*
Dépistage systématique des patients avant toute admission	*4 (19)*	*0*	*0*
Dépistage sélectif avant admission de certains patients			
Unité de soins intensifs	*11 (52)*	*1 (25)*	*1 (100)*
Hématologie	*4 (19)*	*0*	*0*

Patients transférés d'un autre hôpital	*15 (71)*	*0*	*0*
Patients connus porteurs	*15 (71)*	*1 (25)*	*0*
Patients venant de pays à prévalence élevée de BHRe	*5 (24) (Iraq, Syrie)*	*0*	*0*
Présence d'une équipe d'hygiène ou CLIN	20 (95)	0	1 (100)
Infirmières	*18 (86)*	*0*	*1 (100)*
Pharmaciens	*14 (67)*	*0*	*1 (100)*
Microbiologistes	*16 (76)*	*0*	*1 (100)*
Infectiologues	*17 (81)*	*0*	*1 (100)*
Autres	*6 (29)*	*0*	*0*
Politique de bon usage des antibiotiques	11 (52)	0	1 (100)
Déclaration de l'incidence de BHRe au Ministère de la Santé	7 (33)	0	0
Epidémie à EPC dans les 6 derniers mois	5 (24)	0	1 (100)
Causes possibles de la survenue d'épidémie			
La non compliance aux recommandations de l'équipe d'hygiène	*4 (19)*	*0*	*1 (100)*
L'absence d'infrastructure adaptée	*1 (5)*	*0*	*0*
Facteurs pouvant jouer un rôle dans la dissémination des BHRe			
L'infrastructure hospitalière non adaptée	*1 (5)*	*3 (75)*	*0*
Le manque de personnels de soin	*5 (24)*	*1 (25)*	*1 (100)*
L'absence d'infectiologues d'astreinte	*2 (10)*	*0*	*0*
L'absence de programmes de formation en hygiène	*8 (38)*	*0*	*0*
Le manque de ressources pour l'application des protocoles d'hygiène	*5 (24)*	*0*	*0*
Système de reportage			
Système de surveillance électronique	*7 (33)*	*0*	*0*
Version papier	*11 (52)*	*4 (100)*	*1 (100)*
Communication téléphonique	*3 (14)*	*0*	*0*
Moyens d'isolement disponibles			
Unités de cohort	*1 (5)*	*1 (25)*	*0*
Chambres individuelles	*19 (90)*	*3 (75)*	*1 (100)*
Chambres à 2 lits	*1 (5)*	*0*	*0*
Méthodes de diagnostique microbiologiques			
EPC			

Culture avec ou sans pré-enrichissement	*8 (38)*	*4 (100)*	*1 (100)*
Hodge test modifié	*1 (5)*	*0*	*0*
Disques combinés	*8 (38)*	*0*	*0*
Tests immunologiques à flux latéral ou biochimiques	*2 (10)*	*0*	*1 (100)*
Techniques moléculaires	*3 (14)*	*0*	*0*
ERV			
Culture avec ou sans pré-enrichissement	*8 (38)*	*4 (100)*	*1 (100)*
Disques combinés	*7 (33)*	*0*	*0*
Tests immunologiques à flux latéral ou biochimiques	*0*	*0*	*1 (100)*
Techniques moléculaires	*3 (14)*	*0*	*0*

Notre enquête montre qu'au Liban, comme dans d'autres pays du Maghreb, la politique internationale de maitrise du risque de diffusion des BHRe est rarement mise en œuvre en raison de plusieurs défis, notamment, les coûts de son application, le manque de ressources et les difficultés du système de santé à moitié privatisé. Maitriser la diffusion dans les pays riches uniquement n'est pas suffisante pour contenir la propagation mondiale de la résistance et éviter les pandémies. En effet, la mobilité élevée et le commerce mondial jouent un rôle important dans la diffusion des BMR. Par l'intermédiaire des voyages et les migrations, les populations du monde entier sont ensuite exposées à la résistance aux antibiotiques qui se développe dans les pays à revenus moyens ou faibles. (424)

LES OBJECTIFS DE LA THÈSE

Devant les difficultés de mise en application des mesures proposées, ce travail de thèse a consisté à évaluer la place des nouvelles méthodes diagnostiques et les risques réels de diffusion liés aux BHRe afin d'adapter les politiques aux moyens des pays à revenus moyens ou faibles ; moyens qui permettraient une meilleure maitrise du risque de diffusion des BHRe, en particulier les EPC. Ainsi ce travail a visé à répondre à plusieurs questions :

1- Est-il possible d'éviter l'arrêt de l'activité médicale en utilisant des moyens diagnostics qui permettent d'identifier en cas de découverte fortuite les patients contact ayant acquis une BHRe dès J0 ?

   Pour répondre à cette question, nous avons cherché à :

   a. Evaluer l'efficacité des méthodes moléculaires réalisées directement sur les écouvillons rectaux, dans le dépistage des patients colonisés par une EPC.
   b. Déterminer la sensibilité et la spécificité de la PCR GeneXpert (Cepheid®) réalisée à J0 sur les écouvillons rectaux des patients contact d'un patient index non isolé, fortuitement découvert comme colonisé ou infecté par une EPC ou un ERV.

2- Existe-t-il une différence de contamination de l'environnement liée aux différentes espèces et mécanismes de résistance ; différence qui pourrait justifier un isolement ou le renforcement du bio-nettoyage ? Pouvons-nous identifier les caractéristiques cliniques de patients et/ou situations particulières de soins, nécessitant la mise en place de mesures de prévention renforcées ? Pour répondre à cette question nous avons :

   a. Exploré la dissémination des BMR dans l'environnement hospitalier à travers l'identification des facteurs de risque de dissémination des entérobactéries productrice de BLSE, EPC et ERV au sein de la structure hospitalière.
   b. Cherché à comprendre le dynamisme de la colonisation chez les patients hospitalisés, à travers l'étude de l'évolution dans le temps de la colonisation par une EPC chez les patients colonisés.

3- Existe-t-il un risque lié à l'isolement des patients colonisés ou infectés par une BHRe ? Pour répondre à cette question, nous avons évalué le risque réel d'effets indésirables physiques et psychologiques lié à l'isolement des patients.

MÉTHODES, RÉSULTATS ET DISCUSSION

Le deuxième chapitre exposera en 3 parties les travaux réalisés au cours de cette thèse. Ces travaux ont fait l'objet de 5 publications.

La première partie détaillera le volet lié à la sensibilité et la spécificité des techniques moléculaires dans le dépistage des patients colonisés par une BHRe. La deuxième partie sera consacrée à l'étude de dissémination des BMR dans l'environnement hospitalier et l'identification des facteurs de risque de dissémination. La troisième partie abordera la problématique des effets indésirables liés à l'isolement des patients.

1- Eviter la diffusion des BHRe sans arrêter l'activité des services hospitaliers

Dans les pays à revenus moyens ou faibles, il est inimaginable de fermer les services et arrêter les admissions à la découverte fortuite d'un patient colonisé ou infecté par une BHRe, non isolé. La mise sur le marché de nouvelles techniques moléculaires de dépistage, qui semblent être très sensibles et spécifiques, nous a amené à évaluer l'intérêt de leur utilisation directe sur les écouvillons rectaux dans l'identification des patients colonisés.

Dans un premier temps, nous avons effectué une revue systématique de la littérature et méta-analyse afin de déterminer la sensibilité et la spécificité de ces techniques moléculaires réalisées directement sur les écouvillons rectaux.

a. Evaluer l'efficacité des méthodes moléculaires réalisées directement sur les écouvillons rectaux dans le dépistage des patients colonisés par une EPC.

Ce travail a fait l'objet d'une publication sous forme d'une méta-analyse diagnostique dans la revue scientifique *Journal of Hospital Infection* résumée ci-dessous :

- Article :

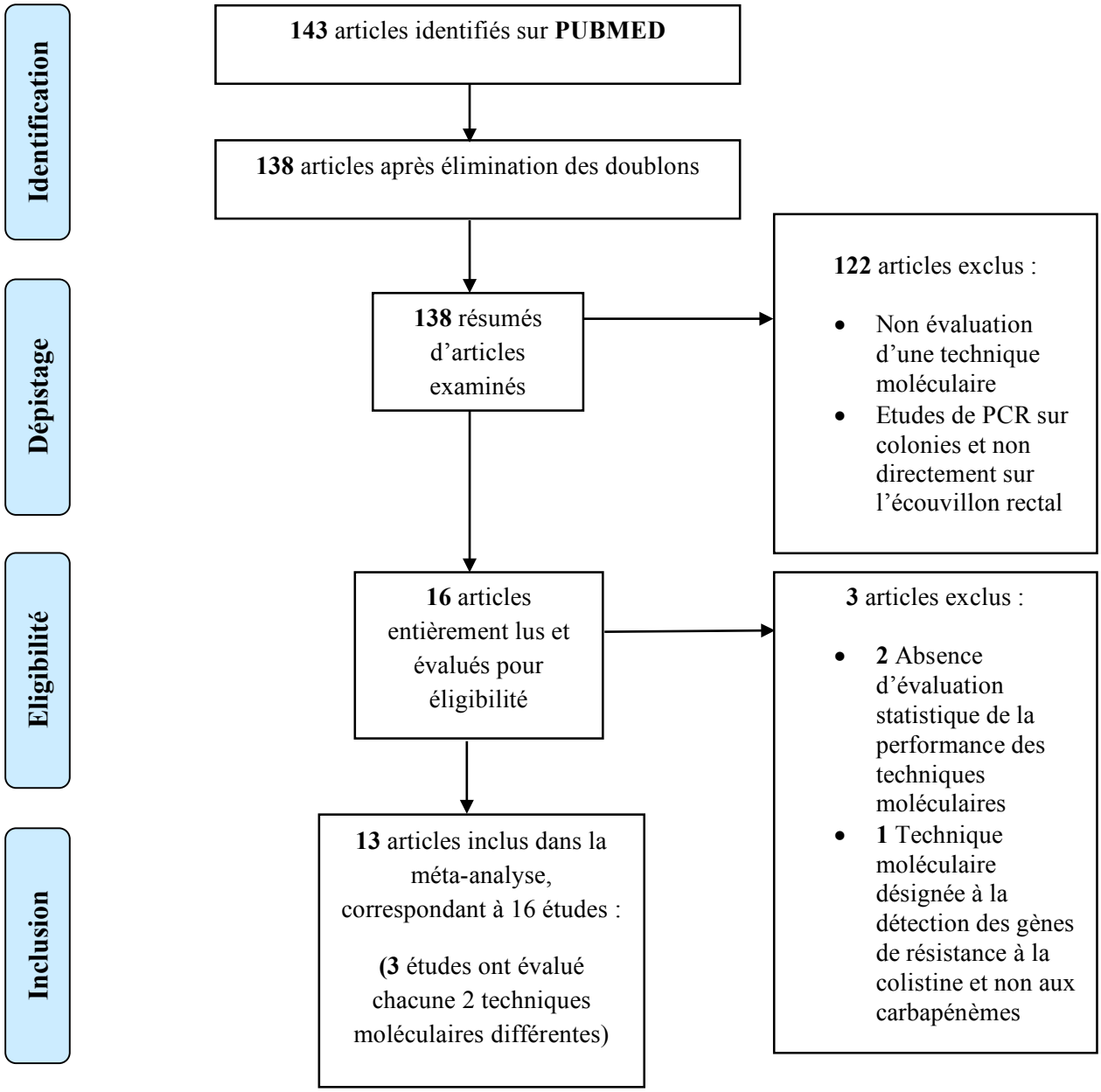
R. Saliba, L-S. Aho-Glélé, D. Karam-Sarkis, J-R. Zahar. Evaluation of polymerase chain reaction assays for direct screening of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* from rectal swabs: a diagnostic meta-analysis.

J Hosp Infect. 2020 Mar;104(3):381–9. https://doi.org/10.1016/j.jhin.2019.11.017.

De nombreuses études ont évalué la performance des tests moléculaires et ont montré leur efficacité dans l'identification des gènes de résistance, tests réalisés à partir des colonies bactériennes suspectes, avec des limites de détection inférieures aux méthodes conventionnelles de culture sur gélose. (122,129,131) Cependant, peu d'études ont testé leurs performances lorsqu'ils sont utilisés directement sur des écouvillons rectaux et, à ce jour, il n'existe aucune proposition quant à la possibilité de leur utilisation en pratique afin d'identifier le réservoir. (122,129,131)
Nous avons revu la littérature à la recherche des études qui ont évalué les tests moléculaires dans le dépistage direct d'une colonisation par une EPC à partir des écouvillons rectaux. Nous avons ensuite réalisé une méta-analyse diagnostique dans le but d'évaluer leur précision globale dans ce contexte.

Nous représentons dans la figure 13 l'organigramme du processus de sélection des études.

Figure 13 : Organigramme du processus de sélection des études. Adapté de Moher et al., 2009.



En conclusion, notre méta-analyse suggère que les techniques moléculaires semblent avoir une bonne sensibilité de 0,95 et une excellente spécificité de 0,994 pour la détection des EPC directement à partir des écouvillons rectaux. Cependant, comme seul un nombre limité d'auteurs se sont intéressés à l'évaluation des performances des tests moléculaires effectués directement sur les écouvillons rectaux, plus d'études doivent être menées et une autre méta-analyse réalisée ensuite sur un plus grand nombre d'études afin de confirmer notre résultat. Bien que la méthode de culture reste nécessaire, même si les techniques moléculaires sont utilisées, ces dernières peuvent être un outil de diagnostic intéressant dans le contexte particulier de dépistage d'une colonisation par une EPC chez les patients contact autour d'un patient index hospitalisé découvert fortuitement et non isolé.

Journal of Hospital Infection 104 (2020) 381–389

Available online at www.sciencedirect.com

Journal of Hospital Infection

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jhin

Review

Evaluation of polymerase chain reaction assays for direct screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from rectal swabs: a diagnostic meta-analysis

R. Saliba [a,b,d], L-S. Aho-Glélé [c], D. Karam-Sarkis [d], J-R. Zahar [a,b,*]

[a] IAME, UMR 1137, Université Paris 13, Sorbonne Paris Cité, France
[b] Service de Microbiologie Clinique et Unité de Contrôle et de Prévention du risque Infectieux, Groupe Hospitalier Paris Seine Saint-Denis, AP-HP, Bobigny, France
[c] Service d'épidémiologie et d'hygiène hospitalière, CHU hôpital d'enfants, Dijon, France
[d] Laboratoire des agents pathogènes, Faculty of Pharmacy, Saint-Joseph University, Beirut, Lebanon

ARTICLE INFO

Article history:
Received 12 October 2019
Accepted 25 November 2019
Available online 29 November 2019

Keywords:
Real-time polymerase chain reaction
Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae
Infection control
Outbreak
Rectal screening
Diagnostic meta-analysis

SUMMARY

Recently, molecular assays have been demonstrated to be reliable for rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (CPE) directly from positive blood cultures, reducing significantly the time for identification. Few studies have tested their performance on rectal swabs and no comprehensive conclusions have been reached regarding their utility for infection control management. Our aim was to review and assess the overall diagnostic test accuracy of polymerase chain reaction for the detection of CPE in rectal swabs. The electronic database PubMed was searched, up to October 1st, 2019, without language restriction or publication date restrictions. First, the concepts of the research questions were defined: 'carbapenemase-producing Enterobacteriaceae', 'molecular testing', 'test detection', and 'rectal screening'. Two reviewers independently screened studies, extracted data, and assessed quality using the QUADAS-2 instrument. Statistical analyses were carried out in Stata software using the bivariate model. In all, 143 articles were screened and 16 studies were included. Five (31%) of the studies were conducted in the context of a CPE outbreak; one study (6%) included patients pre-identified with CPE in clinical samples (blood or tracheal secretions), whereas the rest (63%) collected rectal swabs from patients considered at high risk of colonization. The molecular assays evaluated had a relatively good sensitivity of 0.95 (95% confidence interval (CI): 0.902–0.989), and an excellent specificity of 0.994 (95% CI: 0.965–1). Molecular techniques seem to be a useful, accurate diagnostic tool in screening for carriage of CPE in contact patients around a fortuitous discovery of a non-isolated hospitalized carrier patient.

© 2019 The Healthcare Infection Society. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

Introduction

Antibiotic resistance is a worldwide problem and multidrug-resistant organisms are recognized global threats. In the past

* Corresponding author. Address: 125 rue de Stalingrad, 93000, Bobigny, France. Tel.: +33 6 03 07 90 88.
E-mail address: jrzahar@gmail.com (J.-R. Zahar).

https://doi.org/10.1016/j.jhin.2019.11.017
0195-6701/© 2019 The Healthcare Infection Society. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

Downloaded for Anonymous User (n/a) at Saint Joseph University from ClinicalKey.com by Elsevier on May 13, 2021. For personal use only. No other uses without permission. Copyright ©2021. Elsevier Inc. All rights reserved.

decades, new resistance mechanisms have arisen and spread globally, increasing the cost of care and the occurrence of undesirable outcomes. New forms of antibiotic resistance can cross international boundaries and spread between continents with ease [1–5]. Many forms of resistance spread with remarkable speed, facilitated by human mobility and the high prevalence of asymptomatic carriers [4,6,7]. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) – caused by various mechanisms, the most common being carbapenemase enzymes (carbapenemase-producing Enterobacteriaceae or CPE) – is among the most concerning forms of resistance, becoming a major health problem worldwide [8]. CPE transmission may occur in both healthcare and community settings, although hospitalized patients may be particularly susceptible to infections. The major concern about CPE is its great potential to cause outbreaks in healthcare settings [8].

It has become clear that in order to prevent their spread, detection of infected patients and carriers with CPE is mandatory. Containment of this spread, currently recommended in North American and European infection control guidelines, is based on the search-and-isolate policy, considered the main infection prevention and control strategy to minimize transmission of CPE [9,10]. This policy aims to promote awareness of CPE and enable early identification of intestinal CPE colonization, screening, and isolation of high-risk patients [11].

Therefore, its application requires a rapid and accurate microbiological technique for the identification of colonization with CPE.

The current reference standard for intestinal CPE carriage detection is agar-based culture on selective media, with or without selective enrichment in broths containing carbapenems to increase the sensitivity, followed by confirmatory phenotypic and/or molecular tests performed on suspected resistant bacterial isolates [12]. Phenotypic tests for carbapenemase activity include: (i) the modified Hodge test, based upon in-vivo production of carbapenemase. This is a time-consuming test that may lack specificity (high-level AmpC producers) and sensitivity (weak detection of New Delhi metallo-β-lactamase (NDM) producers); (ii) inhibitor-based tests (combined disc test, double disc synergy test, E-test) based upon in-vitro observation of an increase in inhibition zone diameter (or reduction of the minimum inhibitory concentration) of the tested isolate in the presence of a carbapenem combined with a carbapenemase inhibitor compared to the same carbapenem alone. These tests are also considered time-consuming; they are difficult to read if many types of carbapenemase are combined and may lack specificity; (iii) biochemical detection methods, based upon hydrolysis of the β-lactam ring of imipenem by the tested strain, followed by colour change of a pH indicator. The specificity and sensitivity of the tests are reported as 100% in a survey of Enterobacteriaceae [10,13]. The tests are cheap, easy to use, and require <2 h. Not only do the tests detect all known carbapenemases but they also identify virtually any newly emerging carbapenemase [9,14]. Moreover, biochemical methods may be able to discriminate between the different types of carbapenemase (classes A, B, and D) in Enterobacteriaceae and *Pseudomonas* spp. Carba NP test II, for example, combines excellent sensitivity (100%), specificity (100%), cost-effectiveness, and rapidity with the discrimination properties of tazobactam and EDTA as inhibitors of Ambler class A and class B β-lactamases, respectively [15]. (iv) Lateral flow immunoassays (LFIAs), which detect carbapenemase enzymes through the use of specific antibodies, are antibody-based methods to identify the presence of carbapenemases. Several LFIAs have been recently developed but generally they enable the detection of one or a few of the most epidemiologically important carbapenemases. Available data suggest that LFIAs are easy to perform and produce accurate results from cultured isolates within 15 min. Recently, an LFIA targeting the five main carbapenemase families was evaluated. The reported specificity of these tests is 100% and the specificity ≥95% [16]. Few studies have evaluated the performance of LFIAs directly from clinical specimens. When used on rectal swab samples, LFIAs appeared highly specific but with reduced sensitivity compared with standard procedure encompassing a culture step [17].

Nevertheless, confirmatory tests for carbapenemase production on suspected bacterial isolates is based on the use of molecular techniques. Different molecular assays have been developed and have shown their effectiveness in identifying the carbapenem resistance genes from bacterial colonies, within 2–6 h, with excellent sensitivity (71–100% depending on the carbapenemase gene type) and specificity (100%) [13,18].

The main concern about this conventional method of carriage screening is that it requires up to 72 h for obtaining a conclusive result [12]. Also, culture-based methods are limited by sensitivity and specificity issues depending on the composition of the medium and the targeted carbapenemases (e.g. KPC, VIM, NDM, IMP, or OXA-48 enzymes) [9,10,19,20].

Recently, molecular assays, e.g. real-time polymerase chain reaction (PCR), were demonstrated to be a reliable technique for rapid detection of CPE producers directly from positive blood cultures, reducing significantly the time for identification [21,22]. Since identification of CPE carriers also has an important clinical implication – namely the implementation of infection control measures – the rapid cohorting of carriers is crucial. This justifies the need to use a rapid and accurate technique for detection of CPE directly in rectal swabs. Several studies have evaluated the performance of molecular assays and shown their effectiveness in identifying the resistance genes from bacterial colonies, having lower limits of detection than conventional agar-based culture methodologies [12,23–25]. However, few studies tested their performance when used directly on rectal swabs, and, most importantly, no comprehensive conclusions have been reached regarding their utility for infection control management.

As there is an urgent need to identify a sensitive and specific test for detection of CPE carriers as soon as possible after their hospitalization, the aim of the present study was to review and assess the overall diagnostic test accuracy of PCR for the detection of CPE in rectal swabs.

Methods

Search strategy and selection criteria

This meta-analysis was performed in accordance with the Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses (PRISMA) guidelines [26]. Studies were systematically searched from PubMed, up to October 1st, 2019, without language restriction or publication date restrictions. First, the concepts of the research questions were defined:

Downloaded for Anonymous User (n/a) at Saint Joseph University from ClinicalKey.com by Elsevier on May 13, 2021. For personal use only. No other uses without permission. Copyright ©2021. Elsevier Inc. All rights reserved.

'carbapenemase-producing Enterobacteriaceae', 'molecular testing', 'test detection', and 'rectal screening'. Then, for each concept, indexing terms and keywords were selected and the terms relating to the same concept were compiled by using 'OR' as Boolean operator, in order to make searches larger. To narrow the search, the four sets of concepts were combined using AND logic.

A step-by-step search was carried out, including the following terms: carbapenemase-producing Enterobacteriaceae AND (molecular testing or test detection or screening or polymerase chain reaction). At each step, all titles were evaluated by two of the authors (R.S. and J.R.Z.) and abstracts were extracted for review. Abstracts containing the following keywords: 'test detection' or 'screening' or 'molecular testing' or 'multiplex polymerase chain reaction', were selected and articles read in detail.

In addition, references of all articles in these eligible studies were read to identify additional relevant literature. To be included, articles had to meet the following criteria: (i) studies appraising PCR assays for the detection of CPE; (ii) studies performing PCR assays directly on rectal swabs; (iii) sufficient information provided or can be used to estimate true positive (TP), false positive (FP), false negative (FN), and true negative (TN). Exclusion criteria were: (i) duplications or overlapping studies; (ii) studies without adequate data to construct the 2×2 table.

Data extraction and quality assessment

Data extraction from eligible studies was performed independently by three investigators, and disagreements were resolved by deliberation. From each article, the following study characteristics were extracted: (i) basic information (first author, year of publication, country of publication); (ii) research object's general features (sample size, molecular technique); (iii) data used for the final meta-analysis (detection method, TP, FP, FN, and TN).

The Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies-2 (QUADAS-2) instrument was used to assess the methodological quality of individual studies [27]. The QUADAS-2 tool consisted of four domains: patient selection, index test, reference standard, and flow and timing. Each of the assessments has seven questions, which should be answered with yes, no, or unclear. An answer of yes gets 1 score, while others get 0, the highest score is seven [27].

Statistical analysis

All the analyses of diagnostic accuracy were performed using Stata 15.0 software with function metandi or R 3.5 with package meta4diag [28–31]. The bivariate meta-analysis model was used to estimate the pooled results of sensitivity, specificity, positive and negative likelihood ratios, and diagnostic odds ratio with their corresponding 95% confidence intervals (CIs) [32].

Bivariate random-effects regression model assumes that the logit transformed sensitivities and specificities of the included studies follow a bivariate normal distribution around a common mean of logit-transformed sensitivity and specificity, incorporating any correlation that might exist between logit sensitivity and logit specificity [32]. The number of patients testing positive among the diseased patients in a particular study is assumed to follow a binomial distribution, as is the number of patients testing negative among the non-diseased patients.

The summary receiver operator characteristic (SROC) curve and the area under the SROC curve (AUC) were generated to evaluate the accuracy of CPE carriage diagnosis. An AUC of 1.0 indicates perfect diagnostic accuracy whereas an AUC of 0.5 indicates poor diagnostic accuracy [33]. The statistical heterogeneity from non-threshold was assessed by the Q value and I^2 statistic. $P < 0.05$ and $I^2 > 50\%$ indicated the existence of significant heterogeneity among individual studies [34]. Meta-regression was performed to explore the potential sources of heterogeneity in sensitivity and specificity. The following covariates were included: the year of publication (two groups: 2008–2015 and 2016–2018), the country (two groups: Europe and other countries), the inclusion criteria (two groups: outbreak and other inclusion criteria) and the PCR technique (two groups: laboratory-developed and commercial kits).

Sensitivity analyses were performed and outliers were detected by influence analysis. Cook's distance was calculated to assess for influential studies.

The potential publication bias was estimated by Deeks' funnel plot and a probability value of $P < 0.05$ indicates significant publication bias [35]. Finally, the Fagan nomogram was constructed to estimate the post-test probabilities.

The bivariate model (and also hierarchical summary receiver operating characteristic (HSROC)) is challenging to fit in the presence of few studies or sparse data (e.g. zero cells in contingency tables due to studies reporting 100% sensitivity or specificity). In this case, the model may give unreliable parameter estimates [36]. Therefore Bayesian analysis was used to check the estimates.

Results

Included studies

After screening abstracts of 143 articles and reviewing full texts of 16 studies, 13 fulfilled the inclusion criteria (Figure 1). These 13 studies were carried out from 2008 through 2018. They were conducted in Asia (one), Europe (seven), Middle East (one), America (three), and Africa (one).

Study characteristics and quality assessment

The main characteristics of the included studies are summarized in Table I [11,12,25,37–46]. Among the 13 included articles, three evaluated two different molecular assays each. Thus a total of 16 included studies were considered in our meta-analysis. Five studies out of the 16 (31%) were conducted in the context of a CPE outbreak, one study (6%) included patients pre-identified with CPE in clinical samples (blood or tracheal secretions), whereas the rest (63%) collected rectal swabs from patients considered at high risk of colonization with CPE (patients admitted to ICU or geriatric unit, having received haematopoietic stem cells transplant, patients directly admitted from abroad to any ward of the hospital, or previously hospitalized in areas with high prevalence of CPEs, and finally contact patients of known carriers). In addition to the clinical experiments directly on rectal swabs, five studies have evaluated analytically the performance of molecular assays on

Downloaded for Anonymous User (n/a) at Saint Joseph University from ClinicalKey.com by Elsevier on May 13, 2021. For personal use only. No other uses without permission. Copyright ©2021. Elsevier Inc. All rights reserved.

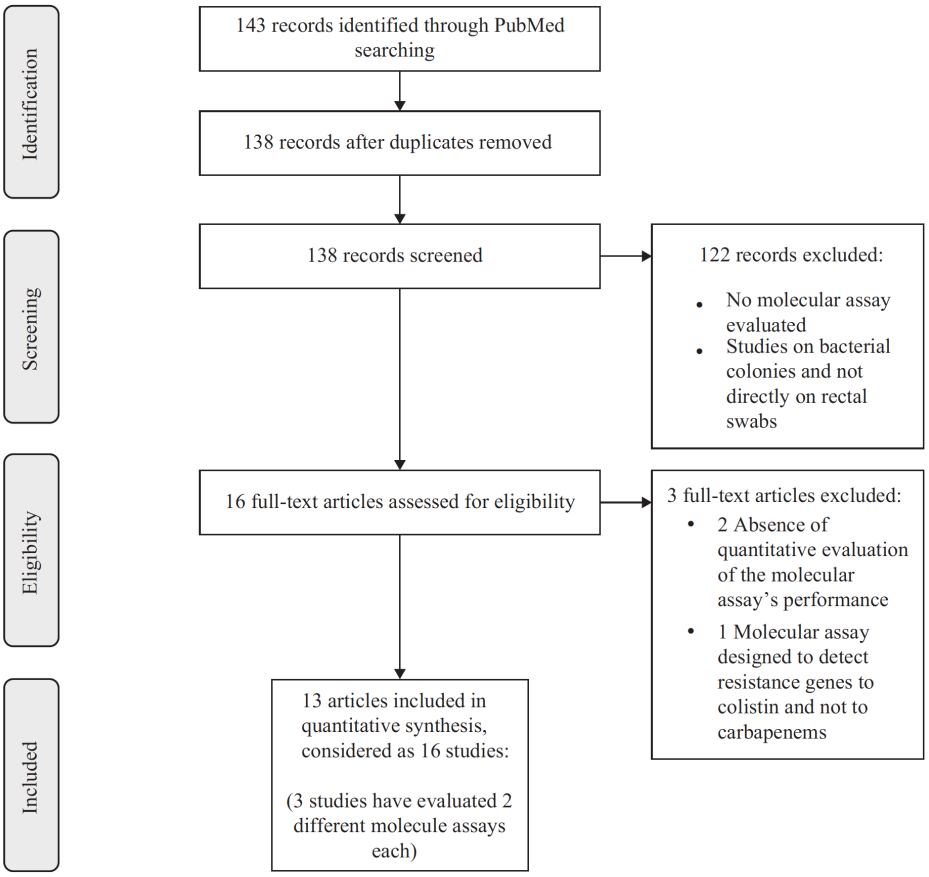


Figure 1. Flow chart of the study selection process. Adapted from Moher *et al.* [26].

Table I
Characteristics of included studies

Study	Year	Country	Technique	*N*	TP	FP	FN	TN
Hindiyeh *et al.* [44]	2008	Israel	RT-PCR TaqMan for detection of KPC: EasyMag extraction	187	54	0	0	133
			Roche extraction	187	51	0	3	133
Vasoo *et al.* [41]	2013	USA	Duplex RT-PCR for KPC and NDM	126	41	0	5	80
Lowman *et al.* [11]	2014	South Africa	Multiplex PCR	251	14	16	0	221
Huang *et al.* [12]	2015	Belgium	Check-Direct PCR	394	17	21	0	356
Oviaño *et al.* [39]	2016	Spain	LightMix® modular multiplex PCR carbapenemase kits + Xpert Carba-R	127	32	0	0	95
Otter *et al.* [25]	2016	UK	Check-Direct PCR	4006	5	0	2	4001
			Xpert Carba-R	4006	5	0	1	4001
Antonelli *et al.* [40]	2016	Italy	Check-Direct PCR: BDMix	557	27	2	14	496
			CPMix	557	29	0	15	507
Cortegiani *et al.* [43]	2016	Italy	Xpert Carba-R	15	4	1	0	10
Chavda *et al.* [46]	2016	USA	Multiplex RT-PCR for detection of KPC	158	11	0	1	146
Kazi *et al.* [45]	2016	India	Xpert MDRO (NDM, VIM, KPC)	32	22	1	0	9
Fernández *et al.* [38]	2017	Spain	Laboratory-developed qualitative duplex real-time PCR for rapid detection of OXA-48-like	498	80	0	8	410
Girlich *et al.* [42]	2018	France	ELIte InGenius RT-PCR	53	15	0	0	38
Josa *et al.* [37]	2018	Colombia	Xpert Carba-R	33	19	0	1	13

N, number of included patients; TP, true positive; FP, false positive; TN, true negative; FN, false negative.

Downloaded for Anonymous User (n/a) at Saint Joseph University from ClinicalKey.com by Elsevier on May 13, 2021. For personal use only. No other uses without permission. Copyright ©2021. Elsevier Inc. All rights reserved.

Université Sorbonne Paris Nord
USJ Université Saint-Joseph de Beyrouth

bacterial strains (three studies) and/or spiked clinical samples, such as blood or stool (four studies).

Various different assays were evaluated; however, in only 11 studies (69%) did the molecular assays target all the most common carbapenemase genes (bla_{NDM}, bla_{KPC}, bla_{VIM}, bla_{IMP}, bla_{OXA48}). In fact, in the other five studies (31%), the evaluated technique targeted only one or two of the following carbapenemase genes: bla_{KPC}, bla_{NDM}, bla_{VIM}, $bla_{OXA48\text{-like}}$. The isolated CPE bacteria from all the included studies were, by decreasing order of prevalence: *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *K. oxytoca*, *Citrobacter freundii*, and *Providencia stuartii*.

Table II
Synthesis of sensitivity and specificity

Statistical approach	Sensitivity (95% CI)	Specificity (95% CI)
Frequentist MA (bivariate)	0.96 (0.98–0.99)	1 (0.99–1)
Bayesian MA (INLA)	0.95 (0.902–0.989)	0.999 (0.995–1)
Bayesian MA (MCMC[a], via jags)	0.950 (0.872–0.991)	0.994 (0.965–1)

CI, confidence interval; MA, meta-analysis.
[a] Three chains and 20,000 iterations.

Study-specific test performance estimates (Bayesian estimates)

The molecular assays used to detect CPE directly in rectal swabs evaluated in this meta-analysis had a relatively good sensitivity of 0.95 (CI: 0.902–0.989), and an excellent specificity of 0.994 (CI: 0.965–1), estimated using Bayesian statistical inference. Bayesian methods do not rely on asymptomatics, a property that can be a hindrance with their use. As frequentist methods in small sample contexts, they are considered better equipped to model data with small sample

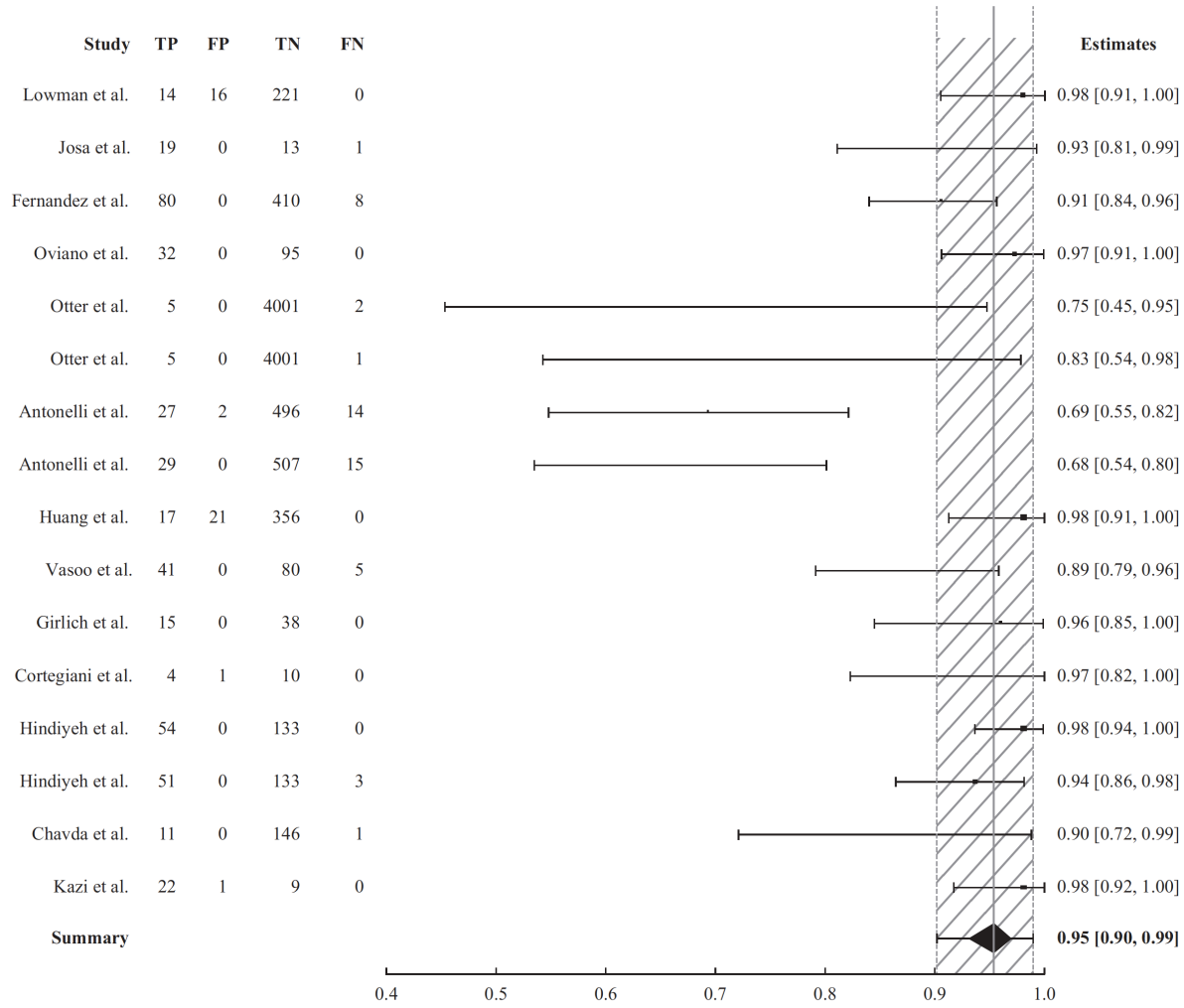


Figure 2. Forest plot for true-positive rate (sensitivity). TP, true positive; FP, false positive; TN, true negative; FN, false negative.

Downloaded for Anonymous User (n/a) at Saint Joseph University from ClinicalKey.com by Elsevier on May 13, 2021. For personal use only. No other uses without permission. Copyright ©2021. Elsevier Inc. All rights reserved.

sizes. However, the frequentist inference was also applied to our included studies, showing results approaching those of Bayesian analysis for the estimated sensitivity and specificity of the molecular assays (Table II).

Study-specific test performance estimates of diagnostic scores are shown in the forest plots of Figures 2 and 3.

A remarkable heterogeneity was also noted regarding the sensitivity of the molecular assays, with $I^2 = 90.64$ (95% CI: 87.17–94.11), and their specificity, with $I^2 = 98.30$ (95% CI: 97.93–98.67).

Publication bias

Deeks' funnel plot asymmetry test for publication bias found no significant publication bias in our study (Figure 4).

Discussion

To the best of our knowledge, this is the first systematic review focusing on evaluating the performance of molecular assays detecting CPE directly in rectal swabs. The meta-analysis revealed a good sensitivity of 0.95 and an excellent specificity of 0.994 for molecular assays applied in this context, with no significant publication bias. Knowledge of the sensitivity and specificity is essential for decision-making by the infection control team in respect of the value of a positive and a negative test result.

The remarkable heterogeneity could be explained in a technical and/or clinical aspect. In fact, the inclusion criteria of patients are different in the included studies, as well as the molecular assay technique evaluated (Table I). However, when included in a meta-regression model to explore the potential sources of heterogeneity in sensitivity and specificity, none of the following covariates — year of publication, country, inclusion criteria, and PCR technique — were able to explain this heterogeneity.

Among the limited number of authors who have been interested in evaluating the performance of molecular assays performed directly on rectal swabs, compared to the routine culture techniques, the majority (63%) have studied its

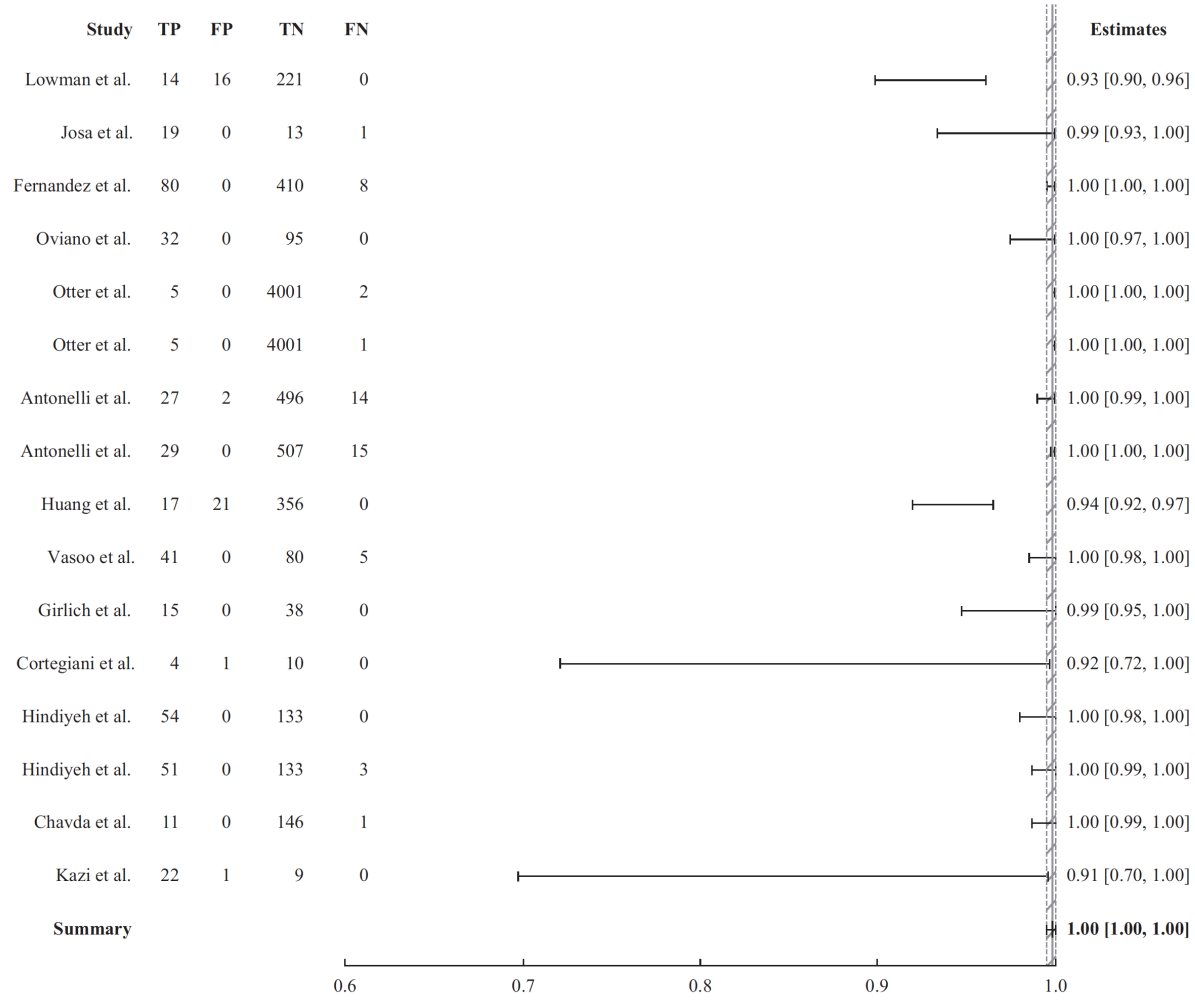


Figure 3. Forest plot for true-negative rate (specificity). TP, true positive; FP, false positive; TN, true negative; FN, false negative.

Downloaded for Anonymous User (n/a) at Saint Joseph University from ClinicalKey.com by Elsevier on May 13, 2021. For personal use only. No other uses without permission. Copyright ©2021. Elsevier Inc. All rights reserved.

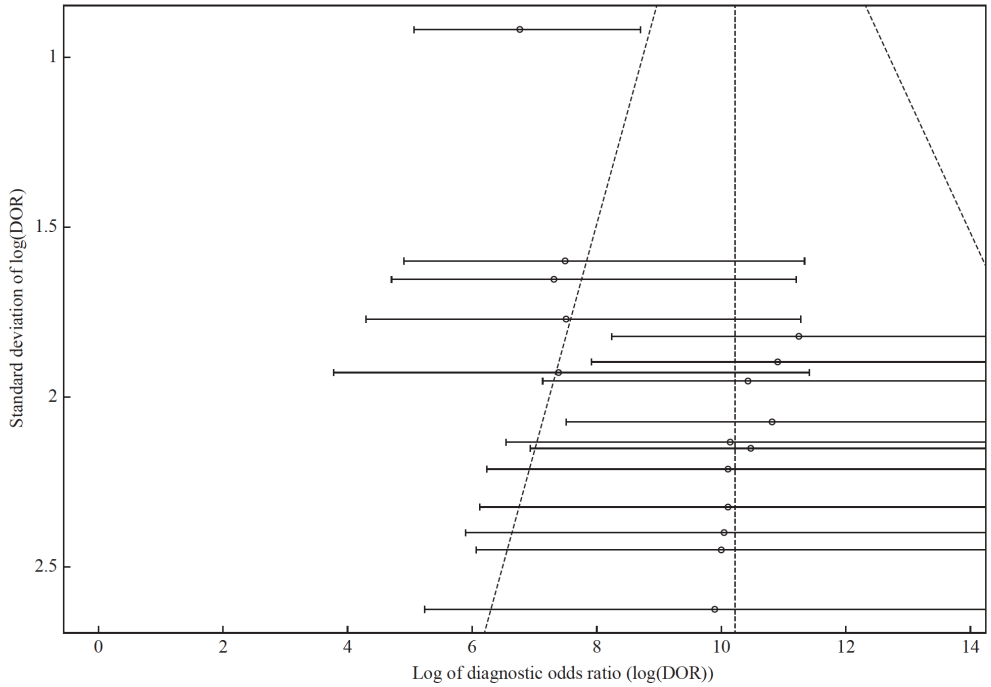


Figure 4. Deeks' funnel plot asymmetry test for publication bias (Bayesian).

effectiveness at the admission of patients considered as 'high risk' for CPE carriage. Only five studies (31%) were conducted in the context of a CPE outbreak. Hence, there are few data on the effectiveness of real-time PCR in the specific situation of the discovery of a CPE carrier. Moreover, only one study evaluated the clinical utility of PCR-based assays as a screening tool, demonstrating their potential added value for infection control management in an epidemiological setting. The authors suggested that real-time PCR, carried out at day 0, is efficient in identifying among contact patients those who acquired CPE, with a NPV of 98%, shortening the turnaround time by 5–27 days. Therefore, in an outbreak context, if the screening real-time PCR test for a patient at Day 0 is negative, the risk that it will be discovered later colonized remains weak. Thereby, contact patients' isolation will only be limited to those whose screening is real-time PCR positive [47].

Knowing that the main disadvantages of molecular-based technologies for detection of CPE is the absence of detection of any novel carbapenemase gene and their cost, the ultimate utility of these techniques would be more in the screening for carriage of CPE in contact patients around a fortuitous discovery of a non-isolated carrier patient, than at the admission of a patient suspected of being colonized [13]. In this context, where the CPE bacterium and the carbapenemase gene it expresses are already known, according to the 2013 French National Guidelines recommendations and the international recommendations an extensive screening policy for all isolated contact patients must be applied [48,49]. This strategy seems to be costly as it is associated with bed closures and reduction of medical activity, for a relatively long duration of time, whereas by including the molecular-based technologies for detection of CPE in a clinical algorithm the cost behind the infection control measures implementation can be significantly reduced [50]. In addition to the cost reduction, the problem of isolated patients with their exposure to a higher risk of complications is also reduced, as they are possibly receiving less optimal management for their medical condition, compared to non-isolated patients with the same medical condition [47].

The use of molecular techniques for the detection of CPE carriers in contact patients may also have some limitations. They can detect the presence of a carbapenemase gene not carried by CPE and thereby not transmittable; for example, false-positive CPE detection following a transient carriage of *Shewanella* spp., which naturally produces OXA-48 variants and is not transmittable, has been described [23]. Moreover, knowing that molecular methods may be more sensitive than the conventional culture method, and that heavily colonized patients are more likely to yield opportunities for horizontal transmission, it raises the issue of whether the excellent sensitivity of PCR and detection of very low levels of colonization is significant, regarding the consequent costly infection control measures [11].

In conclusion, our meta-analysis shows that molecular techniques seem to have excellent specificity and very good sensitivity for detection of CPE directly in rectal swabs. However, since only a limited number of authors have been interested in evaluating the performance of molecular assays performed directly on rectal swabs, more studies must be conducted and another meta-analysis then performed on a larger number of studies in order to confirm this finding. Although culture methodologies remain necessary even though molecular techniques are used, these latter may be a useful,

Downloaded for Anonymous User (n/a) at Saint Joseph University from ClinicalKey.com by Elsevier on May 13, 2021. For personal use only. No other uses without permission. Copyright ©2021. Elsevier Inc. All rights reserved.

accurate diagnostic tool in the particular indication of screening for carriage of CPE in contact patients around a fortuitous discovery of a non-isolated hospitalized carrier patient.

Conflict of interest statement
None declared.

Funding sources
None.

References

[1] Cosgrove SE. The relationship between antimicrobial resistance and patient outcomes: mortality, length of hospital stay, and health care costs. Clin Infect Dis 2006;42(Suppl 2):S82–9.
[2] Maragakis LL, Perencevich EN, Cosgrove SE. Clinical and economic burden of antimicrobial resistance. Expert Rev Anti Infect Ther 2008;6:751–63.
[3] Mauldin PD, Salgado CD, Hansen IS, Durup DT, Bosso JA. Attributable hospital cost and length of stay associated with health care-associated infections caused by antibiotic-resistant Gram-negative bacteria. Antimicrob Agents Chemother 2010;54:109–15.
[4] Centers for Disease Control and Prevention. Biggest Threats and Data | Antibiotic/Antimicrobial Resistance | CDC. Available at: https://www.cdc.gov/drugresistance/biggest_threats.html [last accessed July 2019].
[5] Hussein K, Rabino G, Eluk O, Warman S, Reisner S, Geffen Y, et al. The association between infection control interventions and carbapenem-resistant Enterobacteriaceae incidence in an endemic hospital. J Hosp Infect 2017;97:218–25.
[6] DalBen MF. Transmission-based precautions for multidrug-resistant organisms: what to prioritize when resources are limited. Curr Treat Options Infect Dis 2018;10:40–7.
[7] MacPherson DW, Gushulak BD, Baine WB, Bala S, Gubbins PO, Holtom P, et al. Population mobility, globalization, and antimicrobial drug resistance. Emerg Infect Dis 2009;15:1727–31.
[8] French CE, Coope C, Conway L, Higgins JPT, McCulloch J, Okoli G, et al. Control of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae outbreaks in acute settings: an evidence review. J Hosp Infect 2017;95:3–45.
[9] Nordmann P, Poirel L. The difficult-to-control spread of carbapenemase producers among Enterobacteriaceae worldwide. Clin Microbiol Infect 2014;20:821–30.
[10] Dortet L, Bréchard L, Cuzon G, Poirel L, Nordmann P. Strategy for rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Antimicrob Agents Chemother 2014;58:2441–5.
[11] Lowman W, Marais M, Ahmed K, Marcus L. Routine active surveillance for carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from rectal swabs: diagnostic implications of multiplex polymerase chain reaction. J Hosp Infect 2014;88:66–71.
[12] Huang T-D, Bogaerts P, Ghilani E, Heinrichs A, Gavage P, Roisin S, et al. Multicentre evaluation of the Check-Direct CPE® assay for direct screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from rectal swabs. J Antimicrob Chemother 2015;70:1669–73.
[13] Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global spread of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Emerg Infect Dis 2011;17:1791–8.
[14] Hammoudi D, Ayoub Moubareck C, Aires J, Adaime A, Barakat A, Fayad N, et al. Countrywide spread of OXA-48 carbapenemase in Lebanon: surveillance and genetic characterization of carbapenem-non-susceptible Enterobacteriaceae in 10 hospitals over a one-year period. Int J Infect Dis 2014;29:139–44.
[15] Dortet L, Poirel L, Nordmann P. Rapid identification of carbapenemase types in Enterobacteriaceae and *Pseudomonas* spp. by using a biochemical test. Antimicrob Agents Chemother 2012;56:6437–40.
[16] Tamma PD, Simner PJ. Phenotypic detection of carbapenemase-producing organisms from clinical isolates. J Clin Microbiol 2018;25(11):56.
[17] Fauconnier C, Dodemont M, Depouhon A, Anantharajah A, Verroken A, Rodriguez-Villalobos H. Lateral flow immunochromatographic assay for rapid screening of faecal carriage of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. J Antimicrob Chemother 2019;74:357–9.
[18] Findlay J, Hopkins KL, Meunier D, Woodford N. Evaluation of three commercial assays for rapid detection of genes encoding clinically relevant carbapenemases in cultured bacteria. J Antimicrob Chemother 2015;70:1338–42.
[19] Hrabák J, Chudáčková E, Papagiannitsis CC. Detection of carbapenemases in Enterobacteriaceae: a challenge for diagnostic microbiological laboratories. Clin Microbiol Infect 2014;20:839–53.
[20] 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;54:1814–9.
[21] Dortet L, Bréchard L, Poirel L, Nordmann P. Rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from blood cultures. Clin Microbiol Infect 2014;20:340–4.
[22] Francis RO, Wu F, Della-Latta P, Shi J, Whittier S. Rapid detection of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase genes in Enterobacteriaceae directly from blood culture bottles by real-time PCR. Am J Clin Pathol 2012;137:627–32.
[23] Hoyos-Mallecot Y, Ouzani S, Dortet L, Fortineau N, Naas T. Performance of the Xpert® Carba-R v2 in the daily workflow of a hygiene unit in a country with a low prevalence of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Int J Antimicrob Agents 2017;49:774–7.
[24] Tenover FC, Canton R, Kop J, Chan R, Ryan J, Weir F, et al. Detection of colonization by carbapenemase-producing Gram-negative bacilli in patients by use of the Xpert MDRO assay. J Clin Microbiol 2013;51:3780–7.
[25] Otter JA, Dyakova E, Bisnauthsing KN, Querol-Rubiera A, Patel A, Ahanonu C, et al. Universal hospital admission screening for carbapenemase-producing organisms in a low-prevalence setting. J Antimicrob Chemother 2016;71:3556–61.
[26] Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, PRISMA Group. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. Ann Intern Med 2009;151:264–9. W64.
[27] Whiting PF, Rutjes AWS, Westwood ME, Mallett S, Deeks JJ, Reitsma JB, et al. QUADAS-2: a revised tool for the quality assessment of diagnostic accuracy studies. Ann Intern Med 2011;155:529–36.
[28] Stata. Stata statistical software. College Station, TX: StataCorp, LLC; 2017.
[29] Palmer TM, Sterne JAC. Meta-analysis in Stata: an updated collection from the Stata journal. 2nd ed. College Station, TX: Stata Press; 2015.
[30] The R Project for Statistical Computing. Available from: https://www.r-project.org/[last accessed July 2019].
[31] Guo J, Riebler A. meta4diag: Bayesian bivariate meta-analysis of diagnostic test studies for routine practice. ArXiv151206220 Stat; 2015. Available from: http://arxiv.org/abs/1512.06220 [last accessed July 2019].
[32] Reitsma JB, Glas AS, Rutjes AWS, Scholten RJPM, Bossuyt PM, Zwinderman AH. Bivariate analysis of sensitivity and specificity produces informative summary measures in diagnostic reviews. J Clin Epidemiol 2005;58:982–90.
[33] Harbord RM, Deeks JJ, Egger M, Whiting P, Sterne JAC. A unification of models for meta-analysis of diagnostic accuracy studies. Biostatistics 2007;8:239–51.
[34] Dinnes J, Deeks J, Kirby J, Roderick P. A methodological review of how heterogeneity has been examined in systematic reviews of diagnostic test accuracy. Health Technol Assess 2005;9:1–113.

Downloaded for Anonymous User (n/a) at Saint Joseph University from ClinicalKey.com by Elsevier on May 13, 2021. For personal use only. No other uses without permission. Copyright ©2021. Elsevier Inc. All rights reserved.

[35] Deeks JJ, Macaskill P, Irwig L. The performance of tests of publication bias and other sample size effects in systematic reviews of diagnostic test accuracy was assessed. J Clin Epidemiol 2005;58:882—93.
[36] Takwoingi Y, Guo B, Riley RD, Deeks JJ. Performance of methods for meta-analysis of diagnostic test accuracy with few studies or sparse data. Stat Methods Med Res 2017;26:1896—911.
[37] Josa DF, Bustos G, Torres IC, Esparza SG. Evaluation of three screening methods for detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in rectal swabs. Rev Chil Infect 2018;35:253—61.
[38] Fernández J, Cunningham SA, Fernández-Verdugo A, Viña-Soria L, Martín L, Rodicio MR, et al. Evaluation of a real-time PCR assay for rectal screening of OXA-48-producing Enterobacteriaceae in a general intensive care unit of an endemic hospital. Diagn Microbiol Infect Dis 2017;88:252—8.
[39] Oviaño M, Torres I, González M, Bou G. Evaluation of a novel procedure for rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (CPE) using the LightMix® modular carbapenemase kits. J Antimicrob Chemother 2016;71:3420—3.
[40] Antonelli A, Arena F, Giani T, Colavecchio OL, Valeva SV, Paule S, et al. Performance of the BD MAX™ instrument with Check-Direct CPE real-time PCR for the detection of carbapenemase genes from rectal swabs, in a setting with endemic dissemination of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Diagn Microbiol Infect Dis 2016;86:30—4.
[41] Vasoo S, Cunningham SA, Kohner PC, Mandrekar JN, Lolans K, Hayden MK, et al. Rapid and direct real-time detection of blaKPC and blaNDM from surveillance samples. J Clin Microbiol 2013;51:3609—15.
[42] Girlich D, Bernabeu S, Fortineau N, Dortet L, Naas T. Evaluation of the CRE and ESBL ELITe MGB® kits for the accurate detection of carbapenemase- or CTX-M-producing bacteria. Diagn Microbiol Infect Dis 2018;92:1—7.
[43] Cortegiani A, Russotto V, Graziano G, Geraci D, Saporito L, Cocorullo G, et al. Use of Cepheid Xpert Carba-R® for rapid detection of carbapenemase-producing bacteria in abdominal septic patients admitted to intensive care unit. PloS One 2016;11:e0160643.
[44] Hindiyeh M, Smollen G, Grossman Z, Ram D, Davidson Y, Mileguir F, et al. Rapid detection of blaKPC carbapenemase genes by real-time PCR. J Clin Microbiol 2008;46:2879—83.
[45] Kazi M, Nikam C, Shetty A, Rodrigues C. An Xpert screen to identify carbapenemases. Indian J Med Microbiol 2016;34:216—8.
[46] Chavda KD, Satlin MJ, Chen L, Manca C, Jenkins SG, Walsh TJ, et al. Evaluation of a multiplex PCR assay to rapidly detect Enterobacteriaceae with a broad range of β-lactamases directly from perianal swabs. Antimicrob Agents Chemother 2016;60:6957—61.
[47] Saliba R, Neulier C, Seytre D, Fiacre A, Faibis F, Leduc P, et al. Can real-time polymerase chain reaction allow a faster recovery of hospital activity in cases of an incidental discovery of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and vancomycin-resistant Enterococci carriers? J Hosp Infect 2019;103:115—20.
[48] Lepelletier D, Berthelot P, Lucet J-C, Fournier S, Jarlier V, Grandbastien B, et al. French recommendations for the prevention of "emerging extensively drug-resistant bacteria" (eXDR) cross-transmission. J Hosp Infect 2015;90:186—95.
[49] Schwaber MJ, Carmeli Y. An ongoing national intervention to contain the spread of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. Clin Infect Dis 2014;58:697—703.
[50] Birgand G, Leroy C, Nerome S, Luong Nguyen LB, Lolom I, Armand-Lefevre L, et al. Costs associated with implementation of a strict policy for controlling spread of highly resistant microorganisms in France. BMJ Open2016;6(1):e009029.

Downloaded for Anonymous User (n/a) at Saint Joseph University from ClinicalKey.com by Elsevier on May 13, 2021. For personal use only. No other uses without permission. Copyright ©2021. Elsevier Inc. All rights reserved.

b. Déterminer la sensibilité et spécificité de la PCR GeneXpert (Cepheid®) réalisée à J0 sur les écouvillons rectaux des patients contact d'un patient colonisé ou infecté par une EPC ou un ERV, non isolé, découvert fortuitement.

Etant donné que notre méta-analyse a suggéré que les techniques moléculaires semblent avoir une bonne sensibilité de 0,95 et une excellente spécificité de 0,994 dans la détection des EPC directement à partir des écouvillons rectaux, nous avons réalisé une étude multicentrique rétrospective visant à déterminer la valeur prédictive négative de la PCR en temps réel GeneXpert (Cepheid®) ; technique largement utilisée en France ; réalisée sur les écouvillons rectaux des patients contact, à J0 de la découverte d'un patient colonisé ou infecté par une EPC ou un ERV. Avec une valeur prédictive négative élevée, la maitrise du risque de transmission secondaire pourrait être possible tout en évitant l'arrêt de l'activité dans le service de découverte du patient index.

Ce travail a fait l'objet d'une publication sous forme d'article original dans la revue scientifique *Journal of Hospital Infection* résumée ci-dessous et d'une communication affichée :

- Article :

Rindala Saliba, Caroline Neulier, Delphine Seytre, Alain Fiacre, Frédéric Faibis, Pierre Leduc, Marlène Amara, Françoise Jauréguy, Etienne Carbonnelle, Jean-Ralph Zahar, Laurence Marty. Can Real-Time PCR Allow a Faster Recovery of Hospital Activity in Cases of an Incidental Discovery of Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* and Vancomycin-Resistant *Enterococci* Carriers?

J Hosp Infect. 2019 Jul 4;1532-2939. https://doi.org/10.1016/j.jhin.2019.07.004.

- Communication affichée :

Rindala Saliba, Caroline Neulier, Delphine Seytre, Alain Fiacre, Frédéric Faibis, Pierre Leduc, Marlène Amara, Françoise Jauréguy, Etienne Carbonnelle, Jean-Ralph Zahar, Laurence Marty. Effectiveness of Real-Time PCR (Cefeid GeneXpert) as a Screening Tool for Infection Control Management. *ECCMID 2019*. (Poster)

Nous nous sommes intéressé à évaluer l'efficacité de la PCR en temps réel, GeneXpert (Cepheid®), réalisée à J0 de la découverte fortuite d'un patient hospitalisé non isolé colonisé ou infecté par une BHRe, à identifier parmi les patients contact ceux qui ont acquis cette BHRe.

Nous avons mené une étude rétrospective multicentrique dans trois grands hôpitaux français (Hôpital Avicenne AP-HP, Centre Hospitalier Mignot de Versailles, Grand Hôpital Est – Site Marne-la-Vallée) de janvier 2015 à octobre 2018. Dans ces hôpitaux, les recommandations nationales françaises de 2013 (427) pour la prévention du risque de transmission des BHRe sont appliquées. Ainsi, en cas d'identification d'un patient index, une politique de dépistage extensif de tous les patients contact isolés doit être appliquée. Les patients contact ne sont considérés comme n'ayant pas acquis la BHRe et non plus isolés, que si les dépistages hebdomadaires sur 3 semaines consécutives par la technique de culture conventionnelle sont négatifs.

Un patient index était défini comme un patient non cohorté colonisé ou infecté par une EPC ou un ERV, découvert fortuitement après son admission. Nous avons défini les patients contact comme tout patient adulte (> 18ans), séjournant dans le même service hospitalier et pendant la même période que le patient index, partageant les mêmes WC et pour lequel, un dépistage rectal par semaine sur 3 semaines au moins ont été effectués au cours de la même hospitalisation et après la fin de son exposition au patient index. Ces dépistages ont été réalisés par méthode de culture conventionnelle. En parallèle, tous les patients contact inclus ont bénéficié d'une PCR en temps réel GeneXpert (Cepheid®) effectuée sur le premier échantillon de dépistage.

Un patient cas secondaire a été défini comme un patient contact ayant acquis l'EPC ou l'ERV du patient index et identifié par l'un des 3 dépistages rectaux hebdomadaires. Un patient non colonisé a été défini comme un patient contact ayant 3 dépistages rectaux hebdomadaires négatifs durant son séjour à l'hôpital. Le temps d'exposition a été défini comme la durée de contact entre le patient index avant la découverte de sa colonisation et un patient cas secondaire ou contact négatif, tout au long de leur séjour dans le même service. (267)

Les données suivantes ont été recueillies rétrospectivement pour les patients cas secondaires et contact négatifs, en examinant les dossiers médicaux et microbiologiques. Ces données ont inclus : les caractéristiques démographiques, notamment l'âge, le sexe, le service de contact (unité de soins médicaux, chirurgicaux ou intensifs), le temps d'exposition, la durée d'hospitalisation dans le service et l'administration d'antibiotiques pendant la période d'exposition.

Les dépistages de colonisation par une EPC ou un ERV ont été réalisés en utilisant respectivement Xpert® Carba-R et Xpert® vanA/vanB (Cepheid, GeneXpert) suivant les recommandations du fabricant, sur le premier écouvillon rectal de dépistage. La détection de l'EPC par culture a consisté en un étalement direct de l'écouvillon rectal sur un milieu ChromID® CARBA SMART

(BioMérieux, Marcy-l'Étoile, France) puis une incubation à 37°C pendant 24h. De même, la recherche d'ERV par culture a été réalisée sur un milieu ChromID® VRE (BioMérieux, Marcy-l'Étoile, France), après incubation à 37°C pendant 24h. Un antibiogramme, selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie - European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (CA-SFM - EUCAST), (428) a été réalisé sur chaque type de colonie, cultivée sur les milieux sélectifs, suspectée EPC ou ERV. La confirmation de la résistance a été réalisée à l'aide des tests biochimiques, Carba NP ou ß-Carba (Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France) (429,430), puis une PCR Xpert® Carba-R ou Xpert® vanA/vanB sur les colonies suspectes EPC ou ERV respectivement.

Dans notre étude rétrospective multicentrique, une concordance de 97,5% (155/159) a été observée entre les dépistages rectaux réalisés à trois semaines utilisant la technique de culture conventionnelle et le résultat de la PCR en temps réel GeneXpert (Cepheid®) effectuée à J0. Lorsqu'elle est réalisée pour tous les patients contact à J0 de la découverte d'un patient index, la PCR en temps réel GeneXpert (Cepheid®) a permis de raccourcir le délai de diagnostic d'une acquisition de 5 à 27 jours (6 jours en moyenne) par rapport à la méthode de culture classique effectuée sur 3 semaines consécutives.

En conclusion, notre travail suggère qu'en cas de découverte fortuite d'un cas index non isolé, la réalisation d'une PCR sur les écouvillons rectaux des patients contact à J0 permet d'identifier les cas secondaires.

Dans notre travail la valeur prédictive négative du test était de 98%. De ce fait, l'utilisation de cet outil diagnostic permettrait de limiter les mesures de prévention aux patients ayant acquis la BHRe, identifiés dès J0. Ceci permettrait d'éviter l'arrêt des admissions dans le service concerné et de maintenir les transferts, offrant la possibilité de maintenir l'offre de soin dans les organisations sanitaires des pays à revenus moyens ou faibles.

Cependant, d'autres études doivent être menées, comparant différentes techniques de PCR en temps réel aux dépistages rectaux par culture conventionnelle, sur un plus grand nombre de patients, tenant compte des différents facteurs de risque d'acquisition et de transmission de BHRe, afin de confirmer notre résultat. D'autre part, il serait aussi important de comparer le coût d'utilisation de ces techniques moléculaires aux coûts engendrés par l'application des politiques d'isolement des patients contact et leur cohorting sur 3 semaines.

Journal of Hospital Infection 103 (2019) 115–120

Available online at www.sciencedirect.com

Journal of Hospital Infection

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jhin

Can real-time polymerase chain reaction allow a faster recovery of hospital activity in cases of an incidental discovery of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and vancomycin-resistant Enterococci carriers?

R. Saliba [a,b], C. Neulier [c], D. Seytre [b], A. Fiacre [d], F. Faibis [d], P. Leduc [c], M. Amara [e], F. Jauréguy [a,b], E. Carbonnelle [a,b], J.-R. Zahar [a,b,*], L. Marty [f]

[a] *IAME, UMR 1137, Université Paris 13, Sorbonne Paris Cité, France*
[b] *Service de Microbiologie Clinique et Unité de Contrôle et de Prévention du risque Infectieux, Groupe Hospitalier Paris Seine Saint-Denis, AP-HP, Bobigny, France*
[c] *Service de Prévention du Risque Infectieux, CH André Mignot, Versailles, France*
[d] *Département de Microbiologie, Grand Hôpital de l'Est Francilien site Marne la Vallée, France*
[e] *Département de Microbiologie et Hygiène, CH André Mignot, Versailles, France*
[f] *Unité d'Hygiène Inter Hospitalière Nord Seine et Marne Grand Hôpital de l'Est Francilien site Marne la Vallée, France*

ARTICLE INFO

Article history:
Received 30 April 2019
Accepted 1 July 2019
Available online 4 July 2019

Keywords:
Real-time PCR
Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae
Vancomycin-resistant Enterococci
Infection control
Outbreak
Rectal screening

SUMMARY

Background: Detection of faecal carriers of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (CPE) and vancomycin-resistant Enterococci (VRE) has become a routine medical practice in many countries. In an outbreak setting, several public health organizations recommend three-weekly rectal screenings to rule-out acquisition in contact patients. This strategy, associated with bed closures and reduction of medical activity for a relatively long time, seems costly.

Aim: The objective of this study was to test the positive and negative predictive values of reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR; GeneXpert®) carried-out at Day 0, compared with conventional three-weekly culture-based rectal screenings, in identifying, among contact patients, those who acquired CPE/VRE.

Methods: A multicentre retrospective study was conducted from January2015 to October2018. All contact patients (CPs) were included identified from index patients (IPs) colonized or infected with CPE/VRE, incidentally discovered. Each CP was investigated at Day 0 by PCR (GeneXpert®), and by the recommended three-weekly screenings.

Findings: Twenty-two IPs and 159 CPs were included. An average of 0.77 secondary cases per patient was noted, with a mean duration of contact of 10 days (range 1–64). Among the 159 CPs, 16 (10%) had a CPE/VRE-positive culture during the monitoring period. Rectal screenings were positive at Day 0 (10 patients), Day 7 (two patients), Day 14 (four patients). Thirteen of 16 patients with positive culture had a positive PCR at Day 0. Overall, a concordance of 97.5% (155/159) was observed between the three-weekly

* Corresponding author. Address: 125 rue de Stalingrad 93000, Bobigny, France. Tel.: +33 6 0307 9088.
E-mail address: jrzahar@gmail.com (J.-R. Zahar).

https://doi.org/10.1016/j.jhin.2019.07.004
0195-6701/© 2019 The Healthcare Infection Society. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

screenings and Day 0 PCR results. When performed on CPs at Day 0 of the identification of an IP, PCR (GeneXpert®) allowed the reduction in turnaround time by five to 27 days, compared to three-weekly screenings. Positive predictive value and negative predictive value were 100% and 98%, respectively.

Conclusions: The use of RT-PCR (GeneXpert®) can avoid the three-weekly rectal samplings needed to rule-out acquisition of CPE/VRE.

© 2019 The Healthcare Infection Society. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

Introduction

Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (CPE) and vancomycin-resistant enterococci (VRE) emerged globally over the last decade, resulting in antibiotic-resistant infections that are difficult to treat and costly to healthcare facilities [1]. The search and isolate policy is considered the main infection prevention and control strategy. Rapid, accurate detection of intestinal CPE and VRE colonization is critical to minimize transmission, and hence reduce costly, difficult-to-treat infections caused by these emerging extensively drug-resistant (XDR) bacteria [2].

The 2013 French National Guidelines recommend implementation of a strict isolation policy, including cohorting patients with CPE in a dedicated ward with dedicated healthcare workers (HCWs) and an extensive screening policy of contact patients. In case of identifying a non-cohorted index patient, recommendations are to close the ward concerned and apply a screening policy to all contact patients. Weekly rectal swabbing is recommended to investigate possible acquisition among contact patients. Contact patients are considered non-carriers if three consecutive weekly negative rectal swabs are obtained; they are then no longer monitored. This strategy seems to be costly as it is associated with a reduction in medical activity. Moreover, it could expose patients to higher risk of complications as they will usually remain isolated until screening is complete [3].

The current process for detecting CPE in clinical samples is usually performed using selective cultures and may require up to 72 h to obtain the results [4].

Different molecular assays have been developed and have shown their effectiveness in identifying the resistance genes from bacterial colonies. Real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) assays have been reported to have lower limits of detection than conventional agar-based culture methodologies [4—7]. When used directly on rectal samples, they offer laboratories the ability to reduce turnaround times. However, there is no data on their effectiveness in this specific situation. Moreover, no previous study has demonstrated whether they have a potential added value for infection control management in an epidemiological setting. Therefore, evaluating the clinical utility of PCR-based assays as a screening tool, is needed.

The main objective of this study was to test in a multicentre retrospective survey the effectiveness of RT-PCR (GeneXpert®) carried out at Day 0 in identifying among contact patients those who acquired XDR. An additional objective was to define the negative predictive value (NPV) of this technique; a high NPV would support using this strategy in place of the standard three-week sampling and testing regimen.

Part of these results was presented at the 29th ECCMID Congress.

Materials and methods

A multicentre retrospective study was conducted in three large French hospitals (Avicenne Hospital AP-HP, Mignot Hospital — Hospital Center of Versailles, Grand Hospital Eastern IIe Site de Marne-la-Vallée) from January 2015 to October 2018. In these hospitals, the 2013 French National Guidelines recommendations [8] for the prevention of spread of XDR are systematically applied. Thus, in case of identifying an index patient, patients are cohorted and an extensive screening policy for all isolated contact patients is applied. Contact patients are only considered non-carriers, and isolation discontinued, if three consecutive weekly rectal swabs screenings are negative by recommended culture techniques.

An index patient was defined as a non-cohorted patient colonized or infected with CPE or VRE incidentally discovered post-hospitalization. Contact patients were defined as all the adults (>18 years old) staying in the same unit during the same period as an index patient, sharing the same HCWs and for whom, at least three-weekly rectal screenings were performed during the same hospitalization and after the end of their exposure using conventional culture techniques, plus an RT-PCR (GeneXpert®) assay performed on the first screening sample. A secondary-case patient was defined as a contact patient for whom CPE or VRE was later identified by the weekly rectal screenings. A non-colonized patient was defined as a contact patient who remained CPE- or VRE-negative during his stay in the hospital. Exposure time was defined as the duration of contact between the index patient and a secondary-case patient before being identified as CPE or VRE positive or a control patient throughout his stay in the same ward [9].

Data were collected retrospectively in case and control patients by reviewing medical and microbiological records. Collected data included demographic characteristics, including age, gender, ward of contact (medical, surgical, or intensive care unit), exposure time, duration of hospitalization on the ward, and antibiotic administration during the exposure period.

CPE and VRE detections were performed using, respectively, Xpert® Carba-R and Xpert® vanA/vanB (Cepheid, GeneXpert) following manufacturer recommendations, on the first screening sample. CPE detection by culture consisted of direct plating of the rectal swab on ChromID® CARBA SMART medium (BioMérieux, Marcy-l'Étoile, France) for 24 h; likewise, screening of VRE was carried out on ChromID® VRE medium (BioMérieux, Marcy-l'Étoile, France). Antibiotic susceptibility testing according to Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie — European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (CA-SFM — EUCAST) guidelines [10] was performed on each type of suspected colony grown on selective media. Confirmation of resistance was accomplished

using Carba NP test and β-Carba test (Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France) [11,12] and Xpert® Carba-R on suspected CPE isolates and Xpert® vanA/vanB on suspected VRE isolates.

Statistical methods

The sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV) were calculated for all tested isolates. Statistical analysis was performed using 95% confidence intervals (CIs) calculated using Student's *t*-test.

Results

During the study period, 22 non-cohorted patients, hospitalized in different wards, carrying or infected with CPE (59%) or VRE (41%) were incidentally discovered post-hospitalization. The mean age of these index patients was 68 years and their average length of hospital stay, 12 days (range between 1 and 50 days). Sixteen index patients over 22 (72.7%) were exposed to antibiotics during their hospital stay. CPE accounted for 13 (59%) cases, with OXA-48 being the most prevalent mechanism of resistance (Table I).

Among the 159 contact patients (as defined previously) only 17 (10.7%) acquired an XDR. In fact, eight index patients of 22 generated at least one secondary-case patient, the average being 0.77 secondary cases per patient (range between 0 and 3). The mean duration of contact in the whole population was 10 days (range between 1 and 64 days). Among the 159 patients, 96 (60.4%) patients were receiving antibiotic therapy during the contact period (Table II).

According to French recommendations, all contact patients were followed up weekly and were screened by rectal swabbing. Furthermore, RT-PCR (GeneXpert®) was carried out on rectal swabs of the 159 contact patients at Day 0 and 14 patients were detected as CPE carriers. Conventional agar-based methodology used for weekly rectal screenings, was positive in 16 patients. Ten had a positive culture result on the first day of screening (Day 0), two at the second screening week and four at the third screening week. In one case, PCR was positive at Day 0, whereas conventional culture remained negative for the three-weekly rectal screenings. In three other cases, all related to VRE acquisition, PCR was negative at Day 0, while cultures were positive at the second or third round of screening.

Table I
Characteristics of the index patients

	Total index patients $N = 22$ (%)
Female sex	11 (50)
Age, mean	68
Hospitalization duration (days), mean	12
Ward of admission	
Medical	15 (68.2)
Surgical	4 (18.2)
Intensive care unit	3 (13.6)
Antibiotic therapy during hospitalization	16 (72.7)
Secondary cases generated	8 (36.4)
Mechanisms of resistance	
VRE (vanA)	9 (40.9)
CPE (OXA 48)	11 (50)
CPE (NDM)	1 (4.5)
CPE (KPC)	1 (4.5)

CPE, carbapenemase-producing Enterobacteriaceae; VRE, vancomycin-resistant enterococci.

Overall, a concordance of 97.5% (155/159) was observed between the three-weekly rectal screens using culture techniques and Day 0 RT-PCR (GeneXpert®) results. When performed on all contact patients at Day 0 after identifying of an index patient, RT-PCR (GeneXpert®) allowed the reduction in turnaround time by five to 27 days (six days on average) compared to the conventional three-weekly culture-based rectal screening method. Among the four discordances, one case had a positive PCR at Day 0 for CPE OXA-48, whereas, conventional culture methodology stayed negative for the three-weekly rectal screens. In the three remaining discordant cases, all VRE acquisition, PCR was negative at Day 0, while cultures were positive at the second screening in one case, and the third screening in the two other cases (Table III).

No statistically significant differences were found in age, duration of contact and antibiotic consumption between secondary-case patients diagnosed during the first screening and those found to be negative at the first screening but identified as carriers later at the second or third screenings.

Discussion

In our multicentre retrospective study, a concordance of 97.5% (155/159) was observed between the three-weekly rectal screenings using culture techniques and Day 0 RT-PCR (GeneXpert®) results. All secondary cases among contact patients were considered as having acquired the XDR bacteria within the first day of contact with the index patient and before the identification of carriage. Indeed, after identification, all case indexes were systematically cohorted according to the French recommendations and contact patients were not in contact with any other index patient or known carrier during their hospital stay. Among the four discordances, one case had a positive PCR at Day 0, whereas, conventional culture methodology remained negative for the three-weekly rectal screenings. This may be explained by the fact that the patient had been receiving antibiotics, affecting the expression of the resistance genes in culture, or, because it was an OXA-48 gene detected, the possibility of a transiently carriage of *Shewanella* spp. which naturally produce OXA-48 variants [5]. It needs to be considered also that molecular methods may be more sensitive than the culture method that was the reference standard in our study. Knowing that heavily colonized patients are more likely to yield opportunities for horizontal transmission, it raises the issue of whether the excellent sensitivity of PCR and detection of very low levels of colonization is significant, regarding the consequent costly infection-control measures [2].

In the three remaining discordant cases, all VRE acquisition, PCR was negative at Day 0, while cultures were positive during the second screening in one case, and the third screening in the two other cases. The absence of detection in these three cases at Day 0 may be associated with low undetectable bacterial load in the rectal swab specimens, becoming detectable at the second or third screenings or even with sample techniques [13]. However, looking closer at those cases, all three were parts of

Table II
Description of the characteristics of the contact patients

	Total contact patients $N = 159$ (%)	Secondary cases $N = 17$ (%)	Negative cases $N = 142$ (%)	P
Female sex	78 (49)	10 (58.8)	68 (47.9)	0.44
Age, median CI (min 25–75%, max)	70	80 (61–85)	72 (60.2–83.7)	0.54
Duration of contact with IP (days), median CI (25–75%)	10.4 (1, 64)	5 (3, 7)	10 (4, 15)	0.03
Ward of admission				
Medical	120 (75.5)	12 (70.6)	108 (76)	0.56
Surgical	27 (17)	5 (29.4)	22 (15.5)	0.17
Intensive care unit	12 (7.5)	0 (0)	12 (8.5)	0.36
Antibiotic therapy during hospitalization	96[a] (60.4)	11 (64.7)	85 (59.9)	0.79
Mechanisms of resistance	17 (10.7)			
VRE (vanA)	10 (6.3)	10 (58.8)	0	
CPE (OXA 48)	6 (3.8)	6 (35.3)	0	
CPE (NDM)	1 (0.6)	1 (5.9)	0	

CI, confidence interval; CPE, carbapenemase-producing Enterobacteriaceae; IP, index patient; VRE, vancomycin-resistant Enterococci.
[a] Penicillin + β-lactamase inhibitor 26; cephalosporins 32; carbapenems 5; fluoroquinolones 13; aminoglycosides 7; metronidazole 13; other antibiotics 27.

Table III
Description of the characteristics of discordant cases between the three-weekly rectal screening using culture techniques and Day 0 real-time polymerase chain reaction (PCR; GeneXpert®)

	Case 1	Case 2	Case 3	Case 4
Day 0 real-time PCR	Positive	Negative	Negative	Negative
1st week screening	Negative	Negative	Negative	Negative
2nd week screening	Negative	Positive	Negative	Negative
3rd week screening	Negative	Negative	Positive	Positive
Sex	M	M	M	F
Age	55	81	69	91
Duration of contact with index patient (days)	2	4	14	7
Ward of admission	Surgical	Medical	Medical	Medical
Antibiotic therapy during hospitalization	Yes	No	No	Yes
Mechanisms of resistance	CPE (OXA 48)	VRE (vanA)	VRE (vanA)	VRE (vanA)

CPE, carbapenemase-producing Enterobacteriaceae; F, female, M, male; VRE, vancomycin-resistant enterococci.

complicated outbreaks that generated several secondary cases. Therefore, it was also possible to suggest that those three patients were 'true-negative' at Day 0 and acquired the VRE later during their hospital stay.

Detection of faecal carriers of XDR bacteria has become a routine clinical practice in many parts of the world and is recommended by public health organizations for the containment of their spread. Among different approaches used, more recently, molecular approaches have been developed to increase detection sensitivity and decrease reporting time [14].

When performed on all contact patients at Day 0 of the discovery of an index patient, RT-PCR (GeneXpert®) allowed a reduction in the turnaround time by five to 27 days (six days on average) compared with the conventional three-weekly culture-based rectal screenings method. The result of a diagnostic assay has a clinical implication, and as a screening tool for XDR bacteria, that implication is the implementation of infection-control measures. The rapid cohorting of carriers is crucial to prevent outbreaks and reduce the social impact and the cost of infection-control measures empirically implemented for high-risk patients, who end up being negative for XDR bacteria colonization [5]. Moreover, the knowledge of the PPV and NPV is essential for decision making by the infection-control team with respect to the value of a positive and a negative test result. Some authors have studied the performance of RT-PCR (GeneXpert®), but most have studied its effectiveness in detecting resistance mechanisms on bacterial strains [15–19]. In addition, the limited number of authors who have been interested in evaluating the performance of GeneXpert® directly on rectal swabs, compared with the routine culture techniques, have studied its effectiveness only at the admission of patients considered as 'high-risk' for CPE carriage [2,4–7,14,20–22]. Hence, there are few data on the effectiveness of RT-PCR in this specific situation and no previous study has demonstrated whether they have a potential added value for infection control management in an epidemiological setting. To the best of our best knowledge, this is the first report to evaluate the clinical utility of PCR-based assays as a screening tool. This study suggested that RT-PCR (GeneXpert®), carried out at Day 0 is efficient in identifying among contact patients those who acquired XDR, with an NPV of 98%.

According to the 2013 French National Guidelines recommendations [8] and the international recommendations [23], in

cases of identifying an index patient, an extensive screening policy for all isolated contact patients must be applied. Contact patients are only considered non-carriers and no longer isolated, if three-weekly rectal swab screenings came back with a negative result, by recommended culture techniques. This strategy seems to be costly as it is associated with bed closures and a reduction in medical activity, for a relatively long duration of time. In addition to that, it could expose the isolated patients to a higher risk of complications as they are possibly receiving less optimal management for their medical condition, compared to non-isolated patients with the same medical condition.

The major strength of our study is the finding that, in an outbreak context, if the screening RT-PCR (GeneXpert®) test for a patient at Day 0 is negative, the risk that colonization will be discovered later remains weak. Thereby, the contact patient's isolation will only be limited to those who have been screened by RT-PCR as positive, meaning that they have acquired the XDR bacteria.

This study has several limitations. First, its retrospective nature and the lack of retrospective clinical data allowing for better targeting of patients at risk of acquisition of XDR bacteria, bearing in mind that Hilliquin *et al.* demonstrated recently in their large multicentre case–control study, that at least three risk factors are associated with KP OXA- 48 acquisition in contact patients of a non-cohorted index patient: (1) geographical proximity (2) antibiotic therapy during exposure time and (3) at least one invasive procedure [9]. Second, the sample size with the limited number of secondary cases. Third, it could not be excluded that the negative results on culture and/or on PCR were possibly the consequence of poor-quality sampling (no macroscopic staining was visualized), and this information was not available retrospectively.

In conclusion, PCR (GeneXpert®) can provide valuable information for infection-control programs, and avoid three-weekly rectal samplings to rule out acquisition of CPE or VRE. When included in a clinical algorithm, it can reduce the cost of the implementation of infection-control measures. Further studies need to be conducted comparing different RT-PCR techniques to the three-weekly rectal screenings using culture techniques, on a larger number of patients, taking into account different risk factors of XDR acquisition and transmission.

Conflict of interest statement
None to report.

Funding sources
This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

References

[1] Wilson HJ, Khokhar F, Enoch DA, Brown NM, Ahluwalia J, Dougan G, et al. Point-prevalence survey of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and vancomycin-resistant enterococci in adult inpatients in a university teaching hospital in the UK. J Hosp Infect 2018 Sep;100(1):35–9.
[2] Lowman W, Marais M, Ahmed K, Marcus L. Routine active surveillance for carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from rectal swabs: diagnostic implications of multiplex polymerase chain reaction. J Hosp Infect 2014;88(2):66–71.
[3] Otter JA, Burgess P, Davies F, Mookerjee S, Singleton J, Gilchrist M, et al. Counting the cost of an outbreak of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: an economic evaluation from a hospital perspective. Clin Microbiol Infect 2017;23(3):188–96.
[4] Huang T-D, Bogaerts P, Ghilani E, Heinrichs A, Gavage P, Roisin S, et al. Multicentre evaluation of the Check-Direct CPE® assay for direct screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from rectal swabs. J Antimicrob Chemother 2015;70(6):1669–73.
[5] Hoyos-Mallecot Y, Ouzani S, Dortet L, Fortineau N, Naas T. Performance of the Xpert® Carba-R v2 in the daily workflow of a hygiene unit in a country with a low prevalence of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Int J Antimicrob Agents 2017;49(6):774–7.
[6] Tenover FC, Canton R, Kop J, Chan R, Ryan J, Weir F, et al. Detection of colonization by carbapenemase-producing Gram-negative Bacilli in patients by use of the Xpert MDRO assay. J Clin Microbiol 2013;51(11):3780–7.
[7] Otter JA, Dyakova E, Bisnauthsing KN, Querol-Rubiera A, Patel A, Ahanonu C, et al. Universal hospital admission screening for carbapenemase-producing organisms in a low-prevalence setting. J Antimicrob Chemother 2016;71(12):3556–61.
[8] Lepelletier D, Berthelot P, Lucet J-C, Fournier S, Jarlier V, Grandbastien B, et al. French recommendations for the prevention of "emerging extensively drug-resistant bacteria" (eXDR) cross-transmission. J Hosp Infect 2015;90(3):186–95.
[9] Hilliquin D, Le Guern R, Thepot Seegers V, Neulier C, Lomont A, Marie V, et al. Risk factors for acquisition of OXA-48-producing Klebsiella pneumonia among contact patients: a multicentre study. J Hosp Infect 2018;98(3):253–9.
[10] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 9.0, valid from 2019-01-01. Available from: https://www.sfm-microbiologie.org/casfm-eucast [last accessed July 2019].
[11] Dortet L, Cuzon G, Plésiat P, Naas T. Prospective evaluation of an algorithm for the phenotypic screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. J Antimicrob Chemother 2016;71(1):135–40.
[12] Compain F, Gallah S, Eckert C, Arlet G, Ramahefasolo A, Decré D, et al. Assessment of carbapenem resistance in Enterobacteriaceae with the rapid and easy-to-use chromogenic β Carba Test. J Clin Microbiol 2016;54(12):3065–8.
[13] Dyakova E, Bisnauthsing KN, Querol-Rubiera A, Patel A, Ahanonu C, Tosas Auguet O, et al. Efficacy and acceptability of rectal and perineal sampling for identifying gastrointestinal colonization with extended spectrum β-lactamase Enterobacteriaceae. Clin Microbiol Infect 2017;23(8):577.e1–3.
[14] 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;54(7):1814–9.
[15] Nijhuis R, Samuelsen O, Savelkoul P, van Zwet A. Evaluation of a new real-time PCR assay (Check-Direct CPE) for rapid detection of KPC, OXA-48, VIM, and NDM carbapenemases using spiked rectal swabs. Diagn Microbiol Infect Dis 2013;77(4):316–20.
[16] Traczewski MM, Carretto E, Canton R, Moore NM, Carba-R Study Team. Multicenter evaluation of the Xpert Carba-R assay for detection of carbapenemase genes in Gram-negative isolates. J Clin Microbiol 2018;56(8). https://doi.org/10.1128/JCM.00272-18.
[17] Smith M, Diederen B, Scharringa J, Leversteijn-van Hall M, Fluit AC, Cohen Stuart J. Rapid and accurate detection of carbapenemase genes in Enterobacteriaceae with the Cepheid Xpert Carba-R assay. J Med Microbiol 2016;65(9):951–3.

[18] Tanner H. Verification of the Cepheid Xpert Carba-R assay for the detection of carbapenemase genes in bacterial isolates cultured on alternative solid culture media. J Hosp Infect 2017;97(3):254—7.
[19] Findlay J, Hopkins KL, Meunier D, Woodford N. Evaluation of three commercial assays for rapid detection of genes encoding clinically relevant carbapenemases in cultured bacteria. J Antimicrob Chemother 2015;70(5):1338—42.
[20] Moore NM, Cantón R, Carretto E, Peterson LR, Sautter RL, Traczewski MM, et al. Rapid identification of five classes of carbapenem resistance genes directly from rectal swabs by use of the Xpert Carba-R assay. J Clin Microbiol 2017;55(7):2268—75.
[21] Kim D-K, Kim HS, Pinto N, Jeon J, D'Souza R, Kim MS, et al. Xpert CARBA-R Assay for the detection of carbapenemase-producing organisms in intensive care unit patients of a Korean tertiary care hospital. Ann Lab Med 2016;36(2):162—5.
[22] Rezende TFT, Doi AM, Quiles MG, Pignatari ACC, Manfrendi S, Grothe C, et al. Detection of colonization by carbapenem-resistant organisms by real-time polymerase chain reaction from rectal swabs in patients with chronic renal disease. J Hosp Infect 2017;96(2):123—8.
[23] Schwaber MJ, Carmeli Y. An ongoing national intervention to contain the spread of carbapenem-resistant enterobacteriaceae. Clin Infect Dis 2014;58(5):697—703.

2- La contamination de l'environnement hospitalier autour de différentes espèces bactériennes, colonisant ou infectant des patients avec des caractéristiques cliniques différentes ou nécessitant des types de soins particuliers.

L'évaluation de la contamination environnementale autour de certaines espèces bactériennes, caractéristiques cliniques de patients et/ou situations particulières de soins, permettrait de mieux cibler les patients colonisés à risques élevé de contamination de l'environnement, nécessitant la mise en place de mesures de prévention particulièrement strictes. L'identification des patients contaminants pourrait aider les équipes d'hygiène à mieux cibler les mesures de prévention et à renforcer le bio-nettoyage de l'environnement afin de minimiser les risques de transmission. Pour les pays à revenus moyens ou faibles, mieux définir et identifier la population devant être strictement isolée, rendrait l'application des politiques de maitrise du risque de diffusion possible et compatible avec les moyens médicaux disponibles. Ainsi, nous avons cherché à définir la fréquence et identifier les facteurs de risque de la contamination environnementale autour des patients colonisés par une entérobactérie productrice de BLSE, une EPC et un ERV en milieu hospitalier.

a. Exploration de la dissémination des BMR dans l'environnement hospitalier à travers l'identification des facteurs de risque de dissémination des entérobactéries productrices de BLSE, EPC et ERV au sein de la structure hospitalière.

Ce travail a fait l'objet d'une publication sous forme d'article original dans la revue scientifique *Journal of Hospital Infection* résumée ci-dessous et d'une communication affichée :

- Article :

R. Saliba, T. Ghelfenstein-Ferreira , A. Lomont , B. Pilmis , E. Carbonnelle, D. Seytre, E. Nasser Ayoub, J.-R. Zahar, D. Karam-Sarkis. Risk factors for the environmental spread of different multidrug-resistant organisms: a prospective cohort study. J Hosp Infect. 2021 May;111:155–61. https://doi.org/10.1016/j.jhin.2021.01.029

- Communication affichée :

R. Saliba, T. Ghelfenstein-Ferreira , A. Lomont , B. Pilmis , E. Carbonnelle, D. Seytre, E. Nasser Ayoub, J.-R. Zahar, D. Karam-Sarkis. Risk factors for the environmental spread of different multidrug-resistant organisms. RICAI 2019. (Poster)

La détection de la contamination de l'environnement hospitalier a été principalement étudiée pour divers germes à Gram positif. (14) Plusieurs études ont suggéré un risque élevé de contamination de l'environnement, atteignant respectivement 64% et 94% autour des porteurs de SARM et ERV. (15,16) Parmi les bacilles à Gram négatif, la prévalence de la contamination environnementale par les entérobactéries productrices de BLSE a été rapportée entre 4 et 19%, selon l'espèce d'entérobactérie productrice de BLSE. (17,18) Il en est de même pour les EPC. Dans un travail, Lerner et al. ont identifié une contamination de l'environnement autour de 88% des patients colonisés ou infectés par une EPC. (14) Des publications récentes ont suggéré que les politiques d'isolement des patients contact et/ou les chambres individuelles pour les patients colonisés ou infectés par des entérobactéries productrices de BLSE ne présentaient pas d'avantages supplémentaires par rapport aux politiques standards de contrôle des infections. (45,46) Cependant, à ce jour, toutes les études n'ont pas réussi à identifier les facteurs de risque associés à la contamination de l'environnement. En effet, la plupart des études antérieures ont été menées lors d'épidémies et/ou n'ont pas pris en compte les facteurs de confusion liés aux facteurs de risque individuels de dissémination dans l'environnement. (17) En outre, aucune d'entre elles n'a corrélé la quantification des BMR dans les selles au risque de dissémination.

Dans ce contexte, afin de mieux cibler les patients colonisés par une BMR à risque de dissémination, nous proposons dans ce travail, d'évaluer le risque global de dissémination environnementale de différentes BMR, dans un cadre non épidémique, tout en prenant en considération, d'une part les facteurs de risque individuels et d'autre part, l'aspect microbiologique de la résistance. Par conséquent, nous avons cherché à évaluer et à identifier les facteurs associés à la contamination de l'environnement, en comparant les porteurs d'entérobactéries productrice de BLSE, d'EPC et d'ERV qui ont contaminé leur environnement, à ceux qui ne l'ont pas.

Nous avons mené une étude de cohorte prospective de mai 2018 à février 2020 dans deux hôpitaux universitaires : l'hôpital Avicenne, un hôpital français de 500 lits et l'Hôtel Dieu de France de Beyrouth, un hôpital libanais de 450 lits. Au total, 125 patients ont été inclus, 110 à l'hôpital Avicenne et 15 à l'Hôtel Dieu de France de Beyrouth. Tous les patients étaient âgés de plus de 18 ans et colonisés par une entérobactérie productrice de BLSE, une EPC ou un ERV ; connus à l'admission ou détectés dans les 48 premières heures. La politique adoptée pour prévenir la dissémination des BMR dans ces 2 hôpitaux exigeait un dépistage rectal à la recherche de

entérobactéries résistantes aux C3G, si le patient présentait au moins l'un des facteurs de risque suivants : (1) antécédent de colonisation ou infection par une BMR, (2) traitement dans un établissement de santé à l'étranger au cours des 12 mois précédent l'hospitalisation. De plus, les unités de soins intensifs de ces hôpitaux dépistaient systématiquement tous les patients à l'admission.

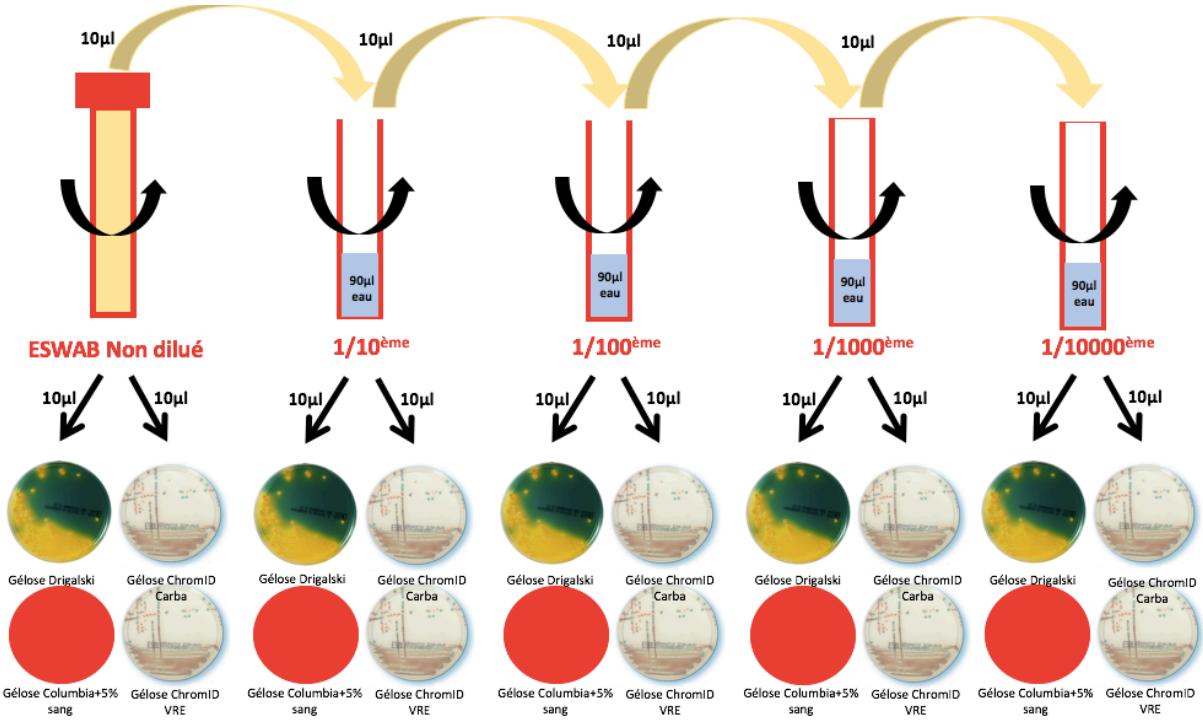
Un échantillonnage rectal a été réalisé pour chaque patient dans les 48h suivant son admission, en utilisant un écouvillon de type Eswab® (Copan Diagnostics®). L'écouvillon a été inséré à 1 cm dans le rectum tout en le tournant. L'écouvillon a été ensuite placé dans le liquide de transport, fourni par le fabricant. En parallèle, pour chaque patient, des prélèvements environnementaux ont été réalisés. Des écouvillons de culture pré-humidifiés avec une solution saline stérile ont été utilisés, par le même opérateur, en frottant des zones calibrées sur 10 x 10 (100 cm^2) sur le drap du lit au niveau de l'entrejambe, le drap de l'oreiller, les barreaux du lit, la tablette, le fauteuil de la chambre et le siège des toilettes. Une durée de 8h minimum, entre le nettoyage de la chambre et le prélèvement environnemental, a été respectée. Au cours de la période d'étude, les chambres des patients ont été nettoyées quotidiennement à l'aide de chiffons en microfibres humidifiés et de solutions détergentes désinfectantes. Tout au long de l'étude, les politiques d'hygiène et de prévention des infections n'ont pas changé. De plus, ni les équipes de nettoyage, bien formés et constamment audités, (431) ni le personnel de santé, n'étaient au courant de l'étude. Tous les écouvillons ont été immédiatement transportés au laboratoire pour traitement, puis stockés à +4°C.

Les données suivantes ont ensuite été recueillies : âge, sexe, séjour récent à l'étranger au cours des 6 derniers mois, service et durée d'hospitalisation, administration d'antibiotiques (au cours de l'année précédente et/ou pendant l'hospitalisation), score de comorbidités de Charlson, (432) score de dépendance de Katz, (433) hospitalisation antérieure au cours de l'année, chirurgie au cours des 3 derniers mois, actes infirmiers au moment du prélèvement (cathéter veineux central, cathéter veineux périphérique, cathéter urinaire), présence de diarrhée, utilisation d'inhibiteurs de la pompe à protons et/ou traitement par antidépresseur à l'admission, incontinence urinaire et/ou fécale, espèce de BMR documentée et mécanisme de résistance.

Les BMR en portage rectal ont été quantifiées à l'aide d'une méthode basée sur la culture. L'abondance relative a été calculée comme suit : concentration d'entérobactéries productrices de

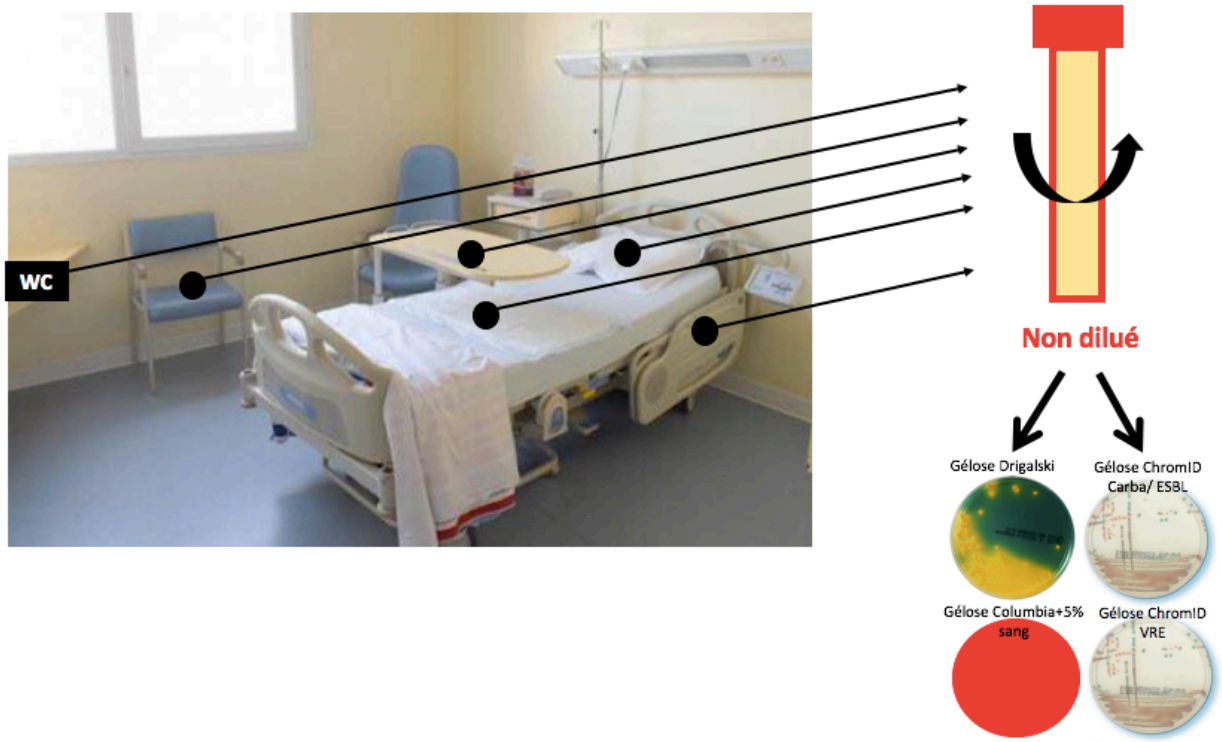
BLSE ou d'EPC rapportée sur la totalité des bactéries à Gram négatif et concentration d'ERV rapportée sur la totalité de la flore aérobie cultivable. (Figure 14)

Figure 14 : Schéma illustrant la technique de quantification des BMR dans les selles.



Les prélèvements environnementaux des patients identifiés colonisés, prélevés sur 6 sites différents, ont été ensemencés sur une gélose Columbia additionnée de 5% sang de mouton (BioMérieux, Marcy-l'Étoile, France) et un milieu ChromID® VRE (BioMérieux, Marcy-l'Étoile, France), pour les patients colonisés par un ERV ; une gélose Drigalski (BioMérieux, Marcy-l'Étoile, France) et une gélose ChromID® ESBL (BioMérieux, Marcy-l'Étoile, France) ou ChromID® CARBA SMART (BioMérieux, Marcy-l'Étoile, France) pour les patients colonisés par une entérobactérie productrice de BLSE ou une EPC, respectivement (Figure 15).

Figure 15 : Schéma illustrant la méthodologie des prélèvements des échantillons de l'environnement.



Notre étude visait à identifier les facteurs de risque associés à la contamination de l'environnement autour des patients colonisés par différentes BMR. Le seul facteur de risque que nous avons pu identifier était le portage rectal d'ERV. En effet, seuls 18% des patients colonisés hospitalisés avaient au moins une surface de leur environnement contaminée, la moitié d'entre eux étant colonisés par un ERV. En ne considérant que les patients colonisés par une entérobactérie BMR, le taux de contamination de l'environnement était de l'ordre de 12,5%. Trois autres facteurs ont été trouvés protecteurs contre la contamination de l'environnement : avoir une sonde urinaire, la colonisation par l'espèce *E. coli* parmi les autres espèces BMR et le portage d'OXA-48. Malgré l'importante variabilité de l'abondance fécale relative retrouvée pour toutes les BMR étudiées, aucune corrélation entre l'abondance relative et la contamination de l'environnement n'a été identifiée. D'autre part, ne considérant que les entérobactéries BMR, nous n'avons trouvé aucune corrélation entre la contamination de l'environnement et la totalité des caractéristiques cliniques des patients colonisés étudiés, y compris l'abondance fécale relative en BMR, l'espèce bactérienne et le mécanisme de résistance. Ainsi, aucun des facteurs étudiés n'était associé à un risque significativement plus élevé de contamination de l'environnement. Ceci contredit le résultat des

travaux réalisés par Lerner et al. et Donskey et al., montrant qu'une abondance fécale élevée en EPC et ERV était un facteur de risque de contamination de l'environnement. (184,274)

Nos résultats ont montré que les taux de contamination de l'environnement hospitalier sont considérablement plus élevés pour les patients colonisés par un ERV par rapport à aux patients colonisés par une entérobactérie productrice de BLSE et les patients colonisés par une EPC. Nous n'avons trouvé aucune différence significative dans la dissémination environnementale entre les espèce *E. coli* et *K. pneumoniae*, ni entre les entérobactéries productrices de BLSE et les EPC.

La force majeure de notre travail est qu'il a été mené dans un contexte non épidémique et dans deux hôpitaux différents. Aussi, notre étude a proposé d'évaluer le risque global de dissémination environnementale des BMR, en évaluant la contamination de l'environnement tout en prenant en considération les facteurs de risque individuels ainsi que l'aspect microbiologique de la résistance. Une meilleure compréhension des facteurs de risque de diffusion des BMR en milieu hospitalier offre l'occasion de développer de nouvelles stratégies de maitrise des risques de dissémination dans l'environnement, adaptée notamment aux moyens médicaux des pays à revenus moyens ou faibles. Dans ce sens, l'application rigoureuse de la politique d'isolement uniquement aux patients colonisés ou infectés par un ERV pourrait être envisagée. Cependant, nous étions amenés ensuite à essayer de comprendre d'une part, pourquoi nos résultats n'étaient pas en accord avec les travaux précédent ; démontrant une corrélation entre l'abondance fécale en BHRe et la contamination de l'environnement ; et d'autre part, si l'isolement des patients était associé à plus d'effets indésirables évitables. Dans tous les cas, d'autres études à plus grande échelle sont nécessaires pour confirmer la validité de nos résultats.

Journal of Hospital Infection 111 (2021) 155–161

Available online at www.sciencedirect.com

Journal of Hospital Infection

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jhin

Risk factors for the environmental spread of different multidrug-resistant organisms: a prospective cohort study

R. Saliba [a,b,c], T. Ghelfenstein-Ferreira [b], A. Lomont [b], B. Pilmis [d], E. Carbonnelle [a,b], D. Seytre [b], E. Nasser-Ayoub [e,f], J.-R. Zahar [a,b,*], D. Karam-Sarkis [c]

[a] *IAME, UMR 1137, Université Sorbonne Paris Nord, France*
[b] *Service de Microbiologie Clinique et Unité de Contrôle et de Prévention du Risque Infectieux, Groupe Hospitalier Paris Seine Saint-Denis, AP-HP, 125 Rue de Stalingrad, 93000, Bobigny, France*
[c] *Laboratoire des Agents Pathogènes, Saint-Joseph University of Beirut, Beirut, Lebanon*
[d] *Équipe Mobile d'infectiologie, Hôpital Necker Enfants-Malades, Paris, France*
[e] *Service d'Anesthésie et de Réanimation, Hôtel Dieu de France de Beyrouth, Beirut, Lebanon*
[f] *Faculty of Medicine, Saint-Joseph University of Beirut, Beirut, Lebanon*

ARTICLE INFO

Article history:
Received 17 November 2020
Accepted 24 January 2021
Available online 10 February 2021

Keywords:
Multidrug-resistant organisms
Extended-spectrum β-lactamase-producing Enterobacterales
Carbapenemase-producing enterobacterales
Vancomycin-resistant enterococcus
Environmental contamination
Infection control

SUMMARY

Background: Substantial scientific evidence shows that contamination of environmental surfaces in hospitals plays an important role in the transmission of multidrug-resistant organisms (MDROs). To date, studies have failed to identify the risk factors associated with environmental contamination.
Aim: To evaluate, compare, and identify factors associated with environmental contamination around carriers of different MDROs.
Methods: This was a prospective cohort study from May 2018 to February 2020. A total of 125 patients were included, having been admitted to Avicenne Hospital and Hotel Dieu de France de Beyrouth Hospital who were faecal carriers of MDROs (extended-spectrum β-lactamase-producing Enterobacterales (ESBL-PE), carbapenemase-producing Enterobacterales (CPE), vancomycin-resistant enterococci (VRE)). For each patient, quantification of MDRO in stool was undertaken, plus a qualitative evaluation of the presence of MDRO in six different environmental sites; and clinical data were collected.
Findings: MDROs comprised ESBL-PE (34%), CPE (45%), and VRE (21%). The most frequent MDRO species was *Escherichia coli*. Contamination of at least one environmental site was observed for 22 (18%) patients. Only carriage of VanA was associated with a significantly higher risk of dissemination. Having a urinary catheter, carriage of OXA48 and *E. coli* were protective factors against environmental contamination. There were no significant differences in environmental contamination between *E. coli* and other Enterobacterales or between ESBL-PE and CPE.
Conclusions: Hospital environmental contamination rates are substantially higher for patients with VRE, compared to the low environment dissemination rates around ESBL-PE

* Corresponding author. Address: 125 rue de Stalingrad, 93000, Bobigny, France. Tel.: +33 6 03 07 90 88.
E-mail address: jrzahar@gmail.com (J.-R. Zahar).

https://doi.org/10.1016/j.jhin.2021.01.029
0195-6701/© 2021 The Healthcare Infection Society. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

Downloaded for Anonymous User (n/a) at Saint Joseph University from ClinicalKey.com by Elsevier on May 13, 2021. For personal use only. No other uses without permission. Copyright ©2021. Elsevier Inc. All rights reserved.

Université Sorbonne Paris Nord

USJ 1875 Université Saint-Joseph de Beyrouth

and CPE. Further studies on a larger scale are needed to confirm the validity of our findings.

© 2021 The Healthcare Infection Society. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

Introduction

Recent years have shown an increase in the prevalence of colonization with multidrug-resistant organisms (MDROs) in the general population and in the incidence of these bacteria in hospitals [1,2]. The risks of mortality and morbidity associated with MDROs justify infection control management policies, and such policies have been produced by many different public health organizations globally [3].

MDRO-contaminated hospital environments may serve as a source of spread, either directly or indirectly, via healthcare professionals [4,5]. Studies have suggested that environmental contamination is associated with higher risks of colonization or infection [6]. Patients admitted to a room previously occupied by a patient colonized or infected by pathogens such as meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), vancomycin-resistant enterococci (VRE), or *Acinetobacter* spp. have an increased likelihood of developing colonization or infection with that pathogen [7]. Various factors are implicated in environmental contamination, including room temperature and humidity, the number of colonized body sites, and stool microbial load [8—11]. Also, patients with asymptomatic colonization may be less likely to contaminate their environment than patients with the higher infectious burden associated with symptomatic infections [12].

Detection of contamination of the healthcare environment has been studied mainly for Gram-positive bacteria, with contamination rates of up to 64% and 94% associated with MRSA and VRE carriers respectively [7,10,13]. Among Gram-negative bacteria, the prevalence of environmental contamination with extended-spectrum β-lactamase-producing Enterobacterales (ESBL-PE) was reported between 4% and 19%, depending on the species [14,15]. Lerner *et al.* reported environmental contamination associated with patients with carbapenemase-producing Enterobacterales (CPE) [10].

Recent publications have suggested that contact isolation policies and/or individual rooms for MDRO-colonized or infected patients did not show additional benefits compared to the standard infection control policies [16,17]. However, to date, all studies have failed to identify risk factors associated with environmental contamination. In fact, most previous studies were conducted during outbreaks and/or did not take into account confounding factors related to patients' individual risk factors for environmental dissemination [14]. Also, none correlated faecal quantification of MDROs to risk of dissemination. In this context, in order to better target patients with MDRO at risk of dissemination, we aimed to assess the overall risk of environmental dissemination of different MDROs in a non-outbreak setting, taking into consideration the individual risk factors together with microbiological factors. Therefore we compared MDRO carriers who had contaminated their environment to those who had not.

Methods

A prospective cohort study was conducted from May 2018 to February 2020 in two teaching hospitals: Avicenne Hospital, a French 500-bed hospital, and Hotel Dieu de France de Beyrouth, a Lebanese 450-bed hospital. A total of 125 patients were included, 110 at Avicenne Hospital and 15 at Hotel Dieu de France de Beyrouth. All patients were aged >18 years and were found to be carriers of ESBL-PE, CPE, or VRE at admission or within 48 h of admission. The policy for preventing the spread of MDROs in the hospitals required rectal screening for third-generation cephalosporin-resistant Enterobacterales (3GCREB) if the patient had a history of previous 3GCREB carriage or infection or treatment in a healthcare facility abroad during the previous 12 months. Furthermore, all intensive care unit (ICU) patients were screened for 3GCREB on admission.

A rectal sample was collected from each patient within 48 h after admission, using Eswab® (Copan Diagnostics, Brescia, Italy). The swab was inserted 1 cm into the rectum while rotating. Following sampling, the swab was placed in the transport tube, supplied by the manufacturer, containing 1 mL of sterile Amies transport medium. In parallel, for each patient, environmental sampling was performed. Pre-moistened swabs were rubbed over 10 cm × 10 cm (100 cm^2) calibrated areas of the bed sheets at groin level, the pillowcase, the bed bars, the tablet, the armchair and the toilet seat. A minimum 8 h between room cleaning and environmental sampling was respected. During the study period, the regular standard cleaning protocol for contact isolation was followed in both hospitals, in which patient rooms were cleaned daily using moistened microfibre cloths and disinfecting detergent solutions for bathrooms and patients' environment, and disposable cloths for the floors. During the study, hygiene and infection prevention policies did not change. The cleaning teams received the same training and there was ongoing audit of cleaning standards across both hospitals [18]; healthcare workers were not aware of the study.

The following data were collected: age, gender, recent stay abroad within the previous six months, ward and duration of hospitalization, antibiotic administration (during the previous year and/or during hospitalization), Charlson score of comorbidities, Katz score of dependence, previous hospitalization during the year, surgery undergone in the past three months, nursing procedures at the time of specimens collection (central venous catheter, peripheral venous catheter, urinary catheter), presence of diarrhoea, use of proton pump inhibitors and/or treatment with antidepressant during admission, urinary and/or faecal incontinence, documented MDRO species type and mechanism of resistance [19,20].

Microbiology methods and definitions of risk factors are detailed in the Supplementary Appendix.

Downloaded for Anonymous User (n/a) at Saint Joseph University from ClinicalKey.com by Elsevier on May 13, 2021. For personal use only. No other uses without permission. Copyright ©2021. Elsevier Inc. All rights reserved.

Statistical analysis

Two groups were compared: the carriers who had contaminated their environment versus those who had not. We considered a patient's environment contaminated when at least one of the six environmental samples was positive by culture. Results were expressed as the median (range) for continuous variables and no. (%) for categorical variables. Variables showing associations at a significance level of $\alpha = 0.20$ in a univariable analysis were selected for inclusion in the multivariable model and a stepwise selection was performed. Statistical analysis was done with R software (version 3.2.2). All tests were two-tailed and $P < 0.05$ (calculated by χ^2-test, Student's *t*-test, or Mann–Whitney test) was considered significant (http://www.r-project.org/).

Results

Patients

During the study period, 125 patients, 72 males (58%), and 53 females (42%) were admitted: 82 (66%) patients were in a medical ward, 15 (12%) in surgery and 28 (22%) in ICU. The mean age was 61 years and the average length of hospital stay 37 days (range: 1–147). The mean Katz and Charlson scores were 4 and 5, respectively. Fifty-nine (47%) patients received antibiotics during their hospital stay, whereas 82 (66%) had received antibiotics during the preceding year. Respectively, 94 (75%), 51 (41%), and 54 (43%) had been previously hospitalized during the year, had undergone a surgery in the past three months, and had travelled abroad. Forty-seven (38%) patients had a peripheral venous catheter, 38 (30%) a central venous catheter, and 60 (48%) a urinary catheter. Fifty-two (42%) patients were incontinent, 20 (16%) of urine, 10 (8%) of faeces, and 22 (18%) of both. Sixteen (13%) patients suffered from diarrhoea, 60 (48%) were treated with proton pump inhibitors, and only four (3%) patients were taking antidepressants.

Colonization with MDRO

MDRO species were *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, and *Enterococcus faecium*, isolated from 61 (49%), 34 (27%), four (3%), and 26 (21%) patients, respectively. Resistance mechanisms were ESBL in 43 (34%) patients, carbapenemase in 56 (45%) (OXA48 in 52 (41%), NDM in two (2%) and KPC in two (2%)), and VanA in 26 (21%) patients. The average quantity of MDROs was 1.9×10^5 cfu/μL of Amies transport medium (range: 0.2–10^8 cfu/μL) and accounting for a faecal burden of 28% (range: 0.003–100%).

Environmental contamination

A total of 125 patients' rooms were swabbed, yielding 560 environmental samples: 125 taken from bed sheets, 125 from tablets, 121 from bed bars, 92 from pillowcases, 64 from armchairs, and 33 from toilet seats. Forty environmental samples (7%) were positive for the same MDRO colonizing the corresponding patient. The most frequently contaminated sites were bed sheets (35%), pillowcases (18%), and toilet seats (13%). Contamination of at least one environmental site was observed for 22 (18%) patients: five (23%) with ESBL-PE, six (27%) with CPE (five OXA48; one KPC); and 11 (50%) with VRE. Only 11 out of 88 (12.5%) carriers of MDRO Enterobacterales had contamination of one or more environmental sites. By contrast, 11 out of 26 (42%) VRE carriers had environmental contamination (Figure 1).

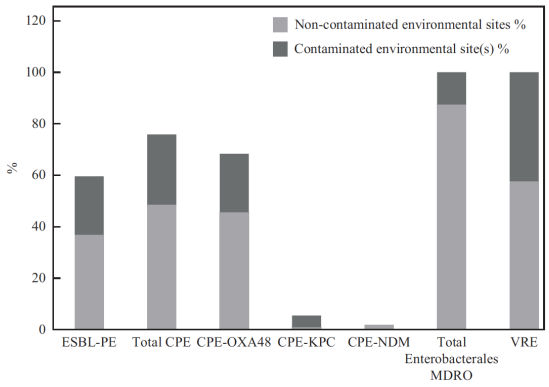


Figure 1. Proportion (%) of patients contaminating at least one environmental site, according to the different multidrug-resistant organisms carried. ESBL-PE, extended-spectrum β-lactamase-producing Enterobacterales; CPE, carbapenemase-producing Enterobacterales; MDRO, multidrug-resistant organisms; VRE, vancomycin-resistant enterococcus. Light grey bars: non-contaminated environmental sites; dark grey bars: contaminated environmental site(s).

Risk factors of environmental contamination

Only VanA was associated with a significantly higher risk of environmental dissemination ($P = 0.0004$). Having a urinary catheter was a protective factor against environmental contamination ($P = 0.03$). CPE, and specifically OXA48, carriers seem to contaminate the environment significantly less ($P = 0.03$). Moreover, *E. coli*, among all other MDRO species, appeared to colonize significantly less the patients who contaminated their environment ($P = 0.0048$) (Table I).

When considering only Enterobacterales, no statistically significant difference was found in studied factors between the group of patients having contaminated their environment and those who have not (Table II). There was no statistically significant difference in environmental contamination between *E. coli* carriers and carriers of other Enterobacterales (mainly *K. pneumoniae*).

Also, patients' characteristics between carriers of *E. coli* and other MDRO Enterobacterales were comparable for the majority of the individual risk factors (Table III). Only three factors differed significantly between the two groups: male gender ($P = 0.001$), previous hospitalization ($P = 0.01$), and previous antibiotic use ($P = 0.002$) were associated with MDRO Enterobacterales other than *E. coli*. Additionally, there was no statistically significant difference in environmental contamination between ESBL-PE and CPE. Comparing carriers of ESBL-PE and CPE, patients' characteristics were similar. Only three factors were differentiating: current antibiotic use was associated with ESBL-PE carriage ($P = 0.04$); duration of

Downloaded for Anonymous User (n/a) at Saint Joseph University from ClinicalKey.com by Elsevier on May 13, 2021. For personal use only. No other uses without permission. Copyright ©2021. Elsevier Inc. All rights reserved.

Table I
Determination of factors contributing to environmental contamination by all studied MDROs

Factor	Contaminated environmental site(s) ($N = 22$)	Non-contaminated environmental sites ($N = 103$)	*P*-value
Male gender	10 (43.7%)	62 (60.2%)	0.23
Age (years)[a]	63 (53–69)	62 (54–70)	0.81
Charlson score[a]	5 (3.5–5.5)	5 (3–6.25)	0.72
ICU admission	4 (18.2%)	24 (23.3%)	0.78
Ongoing antibiotic use	12 (52.2%)	47 (45.6%)	0.48
Recent stay abroad	10 (45.4%)	44 (43.1%)	0.81
MDRO species, *E. coli*	5 (22.7%)	58 (56.3%)	0.0048
MDRO species, *K. pneumoniae*	5 (22.7%)	33 (32%)	0.45
MDRO mechanism of resistance			
ESBL-PE	5 (22.7%)	38 (36.9%)	0.22
CPE	6 (27.2%)	54 (52.4%)	0.03
OXA48	5 (22.7%)	47 (45.6%)	0.03
KPC	1 (4.5%)	3 (2.9%)	0.56
NDM	0	4 (3.8%)	1
VanA	11 (50%)	15 (14.5%)	0.0004
Relative faecal abundance (%)[a]	10.8 (0.4–52)	6 (0.2–43)	0.54
Absolute MDRO abundance[a]	2.8×10^5 (6.6×10^3 to 1.8×10^7)	10^5 (1.6×10^3 to 1×10^7)	0.27
Katz score[a]	3.5 (2.1–6)	5 (1.5–6)	0.33
Diarrhoea	5 (22.7%)	11 (10.7%)	0.17
Incontinence	10 (45.4%)	42 (40.8%)	0.81
Urinary catheter	6 (27.3%)	54 (52.4%)	0.03
Central venous catheter	7 (31.8%)	31 (30.1%)	1
Peripheral venous catheter	6 (27.3%)	41 (39.8%)	0.33
Proton pump inhibitors	11 (50%)	49 (47.6%)	1
Antidepressant therapy	2 (9.1%)	2 (1.9%)	0.14
Previous hospitalization <12 months	16 (72.7%)	78 (75.7%)	1
Previous antibiotics use <12 months	15 (68.2%)	67 (65%)	1

N, number of included patients; MDRO, multidrug-resistant organism; ICU, intensive care unit; ESBL-PE, extended-spectrum β-lactamase-producing Enterobacterales; CPE, carbapenemase-producing Enterobacterales.
[a] Median (interquartile range).

hospitalization ($P = 0.005$) and recent stay abroad ($P < 0.001$) were associated with CPE carriage (Table IV).

Discussion

This study aimed to identify risk factors associated with environmental contamination around MDRO carriers. The only risk factor identified was carriage of VRE. In fact, only 18% of the hospitalized carriers had at least one environmental surface contaminated, half of these being colonized with VRE. Considering only carriers of MDRO Enterobacterales, the environmental contamination rate was as low as 12.5%. This result is consistent with some recent studies also performed in a non-outbreak context [14,18,21]. In contrast, environmental contamination was found around 42% of patients with VRE. This high rate of environmental contamination around VRE carriers is in line with many previously published studies [7]. Also, only one study found a correlation between the quantity of VRE in faeces and the degree of environmental contamination [9]. Our data confirm the importance of strict infection control measures around VRE carriers. The difference observed between VRE and MDRO Enterobacterales could explain the high rate of acquisition and occurrence of secondary cases around VRE carriers, widely described in literature [9,22,23].

The most frequently contaminated environmental sites were bed sheets, pillowcases, and toilet seats, as has been previously reported. In fact, several studies found that the detection rate of different MDROs is reduced with increased distance from the carrier, with the bed surfaces being the most contaminated sites [10,24,25].

Identifying patient factors associated with environmental dissemination within a hospital structure would make it possible to characterize those considered as high-level disseminators, allowing to better target environmental cleaning and minimize the risks of transmission. Risk factors could theoretically be related to the bacterial species itself and its ability to produce biofilms and resist, to factors associated with the host patient, such as a high degree of dependency or faecal incontinence, and/or elevated rectal abundance of MDROs [11]. Our study identified only one factor clearly correlated with the risk of environmental dissemination, which was the carriage of VanA. However, three other factors were found to be protective against environmental contamination: having a urinary

Downloaded for Anonymous User (n/a) at Saint Joseph University from ClinicalKey.com by Elsevier on May 13, 2021. For personal use only. No other uses without permission. Copyright ©2021. Elsevier Inc. All rights reserved.

Table II
Determination of factors contributing to environmental contamination by Enterobacterales MDRO species

Factor	Contaminated environmental site(s) ($N = 11$)	Non-contaminated environmental sites ($N = 88$)	*P*-value
Male gender	5 (45.5%)	57 (64.8%)	0.32
Age (years)[a]	61.5 (54.7–69.5)	64 (55–70)	0.71
Charlson score[a]	5 (4–6)	5 (3–7)	0.83
ICU admission	4 (36.3%)	23 (26.1%)	0.48
Ongoing antibiotic use	6 (54.5%)	37 (42%)	0.52
Recent stay abroad	4 (36.4%)	35 (39.8%)	1
MDRO species, *E. coli*	5 (45.5%)	58 (65.9%)	0.2
MDRO species, *K. pneumoniae*	5 (45.5%)	33 (37.5%)	0.74
MDRO mechanism of resistance			
ESBL-PE	5 (45.5%)	38 (43.2%)	1
CPE	6 (54.5%)	50 (56.8%)	1
OXA48	5 (45.5%)	47 (53.4%)	0.51
KPC	1 (9.1%)	1 (1.1%)	0.21
NDM	0	2 (2.3%)	1
Relative faecal abundance (%)[a]	0.6 (0.06–23.3)	7.1 (0.2–50.7)	0.32
Absolute MDRO abundance[a]	10^5 (6.8×10^3 to 5.7×10^7)	8.7×10^5 (2.6×10^3 to 1.3×10^7)	0.22
Katz score[a]	3.5 (1.75–3.5)	4.25 (1.5–6)	0.88
Diarrhoea	2 (18.2%)	4 (4.5%)	0.13
Incontinence	3 (27.3%)	32 (36.4%)	0.74
Urinary catheter	4 (36.4%)	49 (55.7%)	0.33
Central venous catheter	3 (27.3%)	25 (28.4%)	1
Peripheral venous catheter	4 (36.4%)	39 (44.3%)	0.75
Proton pump inhibitors	6 (54.5%)	46 (52.3%)	1
Antidepressant therapy	0	2 (2.3%)	1
Undergone surgery <3 months	5 (45.5%)	37 (42%)	1
Previous hospitalization <12 months	8 (72.7%)	67 (76.1%)	0.72
Previous antibiotics use <12 months	10 (90.9%)	58 (65.9%)	0.16

N, number of included patients; MDRO, multidrug-resistant organism; ICU, intensive care unit; ESBL-PE, extended-spectrum β-lactamase-producing Enterobacterales; CPE, carbapenemase-producing Enterobacterales.
[a] Median (interquartile range).

Table III
Comparison of patients' characteristics between carriers of *E. coli* and other MDRO Enterobacterales

Characteristic	*E. coli* ($N = 57$)	Other Enterobacterales species ($N = 42$)	*P*-value
Male gender	28 (49.1%)	34 (80.9%)	0.001
Age (years)[a]	59 (54–70)	66 (57.7–70)	0.23
Charlson score[a]	5 (2–7)	5 (4–6)	0.51
Ongoing antibiotic use	23 (40.3%)	20 (47.6%)	0.24
Recent stay abroad	25 (43.9%)	14 (33.3%)	0.54
Relative faecal abundance (%)[a]	9.3 (0.3–52.8)	3.6 (0.08–43.9)	0.30
Katz score[a]	5.5 (1.5–6)	4 (2–6)	0.41
Previous hospitalization <12 months	38 (66.7%)	37 (88%)	0.01
Previous antibiotics use <12 months	32 (56.1%)	36 (85.7%)	0.002
ESBL-PE	24 (42.1%)	19 (45.4%)	0.83

N, number of included patients; ESBL-PE, extended-spectrum β-lactamase-producing Enterobacterales.
[a] Median (interquartile range).

catheter, the carriage of *E. coli* between all other MDRO species, and the carriage of OXA48. Interestingly, we found a high variability in the relative faecal abundance of all MDROs, but no correlation between the degree of gastrointestinal carriage and environmental contamination.

With MDRO Enterobacterales we found no correlation between environmental contamination and any clinical or microbiological characteristics, including the quantity of gastrointestinal carriage, the species or mechanism of resistance. This contrasts with Lerner *et al.*, who found that high gastrointestinal concentration of CPE and faecal incontinence were risk factors for environmental spread [11]. This contradictory result may be explained by the possibility that environmental dissemination of Enterobacterales is related to the bacterial species, rather than to the resistance mechanism.

Our failure to find a difference in environmental dissemination between carriers of MDRO *E. coli* and other MDRO Enterobacterales (mainly *K. pneumoniae*) stands in contradiction to various published studies that have demonstrated more frequent environmental contamination in association with *Klebsiella* spp. It has previously been suggested that biofilm formation could explain the higher environmental persistence of *Klebsiella* spp., which in turn increases the risks of cross-transmission and of outbreaks in healthcare settings

Downloaded for Anonymous User (n/a) at Saint Joseph University from ClinicalKey.com by Elsevier on May 13, 2021. For personal use only. No other uses without permission. Copyright ©2021. Elsevier Inc. All rights reserved.

Université Sorbonne Paris Nord
USJ Université Saint-Joseph de Beyrouth

Table IV
Comparison of patients' characteristics between carriers of ESBL-PE and CPE

Characteristic	ESBL-PE ($N = 43$)	CPE ($N = 56$)	P-value
Male gender	31 (72.1%)	31 (55.3%)	0.09
Age (years)[a]	63 (53.5–70)	64 (57–70)	1
Charlson score[a]	5 (3–7)	5 (4–6)	0.83
Duration of hospitalization[a]	2 (0–8)	6 (2–20)	0.005
Ongoing antibiotic use	22 (51.1%)	21 (37.5%)	0.04
Recent stay abroad	6 (13.9%)	33 (58.9%)	<0.001
Relative faecal abundance (%)[a]	4.1 (0.21–49.0)	8.3 (0.1–49.2)	0.84
Environmental contamination	5 (11.6%)	6 (10.7%)	1
Katz score[a]	4.0 (2.25–6)	3.7 (1.5–6)	0.9
Previous hospitalization <12 months	29 (67.4%)	46 (82.1%)	0.1
Previous antibiotics use <12 months	29 (67.4%)	39 (69.6%)	1

N, number of included patients; ESBL-PE, extended-spectrum β-lactamase-producing Enterobacterales; CPE, carbapenemase-producing Enterobacterales.
[a] Median (interquartile range).

[14,15,26,27]. Our results might be explained by specific cleaning practices at the participating hospitals being adequate to have a similar impact on *K. pneumoniae* and *E. coli*.

Unlike previously published studies, our study took into consideration patient characteristics and individual risk factors for environmental dissemination. Patient characteristics, including Charlson's score of comorbidities and Katz's score of dependence, were similar between carriers of *E. coli* and carriers of other MDRO Enterobacterales. Since differences in risk factor profiles between patients with ESBL *E. coli* and ESBL *K. pneumoniae* have been demonstrated by Freeman *et al.*, patients' individual risk factors could be confounding factors if not taken into consideration when studying environmental dissemination [28].

Further, our study found no difference in environmental dissemination between carriers of ESBL-PE and CPE. Antibiotic use was more frequent in ESBL-PE carriers, which might be expected to increase the burden of faecal carriage, resulting in greater risk of environmental dissemination, but this was not the case. According to the 2013 French national guidelines and various other national or international guidelines, a strict isolation policy is required for CPE carriers in healthcare facilities [29,30]. In case of identifying a non-cohorted or isolated index patient, recommendations are to close the ward concerned and apply a screening policy to all contact patients. This strategy is very costly as it is associated with bed closures and reduction of medical activity for a relatively long duration. In addition, the policy could expose isolated patients to a higher risk of complications if they receive less optimal management of their medical condition. More recently, studies have suggested that neither single rooms, nor additional contact precautions, are necessary to control the spread of ESBL-PE [31]. Since we did not find a significant difference in environmental contamination between carriers of CPE and ESBL-PE, and knowing that CPE involve the same bacterial species as ESBL-PE, we question the value of these costly and disruptive policies around CPE.

The major strengths of our work are that it was conducted in a non-outbreak context and in two different hospitals. Also, our study has proposed to assess the overall risk of environmental dissemination of MDROs by evaluating environmental contamination, taking into consideration the individual risk factors together with the microbiological aspect of resistance. However, our study has some limitations. First, the small sample size included a limited number of patients who had contaminated their surrounding environment. Second, although cleaning audits are frequently performed, we did not audit compliance with cleaning practices during the study. Third, although our swabbing technique was carefully standardized, and equated with a widely used standard, it may not be the optimal means of detecting MDRO on surfaces. Fourth, the study focused on the direct environmental contamination around a carrier, but did not assess the possible indirect contamination via the hands of healthcare workers.

In conclusion, our results showed that hospital environmental contamination rates are substantially higher for patients with VRE compared to those with ESBL-PE and CPE. No difference was found in environmental dissemination between *E. coli* and *K. pneumoniae*, nor between ESBL-PE and CPE. This observation has implications for infection control practices, as identifying patients with a higher risk of dissemination could help the infection control team to better target environmental cleaning and minimize the risks of transmission. Improved understanding of the risk factors of the environmental dissemination of MDROs in hospital settings will provide an opportunity to develop new strategies to prevent the consequences of their transmission. Further studies on a larger scale are needed to confirm the validity of our findings.

Conflict of interest statement
None declared.

Funding sources
This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors. R.S. is funded by the National Council for Scientific Research – Lebanon (CNRS-L). The founder had no involvement in the conduct of this study.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at https://doi.org/10.1016/j.jhin.2021.01.029.

References

[1] Kelly AM, Mathema B, Larson EL. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in the community: a scoping review. Int J Antimicrob Agents 2017;50:127–34.
[2] Dortet L, Cuzon G, Plésiat P, Naas T. Prospective evaluation of an algorithm for the phenotypic screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. J Antimicrob Chemother 2016;71:135–40.
[3] Satlin MJ, Jenkins SG, Walsh TJ. The global challenge of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in transplant recipients and patients with hematologic malignancies. Clin Infect Dis 2014;58:1274–83.

Downloaded for Anonymous User (n/a) at Saint Joseph University from ClinicalKey.com by Elsevier on May 13, 2021. For personal use only. No other uses without permission. Copyright ©2021. Elsevier Inc. All rights reserved.

[4] Mitchell A, Spencer M, Edmiston C. Role of healthcare apparel and other healthcare textiles in the transmission of pathogens: a review of the literature. J Hosp Infect 2015;90:285—92.
[5] Visalachy S, Palraj KK, Kopula SS, Sekar U. Carriage of multidrug resistant bacteria on frequently contacted surfaces and hands of health care workers. J Clin Diagn Res 2016;10:DC18—20.
[6] Hilty M, Betsch BY, Bögli-Stuber K, Heiniger N, Stadler M, Küffer M, et al. Transmission dynamics of extended-spectrum β-lactamase-producing Enterobacteriaceae in the tertiary care hospital and the household setting. Clin Infect Dis 2012 20;55:967—75.
[7] Weber DJ, Anderson D, Rutala WA. The role of the surface environment in healthcare-associated infections. Curr Opin Infect Dis 2013;26:338—44.
[8] Hanczvikkel A, Tóth Á. Quantitative study about the role of environmental conditions in the survival capability of multidrug-resistant bacteria. J Infect Public Health 2018;11:801—6.
[9] Bonten MJM, Willems RJ. [Vancomycin-resistant enterococcus — chronicle of a foretold problem]. Ned Tijdschr Geneeskd 2012;156:A5233.
[10] Lerner A, Adler A, Abu-Hanna J, Meitus I, Navon-Venezia S, Carmeli Y. Environmental contamination by carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. J Clin Microbiol 2013;51:177—81.
[11] Lerner A, Adler A, Abu-Hanna J, Cohen Percia S, Kazma Matalon M, Carmeli Y. Spread of KPC-producing carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: the importance of super-spreaders and rectal KPC concentration. Clin Microbiol Infect 2015;21:470. e1—7.
[12] Wu Y-L, Yang X-Y, Ding X-X, Li R-J, Pan M-S, Zhao X, et al. Exposure to infected/colonized roommates and prior room occupants increases the risks of healthcare-associated infections with the same organism. J Hosp Infect 2019;101:231—9.
[13] Eckstein BC, Adams DA, Eckstein EC, Rao A, Sethi AK, Yadavalli GK, et al. Reduction of *Clostridium difficile* and vancomycin-resistant Enterococcus contamination of environmental surfaces after an intervention to improve cleaning methods. BMC Infect Dis 2007;7:61.
[14] Guet-Revillet H, Le Monnier A, Breton N, Descamps P, Lecuyer H, Alaabouche I, et al. Environmental contamination with extended-spectrum β-lactamases: is there any difference between *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp.? Am J Infect Control 2012;40:845—8.
[15] Prospero E, Barbadoro P, Marigliano A, D'Errico MM. Health care workers, immunization and safety issues: reflections from Italy. Am J Infect Control 2013;41:664.
[16] Kluytmans-van den Bergh MFQ, Bruijning-Verhagen PCJ, Vandenbroucke-Grauls CMJE, de Brauwer EIGB, Buiting AGM, Diederen BM, et al. Contact precautions in single-bed or multiple-bed rooms for patients with extended-spectrum β-lactamase-producing Enterobacteriaceae in Dutch hospitals: a cluster-randomised, crossover, non-inferiority study. Lancet Infect Dis 2019;19:1069—79.
[17] Maechler F, Schwab F, Hansen S, Fankhauser C, Harbarth S, Huttner BD, et al. Contact isolation versus standard precautions to decrease acquisition of extended-spectrum β-lactamase-producing Enterobacterales in non-critical care wards: a cluster-randomised crossover trial. Lancet Infect Dis 2020;20:575—84.
[18] Pilmis B, Billard-Pomares T, Martin M, Clarempuy C, Lemezo C, Saint-Marc C, et al. Can environmental contamination be explained by particular traits associated with patients? J Hosp Infect 2020;104:293—7.
[19] Austin SR, Wong Y-N, Uzzo RG, Beck JR, Egleston BL. Why summary comorbidity measures such as the Charlson Comorbidity Index and Elixhauser score work. Med Care 2015;53:e65.
[20] Wallace M, Shelkey M. Monitoring functional status in hospitalized older adults. Am J Nurs 2008;108:64—71; quiz 71—2.
[21] Freeman JT, Nimmo J, Gregory E, Tiong A, Almeida MD, McAuliffe GN, et al. Predictors of hospital surface contamination with extended-spectrum β-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: patient and organism factors. Antimicrob Resist Infect Control 2014;3:5.
[22] de Regt MJA, van der Wagen LE, Top J, Blok HEM, Hopmans TEM, Dekker AW, et al. High acquisition and environmental contamination rates of CC17 ampicillin-resistant *Enterococcus faecium* in a Dutch hospital. J Antimicrob Chemother 2008;62:1401—6.
[23] Saliba R, Neulier C, Seytre D, Fiacre A, Faibis F, Leduc P, et al. Can real-time polymerase chain reaction allow a faster recovery of hospital activity in cases of an incidental discovery of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and vancomycin-resistant Enterococci carriers? J Hosp Infect 2019;103:115—20.
[24] Lemmen SW, Häfner H, Zolldann D, Stanzel S, Lütticken R. Distribution of multi-resistant Gram-negative versus Gram-positive bacteria in the hospital inanimate environment. J Hosp Infect 2004;56:191—7.
[25] Dancer SJ. Importance of the environment in meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* acquisition: the case for hospital cleaning. Lancet Infect Dis 2008;8:101—13.
[26] Eurosurveillance editorial team. ECDC's latest publications [Internet] Euro Surveill 2018;23(26). https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.26.1806282.
[27] Jones K, Bradshaw SB. Biofilm formation by the enterobacteriaceae: a comparison between salmonella enteritidis, *Escherichia coli* and a nitrogen-fixing strain of *Klebsiella pneumoniae*. J Appl Bacteriol 1996;80:458—64.
[28] Freeman JT, Rubin J, McAuliffe GN, Peirano G, Roberts SA, Drinković D, et al. Differences in risk-factor profiles between patients with ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: a multicentre case—case comparison study. Antimicrob Resist Infect Control 2014;3:27.
[29] Lepelletier D, Berthelot P, Lucet J-C, Fournier S, Jarlier V, Grandbastien B, et al. French recommendations for the prevention of "emerging extensively drug-resistant bacteria" (eXDR) cross-transmission. J Hosp Infect 2015;90:186—95.
[30] Schwaber MJ, Carmeli Y. An ongoing national intervention to contain the spread of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. Clin Infect Dis 2014;58:697—703.
[31] Hilliquin D, Lomont A, Zahar J-R. Cohorting for preventing the nosocomial spread of Carbapenemase-producing Enterobacterales, in non-epidemic settings: is it mandatory? J Hosp Infect 2020 Apr 18;(20):S0195—6701. https://doi.org/10.1016/j.jhin.2020.04.022 [online ahead of print].

Downloaded for Anonymous User (n/a) at Saint Joseph University from ClinicalKey.com by Elsevier on May 13, 2021. For personal use only. No other uses without permission. Copyright ©2021. Elsevier Inc. All rights reserved.

*** Supplementary Material***

Methods:

Microbiology

- Fecal carriage screening for MDRO:

Rectal swabs were inoculated onto 3 selective plates: ChromID® ESBL (BioMérieux, Marcy-l'Étoile, France), ChromID® CARBA SMART (BioMérieux, Marcy-l'Étoile, France) or ChromID® VRE (BioMérieux, Marcy-l'Étoile, France), for the screening of ESBL-PE, CPE or VRE respectively. All agar plates were incubated for 48 hours at 37°C. Each morphologically unique colony was identified by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization - Time of Flight (MALDI-TOF; Microflex, Bruker Daltonics, Bremen, Germany) mass spectrometry. (1) Antibiotic susceptibility testing according to Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie - European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (CA-SFM - EUCAST) (2) was performed on each type of colony, grown on selective media, suspected of being ESBL-PE, CPE or VRE. Confirmation of resistance was accomplished using double disc synergy tests for ESBL-PE production, β-Carba test (Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France) (3,4) and Xpert® Carba-R (real-time PCR, GeneXpert®-Cepheid system) for CPE and Xpert® vanA/vanB (real-time PCR, GeneXpert®-Cepheid system) for VRE isolates.

- Quantification of MDRO:

Rectal MDRO concentrations were quantified using a culture-based method. Relative abundance was calculated as follow: ESBL-PE or CPE concentration reported on the totality Gram-negative bacteria, and VRE concentration reported on the aerobic cultured flora.

Following sampling, rectal Eswab® (Copan Diagnostics®) were vortexed for 1 min at maximum speed upon arrival to the lab. The Amies transport medium containing bacteria (100 µl) were used for performing viable bacterial counts by serial 10-fold dilutions in 0.9% saline. (5)

Total aerobic bacteria and total Gram-negative bacteria were quantified by direct plating on Columbia agar + 5% sheep blood (BioMérieux, Marcy-l'Étoile, France) and Drigalski agar (BioMérieux, Marcy-l'Étoile, France), respectively. ESBL-PE, CPE and VRE were quantified on ChromID® ESBL (BioMérieux, Marcy-l'Étoile, France), ChromID® CARBA SMART (BioMérieux, Marcy-l'Étoile, France) and ChromID® VRE (BioMérieux, Marcy-l'Étoile, France)

plates, respectively. Viable bacterial counts were determined after 24h of growth at 37°C. The relative fecal abundance in MDRO was calculated by determining the ratio of CFU/ml of CPE to total Gram-negative bacteria, ESBL-PE to total Gram-negative bacteria and VRE to total aerobic bacteria and expressed as a percentage.

- Environmental sampling:

The environmental samples of the patients identified as carriers, taken at 6 different sites, were seeded on Columbia agar + 5% sheep blood (BioMérieux, Marcy-l'Étoile, France) and ChromID® VRE medium (BioMérieux, Marcy-l'Étoile, France) for VRE carriers; Drigalski agar (BioMérieux, Marcy-l'Étoile, France) with ChromID® ESBL plates (BioMérieux, Marcy-l'Étoile, France) or ChromID® CARBA SMART medium (BioMérieux, Marcy-l'Étoile, France) for ESBL-PE and CPE carriers. All agar plates were incubated for 48 hours at 37°C. Each morphologically unique colony, on the selective chromogenic medias, was identified by MALDI-TOF mass spectrometry. Antibiotic susceptibility testing and confirmation of resistance, as described above, were performed on each colony suspected of being ESBL-PE, CPE or VRE. A qualitative evaluation of the presence of MDRO is correlated to the MDRO carried by the corresponding patient.

Risk factors definition

We studied many patient's factors that could be associated with environmental contamination:

- Age and gender.
- Charlson score of comorbidities: a method of categorizing comorbidities of patients based on the International Classification of Diseases (ICD) diagnosis codes found in administrative data, such as hospital abstracts data. Each comorbidity category has an associated weight (from 1 to 6), based on the adjusted risk of mortality or resource use, and the sum of all the weights results in a single comorbidity score for a patient. A score of zero indicates that no comorbidities were found. The higher the score, the more likely the predicted outcome will result in mortality or higher resource use. (6)
- Wards of hospitalization, classified into 3 groups: Intensive care units (ICU), medical wards and surgical wards.
- Duration of hospitalization.

- Antibiotic use during actual hospitalization: patients receiving antibiotics for one day at least.
- Previous antibiotic use in the past 12 months: patients receiving antibiotics for one day at least in the previous 12 months.
- Recent stay abroad: within the previous 6 months.
- Katz's score of dependence: a widely used graded instrument that assesses six primary and psychosocial daily living functions: bathing, dressing, going to toilet, transferring, feeding, and continence. It uses a score of 2 for independence and 0 if assistance is required. Total scores range from 0 to 6. (7)
- Previous hospitalization in the past 12 months.
- Presence of diarrhea: patients presenting mild diarrhea (fluffy pieces with ragged edges, a mushy stool) or severe diarrhea (watery, no solid pieces, entirely liquid), as per Bristol Stool Scale. (8)
- Urinary and/or fecal incontinence.
- Ongoing treatment with proton pump inhibitors and/or antidepressant.
- Ongoing nursing procedures during sampling: insertion of a urinary catheter, a central venous catheter and/or a peripheral venous catheter.
- Species of multi-drug resistant bacteria carried by the patient.
- MDRO mechanism of resistance.
- Relative fecal abundance in MDRO, calculated by determining the ratio of CFU/ml of CPE to total Gram-negative bacteria, ESBL-PE to total Gram-negative bacteria and VRE to total aerobic bacteria and expressed as a percentage.
- Absolut MDRO abundance: the total count in CFU of MDRO/ml.

References

1. al CA et. Comparison of two matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry methods with conventional phenotypic identification ... - PubMed - NCBI. [cited 2020 Apr 30]; Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20164271
2. CASFM / EUCAST 2019 [Internet]. Société Française de Microbiologie. 2019 [cited 2020 Nov 17]. Available from: https://www.sfm-microbiologie.org/2019/01/07/casfm-eucast-2019/
3. Dortet L, Cuzon G, Plésiat P, Naas T. Prospective evaluation of an algorithm for the phenotypic screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. J Antimicrob Chemother. 2016 Jan;71(1):135–40.
4. Compain F, Gallah S, Eckert C, Arlet G, Ramahefasolo A, Decré D, et al. Assessment of Carbapenem Resistance in Enterobacteriaceae with the Rapid and Easy-to-Use Chromogenic β Carba Test. J Clin Microbiol. 2016;54(12):3065–8.
5. Lerner A, Romano J, Chmelnitsky I, Navon-Venezia S, Edgar R, Carmeli Y. Rectal swabs are suitable for quantifying the carriage load of KPC-producing carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. Antimicrob Agents Chemother. 2013 Mar;57(3):1474–9.
6. Austin SR, Wong Y-N, Uzzo RG, Beck JR, Egleston BL. Why summary comorbidity measures such as the Charlson Comorbidity Index and Elixhauser score work. Med Care. 2015 Sep;53(9):e65.
7. Wallace M, Shelkey M. Monitoring functional status in hospitalized older adults. Am J Nurs. 2008 Apr;108(4):64–71; quiz 71–2.
8. Chumpitazi BP, Self MM, Czyzewski DI, Cejka S, Swank PR, Shulman RJ. Bristol Stool Form Scale Reliability and Agreement Decreases When Determining Rome III Stool Form Designations. Neurogastroenterol Motil Off J Eur Gastrointest Motil Soc. 2016 Mar;28(3):443–8.

b. Dynamique de la colonisation chez les patients hospitalisés : étude de l'évolution dans le temps de la colonisation par une EPC chez les patients colonisés.

Ce travail a fait l'objet d'une publication sous forme d'une lettre à l'éditeur de la revue scientifique *International Journal of Antimicrobial Agents* résumée ci-dessous :

- Article :

Rindala Saliba, Alexandra Lemont, Jean-Louis Eudesson, Delphine Seytre, Jean-Ralph Zahar and Benoit Pilmis. Significant Variation in the Fecal Relative Abundance of Carbapenemase-Producing-*Enterobacteriaceae* of Colonized Patients During Hospitalization: A preliminary study.

L'abondance relative dans les selles des BMR en générale et des EPC en particulier, chez les patients colonisés préalablement connus, a été suggérée comme un facteur majeur associé à la survenue d'infections secondaires (434,435) et, malgré les données contradictoires, à la contamination de l'environnement. (274) Par ailleurs, certains auteurs ont souligné le manque de sensibilité des techniques de dépistage de la colonisation rectale, insistant récemment sur l'importance de la pré-culture dans des bouillons d'enrichissement contenant des carbapénèmes, pour améliorer les performances du test. Ainsi, les résultats des tests de dépistage rectal dépendent de l'abondance fécale relative en BMR. (373)

Toutes les études précédemment publiées ont envisagé d'évaluer l'abondance fécale relative en un jour donné. A ce jour, il n'existe pas de données sur l'évolution de l'abondance fécale relative dans le temps chez les patients hospitalisés. Nous rapportons ici notre expérience avec les variations de l'abondance fécale relative chez les patients colonisés par une EPC au cours de leur hospitalisation. Nous avons mené une étude de cohorte prospective de mai 2019 à juillet 2020. Au total, 19 patients ont été inclus. Tous les patients étaient âgés de plus de 18 ans, colonisés par une EPC à leur admission et hospitalisés pendant au moins 3 jours. Un échantillonnage rectal a été réalisé pour chaque patient, d'abord à l'admission, puis toutes les 72h jusqu'à leur sortie, à l'aide des écouvillons de type Eswab® (Copan Diagnostics®). Les concentrations rectales en EPC ont été quantifiées à l'aide d'une méthode de culture, comme décrit dans la partie (a), et exprimées en log10 UFC/mL du milieu de transport des Eswab®. (436) L'abondance fécale relative en EPC a été calculée en déterminant le rapport d'UFC/mL d'EPC sur le total d'UFC des bactéries à Gram négatif et exprimée en pourcentage.

Les données suivantes ont été systématiquement recueillies avant chaque prélèvement : durée d'hospitalisation, antibiothérapie entre les prélèvements rectaux pendant l'hospitalisation, utilisation d'inhibiteurs de la pompe à protons entre les prélèvements rectaux pendant l'hospitalisation, incontinence urinaire et/ou fécale, type d'EPC isolée et mécanisme de résistance. Nous avons considéré qu'une variation de ± 25% de l'abondance fécale en EPC, entre deux échantillons prélevés pour le même patient, était significative. Nous avons comparé les variables des situations où une variation significative de l'abondance fécale en EPC a été notée, aux situations où la variation n'était pas significative, par analyse univariée.

Dans ce travail, nous avons cherché à décrire et à identifier les facteurs associés à la variation de l'abondance fécale relative en EPC chez les patients connus colonisés, pendant leur hospitalisation. A notre connaissance, nos résultats sont les premières données surprenantes montrant des variations pour un même patient et au cours d'une même période d'hospitalisation. De telles variations devraient conduire à s'interroger sur la sensibilité des techniques de dépistage microbiologique. A la lumière de nos données et compte tenu du fait que toutes les études publiées à ce jour sont des études de prévalence, il semble important de mettre en évidence le rôle des variations de l'abondance fécale en EPC, non seulement dans la détection des patients colonisés, mais aussi dans l'évaluation du risque de diffusion des EPC. Avec les variations importantes observées dans l'abondance fécale en EPC, il est difficile d'évaluer le risque réel de diffusion environnementale autour d'un patient colonisé au cours d'un épisode d'hospitalisation donné, en se basant uniquement sur les résultats du dépistage microbiologique. D'autres études à plus grande échelle sont nécessaires pour confirmer la validité de nos résultats.

International Journal of Antimicrobial Agents xxx (xxxx) xxx

Contents lists available at ScienceDirect

International Journal of Antimicrobial Agents

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ijantimicag

Significant variation in the faecal relative abundance of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae of colonised patients during hospitalisation: a preliminary study

Editor: Jean-Marc Rolain

Sir,

The relative abundance (RA) of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (CPE) in faeces has been questioned as a major factor associated with the occurrence of secondary infections and, despite contradictory data, with environmental dissemination [1,2]. Here we report our experience with variations in faecal RA among CPE-colonised patients during their hospitalisation. A prospective cohort study was conducted from May 2019 to July 2020. A total of 19 patients aged >18 years who were known carriers of CPE at admission and hospitalised for ≥3 days were included. A rectal sample was collected from each patient first at admission and then every 72 h until discharge. Rectal CPE concentrations were quantified using a culture-based method and were expressed in $\log_{10}$ CFU/mL of the ESwab® Amies transport medium. The faecal RA of CPE was calculated by determining the ratio of CFU/mL of CPE to total Gram-negative bacteria and was expressed as a percentage [2]. The following data were systematically collected before each sampling: duration of hospitalisation; antibiotic administration between rectal samplings during hospitalisation; use of a proton pump inhibitor between rectal samplings during hospitalisation; urinary and/or faecal incontinence; documented CPE species; and mechanism of resistance. We considered a variation in CPE faecal RA of ±25% between two samples taken from the same patient to be significant. We compared variables between situations where significant variation in CPE faecal RA was noted to situations where the variation was not significant by univariate analysis. Results were expressed as the median (range) for continuous variables and number (%) for categorical variables. Statistical analysis was performed with R software v.3.2.2 (http://www.R-project.org). All tests were two-tailed, and a *P*-value of <0.05 (calculated by χ^2 test, Student's *t*-test or Mann–Whitney test) were as considered statistically significant.

Of the 19 patients, 12 (63%) were colonised by *Escherichia coli* and 7 (37%) by *Klebsiella pneumoniae*. The most frequently detected mechanism of resistance was OXA-48 in 15 cases (79%), followed by NDM-1 in 3 cases (16%) and KPC in 1 case (5%). A total of 58 rectal swabs were collected. The median length of hospitalisation was 49 days (range 3–163 days). During the monitoring period of hospitalisation, 9 patients (47%) were receiving antibiotics and 7 (37%) were receiving proton pump inhibitors. None had undergone surgeries and there were no episodes of diarrhoea or faecal incontinence. The median concentration of CPE bacteria recovered from this population was 657 500 CFU/mL of the Amies transport medium [range 9300–8 212 500 CFU/mL]. Among the 58 rectal swabs collected, we observed a concentration of CPE of $<10^4$ CFU/mL in 22 rectal swabs (38%). Variations ($\log_{10}$ CFU/mL) in CPE concentrations between two rectal screening samples for all hospitalisations are shown in Fig. 1.

The median CPE faecal RA was 13.75% (range 1.26–53.3%). Among the 58 rectal swab samples collected for the 19 included patients, a total of 39 variations in CPE faecal RA between two samples were calculated. CPE faecal RA analysis showed significant variations of more than 25% between two rectal screening samples in 15 (38%) of 39 cases, representing 10 (53%) of 19 patients. Among the 15 situations with significant variations in RA, there was an increase in 6 cases and a decrease in the others. In an attempt to identify risk factors associated with these significant variations, none of the studied factors were statistically different.

Our results are the first surprising data showing variations for the same patient and during the same hospitalisation episode. Such variations should raise concerns about the effectiveness of rectal screening in CPE-colonised patients. Unfortunately, we were unable to identify risk factors associated with the observed variations owing to the small number of included patients. Several authors before us raised indirect concerns about the interpretation of rectal screening techniques. First, Friedmann et al. noted an increase from 8% to 16% in the number of colonised patients with extended-spectrum β-lactamase-producing Enterobacteriaceae (ESBL-PE) within a period of 3 days, suggesting a probable lack of sensitivity in the screening technique at admission [3]. More recently, Kluytmans-van den Bergh et al. evaluated the added value of selective pre-culture in enrichment broths for the detection of ESBL-PE faecal carriage. In their study, ESBL-PE faecal carriage was identified in 4.8% of hospitalised patients. Moreover, 26% of ESBL-PE faecal carriers were identified with selective pre-culture in enrichment broths only, suggesting also a lack of sensitivity [4]. Furthermore, other authors suggested a correlation between the rate of rectal colonisation and environmental contamination [5]. According to our results, this latter consideration is debatable.

In light of our data and considering the fact that all published studies to date are prevalence studies, it seems important to highlight the role of faecal RA variations, not only in the detection of colonised patients but also in the risk assessment of CPE dissemination. With the observed variations in CPE faecal RA, it is hard to assess the real risk of environmental spread around a colonised patient during one given hospitalisation episode. Further studies on a larger scale are needed to confirm the validity of our findings.

https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2021.106479
0924-8579/© 2021 Elsevier Ltd and International Society of Antimicrobial Chemotherapy. All rights reserved.

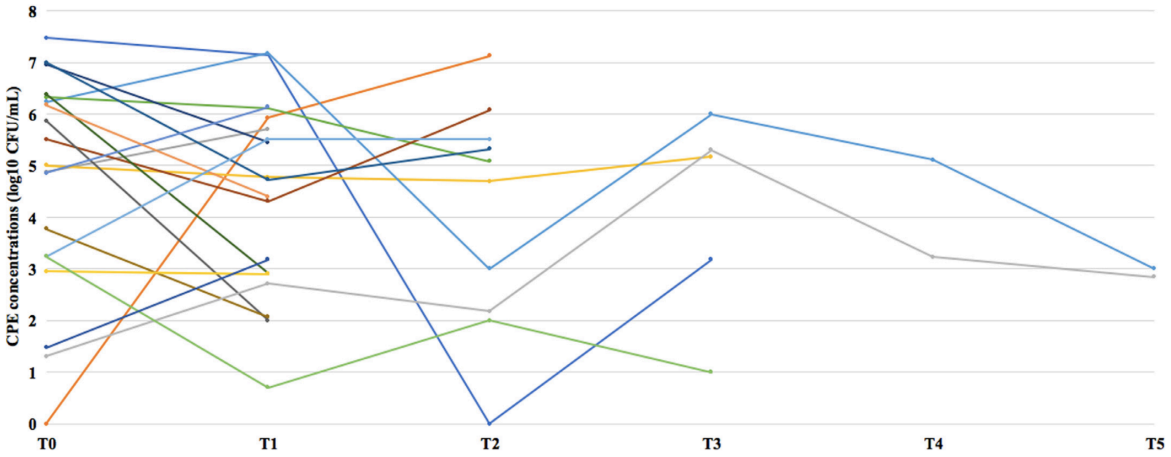


Fig. 1. Variations in carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (CPE) concentrations (log_{10} CFU/mL) between two rectal screening samples for each hospitalisation.

Funding

None.

Competing interests

None declared.

Ethical approval

Not required.

References

[1] Lerner A, Adler A, Abu-Hanna J, Cohen Percia S, Kazma Matalon M, Carmeli Y. Spread of KPC-producing carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: the importance of super-spreaders and rectal KPC concentration. Clin Microbiol Infect 2015;21:470 e1–7.
[2] Saliba R, Ghelfenstein-Ferreira T, Lomont A, Pilmis B, Carbonnelle E, Seytre D, et al. Risk factors for the environmental spread of different multidrug-resistant organisms: a prospective cohort study. J Hosp Infect 2021;111:155–61.
[3] Friedmann R, Raveh D, Zartzer E, Rudensky B, Broide E, Attias D, et al. Prospective evaluation of colonization with extended-spectrum β-lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae among patients at hospital admission and of subsequent colonization with ESBL-producing Enterobacteriaceae among patients during hospitalization. Infect Control Hosp Epidemiol 2009;30:534–42.
[4] Kluytmans-van den Bergh MFQ, Verhulst C, Willemsen LE, Verkade E, Bonten MJM, Kluytmans JAJW. Rectal carriage of extended-spectrum-β-lactamase-producing Enterobacteriaceae in hospitalized patients: selective preenrichment increases yield of screening. J Clin Microbiol 2015;53:2709–12.
[5] Donskey CJ, Chowdhry TK, Hecker MT, Hoyen CK, Hanrahan JA, Hujer AM, et al. Effect of antibiotic therapy on the density of vancomycin-resistant enterococci in the stool of colonized patients. N Engl J Med 2000;343:1925–32.

Rindala Saliba
IAME, UMR 1137, Université Paris 13, Sorbonne Paris Cité, France
Service de Microbiologie Clinique et Unité de Contrôle et de Prévention du risque Infectieux, Groupe Hospitalier Paris Seine Saint-Denis, AP-HP, 125 rue de Stalingrad, 93000 Bobigny, France
Laboratoire des pathogènes émergents, Université Saint-Joseph de Beyrouth, Beirut, Lebanon

Alexandra Lomont
IAME, UMR 1137, Université Paris 13, Sorbonne Paris Cité, France
Service de Microbiologie Clinique et Unité de Contrôle et de Prévention du risque Infectieux, Groupe Hospitalier Paris Seine Saint-Denis, AP-HP, 125 rue de Stalingrad, 93000 Bobigny, France

Jean-Louis Eudesson, Delphine Seytre
Service de Microbiologie Clinique et Unité de Contrôle et de Prévention du risque Infectieux, Groupe Hospitalier Paris Seine Saint-Denis, AP-HP, 125 rue de Stalingrad, 93000 Bobigny, France

Jean-Ralph Zahar*
IAME, UMR 1137, Université Paris 13, Sorbonne Paris Cité, France
Service de Microbiologie Clinique et Unité de Contrôle et de Prévention du risque Infectieux, Groupe Hospitalier Paris Seine Saint-Denis, AP-HP, 125 rue de Stalingrad, 93000 Bobigny, France

Benoit Pilmis
Equipe Mobile de Microbiologie Clinique, Groupe Hospitalier Paris Saint-Joseph, Paris, France
Institut Micalis UMR 1319, Université Paris Saclay, INRAe, AgroParisTech, Châtenay Malabry, France
Service de microbiologie clinique, GH Paris Saint-Joseph, 75014 Paris, France

*Corresponding author: Service de Microbiologie Clinique et Unité de Contrôle et de Prévention du risque Infectieux, Groupe Hospitalier Paris Seine Saint-Denis, AP-HP, 125 rue de Stalingrad, 93000 Bobigny, France
E-mail address: jeanralph.zahar@aphp.fr (J.-R. Zahar)

3- La problématique des effets indésirables liés à l'isolement des patients.

Ce travail a fait l'objet d'une publication sous forme d'une revue systématique de la littérature et méta-analyse dans la revue scientifique *Journal of Hospital Infection* résumée ci-dessous :
- Article :

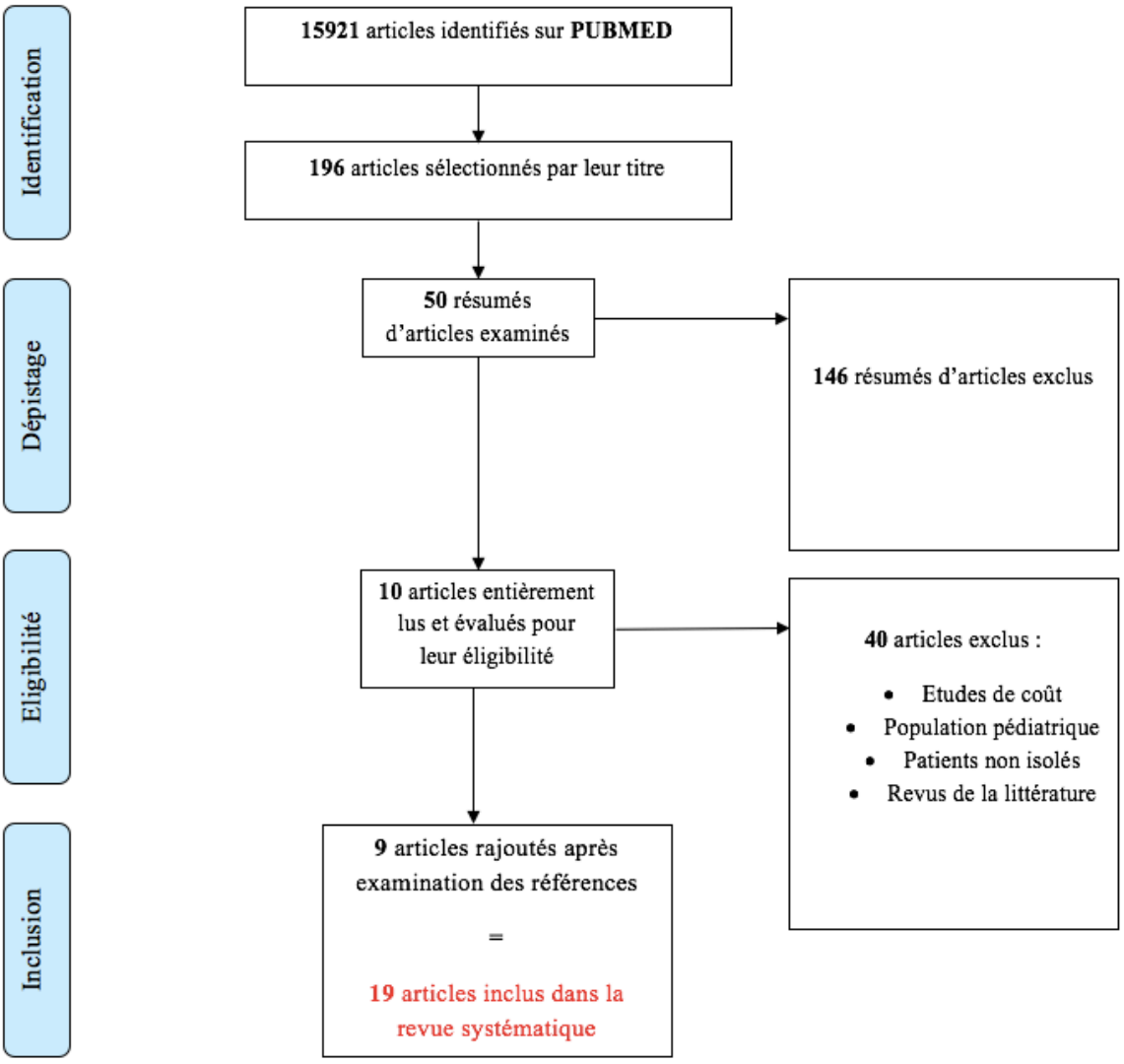
R. Saliba, D. Karam-Sarkis, J-R. Zahar, L.S. Aho-Glélé. Adverse Events Associated with Patient Isolation : a Systematic Literature Review and Meta-analysis. *J Hosp Infect*. 2021 October;1532-2939. https://doi.org/10.1016/j.jhin.2021.09.023.

L'isolement des patients, bien que recommandé et largement utilisé dans les établissements de santé pour la prévention de la transmission des BMR, son rapport bénéfice/risque est discutable. (267,383,401,437) En effet, plusieurs études ont suggéré que l'isolement réduit la dissémination des BMR, (437,438) cependant, d'autres études ont souligné la faiblesse et le biais potentiel associés aux études avant-après (439,440) qui combinent l'isolement à d'autres interventions de maitrise du risque de dissémination. (440) De plus, l'isolement a récemment été associé à des événements indésirables chez les patients, y compris la possibilité de soins moins optimaux. (441) Une revue systématique de la littérature entre 1989 et 2009 a trouvé 4 principaux évènements indésirables associés à l'isolement des patients : un contact plus faible avec le personnel soignant, des retards de soins à l'origine d'évènements indésirables non infectieux plus fréquents, un risque plus élevé de dépression et d'anxiété et une moindre satisfaction des patients à l'égard de la qualité des soins. Cependant, les auteurs ont constaté que la majorité des études étaient observationnelles et à méthodologie non optimale, y compris l'absence de groupe contrôle ou de critères d'inclusion standardisés, limitant leur interprétation. (9)

Nous avons entrepris une revue systématique de la littérature et une méta-analyse depuis 2009 pour évaluer, sur la base des études récemment publiées, s'il existe ou non d'effets indésirables physiques et/ou psychologiques associés à l'isolement des patients.

Nous représentons dans la figure 15 l'organigramme du processus de sélection des études.

Figure 16 : Organigramme du processus de sélection des études. Adapté de Moher et al., 2009.



En conclusion, notre méta-analyse montre qu'il n'y a pas d'évènements indésirables physiques ou psychologiques associés à l'isolement des patients. Cependant, comme seul un nombre limité d'articles aurait pu être inclus, des études avec une méthodologie correcte comprenant un groupe témoin et des critères d'inclusion standardisés doivent être menées, puis une autre méta-analyse réalisée sur un plus grand nombre d'articles afin de confirmer ce résultat.

Journal of Hospital Infection 119 (2022) 54–63

Available online at www.sciencedirect.com

Journal of Hospital Infection

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jhin

Review

Adverse events associated with patient isolation: a systematic literature review and meta-analysis

R. Saliba [a,b,c], D. Karam-Sarkis [c], J-R. Zahar [a,b,*], L.S.A. Glélé [d]

[a] IAME, UMR 1137, Université Paris 13, Sorbonne Paris Cité, France
[b] Service de Microbiologie Clinique et Unité de Contrôle et de Prévention du risque Infectieux, Groupe Hospitalier Paris Seine Saint-Denis, AP-HP, Bobigny, France
[c] Laboratoire des agents pathogènes, Faculté de Pharmacie, Université Saint-Joseph, Beyrouth, Liban
[d] Service d'épidémiologie et d'hygiène hospitalière, CHU hôpital d'enfants, Dijon, France

ARTICLE INFO

Article history:
Received 16 July 2021
Accepted 26 September 2021
Available online 16 October 2021

Keywords:
Adverse events
Patient isolation
Multidrug-resistant organisms
Infection control
Contact precautions
Hygiene

SUMMARY

Background: Patient isolation is widely recommended and used in healthcare institutions to prevent transmission of multidrug-resistant organisms (MDROs). However, its risk: benefit ratio is debated.
Aim: To assess, based on newly published studies, whether or not there are physical and psychological adverse events associated with patient isolation.
Methods: Systematic literature review and meta-analysis were performed in accordance with the Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses (PRISMA) guidelines. Studies were systematically searched from PubMed, from May 1st, 2009 to January 31st, 2020. The concepts of the research questions were defined as: 'Adverse events', 'patient isolation or cohorting', and 'multi-drug resistant organisms colonized or infection patients'. Three reviewers independently screened studies and extracted data. All statistical analysis was performed with Stata Software and R.
Findings: After screening titles of 15,921 articles and abstracts of 196, and reviewing full texts of 50 studies, 19 studies were included. Studies were divided into three groups: four qualitative studies, seven observational studies suitable for meta-analysis, and eight other observational studies. Meta-analysis shows no adverse events related to clinical care or patients' experience associated with patient isolation.
Conclusion: More studies with correct methodology, including a control group and standardized inclusion criteria, must be conducted to confirm our results.
© 2021 Published by Elsevier Ltd on behalf of The Healthcare Infection Society.

Introduction

Since antibiotic resistance was first documented almost seven decades ago, the reasons for its appearance and increase have been researched and debated. Antibiotic use is considered the main cause, but it is also clear that the spread of resistant strains from patient to patient also plays an important role [1,2]. The excess mortality and morbidity related to the acquisition and colonization with multidrug-resistant organisms (MDROs) justify the infection control management policies proposed by public health organizations worldwide [3]. As well as standard general measures such as antibiotic stewardship and hand hygiene promotion, these policies include admission screening of patients and use of

* Corresponding author. Address: 125 rue de Stalingrad, Bobigny, 93000, France. Tel.: +33 6 03 07 90 88.
E-mail address: jrzahar@gmail.com (J-R. Zahar).

https://doi.org/10.1016/j.jhin.2021.09.023
0195-6701/© 2021 Published by Elsevier Ltd on behalf of The Healthcare Infection Society.

contact precautions until patients are culture-negative for a targeted MDRO. Additionally, education, enhanced environmental cleaning, and improvements in communication about patients with MDROs within and between healthcare facilities are parts of these policies [1,4].

Though patient isolation is recommended and widely used in healthcare institutions to prevent the transmission of MDRO such as meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), vancomycin–resistant enterococci (VRE), and some Gram-negative bacilli (GNB), its risk:benefit ratio is debated [4–6].

Several studies have suggested that isolation reduces the spread of MDROs [7,8]; however, other studies have underlined the weakness and potential bias associated with before–after studies that combine isolation with other interventions [9,10]. Also, isolation has recently been associated with adverse events in patients, including the possibility of less than optimal care [11]. On the other hand, various studies have reported significantly better infection control using surveillance cultures and contact precautions [7,12,13]. Authors have also suggested that contact isolation policies could enhance hand hygiene observance [14].

A systematic literature review between 1989 and 2009 found four main adverse events associated with contact precautions. These included: less patient–healthcare worker contact, changes in systems of care that produce delays and more non-infectious adverse events, increased symptoms of depression and anxiety and decreased patient satisfaction with care. The authors found that reports of adverse events associated with contact precautions were dispersed over many specialty journals and were generally methodologically weak: all studies were observational and many contained methodology problems, such as lack of a control group or standardized inclusion criteria, limiting their interpretation [15].

Over the past 10 years, we have witnessed an increase in the prevalence of colonization with different MDROs in the general population and the increases in their incidences in hospitals [16,17]. In parallel, several new mechanisms of resistance have arisen. In order to face this situation, the identification of colonized or infected patients upon admission to healthcare institutions and the application of strict contact isolation policies remain the most widely adopted strategy among public health organizations worldwide. This strategy has been shown to be effective in French and other international literature [18,19].

A systematic literature review and meta-analysis of articles published since 2009 was undertaken to assess, based on newly published studies, whether or not there are physical and psychological adverse events associated with patient isolation.

Methods

Search strategy and selection criteria

The systematic literature review and meta-analysis were performed in accordance with the Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses (PRISMA) guidelines [20]. Studies were systematically searched from PubMed, from May 1st, 2009 to January 31st, 2020. First, the concepts of the research questions were defined: 'Adverse events', 'patient isolation or cohorting', and 'multidrug-resistant organisms colonized or infection patients'. Then, for each concept, indexing terms and keywords were selected and the terms relating to the same concept were compiled by using OR as Boolean operator, in order to make searches larger. To narrow our research, the four sets of concepts were combined using AND logic as Boolean operator (see details in Supplementary Appendix).

Data extraction and quality assessment

Data extraction from eligible studies was performed independently by three investigators (R.S., J.R.Z., and L.S.A.G.), and disagreements were resolved by deliberation. Studies were divided into three groups: qualitative studies, involving collecting and analysing non-numerical data; observational studies suitable for meta-analysis via estimation of effect size (e.g. case–control or before-after studies); and other observational studies. From each study, the following characteristics were extracted: (i) basic information of articles (first author, year of publication, country of publication); (ii) research object's general features (sample size, study type, adverse events); (iii) data used for the final meta-analysis (total patients placed under contact isolation (CI), total patients not isolated (NCI), number of each adverse event occurring under CI and NCI). Also, adverse events of all studies were classified into two categories: adverse events related to clinical care and adverse events related to patient's experience (see definitions and details in Supplementary Appendix).

Quantitative data synthesis

Frequentist and Bayesian meta-analyses were performed, using a random-effects model. The pooled effect estimates for binary variables were expressed as an odds ratio (OR) with 95% confidence interval (or credible interval). For Frequentist meta-analysis, several methods are available for the random-effects model. The following three methods were used: DerSimonian–Laird with continuity correction (DL), restricted maximum likelihood (REML), and Hartung–Knapp–Sidik–Jonkman (HKSJ) [25,26]. Cochran Q and I^2 measure of inconsistency were used to assess the heterogeneity of results, which was defined as low, moderate, and high according to I^2 values of 25, 50 and 75 percent respectively [27].

Performing meta-analysis with low event rates or with few studies, or both, may be challenging. For example, estimating between-study heterogeneity is difficult in this cirumstance, and inaccurate estimation of this heterogeneity may lead to too-narrow confidence intervals. Therefore, Bayesian analysis was used to check the estimates provided by frequentist analysis.

For this Bayesian meta-analysis, we used a binomial–normal hierarchical model (BNHM), i.e. modelling probabilities of success in each group, instead of modelling estimates of $\log_{10}$ odds ratios directly (normal–normal model) for the between trial heterogeneity. We also used a beta-binomial model, which has shown good statistical properties for meta-analysis of sparse data. With these approaches, no continuity correction (of any type) is required as these models are based on the exact distributional assumptions unlike (commonly used) normal–normal hierarchical model. Several priors were used as sensitivity analysis.

Statistical analyses were performed with Stata (frequentist framework) and R software (Bayesian framework).

Results

Included studies

After screening titles of 15,921 articles and abstracts of 196, and reviewing full texts of 50 studies, 10 fulfilled the inclusion criteria. Nine additional articles were included after screening all references (Figure 1). In total, 19 studies were included, conducted in America ($N = 10$), Europe ($N = 4$), Australia ($N = 2$), and Canada ($N = 3$). The 19 included studies were divided into three groups: four qualitative studies [30–33], seven observational studies suitable for meta-analysis [4,34–39], and eight other observational studies [40–47].

Definition of the patient isolation concept adopted in each included study, if present, is shown in Table I.

Qualitative studies

The main characteristics are summarized and listed in Table II, by order of publication year. Webber *et al.* and Skyman *et al.* studied the impact of strict isolation on patient carriers of MRSA [32,33], whereas King *et al.* focused on isolated carbapenemase-producing Enterobacterales (CPE) carriers [30]. In all three papers, the studied population was small. Two main adverse events were found: (i) patients' limitations to understanding their carriage condition; (ii) patients' feelings of responsibility and blame. Rump *et al.* studied the ethics of contact isolation measures for carriers of different MDROs. They included 277 patient carries of MRSA (78%), VRE (8%), extended-spectrum-β-lactamase-producing Enterobacterales (ESBL-E, 4%), CPE (2%), and unknown MDROs (8%). Rump *et al.* have shown that control measures for MDROs undermine the well-being of asymptomatic carriers [31]. In addition to the two main adverse events found in the papers of Webber *et al.*, Skyman *et al.* and King *et al.*, Rump *et al.* underlined problems with access to healthcare facilities consisting of restrictions on different levels (Table II) [30–33].

Meta-analysis

The main characteristics of the seven observational studies suitable for meta-analysis are summarized and listed in Table III, by order of publication year. A total of 79 adverse events was noted. According to our definitions, 61% are related to clinical care and 39% to patients' experience.

The main monitoring measure tool in the included studies was the prevalence of adverse events in the group of isolated patients compared to their prevalence in the group of non-isolated patients [4,35–37,39]. Karki *et al.* and Zahar *et al.* also calculated the incidence rate of adverse events for isolated and non-isolated patients [4,38]. Finally, Martin *et al.* reported adverse events as rates per 1000 admissions [34].

In Searcy *et al.*'s study, all studied adverse events corresponded to those related to clinical care [35]. In parallel, in their paper, Livorsi *et al.* studied only adverse events related to patients' experience [36]. The missing data related to patients' experience in Searcy *et al.*'s study, and to clinical care in Livorsi *et al.*'s study, led to unreliable estimates while using the frequentist statistical models. The frequentist models were therefore abandoned in favour of the Bayesian models.

Bayesian statistical inferences, applied to the category adverse events related to clinical care, showed no statistically significant difference between the isolated and non-isolated patients (Figure 2). Similar results were found for adverse events related to patients' experience (Figure 3).

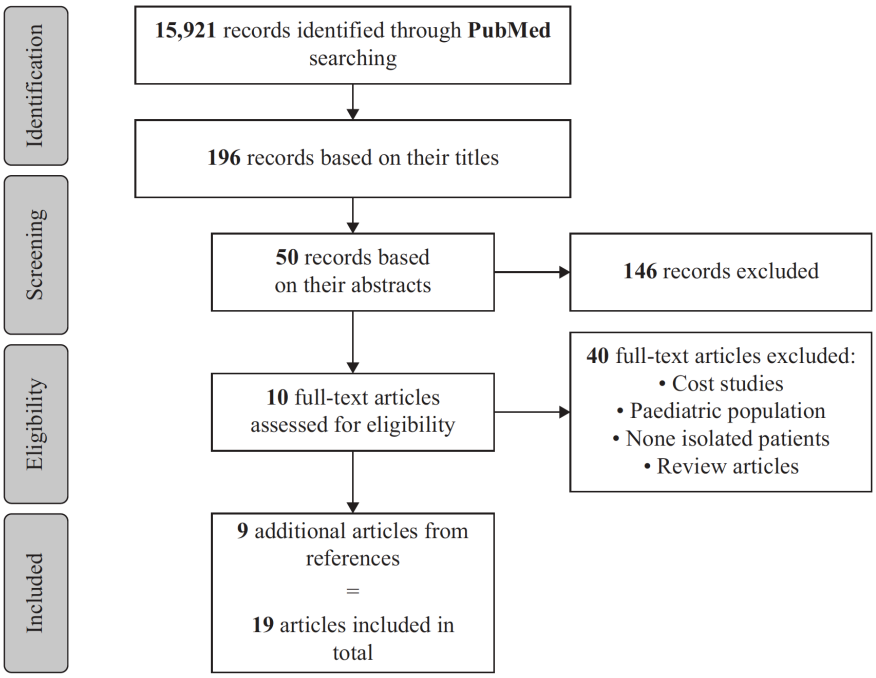


Figure 1. Study selection process.

Table I
Definition of patient isolation concepts in each included study

Study	Hospital ward(s)	Studied MDROs	Definition of isolation					
			Dedicated facilities	Dedicated nursing staff	Dedicated rooms	Dedicated bathrooms	Air treatment	Other
King *et al.* [30]	All wards	CPE	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Rump *et al.* [31]	All wards	MDROs	NA	NA	NA	NA	NA	Strict MDRO search-and-destroy national policy, Netherlands
Webber *et al.* [32]	Rehabilitation unit	MRSA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Skyman *et al.* [33]	All wards	MRSA	Yes	NA	NA	NA	NA	NA
Martin *et al.* [34]	Tertiary care centre + ICU	MRSA, VRE	Yes	NA	Yes	Yes	NA	Isolation gown and gloves
Searcy *et al.* [35]	ICU	MRSA	NA	NA	NA	NA	NA	CDC recommendations
Tran *et al.* [37]	General internal medicine	MRSA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Livorsi *et al.* [36]	All wards	MRSA	Yes	Yes	Yes	Yes	NA	Isolation gown and gloves
Zahar *et al.* [4]	ICU	MDRO	NA	NA	NA	NA	NA	French national recommendations
Karki *et al.* [38]	Tertiary referral centre	VRE	Yes	NA	Yes	Yes	NA	Isolation gown and gloves
Mehrotra *et al.* [39]	Tertiary care centre	MDRO	Yes, private or cohorted rooms	NA	Yes	Yes	NA	Isolation gown and gloves
McLemore *et al.* [47]	Tertiary care centre with no ICU	MDRO	Yes, private or cohorted rooms with another patient colonized or infected by the same MDRO	NA	Yes	Yes	NA	NA
Morgan *et al.* [42]	Tertiary acute care centre + ICU	MDRO	NA	NA	NA	NA	NA	Universal contact isolation policies
Morgan *et al.* [43]	ICU, medical and surgical wards	MDRO	Yes	NA	Yes	Yes	NA	NA
Masse *et al.* [41]	Tertiary care hospital	MRSA	Yes, isolation units physically separated from other units by a gate and a changing area	Yes	Yes	Yes	NA	Isolation gown and gloves
Girotra *et al.* [44]	Tertiary referral hospital	VRE	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Dashiell-Earp *et al.* [46]	Internal medicine wards	MDROs	Yes	NA	NA	NA	NA	NA
Colorado *et al.* [45]	Rehabilitation unit at a tertiary care centre	MDROs	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Gandra *et al.* [40]	Medical and surgical units	MSRA, VRE	Yes	NA	NA	NA	NA	Isolation gown and gloves

MDROs, multidrug-resistant organisms; CPE, carbapenem-resistant enterobacteria; NA, not available; MRSA, meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*; ICU, intensive care unit; VRE, vancomycin-resistant enterococcus; CDC, Centers for Disease Control and Prevention.

Table II
Description of papers with qualitative research about patient's isolation adverse events

Study	Year of publication	Country	No. of included patients	Type of study	Adverse effects noted by authors in isolated patients
King *et al.* [30]	2019	UK	9	Interview	Limitations in patients' understandings of carbapenemase-producing Enterobacterales Feelings of responsibility and blame
Rump *et al.* [31]	2018	Netherlands	227	Retrospective	Negative implications of control measures for carriers Problems with access to healthcare Postponement of planned surgery, cancellation of admission to rehabilitation, and being denied access to dental clinics Restrictions within healthcare facilities: — elderly carriers were banned from organized social activities or not allowed to dine at the same table with fellow residents. — children who were carriers were banned from group activities or kept away from their peers, and in a psychiatric institution, a group of patients was placed in a closed ward because of carriage. Negative implications for daily life Restrictions after returning to school because a classmate was a cystic fibrosis patient Adoption Denied access to a medical day-care centre Negative implications for carriers who work in healthcare Restricting at work, banned from work, and faced income loss Negative implications for close contacts of HCWs Negative implications because of overemphasis on collective benefits Negative implications because of concerns about communication and disclosure Ethical features unique to being a multidrug-resistant organism carrier: negative effects on the carrier's well-being, autonomy, and (health-associated) justice
Webber *et al.* [32]	2012	Canada	9	Action-based, qualitative research study	Negative feelings of anger, fear of contaminating others, fear of telling others, apathy, depression and/or feelings of stigmatization or objectification Strict isolation policy may be viewed as unjust or illogical. Many patients were confused about isolation procedures Failure or refusal of staff to follow strict isolation policy may foster patients' anger and ambivalence
Skyman *et al.* [33]	2009	Sweden	6	Interview, qualitative research	Patients felt violated for having contracted MRSA at the hospital: isolation was described as traumatic, albeit accepted, because they took responsibility for not spreading MRSA Patients felt that they did not receive rehabilitation on the same conditions as other patients and lacked information about MRSA Patients felt vulnerable due to negative reactions from the nursing staff, family members and other patients' surroundings

HCWs, healthcare workers; MRSA, meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*.

Table III
Description of papers included in the meta-analysis

Study	Year of publication	Country	Total CPs	Total NCPs	Total AEs related to CPs' clinical care	Total AEs related to NCPs' clinical care	Total AEs related to CPs' experience	Total AEs related to NCPs' experience
Martin *et al.* [34]	2018	Los Angeles, CA, USA	835	765	817	755	816	750
Searcy *et al.* [35]	2017	Florida, USA	114	112	126	88	0	0
Tran *et al.* [37]	2016	Canada	737	737	417	298	8	7
Livorsi *et al.* [36]	2015	Indianapolis, USA	70	139	398	662	0	0
Zahar *et al.* [4]	2013	Paris, France	170	980	481	1750	0	0
Karki *et al.* [38]	2013	Australia	214	186	148	132	280	240
Mehrotra *et al.* [39]	2013	Baltimore, MA, USA	238	290	9	13	151	101

CPs, patients placed under contact precaution policies, isolated patients; NCPs, patients not isolated; AEs, adverse events.

The details of sensitivity analysis performed using different methods to estimate the association between patients' isolation and adverse events are shown in Table IV.

Observational studies not included in the meta-analysis

The eight observational studies, whose main characteristics are summarized in Table V, were not included in the meta-analysis due to the different measurement tools of adverse events used by the authors, which made conversion between effect sizes impossible. Gandra *et al.* assessed two adverse events related to clinical care — falls and pressure ulcers — among MRSA/VRE isolated carriers and other adult medical–surgical patients. They found that MRSA/VRE-colonized patients had higher rates of falls and pressure ulcers compared with other adult medical–surgical patients. Nevertheless, rates were not affected by removal of contact precautions, suggesting that factors other than isolation contribute to these complications [40]. In parallel, Dashiell-Earp *et al.* studied two adverse events related to patients' experience, interns' visits, and time spent per visit. They found that interns' visits per day are significantly less frequent and shorter in the group of isolated patients. On the other hand, Mclemore *et al.*, Girotra *et al.* and Colorado *et al.* assessed only adverse events related to clinical care. All three authors found that all studied adverse events were significantly higher in the group of isolated patients [44–47]. Adverse events related to clinical care studied by Masse *et al.* showed no statistically significant difference in the group of isolated patients, unlike the studied adverse events related to patients' experience [41]. Morgan *et al.*, in their study of 2013, found that contact precautions exposed patients to significantly more adverse events related to patients' experience, such as less contact with healthcare workers and visitors [43]. However, the 2011 study by Morgan *et al.* could not be evaluated because the authors established different composite scores to evaluate the impact of contact isolation [42].

Discussion and conclusion

In this work, using data from the last ten years — and in contrast to the previous systematic literature review done between 1989 and 2009, showing that the impact of adverse events associated with CP may be large, given that both depression and adverse events have been documented to be approximately twice as common in patients on CP [15] — we found no statistically significant difference between the isolated and non-isolated patients, in the studied categories of adverse events. However, in the category of adverse events related to clinical care, Tran *et al.*'s study alone showed significant risk of adverse events in the group of isolated patients. In fact, the authors conducted a multi-site, retrospective, matched cohort study of patients consecutively admitted to general internal medicine services. The number of included patients was important; the authors correctly matched the

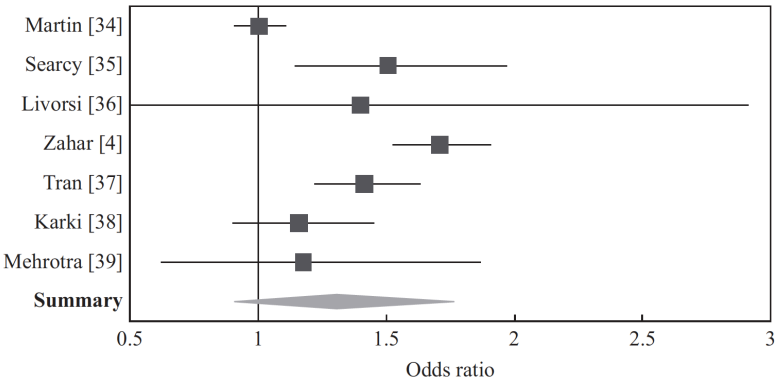


Figure 2. Forest plot for adverse events related to clinical care.

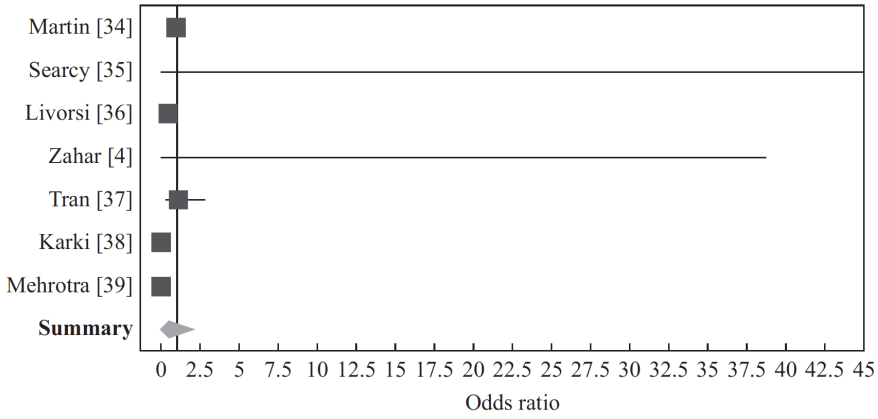


Figure 3. Forest plot for adverse events related to patient's experience.

group of isolated patients to a control group of patients and focused on the rates of mortality and falls among adverse events related to clinical care [37]. In parallel, in the same category of adverse events, only Zahar *et al.* found a significant risk of adverse events in the group of isolated patients. The authors used a sub-distribution hazard regression model with careful adjustment on confounding factors to assess the effect of patient isolation on the occurrence of medical errors and adverse events [4]. Notably, the definition of isolation varies between studies — in some not defined at all.

Our work was motivated by the numerous recent publications suggesting that patient isolation is not essential, in a non-outbreak situation, to control the risk of MDRO spread in hospitals [9,10]. Also, insofar as many international and national societies always recommend the search and isolate strategy to control the in-hospital spread of MDRO [48,49], it seemed interesting to us to evaluate in the publications the potential adverse events related to the isolation of patients. Although widely used in healthcare institutions, CP measures and their global impact remain debated. Indeed, studies published 20 years ago suggested that patients isolated for infection control precautions experience more preventable adverse events, express greater dissatisfaction with their treatment, and have less documented care [50]. Also, such screening programmes are labour and resource intensive and raise many ethical considerations: (i) autonomy versus communitarianism, (ii) indication for informed consent for obtainment of active surveillance cultures, and (iii) identification of the appropriate payer [51]. Even though the Centers for Disease Control and Prevention 2007 guideline for isolation precautions recommends efforts to counteract possible adverse effects of CP, no specific recommendations have been made [7,13,15].

Table IV
Sensitivity analysis performed using different methods to estimate the association between patients' isolation and adverse events

Model/method	OR (95% CI)
AE related to clinical care (Bayesian models)	
BB (half normal)	1.20 (0.44–3.10)
BB (uniform)	1.20 (0.43–3.35)
BB (half Cauchy)	1.21 (0.44–3.32)
BB (Sarm Exact)	0.77 (0.30–1.97)
BNHM (Vag)	1.20 (0.45–3.18)
BN	1.30 (0.91–1.76)
AE related to patients' experience (Bayesian models)	
BB (half normal)	0.27 (0.10–0.70)
BB (uniform)	0.81 (0.19–3.19)
BB (half Cauchy)	0.81 (0.21–3.29)
BB (Sarm Exact)	0.58 (0.13–2.56)
BNHM (Vag)	0.84 (0.21–3.45)
BN	0.46 (0.027–2.075)

OR, odds ratio; I^2, Higgin's I^2; CI, confidence interval; Tau^2, between-study variance AE, adverse events; CI, confidence interval (frequentist) or credible (Bayesian); BB, beta–binomial; BNHM, binomial–normal hierarchical model; Sarm Exact (Sarmonov model; method: exact); Vag, vague prior; BN, binomial normal.

We were surprised by the small number of studies that could be included and the heterogeneity of the definitions used, as well as the absence of a control group. Indeed, among the 19 selected papers, only seven (37%) studies were eligible for meta-analysis. Although 12 (63%) papers had a control group, five (42%) among them lacked standardized inclusion criteria, making comparison challenging. In addition, the timing of assessment during isolation was also highly varied. Moreover, many of these studies are limited by the number of patients included, also by the absence or limited adjustment for the number of confounding factors. In fact, the occurrence of adverse events during the stay of a hospitalized patient depends on several factors including: the initial disease and its severity; the intensity of care and workload; the duration of hospitalization; and the factors related to patients such as comorbidities and other environmental factors [4]. Therefore, not taking into account or adjusting for these different factors could have under- or overestimated the consequences of isolation.

We were also astonished by the different definitions of adverse events proposed by authors, which made it difficult to analyse the data published in the literature. We therefore chose to artificially divide the various adverse events into two groups: those related to clinical care and those related to patient's experience. Although our division is questionable and could be criticized, it allowed us to better group and analyse the adverse events. Further, it points to the need for a

Table V
Description of other observational studies not included in the meta-analysis

Study	Year of publication	Country	Total CPs	Total NCPs	Measurement tool	AEs related to CPs' clinical care	AEs related to NCPs' clinical care	AEs related to CPs' experience	AEs related to NCPs' experience	*P*-value[a]
McLemore *et al.* [47]	2011	Virginia, USA	62	763	Mean time to admission (min)	298	244	0	0	0.045
Morgan *et al.* [42]	2011	Maryland, USA	7463	NA	SCORE Composite	NA	NA	NA	NA	NA
Morgan *et al.* [43]	2013	Iowa, USA	NA	NA	Visitor contact (%)	0	0	18.9	24.4	0.08
					Hand hygiene on exiting the room (%)	0	0	63.2	47.4	<0.001
					Hourly HCW visits, visits/h	0	0	2.78	4.37	<0.001
					Direct patient contact time with HCWs (min)	0	0	13.98	26.98	0.02
Masse *et al.* [41]	2013	Canada	111	111	Bedside visits, subjective notes per 1000 patient-days	0	0	849.6	983.3	0.001
					Median hospitalization duration (days (IQR))	7 (3–13)	6 (4–10)	0	0	0.08
Girotra *et al.* [44]	2013	Melbourne, Australia	246		Significant delays in accessing CT scans (h) (95% CI)	19.9 (12.9–26.9)	8.5 (4.1–13.1)	0	0	0.002
Dashiell-Earp *et al.* [46]	2014	Los Angeles, CA, USA	1156 encounters	2467 encounters	Interns' visits (visits per day)	0	0	2.3	2.5	<0.001
					Time spent per visit (min per visit)	0	0	2.2	2.8	<0.001
Colorado *et al.* [45]	2014	Washington, USA	20	20	Length of stay (days)	15.5 ± 7.4	11.4 ± 6.2	0	0	0.01
Gandra *et al.* [40]	2014	Worcester, MA, USA	50	50	Rates of fall, per 1000 patient-days	77	82	0	0	0.74
					Pressure ulcers (per 1000 patient-days)	82	71	0	0	0.33

AEs, adverse events; CPs, patients placed under contact precaution policies, isolated patients; NCPs, patients not isolated; NA, not available; HCW, healthcare worker; IQR, interquartile range; CT, computed tomography; CI, confidence interval.
[a] As reported by the original authors.

consensus that defines adverse events at the international level, allowing us in the future to have a unified approach to better address the potential consequences of contact isolation.

All these heterogeneities in published papers highlight the need to clearly define the adverse events that should be analysed, to determine a homogeneous methodology in reporting findings, and to take into account the confounding factors that can bias the results.

Our study has several limitations. First, the small number of studies and adverse events included in the meta-analysis, which does not allow us to formally conclude that there are no links between contact isolation and the occurrence of adverse events. The second limitation lies in the categorization of adverse events we have established, which remains subjective.

As the problem of antibiotic-resistant bacteria in healthcare institutions continues to grow, isolation will remain and increase in importance as a critical infection control intervention to reduce nosocomial transmission of MDROs. Attention must be paid to the possible collateral damage of isolation, and adverse events should be monitored closely [11]. Insofar as the debate is growing around the potential issue of contact isolation, it seems important to evaluate in an objective way the individual risks and the collective benefits behind it. In our opinion, contact isolation addresses an ethical and moral question that will have to occupy the scientific debate in future years.

In conclusion, our meta-analysis shows that there are no physical or psychological adverse events associated with patient isolation. However, since only a limited number of papers qualified for inclusion, more studies with correct methodology including a control group and standardized inclusion criteria should be conducted, then another meta-analysis performed on a larger number of studies in order to confirm this finding.

Conflict of interest statement
None declared.

Funding sources
This research received no specific funding from agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors. R.S. is funded by the National Council for Scientific Research — Lebanon (CNRS-L). The founder had no involvement in the conduct of this article.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at https://doi.org/10.1016/j.jhin.2021.09.023.

References

[1] 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;35(10 Suppl 2):S165—93.
[2] Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L. 2007 Guideline for isolation precautions: preventing transmission of infectious agents in health care settings. Am J Infect Control 2007;35:S65—164.
[3] Satlin MJ, Jenkins SG, Walsh TJ. The global challenge of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in transplant recipients and patients with hematologic malignancies. Clin Infect Dis 2014;58:1274—83.
[4] Zahar JR, Garrouste-Orgeas M, Vesin A, Schwebel C, Bonadona A, Philippart F, et al. Impact of contact isolation for multidrug-resistant organisms on the occurrence of medical errors and adverse events. Intensive Care Med 2013;39:2153—60.
[5] Hilliquin D, Le Guern R, Thepot Seegers V, Neulier C, Lomont A, Marie V, et al. Risk factors for acquisition of OXA-48-producing *Klebsiella pneumonia* among contact patients: a multicentre study. J Hosp Infect 2018;98:253—9.
[6] Hilliquin D, Lomont A, Zahar J-R. Cohorting for preventing the nosocomial spread of Carbapenemase-Producing Enterobacterales, in non-epidemic settings: is it mandatory? J Hosp Infect 2020;105:534—45.
[7] Lucet J-C, Paoletti X, Lolom I, Paugam-Burtz C, Trouillet J-L, Timsit J-F, et al. Successful long-term program for controlling methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in intensive care units. Intensive Care Med 2005;31:1051—7.
[8] Loveday HP, Pellowe CM, Jones SRLJ, Pratt RJ. A systematic review of the evidence for interventions for the prevention and control of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* (1996—2004): report to the Joint MRSA Working Party (Subgroup A). J Hosp Infect 2006;63(Suppl 1):S45—70.
[9] Cooper BS, Stone SP, Kibbler CC, Cookson BD, Roberts JA, Medley GF, et al. Isolation measures in the hospital management of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): systematic review of the literature. BMJ 2004;329(7465):533.
[10] Jarlier V, Trystram D, Brun-Buisson C, Fournier S, Carbonne A, Marty L, et al. Curbing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in 38 French hospitals through a 15-year institutional control program. Arch Intern Med 2010;170:552—9.
[11] Abad C, Fearday A, Safdar N. Adverse effects of isolation in hospitalised patients: a systematic review. J Hosp Infect 2010;76:97—102.
[12] Harbarth S, Masuet-Aumatell C, Schrenzel J, Francois P, Akakpo C, Renzi G, et al. Evaluation of rapid screening and pre-emptive contact isolation for detecting and controlling methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in critical care: an interventional cohort study. Crit Care Lond Engl 2006;10:R25.
[13] Muto CA, Jernigan JA, Ostrowsky BE, Richet HM, Jarvis WR, Boyce JM, et al. SHEA guideline for preventing nosocomial transmission of multidrug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and enterococcus. Infect Control Hosp Epidemiol 2003;24:362—86.
[14] Golan Y, Doron S, Griffith J, El Gamal H, Tanios M, Blunt K, et al. The impact of gown-use requirement on hand hygiene compliance. Clin Infect Dis 2006;42:370—6.
[15] Morgan DJ, Diekema DJ, Sepkowitz K, Perencevich EN. Adverse outcomes associated with contact precautions: a review of the literature. Am J Infect Control 2009;37:85—93.
[16] Kelly AM, Mathema B, Larson EL. Carbapenem-resistant Enterobacteriaciae in the community: a scoping review. Int J Antimicrob Agents 2017;50:127—34.
[17] Dortet L, Cuzon G, Plésiat P, Naas T. Prospective evaluation of an algorithm for the phenotypic screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. J Antimicrob Chemother 2016;71:135—40.
[18] Fournier S, Desenfant L, Monteil C, Nion-Huang M, Richard C, Jarlier V. Efficiency of different control measures for preventing carbapenemase-producing enterobacteria and glycopeptide-resistant *Enterococcus faecium* outbreaks: a 6-year prospective study in a French multihospital institution, January 2010 to December 2015. Eurosurveillance 2018;23(8).
[19] Schwaber MJ, Carmeli Y. An ongoing national intervention to contain the spread of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. Clin Infect Dis 2014;58:697—703.
[20] Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, PRISMA Group. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. Ann Intern Med 2009;151:264—9. W64.

[25] IntHout J, Ioannidis JPA, Borm GF. The Hartung–Knapp–Sidik–Jonkman method for random effects meta-analysis is straightforward and considerably outperforms the standard DerSimonian–Laird method. BMC Med Res Methodol 2014;14:25.
[26] Röver C, Knapp G, Friede T. Hartung–Knapp–Sidik–Jonkman approach and its modification for random-effects meta-analysis with few studies. BMC Med Res Methodol 2015;15:99.
[27] Higgins JPT, Thompson SG, Deeks JJ, Altman DG. Measuring inconsistency in meta-analyses. BMJ 2003;327(7414):557–60.
[30] King C, Grandison T, Cawthorne J, Currie K. Patient experience of hospital screening for carbapenemase-producing Enterobacteriaciae: a qualitative study. J Clin Nurs 2019;28(21–22):3890–900.
[31] Rump B, Timen A, Hulscher M, Verweij M. Ethics of infection control measures for carriers of antimicrobial drug-resistant organisms. Emerg Infect Dis 2018;24:1609–16.
[32] Webber KL, Macpherson S, Meagher A, Hutchinson S, Lewis B. The impact of strict isolation on MRSA positive patients: an action-based study undertaken in a rehabilitation center. Rehabil Nurs 2012;37:43–50.
[33] Skyman E, Sjöström HT, Hellström L. Patients' experiences of being infected with MRSA at a hospital and subsequently source isolated. Scand J Caring Sci 2010;24:101–7.
[34] Martin EM, Bryant B, Grogan TR, Rubin Z, Russell D, Elashoff D, et al. Noninfectious hospital adverse events decline after elimination of contact precautions for MRSA and VRE. Infect Control Hosp Epidemiol 2018;39:788–96.
[35] Searcy RJ, Jankowski CA, Johnson DW, Ferreira JA. Evaluation of sedation-related medication errors in patients on contact isolation in the intensive care unit. J Hosp Infect 2018;98:175–80.
[36] Livorsi DJ, Kundu MG, Batteiger B, Kressel AB. Effect of contact precautions for MRSA on patient satisfaction scores. J Hosp Infect 2015;90:263–6.
[37] Tran K, Bell C, Stall N, Tomlinson G, McGeer A, Morris A, et al. The effect of hospital isolation precautions on patient outcomes and cost of care: a multi-site, retrospective, propensity score-matched cohort study. J Gen Intern Med 2017;32:262–8.
[38] Karki S, Leder K, Cheng AC. Patients under contact precautions have an increased risk of injuries and medication errors: a retrospective cohort study. Infect Control Hosp Epidemiol 2013;34:1118–20.
[39] Mehrotra P, Croft L, Day HR, Perencevich EN, Pineles L, Harris AD, et al. Effects of contact precautions on patient perception of care and satisfaction: a prospective cohort study. Infect Control Hosp Epidemiol 2013;34:1087–93.
[40] Gandra S, Barysauskas CM, Mack DA, Barton B, Finberg R, Ellison RT. Impact of contact precautions on falls, pressure ulcers and transmission of MRSA and VRE in hospitalized patients. J Hosp Infect 2014;88:170–6.
[41] Masse V, Valiquette L, Boukhoudmi S, Bonenfant F, Talab Y, Carvalho J-C, et al. Impact of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* contact isolation units on medical care. PLoS One 2013;8(2).
[42] Morgan DJ, Day HR, Harris AD, Furuno JP, Perencevich EN. The impact of contact isolation on the quality of inpatient hospital care. PLoS One 2011;6(7).
[43] Morgan DJ, Pineles L, Shardell M, Graham MM, Mohammadi S, Forrest GN, et al. The effect of contact precautions on healthcare worker activity in acute care hospitals. Infect Control Hosp Epidemiol 2013;34:69–73.
[44] Girotra M, Abraham RR, Pahwa M. *Clostridium difficile* infection: how safe are the household contacts? Am J Infect Control 2013;41:1140–1.
[45] Colorado B, Del Toro D, Tarima S. Impact of contact isolation on FIM score change, FIM efficiency score, and length of stay in patients in acute inpatient rehabilitation facility. PM R 2014;6:988–91.
[46] Dashiell-Earp CN, Bell DS, Ang AO, Uslan DZ. Do physicians spend less time with patients in contact isolation? A time–motion study of internal medicine interns. JAMA Intern Med 2014;174:814–15.
[47] McLemore A, Bearman G, Edmond MB. Effect of contact precautions on wait time from emergency room disposition to inpatient admission. Infect Control Hosp Epidemiol 2011;32:298–9.
[48] Dortet L, Bréchard L, Cuzon G, Poirel L, Nordmann P. Strategy for rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaciae. Antimicrob Agents Chemother 2014;58:2441–5.
[49] Nordmann P, Poirel L. The difficult-to-control spread of carbapenemase producers among Enterobacteriaceae worldwide. Clin Microbiol Infect 2014;20:821–30.
[50] Stelfox HT, Bates DW, Redelmeier DA. Safety of patients isolated for infection control. JAMA 2003;290:1899–905.
[51] Santos RP, Mayo TW, Siegel JD. Healthcare epidemiology: active surveillance cultures and contact precautions for control of multidrug-resistant organisms: ethical considerations. Clin Infect Dis 2008;47:110–16.

*** Supplementary Material***

Materials/methods:

Search strategy and selection criteria

A step-by-step search was carried out, including the following terms:

"Adverse events"[All Fields] OR "Psychology"[Mesh] OR "Psychiatry"[Mesh] OR "Anxiety"[Mesh] OR "Depression"[Mesh] OR "Adverse events"[tw] OR "side effects"[tw] OR "Side Effects, Psychological"[tw] OR "Psychological Side Effects"[tw] OR "Psychological Side Effect"[tw] OR "Side Effect, Psychological"[tw] OR "Psychosocial Factors"[tw] OR "Factor, Psychosocial"[tw] OR "Factors, Psychosocial"[tw] OR "Psychosocial Factor"[tw] OR "Psychological Factors"[tw] OR "Factors, Psychological"[tw] OR "Factor, Psychological"[tw] OR "Psychological Factor"[tw] OR "Psychologists"[tw] OR "Psychologist"[tw] OR "psychiatric"[tw] OR "Hypervigilance"[tw] OR "Nervousness"[tw] OR "Social Anxiety"[tw] OR "Anxieties, Social"[tw] OR "Anxiety, Social"[tw] OR "Social Anxieties"[tw] OR "Depressions"[tw] OR "Depressive Symptoms"[tw] OR "Depressive Symptom"[tw] OR "Symptom, Depressive"[tw] OR "Symptoms, Depressive"[tw] OR "Emotional Depression"[tw] OR "Depression, Emotional"[tw] OR "Depressions, Emotional"[tw] OR "Emotional Depressions"[tw] AND "Patient isolation/methods"[Mesh] OR "Contact Isolation"[All fields] OR "Patient isolation/organization and administration"[Mesh] OR "Bacterial infections/prevention and control"[Mesh] OR "Bacterial Infections/microbiology"[Mesh] OR "Bacterial infections/transmission"[Mesh] OR "Bacterial infections/epidemiology"[Mesh] OR "Bacteria/isolation and purification"[Mesh] OR "Quarantine"[Mesh] OR "Patient safety"[Mesh] OR "Infection/prevention and control"[Mesh] OR "patient isolation"[All fields] OR "Infection, Bacterial"[tw] OR "Infections, Bacterial/ Bacterial Infection"[tw] OR "Quarantines"[tw] OR "Patient safety"[tw] OR "Infection and Infestation"[tw] OR "Infestation and Infection"[tw] OR "Infections and Infestations"[tw] OR "Infestations and Infections"[tw] OR "Infection"[tw] AND "Extended-spectrum beta-lactamases"[All fields] OR "Multidrug Resistant Organisms"[All fields] OR "Multi-drug Resistant Organisms"[All fields] OR "MDRO"[All fields] OR "Acinetobacter"[Mesh] OR "Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae"[Mesh] OR "Vancomycin-Resistant Enterococci"[Mesh] OR "Methicillin Resistant Staphylococcus aureus"[Mesh] OR "Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae"[tw] OR "Vancomycin Resistant Enterococci"[tw].

At each step, all titles were evaluated by two of the authors (RS and JRZ) and abstracts were extracted for review. Abstracts containing the following keywords or their synonyms: "patient isolation" or "cohorting" or "adverse events" or "multi-drug resistant organisms" were selected and articles read in details. In addition, references of all articles in these eligible studies were also read to identify additional relevant literature. Also, to be included, the articles must have met the following criteria: (1) MDRO carriers or infected patients; (2) patients placed on contact isolation

(3) studies of AE happening during contact isolation. Exclusion criteria were: (1) duplications or overlapping studies; (2) cost studies; (3) pediatric population; (4) non-isolated patients; (5) review articles.

Classification and definition of Adverse Events:

1. Adverse events related to clinical care:

Falls
Trauma
Hemorrhage and/or hematoma
Higher mortality
Hospital-onset infections with *Clostridium difficile*
Central-line–associated bloodstream infections
Catheter-associated urinary tract infections
Postoperative sepsis
Surgical site infections
Clinical infections caused by multi-drug resistant bacteria
Postoperative respiratory failure
Wounds dehiscence
Pressure ulcers
Pulmonary embolism or deep vein thrombosis
Ventilator-associated pneumonia
Tracheostomy more frequently required
Over sedation
Accidental catheter removal
Accidental extubating
Anticoagulant administration errors
Anticoagulant prescription errors
Red blood cell transfusion errors
Insulin administration errors
Hypoglycemia
Hyperglycemia
ICU-acquired hypernatremia episodes
Medication incidents
Treatment incidents
Safety incidents
Prescription and pharmacy-related errors
Diagnosis related errors
Clinical management errors
Prolonged stay in the ICU
Longer time on mechanical ventilation
Delays in accessing CT scans
30-day readmissions
30-day Emergency department visits

Laboratory incidents
Infection control incidents
Equipment incidents

2. Adverse events related to patient's experience:

Pain not well controlled
Patient support failures
Longer hospitalization duration
Lower visits of healthcare workers
Overall bad hospital rating by the patient
Doctors / Nurses treating patients with no courtesy and respect
Doctors / Nurses not listening carefully to patients needs
Doctors / Nurses not explaining things in an understandable way to the patients
Patients not receiving help after pressing call button
Rooms and bathrooms not kept clean
Room not quiet at night
No received help with patient's bathroom/bedpan
Hospital staff not helping with pain management
Hospital staff not explaining new medications
Hospital staff not describing side effects of medications
Hospital staff not discussing help after discharge
Patients not receiving written information on problems to look for after discharge
Overall bad hospital rating by the patient
Doctors / Nurses treating patients with no courtesy and respect
Doctors / Nurses not listening carefully to patients needs
Doctors / Nurses not explaining things in an understandable way to the patients
Patients not receiving help after pressing call button
Rooms and bathrooms not kept clean
Room not quiet at night
No received help with patient's bathroom/bedpan
Hospital staff not helping with pain management
Hospital staff not explaining new medications
Hospital staff not describing side effects of medications
Hospital staff not discussing help after discharge
Patients not receiving written information on problems to look for after discharge
Patient complaints
Patient aggressions
Patient noncompliance
Patient's hospitalization cost

DISCUSSION GÉNÉRALE

L'objectif de ce travail de thèse était d'évaluer les facteurs associés à la contamination de l'environnement autour des patients colonisés ou infectés par une BHRe et d'évoquer des moyens alternatifs de maitrise de ce risque, applicables et compatibles avec l'offre de soins disponible dans les pays à revenus moyens ou faibles, en particulier le Liban. Nos travaux ont permis de mettre en évidence les points suivants :

1- Il est possible d'utiliser les techniques moléculaires, comme outil de dépistage d'une colonisation par une BHRe, sur les écouvillons rectaux des patients contact prélevés le jour d'une découverte fortuite d'un patient index infecté ou colonisé par une BHRe et non isolé. Cette proposition est déduite de notre étude multicentrique rétrospective et de la revue de la littérature effectuée. Notre revue systématique de la littérature et méta-analyse, a suggéré une sensibilité et spécificité du test, réalisé directement sur des prélèvements rectaux, respective de 95% et 99%. De même, nous avons montré que la réalisation d'une PCR sur les écouvillons rectaux des patients identifiés comme contact avait une valeur prédictive négative élevée de l'ordre de 98%, permettant d'identifier dès J0 les cas secondaires ayant acquis une EPC ou un ERV. Malgré un faible effectif de patients et son caractère rétrospectif, cette étude multicentrique nous permet de proposer, dans les structures à faible revenus, le maintien d'une activité et le transfert possible de patients contact dont la PCR serait négative à J0 de la découverte fortuite, sans prise de risque importante pour les structures d'aval.

2- La contamination de l'environnement est plus importante autour des patients colonisés ou infectés par un ERV, suggérant la nécessité du respect des mesures plus importante en cas d'hospitalisation de patients colonisés ou infectés par un ERV. Les données épidémiologiques du Liban suggèrent une faible prévalence de patients colonisés ou infectés par un ERV, rendant possible une politique verticale basée sur l'identification du réservoir et l'isolement des patients identifiés. Quant aux patients colonisés ou infectés par une EPC, il semblerait que la contamination environnementale soit moins fréquente. Le caractère endémo-épidémique du Liban nous amène donc à suggérer des mesures

horizontales avec un renforcement du bio-nettoyage et un respect élevé des précautions standards, le tout accompagné d'une politique de bon usage des antibiotiques.

Le point fort de cette étude réside dans son caractère multicentrique incluant un hôpital (Liban-HDF) endémo-épidémique.

3- Il est difficile d'identifier les facteurs de risque liés à la dissémination dans l'environnement des BHRe. Une des raisons potentielles serait la variabilité de l'abondance relative pendant le séjour des patients, rendant difficiles l'interprétation d'un résultat de dépistage et la tentative de corréler l'abondance fécale à la contamination de l'environnement. Cette observation est issue de notre étude mettant en évidence une évolution de l'abondance fécale relative dans le temps chez un même patient colonisé par une EPC et pendant la même hospitalisation. Bien que préliminaire et réalisée sur un faible nombre de patients, cette étude est la première qui met en évidence la dynamique de la colonisation rectale et souline les importantes variations dans le temps chez un même patient colonisé. Malheureusement, du fait d'un faible nombre de patients inclus, nous avons été dans l'incapacité d'étudier les variables associées à ces variations.
4- Malgré de nombreuses études discordantes, notre revue de la littérature a mis en évidence l'absence théorique d'évènements indésirables associés à l'isolement des patients colonisés ou infectés par une BHRe. Toutefois, notre travail a mis en exergue l'hétérogénéité des données et des indicateurs choisis par les différents auteurs et souligne la nécessité de mener des études prospectives, multicentriques, pour mettre en évidence l'existence réelle d'évènements indésirables liés à l'isolement.

Nous reconnaissons que notre travail présente de nombreuses limites. Premièrement, l'étude de la dissémination dans l'environnement a été effectuée dans un seul centre hospitalier libanais et les résultats peuvent ne pas être vrais pour tous les hôpitaux au Liban. Deuxièmement, un faible effectif de patients a été inclus et des marqueurs indirects ont été évalués dans la plupart des études. Troisièmement, toutes les études réalisées dans le cadre de cette thèse sont des études de cohorte observationnelle prospective ou rétrospective. Enfin, dans l'absence d'évaluation directe de l'isolement des patients, la méta-analyse réalisée ne démontre pas, mais nous permet de suggérer que l'isolement n'entraine pas des effets indésirables évitables.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

"When you can measure what you are speaking about and express it in numbers, you know something about it. If you cannot measure it, you cannot improve it"
Lord Kelvin (1824-1907)

Apports principaux de cette thèse :

Nous pensons que les données présentées dans cette thèse nous permettent d'envisager une politique de maitrise du risque de diffusion des BHRe, adaptée aux moyens médicaux et structures sanitaires des pays à revenus moyens ou faible, comme le Liban. Cette politique consisterait à réserver l'application des précautions complémentaires contact uniquement aux patients colonisés ou infectés par un ERV. A l'inverse et concernant les patients colonisés ou infectés par une EPC, la stratégie de maitrise du risque de diffusion pourrait se limiter au respect des précautions standards et à un haut niveau de compliance à l'hygiène des mains, tout en respectant la politique de bon usage des antibiotiques. En effet, outre le faible risque de contamination environnementale, de nombreuses données concernant les entérobactéries suggèrent la possibilité d'une maitrise du risque de diffusion sans passer par la politique actuellement en vigueur. Enfin, en cas de découverte fortuite d'un patient colonisé ou infecté par une BHRe et non isolé, la réalisation d'un dépistage des patients contact, utilisant les techniques moléculaires directement sur les écouvillons rectaux, permettrait d'identifier à J0 une possible transmission croisée et donc limiter l'application des précautions complémentaires contact aux patients avérés colonisés. Ainsi, le risque d'épidémie secondaire dans l'établissement sera maitrisé sans devoir arrêter l'activité.

Perspectives de recherche :

Ce travail de thèse débouche sur de nombreuses perspectives. En ce qui concerne l'Hôpital universitaire, l'Hôtel Dieu de France de Beyrouth, l'application d'une politique ciblée de maitrise du risque, basée sur les résultats de ce travail de thèse, est possible. Cependant, il reste à (1) mieux déterminer la prévalence de colonisation par une EPC ou un ERV dans la population communautaire au Liban, afin de définir la pression de colonisation et d'identifier les variables associées à la colonisation, et (2) évaluer la contamination de l'environnement dans d'autres hôpitaux libanais, afin de pouvoir généraliser des recommandations.

Pour les pays à revenus moyens ou faibles, notre travail a consisté à proposer une politique de gestion du risque de diffusion des BHRe en général et des EPC en particulier. Toutefois, cette proposition, basée sur l'évaluation des risques autour de chacune des espèces bactériennes multi-résistantes et chacun des mécanismes de résistance, doit aussi prendre en compte les données suivantes : (1) Le risque lié aux caractéristiques microbiologiques d'une espèce bactérienne, en rapport avec la fréquence de colonisation intestinale spécifique par cette espèce et sa capacité de transfert de gènes de résistance à d'autres espèces ; (2) Le risque lié à la survie d'une espèce bactérienne dans l'environnement et sa persistance ; (3) Le risque lié au caractère réussi d'un clone multi-résistant d'une espèce bactérienne donnée ; et enfin (4) le risque lié à la pression de colonisation d'une espèce bactérienne dans un établissement de santé donné.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System (GLASS) Report: 2021 [Internet]. [cited 2021 Jul 11]. Available from: https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789240027336

2. LE PAIH LEROY M-F. Les bactéries multi-résistantes BMR en HEPAD, mythe ou réalité [DIU de médecin coordonnateur HEPAD]. UNIVERSITE PARIS V Faculté Cochin Port Royal; 2007.

3. Guide pratique de la maitrise des bactéries multirésistantes aux antibiotiques. Inter Clin Hauts Cant Hérault. 2009;1–27.

4. 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.

5. Weiner-Lastinger LM, Abner S, Edwards JR, Kallen AJ, Karlsson M, Magill SS, et al. Antimicrobial-resistant pathogens associated with adult healthcare-associated infections: Summary of data reported to the National Healthcare Safety Network, 2015-2017. Infect Control Hosp Epidemiol. 2020 Jan;41(1):1–18.

6. Lautenbach E, Patel JB, Bilker WB, Edelstein PH, Fishman NO. Extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae: risk factors for infection and impact of resistance on outcomes. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 2001 Apr 15;32(8):1162–71.

7. Papadimitriou-Olivgeris M, Drougka E, Fligou F, Kolonitsiou F, Liakopoulos A, Dodou V, et al. Risk factors for enterococcal infection and colonization by vancomycin-resistant enterococci in critically ill patients. Infection. 2014 Dec;42(6):1013–22.

8. Chiotos K, Tamma PD, Flett KB, Naumann M, Karandikar MV, Bilker WB, et al. Multicenter Study of the Risk Factors for Colonization or Infection with Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae in Children. Antimicrob Agents Chemother. 2017 Dec;61(12):e01440-17.

9. Morgan DJ, Diekema DJ, Sepkowitz K, Perencevich EN. Adverse outcomes associated with Contact Precautions: a review of the literature. Am J Infect Control. 2009 Mar;37(2):85–93.

10. Hayden MK, Blom DW, Lyle EA, Moore CG, Weinstein RA. Risk of hand or glove contamination after contact with patients colonized with vancomycin-resistant enterococcus or the colonized patients' environment. Infect Control Hosp Epidemiol. 2008 Feb;29(2):149–54.

11. Thom KA, Johnson JK, Lee MS, Harris AD. Environmental contamination because of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii surrounding colonized or infected patients. Am J Infect Control. 2011 Nov;39(9):711–5.

12. Munoz-Price LS, Namias N, Cleary T, Fajardo-Aquino Y, Depascale D, Arheart KL, et al. Acinetobacter baumannii: association between environmental contamination of patient rooms and occupant status. Infect Control Hosp Epidemiol. 2013 May;34(5):517–20.

13. Creamer E, Shore AC, Rossney AS, Dolan A, Sherlock O, Fitzgerald-Hughes D, et al. Transmission of endemic ST22-MRSA-IV on four acute hospital wards investigated using a combination of spa,

dru and pulsed-field gel electrophoresis typing. Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol. 2012 Nov;31(11):3151–61.

14. Lerner A, Adler A, Abu-Hanna J, Meitus I, Navon-Venezia S, Carmeli Y. Environmental contamination by carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. J Clin Microbiol. 2013 Jan;51(1):177–81.

15. Weber DJ, Anderson D, Rutala WA. The role of the surface environment in healthcare-associated infections. Curr Opin Infect Dis. 2013 Aug;26(4):338–44.

16. Eckstein BC, Adams DA, Eckstein EC, Rao A, Sethi AK, Yadavalli GK, et al. Reduction of Clostridium Difficile and vancomycin-resistant Enterococcus contamination of environmental surfaces after an intervention to improve cleaning methods. BMC Infect Dis. 2007 Jun 21;7:61.

17. Guet-Revillet H, Le Monnier A, Breton N, Descamps P, Lecuyer H, Alaabouche I, et al. Environmental contamination with extended-spectrum β-lactamases: is there any difference between Escherichia coli and Klebsiella spp? Am J Infect Control. 2012 Nov;40(9):845–8.

18. Prospero E, Barbadoro P, Marigliano A, D'Errico MM. Health care workers, immunization and safety issues: reflections from Italy. Am J Infect Control. 2013 Jul;41(7):664.

19. Biggest Threats and Data | Antibiotic/Antimicrobial Resistance | CDC [Internet]. [cited 2019 Jul 22]. Available from: https://www.cdc.gov/drugresistance/biggest_threats.html

20. 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

21. Otter JA, Burgess P, Davies F, Mookerjee S, Singleton J, Gilchrist M, et al. Counting the cost of an outbreak of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: an economic evaluation from a hospital perspective. Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis. 2017 Mar;23(3):188–96.

22. Zhen X, Lundborg CS, Sun X, Hu X, Dong H. The Clinical and Economic Impact of Antibiotic Resistance in China: A Systematic Review and Meta-Analysis. Antibiot Basel Switz. 2019 Aug 10;8(3):E115.

23. de Kraker MEA, Davey PG, Grundmann H, BURDEN study group. Mortality and hospital stay associated with resistant Staphylococcus aureus and Escherichia coli bacteremia: estimating the burden of antibiotic resistance in Europe. PLoS Med. 2011 Oct;8(10):e1001104.

24. PLOS Medicine Editors. Antimicrobial Resistance: Is the World UNprepared? PLoS Med. 2016 Sep;13(9):e1002130.

25. Infectious Diseases Society of America (IDSA), Spellberg B, Blaser M, Guidos RJ, Boucher HW, Bradley JS, et al. Combating antimicrobial resistance: policy recommendations to save lives. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 2011 May;52 Suppl 5:S397-428.

26. Salgado CD, Farr BM, Calfee DP. Community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus: a meta-analysis of prevalence and risk factors. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 2003 Jan 15;36(2):131–9.

27. Doi Y, Park YS, Rivera JI, Adams-Haduch JM, Hingwe A, Sordillo EM, et al. Community-associated extended-spectrum β-lactamase-producing Escherichia coli infection in the United States. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 2013 Mar;56(5):641–8.

28. van den Bogaard AE, Jensen LB, Stobberingh EE. Vancomycin-resistant enterococci in turkeys and farmers. N Engl J Med. 1997 Nov 20;337(21):1558–9.

29. Gambarotto K, Ploy MC, Turlure P, Grélaud C, Martin C, Bordessoule D, et al. Prevalence of vancomycin-resistant enterococci in fecal samples from hospitalized patients and nonhospitalized controls in a cattle-rearing area of France. J Clin Microbiol. 2000 Feb;38(2):620–4.

30. Balzereit-Scheuerlein F, Stephan R. Prevalence of colonisation and resistance patterns of vancomycin-resistant enterococci in healthy, non-hospitalised persons in Switzerland. Swiss Med Wkly. 2001 May 19;131(19–20):280–2.

31. Trajkovska-Dokic E, Kaftandzieva A, Stojkovska S, Kuzmanovska A, Panovski N. Gastrointestinal Colonization with Vancomycin-Resistant Enterococci In Hospitalized and Outpatients. Open Access Maced J Med Sci. 2015 Mar 15;3(1):7–11.

32. Hannaoui I, Barguigua A, Serray B, El Mdaghri N, Timinouni M, Ait Chaoui A, et al. Intestinal carriage of vancomycin-resistant enterococci in a community setting in Casablanca, Morocco. J Glob Antimicrob Resist. 2016 Sep;6:84–7.

33. Adesida SA, Ezenta CC, Adagbada AO, Aladesokan AA, Coker AO. CARRIAGE OF MULTIDRUG RESISTANT ENTEROCOCCUS FAECIUM AND ENTEROCOCCUS FAECALIS AMONG APPARENTLY HEALTHY HUMANS. Afr J Infect Dis. 2017;11(2):83–9.

34. Denkinger CM, Grant AD, Denkinger M, Gautam S, D'Agata EMC. Increased multi-drug resistance among the elderly on admission to the hospital--a 12-year surveillance study. Arch Gerontol Geriatr. 2013 Feb;56(1):227–30.

35. 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

36. Fournier S, Desenfant L, Monteil C, Nion-Huang M, Richard C, Jarlier V. Efficiency of different control measures for preventing carbapenemase-producing enterobacteria and glycopeptide-resistant Enterococcus faecium outbreaks: a 6-year prospective study in a French multihospital institution, January 2010 to December 2015. Eurosurveillance [Internet]. 2018 Feb 22 [cited 2019 Apr 30];23(8). Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5829535/

37. Schwaber MJ, Carmeli Y. An ongoing national intervention to contain the spread of carbapenem-resistant enterobacteriaceae. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 2014 Mar;58(5):697–703.

38. 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).

39. 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

40. Dortet L, Cuzon G, Ponties V, Nordmann P. Trends in carbapenemase-producing Enterobacteriaceae, France, 2012 to 2014. Euro Surveill Bull Eur Sur Mal Transm Eur Commun Dis Bull. 2017 Feb 9;22(6).

41. Ayukekbong JA, Ntemgwa M, Atabe AN. The threat of antimicrobial resistance in developing countries: causes and control strategies. Antimicrob Resist Infect Control. 2017;6:47.

42. Hay SI, Rao PC, Dolecek C, Day NPJ, Stergachis A, Lopez AD, et al. Measuring and mapping the global burden of antimicrobial resistance. BMC Med. 2018 Jun 4;16(1):78.

43. Birgand G, Leroy C, Nerome S, Luong Nguyen LB, Lolom I, Armand-Lefevre L, et al. Costs associated with implementation of a strict policy for controlling spread of highly resistant microorganisms in France. BMJ Open. 2016 Jan 29;6(1):e009029.

44. Kelly AM, Mathema B, Larson EL. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in the community: a scoping review. Int J Antimicrob Agents. 2017 Aug;50(2):127–34.

45. Kluytmans-van den Bergh MFQ, Bruijning-Verhagen PCJ, Vandenbroucke-Grauls CMJE, de Brauwer EIGB, Buiting AGM, Diederen BM, et al. Contact precautions in single-bed or multiple-bed rooms for patients with extended-spectrum β-lactamase-producing Enterobacteriaceae in Dutch hospitals: a cluster-randomised, crossover, non-inferiority study. Lancet Infect Dis. 2019;19(10):1069–79.

46. Maechler F, Schwab F, Hansen S, Fankhauser C, Harbarth S, Huttner BD, et al. Contact isolation versus standard precautions to decrease acquisition of extended-spectrum β-lactamase-producing Enterobacterales in non-critical care wards: a cluster-randomised crossover trial. Lancet Infect Dis. 2020 May;20(5):575–84.

47. Hammoudi D, Moubareck CA, Sarkis DK. How to detect carbapenemase producers? A literature review of phenotypic and molecular methods. J Microbiol Methods. 2014 Dec;107:106–18.

48. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. Clin Microbiol Rev. 2007 Jul;20(3):440–58, table of contents.

49. Naas T, Dortet L, Iorga BI. Structural and Functional Aspects of Class A Carbapenemases. Curr Drug Targets. 2016;17(9):1006–28.

50. 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.

51. Bratu S, Mooty M, Nichani S, Landman D, Gullans C, Pettinato B, et al. Emergence of KPC-possessing Klebsiella pneumoniae in Brooklyn, New York: epidemiology and recommendations for detection. Antimicrob Agents Chemother. 2005 Jul;49(7):3018–20.

52. Woodford N, Tierno PM, Young K, Tysall L, Palepou M-FI, Ward E, et al. Outbreak of Klebsiella pneumoniae producing a new carbapenem-hydrolyzing class A beta-lactamase, KPC-3, in a New York Medical Center. Antimicrob Agents Chemother. 2004 Dec;48(12):4793–9.

53. Deshpande LM, Rhomberg PR, Sader HS, Jones RN. Emergence of serine carbapenemases (KPC and SME) among clinical strains of Enterobacteriaceae isolated in the United States Medical Centers: report from the MYSTIC Program (1999-2005). Diagn Microbiol Infect Dis. 2006 Dec;56(4):367–72.

54. Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Emerg Infect Dis. 2011 Oct;17(10):1791–8.

55. Jeon JH, Lee JH, Lee JJ, Park KS, Karim AM, Lee C-R, et al. Structural basis for carbapenem-hydrolyzing mechanisms of carbapenemases conferring antibiotic resistance. Int J Mol Sci. 2015 Apr 29;16(5):9654–92.

56. Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm? Clin Microbiol Rev. 2005 Apr;18(2):306–25.

57. Kuwabara S, Abraham EP. Some properties of two extracellular beta-lactamases from Bacillus cereus 569/H. Biochem J. 1967 Jun;103(3):27C-30C.

58. Watanabe M, Iyobe S, Inoue M, Mitsuhashi S. Transferable imipenem resistance in Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob Agents Chemother. 1991 Jan;35(1):147–51.

59. Mollenkopf DF, Stull JW, Mathys DA, Bowman AS, Feicht SM, Grooters SV, et al. Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae Recovered from the Environment of a Swine Farrow-to-Finish Operation in the United States. Antimicrob Agents Chemother. 2017 Feb;61(2):e01298-16.

60. Yong D, Toleman MA, Giske CG, Cho HS, Sundman K, Lee K, et al. Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, bla(NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in Klebsiella pneumoniae sequence type 14 from India. Antimicrob Agents Chemother. 2009 Dec;53(12):5046–54.

61. Khan AU, Nordmann P. Spread of carbapenemase NDM-1 producers: the situation in India and what may be proposed. Scand J Infect Dis. 2012 Jul;44(7):531–5.

62. Le Terrier C, Masseron A, Uwaezuoke NS, Edwin CP, Ekuma AE, Olugbeminiyi F, et al. Wide spread of carbapenemase-producing bacterial isolates in a Nigerian environment. J Glob Antimicrob Resist. 2020 Jun;21:321–3.

63. Tang B, Chang J, Cao L, Luo Q, Xu H, Lyu W, et al. Characterization of an NDM-5 carbapenemase-producing Escherichia coli ST156 isolate from a poultry farm in Zhejiang, China. BMC Microbiol. 2019 Apr 25;19(1):82.

64. Rafei R, Dabboussi F, Hamze M, Eveillard M, Lemarié C, Mallat H, et al. First report of blaNDM-1-producing Acinetobacter baumannii isolated in Lebanon from civilians wounded during the Syrian war. Int J Infect Dis IJID Off Publ Int Soc Infect Dis. 2014 Apr;21:21–3.

65. Evans BA, Amyes SGB. OXA β-lactamases. Clin Microbiol Rev. 2014 Apr;27(2):241–63.

66. Walther-Rasmussen J, Høiby N. Class A carbapenemases. J Antimicrob Chemother. 2007 Sep;60(3):470–82.

67. Jean S-S, Lee W-S, Lam C, Hsu C-W, Chen R-J, Hsueh P-R. Carbapenemase-producing Gram-negative bacteria: current epidemics, antimicrobial susceptibility and treatment options. Future Microbiol. 2015;10(3):407–25.

68. Scaife W, Young HK, Paton RH, Amyes SG. Transferable imipenem-resistance in Acinetobacter species from a clinical source. J Antimicrob Chemother. 1995 Sep;36(3):585–6.

69. Poirel L, Héritier C, Tolün V, Nordmann P. Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in Klebsiella pneumoniae. Antimicrob Agents Chemother. 2004 Jan;48(1):15–22.

70. Poirel L, Potron A, Nordmann P. OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. J Antimicrob Chemother. 2012 Jul;67(7):1597–606.

71. 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.

72. Koyano S, Saito R, Nagai R, Tatsuno K, Okugawa S, Okamura N, et al. Molecular characterization of carbapenemase-producing clinical isolates of Enterobacteriaceae in a teaching hospital, Japan. J Med Microbiol. 2013 Mar;62(Pt 3):446–50.

73. Kim JY, Jung HI, An YJ, Lee JH, Kim SJ, Jeong SH, et al. Structural basis for the extended substrate spectrum of CMY-10, a plasmid-encoded class C beta-lactamase. Mol Microbiol. 2006 May;60(4):907–16.

74. Hammoudi D, Ayoub Moubareck C, Aires J, Adaime A, Barakat A, Fayad N, et al. Countrywide spread of OXA-48 carbapenemase in Lebanon: surveillance and genetic characterization of carbapenem-non-susceptible Enterobacteriaceae in 10 hospitals over a one-year period. Int J Infect Dis IJID Off Publ Int Soc Infect Dis. 2014 Dec;29:139–44.

75. Hammoudi Halat D, Ayoub Moubareck C. The Current Burden of Carbapenemases: Review of Significant Properties and Dissemination among Gram-Negative Bacteria. Antibiot Basel Switz. 2020 Apr 16;9(4):E186.

76. Nordmann P, Mariotte S, Naas T, Labia R, Nicolas MH. Biochemical properties of a carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase from Enterobacter cloacae and cloning of the gene into Escherichia coli. Antimicrob Agents Chemother. 1993 May;37(5):939–46.

77. Naas T, Vandel L, Sougakoff W, Livermore DM, Nordmann P. Cloning and sequence analysis of the gene for a carbapenem-hydrolyzing class A beta-lactamase, Sme-1, from Serratia marcescens S6. Antimicrob Agents Chemother. 1994 Jun;38(6):1262–70.

78. Dabos L, Patiño-Navarrete R, Nastro M, Famiglietti A, Glaser P, Rodriguez CH, et al. SME-4-producing Serratia marcescens from Argentina belonging to clade 2 of the S. marcescens phylogeny. J Antimicrob Chemother. 2019 Jul 1;74(7):1836–41.

79. Rasmussen BA, Bush K, Keeney D, Yang Y, Hare R, O'Gara C, et al. Characterization of IMI-1 beta-lactamase, a class A carbapenem-hydrolyzing enzyme from Enterobacter cloacae. Antimicrob Agents Chemother. 1996 Sep;40(9):2080–6.

80. Boyd DA, Mataseje LF, Davidson R, Delport JA, Fuller J, Hoang L, et al. Enterobacter cloacae Complex Isolates Harboring blaNMC-A or blaIMI-Type Class A Carbapenemase Genes on Novel Chromosomal Integrative Elements and Plasmids. Antimicrob Agents Chemother. 2017 May;61(5):e02578-16.

81. 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.

82. Woodford N, Tierno PM, Young K, Tysall L, Palepou M-FI, Ward E, et al. Outbreak of Klebsiella pneumoniae producing a new carbapenem-hydrolyzing class A beta-lactamase, KPC-3, in a New York Medical Center. Antimicrob Agents Chemother. 2004 Dec;48(12):4793–9.

83. Limbago BM, Rasheed JK, Anderson KF, Zhu W, Kitchel B, Watz N, et al. IMP-producing carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae in the United States. J Clin Microbiol. 2011 Dec;49(12):4239–45.

84. Tada T, Miyoshi-Akiyama T, Shimada K, Kirikae T. Biochemical analysis of metallo-β-lactamase NDM-3 from a multidrug-resistant Escherichia coli strain isolated in Japan. Antimicrob Agents Chemother. 2014 Jun;58(6):3538–40.

85. Nordmann P, Boulanger AE, Poirel L. NDM-4 metallo-β-lactamase with increased carbapenemase activity from Escherichia coli. Antimicrob Agents Chemother. 2012 Apr;56(4):2184–6.

86. Hornsey M, Phee L, Wareham DW. A novel variant, NDM-5, of the New Delhi metallo-β-lactamase in a multidrug-resistant Escherichia coli ST648 isolate recovered from a patient in the United Kingdom. Antimicrob Agents Chemother. 2011 Dec;55(12):5952–4.

87. Jousset AB, Oueslati S, Bernabeu S, Takissian J, Creton E, Vogel A, et al. False-Positive Carbapenem-Hydrolyzing Confirmatory Tests Due to ACT-28, a Chromosomally Encoded AmpC with Weak Carbapenemase Activity from Enterobacter kobei. Antimicrob Agents Chemother. 2019 May;63(5):e02388-18.

88. Poirel L, Bonnin RA, Nordmann P. Genetic features of the widespread plasmid coding for the carbapenemase OXA-48. Antimicrob Agents Chemother. 2012 Jan;56(1):559–62.

89. Turton JF, Doumith M, Hopkins KL, Perry C, Meunier D, Woodford N. Clonal expansion of Escherichia coli ST38 carrying a chromosomally integrated OXA-48 carbapenemase gene. J Med Microbiol. 2016 Jun;65(6):538–46.

90. Poirel L, Abdelaziz MO, Bernabeu S, Nordmann P. Occurrence of OXA-48 and VIM-1 carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Egypt. Int J Antimicrob Agents. 2013 Jan;41(1):90–1.

91. Vu J, Carvalho J. Enterococcus: review of its physiology, pathogenesis, diseases and the challenges it poses for clinical microbiology. Front Biol. 2011 Oct 1;6(5):357.

92. Leclercq R, Courvalin P. Resistance to glycopeptides in enterococci. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 1997 Apr;24(4):545–54; quiz 555–6.

93. Arthur M, Courvalin P. Genetics and mechanisms of glycopeptide resistance in enterococci. Antimicrob Agents Chemother. 1993 Aug;37(8):1563–71.

94. Lebreton F, Depardieu F, Bourdon N, Fines-Guyon M, Berger P, Camiade S, et al. D-Ala-d-Ser VanN-type transferable vancomycin resistance in Enterococcus faecium. Antimicrob Agents Chemother. 2011 Oct;55(10):4606–12.

95. Werner G, Coque TM, Hammerum AM, Hope R, Hryniewicz W, Johnson A, et al. Emergence and spread of vancomycin resistance among enterococci in Europe. Euro Surveill Bull Eur Sur Mal Transm Eur Commun Dis Bull. 2008 Nov 20;13(47):19046.

96. Xu X, Lin D, Yan G, Ye X, Wu S, Guo Y, et al. vanM, a new glycopeptide resistance gene cluster found in Enterococcus faecium. Antimicrob Agents Chemother. 2010 Nov;54(11):4643–7.

97. Nordmann P. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: overview of a major public health challenge. Med Mal Infect. 2014 Feb;44(2):51–6.

98. Zowawi HM, Balkhy HH, Walsh TR, Paterson DL. β-Lactamase production in key gram-negative pathogen isolates from the Arabian Peninsula. Clin Microbiol Rev. 2013 Jul;26(3):361–80.

99. Global distribution of carbapenemases in Enterobacteriaceae, by country and region [Internet]. Center for Disease Dynamics, Economics & Policy (CDDEP). [cited 2021 Oct 15]. Available from: https://cddep.org/tool/global_distribution_carbapenemases_enterobacteriaceae_country_and_region/

100. Data collection and analysis [Internet]. European Centre for Disease Prevention and Control. [cited 2021 Oct 14]. Available from: https://www.ecdc.europa.eu/en/about-us/networks/disease-networks-and-laboratory-networks/ears-net-data

101. Kassis-Chikhani N, Decré D, Gautier V, Burghoffer B, Saliba F, Mathieu D, et al. First outbreak of multidrug-resistant Klebsiella pneumoniae carrying blaVIM-1 and blaSHV-5 in a French university hospital. J Antimicrob Chemother. 2006 Jan;57(1):142–5.

102. Kassis-Chikhani N, Saliba F, Carbonne A, Neuville S, Decre D, Sengelin C, et al. Extended measures for controlling an outbreak of VIM-1 producing imipenem-resistant Klebsiella pneumoniae in a liver transplant centre in France, 2003-2004. Euro Surveill Bull Eur Sur Mal Transm Eur Commun Dis Bull. 2010 Nov 18;15(46).

103. Pantel A, Marchandin H, Prère M-F, Boutet-Dubois A, Brieu-Roche N, Gaschet A, et al. Faecal carriage of carbapenemase-producing Gram-negative bacilli in hospital settings in southern France. Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol. 2015 May;34(5):899–904.

104. Castanheira M, Deshpande LM, Mathai D, Bell JM, Jones RN, Mendes RE. Early dissemination of NDM-1- and OXA-181-producing Enterobacteriaceae in Indian hospitals: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 2006-2007. Antimicrob Agents Chemother. 2011 Mar;55(3):1274–8.

105. Perry JD, Naqvi SH, Mirza IA, Alizai SA, Hussain A, Ghirardi S, et al. Prevalence of faecal carriage of Enterobacteriaceae with NDM-1 carbapenemase at military hospitals in Pakistan, and evaluation of two chromogenic media. J Antimicrob Chemother. 2011 Oct;66(10):2288–94.

106. Lin MY, Lyles-Banks RD, Lolans K, Hines DW, Spear JB, Petrak R, et al. The importance of long-term acute care hospitals in the regional epidemiology of Klebsiella pneumoniae carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 2013 Nov;57(9):1246–52.

107. Sleiman A, Fayad AGA, Banna H, Matar GM. Prevalence and molecular epidemiology of carbapenem-resistant Gram-negative bacilli and their resistance determinants in the Eastern Mediterranean Region over the last decade. J Glob Antimicrob Resist. 2021 Jun;25:209–21.

108. Matar GM, Cuzon G, Araj GF, Naas T, Corkill J, Kattar MM, et al. Oxacillinase-mediated resistance to carbapenems in Klebsiella pneumoniae from Lebanon. Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis. 2008 Sep;14(9):887–8.

109. Christophy R, Osman M, Mallat H, Achkar M, Ziedeh A, Moukaddem W, et al. Prevalence, antibiotic susceptibility and characterization of antibiotic resistant genes among carbapenem-resistant Gram-negative bacilli and yeast in intestinal flora of cancer patients in North Lebanon. J Infect Public Health. 2017 Dec;10(6):716–20.

110. Kissoyan KA, Araj GF, Matar GM. Prevalence of carbapenem resistance genes and corresponding MIC90 in Enterobacteriaceae at a tertiary care center in Lebanon. J Infect Dev Ctries. 2018 Feb 22;12(2.1):9S.

111. Moghnieh R, Araj GF, Awad L, Daoud Z, Mokhbat JE, Jisr T, et al. A compilation of antimicrobial susceptibility data from a network of 13 Lebanese hospitals reflecting the national situation during 2015-2016. Antimicrob Resist Infect Control. 2019;8:41.

112. Hamze M. Epidemiology and antibiotic susceptibility patterns of carbapenem resistant Gram negative bacteria isolated from two tertiary care hospitals in North Lebanon. Int Arab J Antimicrob Agents. 2018;8:2–9.

113. Dagher C, Salloum T, Alousi S, Arabaghian H, Araj GF, Tokajian S. Molecular characterization of Carbapenem resistant Escherichia coli recovered from a tertiary hospital in Lebanon. PloS One. 2018;13(9):e0203323.

114. Nawfal Dagher T, Azar E, Al-Bayssari C, Chamieh AS, Rolain J-M. First Detection of Colistin-Resistant Klebsiella pneumoniae in Association with NDM-5 Carbapenemase Isolated from Clinical Lebanese Patients. Microb Drug Resist Larchmt N. 2019 Aug;25(6):925–30.

115. Arabaghian H, Salloum T, Alousi S, Panossian B, Araj GF, Tokajian S. Molecular Characterization of Carbapenem Resistant Klebsiella pneumoniae and Klebsiella quasipneumoniae Isolated from Lebanon. Sci Rep. 2019 Jan 24;9(1):531.

116. 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.

117. Article - Bulletin épidémiologique hebdomadaire [Internet]. [cited 2018 Jul 6]. Available from: http://invs.santepubliquefrance.fr/beh/2016/24-25/2016_24-25_3.html

118. 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.

119. Zouain MG, Araj GF. Antimicrobial resistance of Enterococci in Lebanon. Int J Antimicrob Agents. 2001 Mar;17(3):209–13.

120. Araj GF, Avedissian AZ, Ayyash NS, Bey HA, El Asmar RG, Hammoud RZ, et al. A reflection on bacterial resistance to antimicrobial agents at a major tertiary care center in Lebanon over a decade. J Med Liban. 2012 Sep;60(3):125–35.

121. Lowman W, Marais M, Ahmed K, Marcus L. Routine active surveillance for carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from rectal swabs: diagnostic implications of multiplex polymerase chain reaction. J Hosp Infect. 2014 Oct;88(2):66–71.

122. Huang T-D, Bogaerts P, Ghilani E, Heinrichs A, Gavage P, Roisin S, et al. Multicentre evaluation of the Check-Direct CPE® assay for direct screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from rectal swabs. J Antimicrob Chemother. 2015;70(6):1669–73.

123. Dortet L, Bréchard L, Cuzon G, Poirel L, Nordmann P. Strategy for rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Antimicrob Agents Chemother. 2014;58(4):2441–5.

124. Nordmann P, Poirel L. The difficult-to-control spread of carbapenemase producers among Enterobacteriaceae worldwide. Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis. 2014 Sep;20(9):821–30.

125. Dortet L, Poirel L, Nordmann P. Rapid identification of carbapenemase types in Enterobacteriaceae and Pseudomonas spp. by using a biochemical test. Antimicrob Agents Chemother. 2012 Dec;56(12):6437–40.

126. pubmeddev, PJ TP and S. Phenotypic Detection of Carbapenemase-Producing Organisms from Clinical Isolates. - PubMed - NCBI [Internet]. [cited 2019 Nov 15]. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30158194

127. Fauconnier C, Dodemont M, Depouhon A, Anantharajah A, Verroken A, Rodriguez-Villalobos H. Lateral flow immunochromatographic assay for rapid screening of faecal carriage of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. J Antimicrob Chemother. 2019 Feb 1;74(2):357–9.

128. Findlay J, Hopkins KL, Meunier D, Woodford N. Evaluation of three commercial assays for rapid detection of genes encoding clinically relevant carbapenemases in cultured bacteria. J Antimicrob Chemother. 2015 May;70(5):1338–42.

129. Hoyos-Mallecot Y, Ouzani S, Dortet L, Fortineau N, Naas T. Performance of the Xpert® Carba-R v2 in the daily workflow of a hygiene unit in a country with a low prevalence of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Int J Antimicrob Agents. 2017 Jun;49(6):774–7.

130. Tenover FC, Canton R, Kop J, Chan R, Ryan J, Weir F, et al. Detection of colonization by carbapenemase-producing Gram-negative Bacilli in patients by use of the Xpert MDRO assay. J Clin Microbiol. 2013 Nov;51(11):3780–7.

131. Otter JA, Dyakova E, Bisnauthsing KN, Querol-Rubiera A, Patel A, Ahanonu C, et al. Universal hospital admission screening for carbapenemase-producing organisms in a low-prevalence setting. J Antimicrob Chemother. 2016;71(12):3556–61.

132. Dortet L, Bréchard L, Poirel L, Nordmann P. Rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from blood cultures. Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis. 2014 Apr;20(4):340–4.

133. Francis RO, Wu F, Della-Latta P, Shi J, Whittier S. Rapid detection of Klebsiella pneumoniae carbapenemase genes in enterobacteriaceae directly from blood culture bottles by real-time PCR. Am J Clin Pathol. 2012 Apr;137(4):627–32.

134. Girlich D, Poirel L, Nordmann P. Comparison of the SUPERCARBA, CHROMagar KPC, and Brilliance CRE screening media for detection of Enterobacteriaceae with reduced susceptibility to carbapenems. Diagn Microbiol Infect Dis. 2013 Feb;75(2):214–7.

135. Girlich D, Poirel L, Nordmann P. Value of the modified Hodge test for detection of emerging carbapenemases in Enterobacteriaceae. J Clin Microbiol. 2012 Feb;50(2):477–9.

136. Tsakris A, Kristo I, Poulou A, Themeli-Digalaki K, Ikonomidis A, Petropoulou D, et al. Evaluation of boronic acid disk tests for differentiating KPC-possessing Klebsiella pneumoniae isolates in the clinical laboratory. J Clin Microbiol. 2009 Feb;47(2):362–7.

137. Notake S, Matsuda M, Tamai K, Yanagisawa H, Hiramatsu K, Kikuchi K. Detection of IMP metallo-β-lactamase in carbapenem-nonsusceptible Enterobacteriaceae and non-glucose-fermenting Gram-negative rods by immunochromatography assay. J Clin Microbiol. 2013 Jun;51(6):1762–8.

138. Tamma PD, Simner PJ. Phenotypic Detection of Carbapenemase-Producing Organisms from Clinical Isolates. J Clin Microbiol. 2018 Nov;56(11):e01140-18.

139. Nordmann P, Poirel L, Dortet L. Rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Emerg Infect Dis. 2012 Sep;18(9):1503–7.

140. pubmeddev, al FC et. Lateral flow immunochromatographic assay for rapid screening of faecal carriage of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. - PubMed - NCBI [Internet]. [cited 2019 Nov 15]. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30376099

141. Zaccolo M, Gherardi E. The effect of high-frequency random mutagenesis on in vitro protein evolution: a study on TEM-1 beta-lactamase. J Mol Biol. 1999 Jan 15;285(2):775–83.

142. Zhu W, Clark N, Patel JB. pSK41-like plasmid is necessary for Inc18-like vanA plasmid transfer from Enterococcus faecalis to Staphylococcus aureus in vitro. Antimicrob Agents Chemother. 2013 Jan;57(1):212–9.

143. Martínez-Martínez L, Calvo J. [Development of resistances to antibiotic drugs: causes, consequences and importance to the public health system]. Enfermedades Infecc Microbiol Clínica. 2010 Nov;28 Suppl 4:4–9.

144. Toleman MA, Bennett PM, Walsh TR. ISCR elements: novel gene-capturing systems of the 21st century? Microbiol Mol Biol Rev MMBR. 2006 Jun;70(2):296–316.

145. Bennett PM. Plasmid encoded antibiotic resistance: acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in bacteria. Br J Pharmacol. 2008 Mar;153 Suppl 1:S347-357.

146. Salyers AA. Ecology of Antibiotic Resistance Genes. In: Bacterial resistance to antimicrobials. second edition. Taylor & Francis Group; 2008. p. 11–22.

147. Harbottle H, Thakur S, Zhao S, White DG. Genetics of antimicrobial resistance. Anim Biotechnol. 2006;17(2):111–24.

148. Davies. where are all the antibiotics when we really need them? 2006.

149. Suay-García B, Pérez-Gracia MT. Present and Future of Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) Infections. Antibiot Basel Switz. 2019 Aug 19;8(3):E122.

150. Rosa JF, Rizek C, Marchi AP, Guimaraes T, Miranda L, Carrilho C, et al. Clonality, outer-membrane proteins profile and efflux pump in KPC- producing Enterobacter sp. in Brazil. BMC Microbiol. 2017 Mar 17;17(1):69.

151. Pal A, Dhara L, Tripathi A. Contribution of acrB upregulation & OmpC/Ompk36 loss over the presence of blaNDM towards carbapenem resistance development among pathogenic Escherichia coli & Klebsiella spp. Indian J Med Res. 2019 Apr;149(4):528–38.

152. Chiu S-K, Chan M-C, Huang L-Y, Lin Y-T, Lin J-C, Lu P-L, et al. Tigecycline resistance among carbapenem-resistant Klebsiella Pneumoniae: Clinical characteristics and expression levels of efflux pump genes. PloS One. 2017;12(4):e0175140.

153. Ma P, Laibinis HH, Ernst CM, Hung DT. Carbapenem Resistance Caused by High-Level Expression of OXA-663 β-Lactamase in an OmpK36-Deficient Klebsiella pneumoniae Clinical Isolate. Antimicrob Agents Chemother. 2018 Nov;62(11):e01281-18.

154. Hamzaoui Z, Ocampo-Sosa A, Fernandez Martinez M, Landolsi S, Ferjani S, Maamar E, et al. Role of association of OmpK35 and OmpK36 alteration and blaESBL and/or blaAmpC genes in conferring carbapenem resistance among non-carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae. Int J Antimicrob Agents. 2018 Dec;52(6):898–905.

155. Chang Y-T, Siu LK, Wang J-T, Wu T-L, Chen Y-H, Chuang Y-C, et al. Resistance mechanisms and molecular epidemiology of carbapenem-nonsusceptible Escherichia coli in Taiwan, 2012-2015. Infect Drug Resist. 2019;12:2113–23.

156. Cantón R, Akóva M, Carmeli Y, Giske CG, Glupczynski Y, Gniadkowski M, et al. Rapid evolution and spread of carbapenemases among Enterobacteriaceae in Europe. Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis. 2012 May;18(5):413–31.

157. Sundqvist M, Geli P, Andersson DI, Sjölund-Karlsson M, Runehagen A, Cars H, et al. Little evidence for reversibility of trimethoprim resistance after a drastic reduction in trimethoprim use. J Antimicrob Chemother. 2010 Feb;65(2):350–60.

158. Wierup M. The experience of reducing antibiotics used in animal production in the Nordic countries. Int J Antimicrob Agents. 2001;287–90.

159. Andersson DI, Hughes D. Antibiotic resistance and its cost: is it possible to reverse resistance? Nat Rev Microbiol. 2010 Apr;8(4):260–71.

160. Loftie-Eaton W, Bashford K, Quinn H, Dong K, Millstein J, Hunter S, et al. Compensatory mutations improve general permissiveness to antibiotic resistance plasmids. Nat Ecol Evol. 2017 Sep;1(9):1354–63.

161. Wein T, Hülter NF, Mizrahi I, Dagan T. Emergence of plasmid stability under non-selective conditions maintains antibiotic resistance. Nat Commun. 2019 Jun 13;10(1):2595.

162. Alonso-Del Valle A, León-Sampedro R, Rodríguez-Beltrán J, DelaFuente J, Hernández-García M, Ruiz-Garbajosa P, et al. Variability of plasmid fitness effects contributes to plasmid persistence in bacterial communities. Nat Commun. 2021 May 11;12(1):2653.

163. 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.

164. Baquero F, Tedim AP, Coque TM. Antibiotic resistance shaping multi-level population biology of bacteria. Front Microbiol. 2013;4:15.

165. Woodford N, Turton JF, Livermore DM. Multiresistant Gram-negative bacteria: the role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. FEMS Microbiol Rev. 2011 Sep;35(5):736–55.

166. Kitchel B, Rasheed JK, Patel JB, Srinivasan A, Navon-Venezia S, Carmeli Y, et al. Molecular epidemiology of KPC-producing Klebsiella pneumoniae isolates in the United States: clonal expansion of multilocus sequence type 258. Antimicrob Agents Chemother. 2009 Aug;53(8):3365–70.

167. Garza-Ramos U, Barrios H, Reyna-Flores F, Sánchez-Pérez A, Tamayo-Legorreta E, Ibarra-Pacheco A, et al. Characteristics of KPC-2-producing Klebsiella pneumoniae (ST258) clinical isolates from outbreaks in 2 Mexican medical centers. Diagn Microbiol Infect Dis. 2014 Aug;79(4):483–5.

168. Tijet N, Sheth PM, Lastovetska O, Chung C, Patel SN, Melano RG. Molecular characterization of Klebsiella pneumoniae carbapenemase (KPC)-producing Enterobacteriaceae in Ontario, Canada, 2008-2011. PloS One. 2014;9(12):e116421.

169. Andrade LN, Curiao T, Ferreira JC, Longo JM, Clímaco EC, Martinez R, et al. Dissemination of blaKPC-2 by the spread of Klebsiella pneumoniae clonal complex 258 clones (ST258, ST11, ST437) and plasmids (IncFII, IncN, IncL/M) among Enterobacteriaceae species in Brazil. Antimicrob Agents Chemother. 2011 Jul;55(7):3579–83.

170. Prado-Vivar MB, Ortiz L, Reyes J, Villacis E, Fornasini M, Baldeon ME, et al. Molecular typing of a large nosocomial outbreak of KPC-producing bacteria in the biggest tertiary-care hospital of Quito, Ecuador. J Glob Antimicrob Resist. 2019 Dec;19:328–32.

171. Soria-Segarra C, González-Bustos P, López-Cerero L, Fernández-Cuenca F, Rojo-Martín MD, Fernández-Sierra MA, et al. Tracking KPC-3-producing ST-258 Klebsiella pneumoniae outbreak in

a third-level hospital in Granada (Andalusia, Spain) by risk factors and molecular characteristics. Mol Biol Rep. 2020 Feb;47(2):1089–97.

172. Meletis G, Chatzopoulou F, Fragkouli A, Alexandridou M, Mavrovouniotis I, Chatzinikolaou A, et al. Whole-genome sequencing study of KPC-encoding Klebsiella pneumoniae isolated in Greek private laboratories from non-hospitalised patients. J Glob Antimicrob Resist. 2020 Mar;20:78–81.

173. Becker L, Kaase M, Pfeifer Y, Fuchs S, Reuss A, von Laer A, et al. Genome-based analysis of Carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae isolates from German hospital patients, 2008-2014. Antimicrob Resist Infect Control. 2018;7:62.

174. Clemente AM, Castronovo G, Antonelli A, D'Andrea MM, Tanturli M, Perissi E, et al. Differential Th17 response induced by the two clades of the pandemic ST258 Klebsiella pneumoniae clonal lineages producing KPC-type carbapenemase. PloS One. 2017;12(6):e0178847.

175. Samuelsen Ø, Naseer U, Tofteland S, Skutlaberg DH, Onken A, Hjetland R, et al. Emergence of clonally related Klebsiella pneumoniae isolates of sequence type 258 producing plasmid-mediated KPC carbapenemase in Norway and Sweden. J Antimicrob Chemother. 2009 Apr;63(4):654–8.

176. Yu F, Lv J, Niu S, Du H, Tang Y-W, Pitout JDD, et al. Multiplex PCR Analysis for Rapid Detection of Klebsiella pneumoniae Carbapenem-Resistant (Sequence Type 258 [ST258] and ST11) and Hypervirulent (ST23, ST65, ST86, and ST375) Strains. J Clin Microbiol. 2018 Sep;56(9):e00731-18.

177. Lee Y, Kim B-S, Chun J, Yong JH, Lee YS, Yoo JS, et al. Clonality and Resistome analysis of KPC-producing Klebsiella pneumoniae strain isolated in Korea using whole genome sequencing. BioMed Res Int. 2014;2014:352862.

178. Jelić M, Hrenović J, Dekić S, Goić-Barišić I, Tambić Andrašević A. First evidence of KPC-producing ST258 Klebsiella pneumoniae in river water. J Hosp Infect. 2019 Oct;103(2):147–50.

179. Leavitt A, Chmelnitsky I, Carmeli Y, Navon-Venezia S. Complete nucleotide sequence of KPC-3-encoding plasmid pKpQIL in the epidemic Klebsiella pneumoniae sequence type 258. Antimicrob Agents Chemother. 2010 Oct;54(10):4493–6.

180. Chen L, Chavda KD, Melano RG, Jacobs MR, Koll B, Hong T, et al. Comparative genomic analysis of KPC-encoding pKpQIL-like plasmids and their distribution in New Jersey and New York Hospitals. Antimicrob Agents Chemother. 2014 May;58(5):2871–7.

181. Peirano G, Chen L, Kreiswirth BN, Pitout JDD. Emerging Antimicrobial-Resistant High-Risk Klebsiella pneumoniae Clones ST307 and ST147. Antimicrob Agents Chemother. 2020 Sep 21;64(10):e01148-20.

182. Kim S, Covington A, Pamer EG. The intestinal microbiota: Antibiotics, colonization resistance, and enteric pathogens. Immunol Rev. 2017 Sep;279(1):90–105.

183. David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. Nature. 2014 Jan 23;505(7484):559–63.

184. Donskey CJ, Chowdhry TK, Hecker MT, Hoyen CK, Hanrahan JA, Hujer AM, et al. Effect of antibiotic therapy on the density of vancomycin-resistant enterococci in the stool of colonized patients. N Engl J Med. 2000 Dec 28;343(26):1925–32.

185. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. Science. 2005 Jun 10;308(5728):1635–8.

186. van der Waaij D, Berghuis-de Vries JM, Lekkerkerk Lekkerkerk-v null. Colonization resistance of the digestive tract in conventional and antibiotic-treated mice. J Hyg (Lond). 1971 Sep;69(3):405–11.

187. Stecher B. The Roles of Inflammation, Nutrient Availability and the Commensal Microbiota in Enteric Pathogen Infection. Microbiol Spectr. 2015 Jun;3(3).

188. Keith JW, Pamer EG. Enlisting commensal microbes to resist antibiotic-resistant pathogens. J Exp Med. 2019 Jan 7;216(1):10–9.

189. Coulthurst S. The Type VI secretion system: a versatile bacterial weapon. Microbiol Read Engl. 2019 May;165(5):503–15.

190. Wexler AG, Bao Y, Whitney JC, Bobay L-M, Xavier JB, Schofield WB, et al. Human symbionts inject and neutralize antibacterial toxins to persist in the gut. Proc Natl Acad Sci U S A. 2016 Mar 29;113(13):3639–44.

191. Sana TG, Lugo KA, Monack DM. T6SS: The bacterial "fight club" in the host gut. PLoS Pathog. 2017 Jun;13(6):e1006325.

192. Chen C, Yang X, Shen X. Confirmed and Potential Roles of Bacterial T6SSs in the Intestinal Ecosystem. Front Microbiol. 2019;10:1484.

193. Coulthurst SJ. The Type VI secretion system - a widespread and versatile cell targeting system. Res Microbiol. 2013 Aug;164(6):640–54.

194. Do J, Zafar H, Saier MH. Comparative genomics of transport proteins in probiotic and pathogenic Escherichia coli and Salmonella enterica strains. Microb Pathog. 2017 Jun;107:106–15.

195. Le Guern R, Stabler S, Gosset P, Pichavant M, Grandjean T, Faure E, et al. Colonisation resistance against multidrug-resistant bacteria: a narrative review. J Hosp Infect. 2021 Sep 4;S0195-6701(21)00314-5.

196. Sassone-Corsi M, Nuccio S-P, Liu H, Hernandez D, Vu CT, Takahashi AA, et al. Microcins mediate competition among Enterobacteriaceae in the inflamed gut. Nature. 2016 Dec 8;540(7632):280–3.

197. Baquero F, Lanza VF, Baquero M-R, Del Campo R, Bravo-Vázquez DA. Microcins in Enterobacteriaceae: Peptide Antimicrobials in the Eco-Active Intestinal Chemosphere. Front Microbiol. 2019;10:2261.

198. Lu S-Y, Graça T, Avillan JJ, Zhao Z, Call DR. Microcin PDI Inhibits Antibiotic-Resistant Strains of Escherichia coli and Shigella through a Mechanism of Membrane Disruption and Protection by Homotrimer Self-Immunity. Appl Environ Microbiol. 2019 Jun 1;85(11):e00371-19.

199. Massip C, Branchu P, Bossuet-Greif N, Chagneau CV, Gaillard D, Martin P, et al. Deciphering the interplay between the genotoxic and probiotic activities of Escherichia coli Nissle 1917. PLoS Pathog. 2019 Sep;15(9):e1008029.

200. Kim SG, Becattini S, Moody TU, Shliaha PV, Littmann ER, Seok R, et al. Microbiota-derived lantibiotic restores resistance against vancomycin-resistant Enterococcus. Nature. 2019 Aug;572(7771):665–9.

201. Wilson BR, Bogdan AR, Miyazawa M, Hashimoto K, Tsuji Y. Siderophores in Iron Metabolism: From Mechanism to Therapy Potential. Trends Mol Med. 2016 Dec;22(12):1077–90.

202. Lam MMC, Wick RR, Wyres KL, Gorrie CL, Judd LM, Jenney AWJ, et al. Genetic diversity, mobilisation and spread of the yersiniabactin-encoding mobile element ICEKp in Klebsiella pneumoniae populations. Microb Genomics. 2018 Sep;4(9).

203. Hibbing ME, Fuqua C, Parsek MR, Peterson SB. Bacterial competition: surviving and thriving in the microbial jungle. Nat Rev Microbiol. 2010 Jan;8(1):15–25.

204. Parmanand BA, Kellingray L, Le Gall G, Basit AW, Fairweather-Tait S, Narbad A. A decrease in iron availability to human gut microbiome reduces the growth of potentially pathogenic gut bacteria; an in vitro colonic fermentation study. J Nutr Biochem. 2019 May;67:20–7.

205. Jung H-J, Littmann ER, Seok R, Leiner IM, Taur Y, Peled J, et al. Genome-Wide Screening for Enteric Colonization Factors in Carbapenem-Resistant ST258 Klebsiella pneumoniae. mBio. 2019 Mar 12;10(2):e02663-18.

206. Ng KM, Ferreyra JA, Higginbottom SK, Lynch JB, Kashyap PC, Gopinath S, et al. Microbiota-liberated host sugars facilitate post-antibiotic expansion of enteric pathogens. Nature. 2013 Oct 3;502(7469):96–9.

207. Pickard JM, Zeng MY, Caruso R, Núñez G. Gut microbiota: Role in pathogen colonization, immune responses, and inflammatory disease. Immunol Rev. 2017 Sep;279(1):70–89.

208. Kamada N, Kim Y-G, Sham HP, Vallance BA, Puente JL, Martens EC, et al. Regulated virulence controls the ability of a pathogen to compete with the gut microbiota. Science. 2012 Jun 8;336(6086):1325–9.

209. Ducarmon QR, Zwittink RD, Hornung BVH, van Schaik W, Young VB, Kuijper EJ. Gut Microbiota and Colonization Resistance against Bacterial Enteric Infection. Microbiol Mol Biol Rev MMBR. 2019 Aug 21;83(3):e00007-19.

210. Sorbara MT, Dubin K, Littmann ER, Moody TU, Fontana E, Seok R, et al. Inhibiting antibiotic-resistant Enterobacteriaceae by microbiota-mediated intracellular acidification. J Exp Med. 2019 Jan 7;216(1):84–98.

211. Korach-Rechtman H, Hreish M, Fried C, Gerassy-Vainberg S, Azzam ZS, Kashi Y, et al. Intestinal Dysbiosis in Carriers of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae. mSphere. 2020 Apr 29;5(2):e00173-20.

212. Lee J, Attila C, Cirillo SLG, Cirillo JD, Wood TK. Indole and 7-hydroxyindole diminish Pseudomonas aeruginosa virulence. Microb Biotechnol. 2009 Jan;2(1):75–90.

213. Lee J-H, Cho MH, Lee J. 3-indolylacetonitrile decreases Escherichia coli O157:H7 biofilm formation and Pseudomonas aeruginosa virulence. Environ Microbiol. 2011 Jan;13(1):62–73.

214. Guzior DV, Quinn RA. Review: microbial transformations of human bile acids. Microbiome. 2021 Jun 14;9(1):140.

215. Kakiyama G, Pandak WM, Gillevet PM, Hylemon PB, Heuman DM, Daita K, et al. Modulation of the fecal bile acid profile by gut microbiota in cirrhosis. J Hepatol. 2013 May;58(5):949–55.

216. Vrieze A, Out C, Fuentes S, Jonker L, Reuling I, Kootte RS, et al. Impact of oral vancomycin on gut microbiota, bile acid metabolism, and insulin sensitivity. J Hepatol. 2014 Apr;60(4):824–31.

217. Sato Y, Atarashi K, Plichta DR, Arai Y, Sasajima S, Kearney SM, et al. Novel bile acid biosynthetic pathways are enriched in the microbiome of centenarians. Nature. 2021 Jul 29;

218. Byndloss MX, Olsan EE, Rivera-Chávez F, Tiffany CR, Cevallos SA, Lokken KL, et al. Microbiota-activated PPAR-γ signaling inhibits dysbiotic Enterobacteriaceae expansion. Science. 2017 Aug 11;357(6351):570–5.

219. Henson MA, Phalak P. Microbiota dysbiosis in inflammatory bowel diseases: in silico investigation of the oxygen hypothesis. BMC Syst Biol. 2017 Dec 28;11(1):145.

220. Keilbaugh SA, Shin ME, Banchereau RF, McVay LD, Boyko N, Artis D, et al. Activation of RegIIIbeta/gamma and interferon gamma expression in the intestinal tract of SCID mice: an innate response to bacterial colonisation of the gut. Gut. 2005 May;54(5):623–9.

221. Dessein R, Gironella M, Vignal C, Peyrin-Biroulet L, Sokol H, Secher T, et al. Toll-like receptor 2 is critical for induction of Reg3 beta expression and intestinal clearance of Yersinia pseudotuberculosis. Gut. 2009 Jun;58(6):771–6.

222. Darnaud M, Dos Santos A, Gonzalez P, Augui S, Lacoste C, Desterke C, et al. Enteric Delivery of Regenerating Family Member 3 alpha Alters the Intestinal Microbiota and Controls Inflammation in Mice With Colitis. Gastroenterology. 2018 Mar;154(4):1009-1023.e14.

223. Le Guern R, Stabler S, Faure E. Duodenal Microbiota in Stunted Undernourished Children with Enteropathy. N Engl J Med. 2021 May 6;384(18):1777–8.

224. Brandl K, Plitas G, Mihu CN, Ubeda C, Jia T, Fleisher M, et al. Vancomycin-resistant enterococci exploit antibiotic-induced innate immune deficits. Nature. 2008 Oct 9;455(7214):804–7.

225. Abt MC, Buffie CG, Sušac B, Becattini S, Carter RA, Leiner I, et al. TLR-7 activation enhances IL-22-mediated colonization resistance against vancomycin-resistant enterococcus. Sci Transl Med. 2016 Feb 24;8(327):327ra25.

226. Pockros PJ, Guyader D, Patton H, Tong MJ, Wright T, McHutchison JG, et al. Oral resiquimod in chronic HCV infection: safety and efficacy in 2 placebo-controlled, double-blind phase IIa studies. J Hepatol. 2007 Aug;47(2):174–82.

227. Gonçalves P, Araújo JR, Di Santo JP. A Cross-Talk Between Microbiota-Derived Short-Chain Fatty Acids and the Host Mucosal Immune System Regulates Intestinal Homeostasis and Inflammatory Bowel Disease. Inflamm Bowel Dis. 2018 Feb 15;24(3):558–72.

228. Zhao Y, Chen F, Wu W, Sun M, Bilotta AJ, Yao S, et al. GPR43 mediates microbiota metabolite SCFA regulation of antimicrobial peptide expression in intestinal epithelial cells via activation of mTOR and STAT3. Mucosal Immunol. 2018 May;11(3):752–62.

229. Sahly H, Schubert S, Harder J, Kleine M, Sandvang D, Ullmann U, et al. Activity of human beta-defensins 2 and 3 against ESBL-producing Klebsiella strains. J Antimicrob Chemother. 2006 Mar;57(3):562–5.

230. Chang PV, Hao L, Offermanns S, Medzhitov R. The microbial metabolite butyrate regulates intestinal macrophage function via histone deacetylase inhibition. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014 Feb 11;111(6):2247–52.

231. Sequeira RP, McDonald JAK, Marchesi JR, Clarke TB. Commensal Bacteroidetes protect against Klebsiella pneumoniae colonization and transmission through IL-36 signalling. Nat Microbiol. 2020 Feb;5(2):304–13.

232. Agus A, Planchais J, Sokol H. Gut Microbiota Regulation of Tryptophan Metabolism in Health and Disease. Cell Host Microbe. 2018 Jun 13;23(6):716–24.

233. Guo X, Liang Y, Zhang Y, Lasorella A, Kee BL, Fu Y-X. Innate Lymphoid Cells Control Early Colonization Resistance against Intestinal Pathogens through ID2-Dependent Regulation of the Microbiota. Immunity. 2015 Apr 21;42(4):731–43.

234. Cervantes-Barragan L, Chai JN, Tianero MD, Di Luccia B, Ahern PP, Merriman J, et al. Lactobacillus reuteri induces gut intraepithelial CD4+CD8αα+ T cells. Science. 2017 Aug 25;357(6353):806–10.

235. Gunnarsdottir SA, Sadik R, Shev S, Simrén M, Sjövall H, Stotzer PO, et al. Small intestinal motility disturbances and bacterial overgrowth in patients with liver cirrhosis and portal hypertension. Am J Gastroenterol. 2003 Jun;98(6):1362–70.

236. Herr N, Bode C, Duerschmied D. The Effects of Serotonin in Immune Cells. Front Cardiovasc Med. 2017;4:48.

237. Yang M, Fukui H, Eda H, Kitayama Y, Hara K, Kodani M, et al. Involvement of gut microbiota in the association between gastrointestinal motility and 5-HT expression/M2 macrophage abundance in the gastrointestinal tract. Mol Med Rep. 2017 Sep;16(3):3482–8.

238. Reigstad CS, Salmonson CE, Rainey JF, Szurszewski JH, Linden DR, Sonnenburg JL, et al. Gut microbes promote colonic serotonin production through an effect of short-chain fatty acids on enterochromaffin cells. FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol. 2015 Apr;29(4):1395–403.

239. Fung TC, Vuong HE, Luna CDG, Pronovost GN, Aleksandrova AA, Riley NG, et al. Intestinal serotonin and fluoxetine exposure modulate bacterial colonization in the gut. Nat Microbiol. 2019 Dec;4(12):2064–73.

240. Bhargava A, Hayakawa K, Silverman E, Haider S, Alluri KC, Datla S, et al. Risk factors for colonization due to carbapenem-resistant Enterobacteriaceae among patients exposed to long-term acute care and acute care facilities. Infect Control Hosp Epidemiol. 2014 Apr;35(4):398–405.

241. Bar-Yoseph H, Cohen N, Korytny A, Andrawus ER, Even Dar R, Geffen Y, et al. Risk factors for mortality among carbapenem-resistant enterobacteriaceae carriers with focus on immunosuppression. J Infect. 2019 Feb;78(2):101–5.

242. Cheng J, Palva AM, de Vos WM, Satokari R. Contribution of the intestinal microbiota to human health: from birth to 100 years of age. Curr Top Microbiol Immunol. 2013;358:323–46.

243. Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. Nature. 2012 Jun 13;486(7402):207–14.

244. Palleja A, Mikkelsen KH, Forslund SK, Kashani A, Allin KH, Nielsen T, et al. Recovery of gut microbiota of healthy adults following antibiotic exposure. Nat Microbiol. 2018 Nov;3(11):1255–65.

245. Lange K, Buerger M, Stallmach A, Bruns T. Effects of Antibiotics on Gut Microbiota. Dig Dis Basel Switz. 2016;34(3):260–8.

246. Rooney AM, Timberlake K, Brown KA, Bansal S, Tomlinson C, Lee K-S, et al. Each Additional Day of Antibiotics Is Associated With Lower Gut Anaerobes in Neonatal Intensive Care Unit Patients. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 2020 Jun 10;70(12):2553–60.

247. Fassarella M, Blaak EE, Penders J, Nauta A, Smidt H, Zoetendal EG. Gut microbiome stability and resilience: elucidating the response to perturbations in order to modulate gut health. Gut. 2021 Mar;70(3):595–605.

248. Le Guern R, Grandjean T, Bauduin M, Figeac M, Millot G, Loquet A, et al. Impact of the Timing of Antibiotic Administration on Digestive Colonization with Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae in a Murine Model. Antimicrob Agents Chemother. 2019 Jun;63(6):e00360-19.

249. Leo S, Lazarevic V, Gaïa N, Estellat C, Girard M, Matheron S, et al. The intestinal microbiota predisposes to traveler's diarrhea and to the carriage of multidrug-resistant Enterobacteriaceae after traveling to tropical regions. Gut Microbes. 2019;10(5):631–41.

250. Yuan M, Aucken H, Hall LM, Pitt TL, Livermore DM. Epidemiological typing of klebsiellae with extended-spectrum beta-lactamases from European intensive care units. J Antimicrob Chemother. 1998 May;41(5):527–39.

251. De Champs C, Sirot D, Chanal C, Bonnet R, Sirot J. A 1998 survey of extended-spectrum beta-lactamases in Enterobacteriaceae in France. The French Study Group. Antimicrob Agents Chemother. 2000 Nov;44(11):3177–9.

252. Cantón R, Coque TM. The CTX-M beta-lactamase pandemic. Curr Opin Microbiol. 2006 Oct;9(5):466–75.

253. Woerther P-L, Burdet C, Chachaty E, Andremont 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.

254. Blanc V, Leflon-Guibout V, Blanco J, Haenni M, Madec J-Y, Rafignon G, et al. Prevalence of day-care centre children (France) with faecal CTX-M-producing Escherichia coli comprising O25b:H4 and O16:H5 ST131 strains. J Antimicrob Chemother. 2014 May;69(5):1231–7.

255. Birgy A, Levy C, Bidet P, Thollot F, Derkx V, Béchet S, et al. ESBL-producing Escherichia coli ST131 versus non-ST131: evolution and risk factors of carriage among French children in the community between 2010 and 2015. J Antimicrob Chemother. 2016;71(10):2949–56.

256. Nicolas-Chanoine M-H, Gruson C, Bialek-Davenet S, Bertrand X, Thomas-Jean F, Bert F, et al. 10-Fold increase (2006-11) in the rate of healthy subjects with extended-spectrum β-lactamase-producing Escherichia coli faecal carriage in a Parisian check-up centre. J Antimicrob Chemother. 2013 Mar;68(3):562–8.

257. French CE, Coope C, Conway L, Higgins JPT, McCulloch J, Okoli G, et al. Control of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae outbreaks in acute settings: an evidence review. J Hosp Infect. 2017 Jan;95(1):3–45.

258. Yu W-L, Lee M-F, Tang H-J, Chang M-C, Walther-Rasmussen J, Chuang Y-C. Emergence of KPC new variants (KPC-16 and KPC-17) and ongoing outbreak in southern Taiwan. Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis. 2015 Apr;21(4):347.e5-8.

259. Politi L, Gartzonika K, Spanakis N, Zarkotou O, Poulou A, Skoura L, et al. Emergence of NDM-1-producing Klebsiella pneumoniae in Greece: evidence of a widespread clonal outbreak. J Antimicrob Chemother. 2019 Aug 1;74(8):2197–202.

260. Overdevest I, Willemsen I, Rijnsburger M, Eustace A, Xu L, Hawkey P, et al. Extended-spectrum β-lactamase genes of Escherichia coli in chicken meat and humans, The Netherlands. Emerg Infect Dis. 2011 Jul;17(7):1216–22.

261. Mattner F, Biertz F, Ziesing S, Gastmeier P, Chaberny IF. Long-term persistence of MRSA in re-admitted patients. Infection. 2010 Oct;38(5):363–71.

262. Wagenvoort JH, Sluijsmans W, Penders RJ. Better environmental survival of outbreak vs. sporadic MRSA isolates. J Hosp Infect. 2000 Jul;45(3):231–4.

263. Wu Y-L, Yang X-Y, Ding X-X, Li R-J, Pan M-S, Zhao X, et al. Exposure to infected/colonized roommates and prior room occupants increases the risks of healthcare-associated infections with the same organism. J Hosp Infect. 2019 Feb;101(2):231–9.

264. Mitchell A, Spencer M, Edmiston C. Role of healthcare apparel and other healthcare textiles in the transmission of pathogens: a review of the literature. J Hosp Infect. 2015 Aug;90(4):285–92.

265. Visalachy S, Palraj KK, Kopula SS, Sekar U. Carriage of Multidrug Resistant Bacteria on Frequently Contacted Surfaces and Hands of Health Care Workers. J Clin Diagn Res JCDR. 2016 May;10(5):DC18-20.

266. Hilty M, Betsch BY, Bögli-Stuber K, Heiniger N, Stadler M, Küffer M, et al. Transmission Dynamics of Extended-Spectrum β-lactamase–Producing Enterobacteriaceae in the Tertiary Care Hospital and the Household Setting. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 2012 Oct 1;55(7):967–75.

267. Hilliquin D, Le Guern R, Thepot Seegers V, Neulier C, Lomont A, Marie V, et al. Risk factors for acquisition of OXA-48-producing Klebsiella pneumonia among contact patients: a multicentre study. J Hosp Infect. 2018 Mar;98(3):253–9.

268. Legeay C, Thépot-Seegers V, Pailhoriès H, Hilliquin D, Zahar J-R. Is cohorting the only solution to control carbapenemase-producing Enterobacteriaceae outbreaks? A single-centre experience. J Hosp Infect. 2018 Aug;99(4):390–5.

269. ECDC's latest publications. Eurosurveillance [Internet]. 2018 Jun 28 [cited 2019 Jul 22];23(26). Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6030878/

270. Jones K, Bradshaw SB. Biofilm formation by the enterobacteriaceae: a comparison between salmonella enteritidis, Escherichia coli and a nitrogen-fixing strain of Klebsiella pneumoniae. J Appl Bacteriol. 1996 Apr;80(4):458–64.

271. Drees M, Snydman DR, Schmid CH, Barefoot L, Hansjosten K, Vue PM, et al. Prior environmental contamination increases the risk of acquisition of vancomycin-resistant enterococci. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 2008 Mar 1;46(5):678–85.

272. Nseir S, Blazejewski C, Lubret R, Wallet F, Courcol R, Durocher A. Risk of acquiring multidrug-resistant Gram-negative bacilli from prior room occupants in the intensive care unit. Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis. 2011 Aug;17(8):1201–8.

273. Huang SS, Datta R, Platt R. Risk of acquiring antibiotic-resistant bacteria from prior room occupants. Arch Intern Med. 2006 Oct 9;166(18):1945–51.

274. Lerner A, Adler A, Abu-Hanna J, Cohen Percia S, Kazma Matalon M, Carmeli Y. Spread of KPC-producing carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: the importance of super-spreaders and rectal KPC concentration. Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis. 2015 May;21(5):470.e1-7.

275. Boyce JM, Havill NL, Otter JA, Adams NMT. Widespread environmental contamination associated with patients with diarrhea and methicillin-resistant Staphylococcus aureus colonization of the gastrointestinal tract. Infect Control Hosp Epidemiol. 2007 Oct;28(10):1142–7.

276. Boyce JM, Potter-Bynoe G, Chenevert C, King T. Environmental contamination due to methicillin-resistant Staphylococcus aureus: possible infection control implications. Infect Control Hosp Epidemiol. 1997 Sep;18(9):622–7.

277. Bonten MJM, Willems RJ. [Vancomycin-resistant enterococcus--chronicle of a foretold problem]. Ned Tijdschr Geneeskd. 2012;156(38):A5233.

278. Bonten MJ, Hayden MK, Nathan C, van Voorhis J, Matushek M, Slaughter S, et al. Epidemiology of colonisation of patients and environment with vancomycin-resistant enterococci. Lancet Lond Engl. 1996 Dec 14;348(9042):1615–9.

279. Morgan DJ, Rogawski E, Thom KA, Johnson JK, Perencevich EN, Shardell M, et al. Transfer of multidrug-resistant bacteria to healthcare workers' gloves and gowns after patient contact increases with environmental contamination. Crit Care Med. 2012 Apr;40(4):1045–51.

280. Blanco N, Pineles L, Lydecker AD, Johnson JK, Sorkin JD, Morgan DJ, et al. Transmission of Resistant Gram-Negative Bacteria to Health Care Worker Gowns and Gloves during Care of Nursing Home Residents in Veterans Affairs Community Living Centers. Antimicrob Agents Chemother. 2017;61(10).

281. Doi Y, Iovleva A, Bonomo RA. The ecology of extended-spectrum β-lactamases (ESBLs) in the developed world. J Travel Med. 2017 Apr 1;24(suppl_1):S44–51.

282. Haverkate MR, Platteel TN, Fluit AC, Cohen Stuart JW, Leverstein-van Hall MA, Thijsen SFT, et al. Quantifying within-household transmission of extended-spectrum β-lactamase-producing bacteria. Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis. 2017 Jan;23(1):46.e1-46.e7.

283. Ruppé E, Armand-Lefèvre L, Estellat C, Consigny P-H, El Mniai A, Boussadia Y, et al. High Rate of Acquisition but Short Duration of Carriage of Multidrug-Resistant Enterobacteriaceae After Travel to the Tropics. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 2015 Aug 15;61(4):593–600.

284. Arcilla MS, van Hattem JM, Haverkate MR, Bootsma MCJ, van Genderen PJJ, Goorhuis A, et al. Import and spread of extended-spectrum β-lactamase-producing Enterobacteriaceae by international travellers (COMBAT study): a prospective, multicentre cohort study. Lancet Infect Dis. 2016 Oct 14;

285. Egea P, López-Cerero L, Torres E, Gómez-Sánchez MDC, Serrano L, Navarro Sánchez-Ortiz MD, et al. Increased raw poultry meat colonization by extended spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli in the south of Spain. Int J Food Microbiol. 2012 Oct 1;159(2):69–73.

286. Casella T, Nogueira MCL, Saras E, Haenni M, Madec J-Y. High prevalence of ESBLs in retail chicken meat despite reduced use of antimicrobials in chicken production, France. Int J Food Microbiol. 2017 Sep 18;257:271–5.

287. Woodford N, Wareham DW, Guerra B, Teale C. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and non-Enterobacteriaceae from animals and the environment: an emerging public health risk of our own making? J Antimicrob Chemother. 2014 Feb;69(2):287–91.

288. Akiba M, Sekizuka T, Yamashita A, Kuroda M, Fujii Y, Murata M, et al. Distribution and Relationships of Antimicrobial Resistance Determinants among Extended-Spectrum-Cephalosporin-Resistant or Carbapenem-Resistant Escherichia coli Isolates from Rivers and Sewage Treatment Plants in India. Antimicrob Agents Chemother. 2016 May;60(5):2972–80.

289. Kieffer N, Poirel L, Bessa LJ, Barbosa-Vasconcelos A, da Costa PM, Nordmann P. VIM-1, VIM-34, and IMP-8 Carbapenemase-Producing Escherichia coli Strains Recovered from a Portuguese River. Antimicrob Agents Chemother. 2016 Apr;60(4):2585–6.

290. Köck R, Daniels-Haardt I, Becker K, Mellmann A, Friedrich AW, Mevius D, et al. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in wildlife, food-producing, and companion animals: a systematic review. Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis. 2018 Dec;24(12):1241–50.

291. Le Hello S, Harrois D, Bouchrif B, Sontag L, Elhani D, Guibert V, et al. Highly drug-resistant Salmonella enterica serotype Kentucky ST198-X1: a microbiological study. Lancet Infect Dis. 2013 Aug;13(8):672–9.

292. Manges AR, Johnson JR. Food-borne origins of Escherichia coli causing extraintestinal infections. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 2012 Sep;55(5):712–9.

293. Bréchet C, Plantin J, Sauget M, Thouverez M, Talon D, Cholley P, et al. Wastewater treatment plants release large amounts of extended-spectrum β-lactamase-producing Escherichia coli into the environment. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 2014 Jun;58(12):1658–65.

294. Piedra-Carrasco N, Fàbrega A, Calero-Cáceres W, Cornejo-Sánchez T, Brown-Jaque M, Mir-Cros A, et al. Carbapenemase-producing enterobacteriaceae recovered from a Spanish river ecosystem. PloS One. 2017;12(4):e0175246.

295. Mahon BM, Brehony C, Cahill N, McGrath E, O'Connor L, Varley A, et al. Detection of OXA-48-like-producing Enterobacterales in Irish recreational water. Sci Total Environ. 2019 Nov 10;690:1–6.

296. Ludden C, Reuter S, Judge K, Gouliouris T, Blane B, Coll F, et al. Sharing of carbapenemase-encoding plasmids between Enterobacteriaceae in UK sewage uncovered by MinION sequencing. Microb Genomics. 2017 Jul;3(7):e000114.

297. Faour-Klingbeil D, Kuri V, Fadlallah S, Matar GM. Prevalence of antimicrobial-resistant Escherichia coli from raw vegetables in Lebanon. J Infect Dev Ctries. 2016 Apr 28;10(4):354–62.

298. Diab M, Hamze M, Bonnet R, Saras E, Madec J-Y, Haenni M. OXA-48 and CTX-M-15 extended-spectrum beta-lactamases in raw milk in Lebanon: epidemic spread of dominant Klebsiella pneumoniae clones. J Med Microbiol. 2017 Nov;66(11):1688–91.

299. Diab M, Hamze M, Madec J-Y, Haenni M. High Prevalence of Non-ST131 CTX-M-15-Producing Escherichia coli in Healthy Cattle in Lebanon. Microb Drug Resist Larchmt N. 2017 Mar;23(2):261–6.

300. Dandachi I, Fayad E, El-Bazzal B, Daoud Z, Rolain J-M. Prevalence of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Gram-Negative Bacilli and Emergence of mcr-1 Colistin Resistance Gene in Lebanese Swine Farms. Microb Drug Resist Larchmt N. 2019 Mar;25(2):233–40.

301. Hmede Z, Kassem II. The Colistin Resistance Gene mcr-1 Is Prevalent in Commensal Escherichia coli Isolated from Preharvest Poultry in Lebanon. Antimicrob Agents Chemother. 2018 Nov;62(11):e01304-18.

302. Dandachi I, Fayad E, El-Bazzal B, Sleiman A, Rolain J-M, Daoud Z. Multi Drug resistant Organisms in Chicken farms and their Surrounding Environment. J Infect Dev Ctries. 2018 Feb 22;12(2.1):7S.

303. Dandachi I, Fayad E, Sleiman A, Daoud Z, Rolain J-M. Dissemination of Multidrug-Resistant and mcr-1 Gram-Negative Bacilli in Broilers, Farm Workers, and the Surrounding Environment in Lebanon. Microb Drug Resist Larchmt N. 2020 Apr;26(4):368–77.

304. Mikhayel M, Leclercq SO, Sarkis DK, Doublet B. Occurrence of the Colistin Resistance Gene mcr-1 and Additional Antibiotic Resistance Genes in ESBL/AmpC-Producing Escherichia coli from Poultry in Lebanon: A Nationwide Survey. Microbiol Spectr. 2021 Sep 8;e0002521.

305. Hassan J, Eddine RZ, Mann D, Li S, Deng X, Saoud IP, et al. The Mobile Colistin Resistance Gene, mcr-1.1, Is Carried on IncX4 Plasmids in Multidrug Resistant E. coli Isolated from Rainbow Trout Aquaculture. Microorganisms. 2020 Oct 23;8(11):E1636.

306. Daoud Z, Farah J, Sokhn ES, El Kfoury K, Dahdouh E, Masri K, et al. Multidrug-Resistant Enterobacteriaceae in Lebanese Hospital Wastewater: Implication in the One Health Concept. Microb Drug Resist Larchmt N. 2018 Mar;24(2):166–74.

307. Dagher LA, Hassan J, Kharroubi S, Jaafar H, Kassem II. Nationwide Assessment of Water Quality in Rivers across Lebanon by Quantifying Fecal Indicators Densities and Profiling Antibiotic Resistance of Escherichia coli. Antibiot Basel Switz. 2021 Jul 20;10(7):883.

308. Moussa J, Abboud E, Tokajian S. The dissemination of antimicrobial resistance determinants in surface water sources in Lebanon. FEMS Microbiol Ecol. 2021 Aug 17;97(9):fiab113.

309. Hmede Z, Sulaiman AAA, Jaafar H, Kassem II. Emergence of plasmid-borne colistin resistance gene mcr-1 in multidrug-resistant Escherichia coli isolated from irrigation water in Lebanon. Int J Antimicrob Agents. 2019 Jul;54(1):102–4.

310. Diab M, Hamze M, Bonnet R, Saras E, Madec J-Y, Haenni M. Extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)- and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in water sources in Lebanon. Vet Microbiol. 2018 Apr;217:97–103.

311. Sulaiman AAA, Kassem II. First report on the detection of the plasmid-borne colistin resistance gene mcr-1 in multi-drug resistant E. coli isolated from domestic and sewer waters in Syrian refugee camps in Lebanon. Travel Med Infect Dis. 2019 Aug;30:117–20.

312. Ruppé E, Burdet C, Grall N, de Lastours V, Lescure F-X, Andremont A, et al. Impact of antibiotics on the intestinal microbiota needs to be re-defined to optimize antibiotic usage. Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis. 2018 Jan;24(1):3–5.

313. Dethlefsen L, Huse S, Sogin ML, Relman DA. The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota, as revealed by deep 16S rRNA sequencing. PLoS Biol. 2008 Nov 18;6(11):e280.

314. Dethlefsen L, Relman DA. Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation. Proc Natl Acad Sci U S A. 2011 Mar 15;108 Suppl 1:4554–61.

315. Ruppé E, Armand-Lefèvre L, Estellat C, Consigny P-H, El Mniai A, Boussadia Y, et al. High Rate of Acquisition but Short Duration of Carriage of Multidrug-Resistant Enterobacteriaceae After Travel to the Tropics. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 2015 Aug 15;61(4):593–600.

316. Woerther P-L, Burdet C, Chachaty E, Andremont 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.

317. Connelly S, Fanelli B, Hasan NA, Colwell RR, Kaleko M. Oral Metallo-Beta-Lactamase Protects the Gut Microbiome From Carbapenem-Mediated Damage and Reduces Propagation of Antibiotic Resistance in Pigs. Front Microbiol. 2019;10:101.

318. Sturød K, Dhariwal A, Dahle UR, Vestrheim DF, Petersen FC. Impact of narrow-spectrum penicillin V on the oral and faecal resistome in a young child treated for otitis media. J Glob Antimicrob Resist. 2020 Mar;20:290–7.

319. Mulder M. Antimicrobial drugs have long-term effects on the gut microbiota. (P0592).

320. Woerther P-L, Lepeule R, Burdet C, Decousser J-W, Ruppé É, Barbier F. Carbapenems and alternative β-lactams for the treatment of infections due to extended-spectrum β-lactamase-producing

Enterobacteriaceae: What impact on intestinal colonisation resistance? Int J Antimicrob Agents. 2018 Dec;52(6):762–70.

321. Madaras-Kelly K, Jones M, Remington R, Caplinger C, Huttner B, Samore M. Description and validation of a spectrum score method to measure antimicrobial de-escalation in healthcare associated pneumonia from electronic medical records data. BMC Infect Dis. 2015 Apr 25;15:197.

322. Weiss E, Zahar J-R, Lesprit P, Ruppe E, Leone M, Chastre J, et al. Elaboration of a consensual definition of de-escalation allowing a ranking of β-lactams. Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis. 2015 Jul;21(7):649.e1-649.e10.

323. Giantsou E, Liratzopoulos N, Efraimidou E, Panopoulou M, Alepopoulou E, Kartali-Ktenidou S, et al. De-escalation therapy rates are significantly higher by bronchoalveolar lavage than by tracheal aspirate. Intensive Care Med. 2007 Sep;33(9):1533–40.

324. Niederman MS, Soulountsi V. De-escalation therapy: is it valuable for the management of ventilator-associated pneumonia? Clin Chest Med. 2011 Sep;32(3):517–34.

325. Tabah A, Cotta MO, Garnacho-Montero J, Schouten J, Roberts JA, Lipman J, et al. A Systematic Review of the Definitions, Determinants, and Clinical Outcomes of Antimicrobial De-escalation in the Intensive Care Unit. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 2016 Apr 15;62(8):1009–17.

326. Lakbar I, De Waele JJ, Tabah A, Einav S, Martin-Loeches I, Leone M. Antimicrobial De-Escalation in the ICU: From Recommendations to Level of Evidence. Adv Ther. 2020 Jul;37(7):3083–96.

327. Pilmis B, Jullien V, Tabah A, Zahar J-R, Brun-Buisson C. Piperacillin-tazobactam as alternative to carbapenems for ICU patients. Ann Intensive Care. 2017 Nov 10;7(1):113.

328. Ling ML, Tee YM, Tan SG, Amin IM, How KB, Tan KY, et al. Risk factors for acquisition of carbapenem resistant Enterobacteriaceae in an acute tertiary care hospital in Singapore. Antimicrob Resist Infect Control. 2015;4:26.

329. Jiao Y, Qin Y, Liu J, Li Q, Dong Y, Shang Y, et al. Risk factors for carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae infection/colonization and predictors of mortality: a retrospective study. Pathog Glob Health. 2015 Mar;109(2):68–74.

330. Grohs P, Kernéis S, Sabatier B, Lavollay M, Carbonnelle E, Rostane H, et al. Fighting the spread of AmpC-hyperproducing Enterobacteriaceae: beneficial effect of replacing ceftriaxone with cefotaxime. J Antimicrob Chemother. 2014 Mar;69(3):786–9.

331. Graziani AL, Gibson GA, MacGregor RR. Biliary excretion of imipenem-cilastatin in hospitalized patients. Antimicrob Agents Chemother. 1987 Nov;31(11):1718–21.

332. Pultz MJ, Donskey CJ. Effects of imipenem-cilastatin, ertapenem, piperacillin-tazobactam, and ceftriaxone treatments on persistence of intestinal colonization by extended-spectrum-beta-lactamase-producing Klebsiella pneumoniae strains in mice. Antimicrob Agents Chemother. 2007 Aug;51(8):3044–5.

333. Ikawa K, Nakashima A, Morikawa N, Ikeda K, Murakami Y, Ohge H, et al. Clinical pharmacokinetics of meropenem and biapenem in bile and dosing considerations for biliary tract infections based on

site-specific pharmacodynamic target attainment. Antimicrob Agents Chemother. 2011 Dec;55(12):5609–15.

334. Burdet C, Grall N, Linard M, Bridier-Nahmias A, Benhayoun M, Bourabha K, et al. Ceftriaxone and Cefotaxime Have Similar Effects on the Intestinal Microbiota in Human Volunteers Treated by Standard-Dose Regimens. Antimicrob Agents Chemother. 2019 Jun;63(6):e02244-18.

335. Pilmis B, Jiang O, Mizrahi A, Nguyen Van J-C, Lourtet-Hascoët J, Voisin O, et al. No significant difference between ceftriaxone and cefotaxime in the emergence of antibiotic resistance in the gut microbiota of hospitalized patients: A pilot study. Int J Infect Dis IJID Off Publ Int Soc Infect Dis. 2021 Mar;104:617–23.

336. Niehus R, van Kleef E, Mo Y, Turlej-Rogacka A, Lammens C, Carmeli Y, et al. Quantifying antibiotic impact on within-patient dynamics of extended-spectrum beta-lactamase resistance. eLife. 2020 May 7;9.

337. Mavromanolakis E, Maraki S, Samonis G, Tselentis Y, Cranidis A. Effect of norfloxacin, trimethoprim-sulfamethoxazole and nitrofurantoin on fecal flora of women with recurrent urinary tract infections. J Chemother Florence Italy. 1997 Jun;9(3):203–7.

338. Isaac S, Scher JU, Djukovic A, Jiménez N, Littman DR, Abramson SB, et al. Short- and long-term effects of oral vancomycin on the human intestinal microbiota. J Antimicrob Chemother. 2017 Jan;72(1):128–36.

339. Hertz FB, Budding AE, van der Lugt-Degen M, Savelkoul PH, Løbner-Olesen A, Frimodt-Møller N. Effects of Antibiotics on the Intestinal Microbiota of Mice. Antibiot Basel Switz. 2020 Apr 17;9(4).

340. Léonard F, Andremont A, Leclerq B, Labia R, Tancrède C. Use of beta-lactamase-producing anaerobes to prevent ceftriaxone from degrading intestinal resistance to colonization. J Infect Dis. 1989 Aug;160(2):274–80.

341. Fontaine C, Armand-Lefèvre L, Magnan M, Nazimoudine A, Timsit J-F, Ruppé E. Relationship between the composition of the intestinal microbiota and the tracheal and intestinal colonization by opportunistic pathogens in intensive care patients. PloS One. 2020;15(8):e0237260.

342. Gosalbes MJ, Vázquez-Castellanos JF, Angebault C, Woerther P-L, Ruppé E, Ferrús ML, et al. Carriage of Enterobacteria Producing Extended-Spectrum β-Lactamases and Composition of the Gut Microbiota in an Amerindian Community. Antimicrob Agents Chemother. 2016 Jan;60(1):507–14.

343. Araos R, Tai AK, Snyder GM, Blaser MJ, D'Agata EMC. Predominance of Lactobacillus spp. Among Patients Who Do Not Acquire Multidrug-Resistant Organisms. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 2016 Oct 1;63(7):937–43.

344. Munoz-Price LS, Poirel L, Bonomo RA, Schwaber MJ, Daikos GL, Cormican M, et al. Clinical epidemiology of the global expansion of Klebsiella pneumoniae carbapenemases. Lancet Infect Dis. 2013 Sep;13(9):785–96.

345. Savard P, Perl TM. A call for action: managing the emergence of multidrug-resistant Enterobacteriaceae in the acute care settings. Curr Opin Infect Dis. 2012 Aug;25(4):371–7.

346. Patel G, Huprikar S, Factor SH, Jenkins SG, Calfee DP. Outcomes of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae infection and the impact of antimicrobial and adjunctive therapies. Infect Control Hosp Epidemiol. 2008 Dec;29(12):1099–106.

347. Borer A, Saidel-Odes L, Riesenberg K, Eskira S, Peled N, Nativ R, et al. Attributable mortality rate for carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae bacteremia. Infect Control Hosp Epidemiol. 2009 Oct;30(10):972–6.

348. Savard P, Carroll KC, Wilson LE, Perl TM. The challenges of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and infection prevention: protecting patients in the chaos. Infect Control Hosp Epidemiol. 2013 Jul;34(7):730–9.

349. Systematic review of the effectiveness of infection control measures to prevent the transmission of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae through cross-border transfer of patients [Internet]. European Centre for Disease Prevention and Control. 2014 [cited 2021 Oct 30]. Available from: https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/systematic-review-effectiveness-infection-control-measures-prevent-transmission

350. French CE, Coope C, Conway L, Higgins JPT, McCulloch J, Okoli G, et al. Control of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae outbreaks in acute settings: an evidence review. J Hosp Infect. 2017 Jan;95(1):3–45.

351. Enfield KB, Huq NN, Gosseling MF, Low DJ, Hazen KC, Toney DM, et al. Control of simultaneous outbreaks of carbapenemase-producing enterobacteriaceae and extensively drug-resistant Acinetobacter baumannii infection in an intensive care unit using interventions promoted in the Centers for Disease Control and Prevention 2012 carbapenemase-resistant Enterobacteriaceae Toolkit. Infect Control Hosp Epidemiol. 2014 Jul;35(7):810–7.

352. Munoz-Price LS, Hayden MK, Lolans K, Won S, Calvert K, Lin M, et al. Successful control of an outbreak of Klebsiella pneumoniae carbapenemase-producing K. pneumoniae at a long-term acute care hospital. Infect Control Hosp Epidemiol. 2010 Apr;31(4):341–7.

353. Chitnis AS, Caruthers PS, Rao AK, Lamb J, Lurvey R, Beau De Rochars V, et al. Outbreak of carbapenem-resistant enterobacteriaceae at a long-term acute care hospital: sustained reductions in transmission through active surveillance and targeted interventions. Infect Control Hosp Epidemiol. 2012 Oct;33(10):984–92.

354. Ben-David D, Maor Y, Keller N, Regev-Yochay G, Tal I, Shachar D, et al. Potential role of active surveillance in the control of a hospital-wide outbreak of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae infection. Infect Control Hosp Epidemiol. 2010 Jun;31(6):620–6.

355. Borer A, Eskira S, Nativ R, Saidel-Odes L, Riesenberg K, Livshiz-Riven I, et al. A multifaceted intervention strategy for eradication of a hospital-wide outbreak caused by carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae in Southern Israel. Infect Control Hosp Epidemiol. 2011 Dec;32(12):1158–65.

356. Ciobotaro P, Oved M, Nadir E, Bardenstein R, Zimhony O. An effective intervention to limit the spread of an epidemic carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae strain in an acute care setting: from theory to practice. Am J Infect Control. 2011 Oct;39(8):671–7.

357. Cohen MJ, Block C, Levin PD, Schwartz C, Gross I, Weiss Y, et al. Institutional control measures to curtail the epidemic spread of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae: a 4-year perspective. Infect Control Hosp Epidemiol. 2011 Jul;32(7):673–8.

358. Debby BD, Ganor O, Yasmin M, David L, Nathan K, Ilana T, et al. Epidemiology of carbapenem resistant Klebsiella pneumoniae colonization in an intensive care unit. Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol. 2012 Aug;31(8):1811–7.

359. Kurup A, Chlebicka N, Tan KY, Chen EX, Oon L, Ling TA, et al. Active surveillance testing and decontamination strategies in intensive care units to reduce methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections. Am J Infect Control. 2010 Jun;38(5):361–7.

360. DalBen MF. Transmission-Based Precautions for Multidrug-Resistant Organisms: What to Prioritize When Resources Are Limited. Curr Treat Options Infect Dis. 2018 Mar 1;10(1):40–7.

361. Siddiqui AH, Harris AD, Hebden J, Wilson PD, Morris JG, Roghmann M-C. The effect of active surveillance for vancomycin-resistant enterococci in high-risk units on vancomycin-resistant enterococci incidence hospital-wide. Am J Infect Control. 2002 Feb;30(1):40–3.

362. Derde LPG, Cooper BS, Goossens H, Malhotra-Kumar S, Willems RJL, Gniadkowski M, et al. Interventions to reduce colonisation and transmission of antimicrobial-resistant bacteria in intensive care units: an interrupted time series study and cluster randomised trial. Lancet Infect Dis. 2014 Jan;14(1):31–9.

363. Magiorakos AP, Burns K, Rodríguez Baño J, Borg M, Daikos G, Dumpis U, et al. Infection prevention and control measures and tools for the prevention of entry of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae into healthcare settings: guidance from the European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrob Resist Infect Control. 2017;6:113.

364. Nour I, Eldegla HE, Nasef N, Shouman B, Abdel-Hady H, Shabaan AE. Risk factors and clinical outcomes for carbapenem-resistant Gram-negative late-onset sepsis in a neonatal intensive care unit. J Hosp Infect. 2017 Sep;97(1):52–8.

365. Averbuch D, Tridello G, Hoek J, Mikulska M, Akan H, Yanez San Segundo L, et al. Antimicrobial Resistance in Gram-Negative Rods Causing Bacteremia in Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients: Intercontinental Prospective Study of the Infectious Diseases Working Party of the European Bone Marrow Transplantation Group. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 2017 Nov 13;65(11):1819–28.

366. Huijbers PMC, Blaak H, de Jong MCM, Graat EAM, Vandenbroucke-Grauls CMJE, de Roda Husman AM. Role of the Environment in the Transmission of Antimicrobial Resistance to Humans: A Review. Environ Sci Technol. 2015 Oct 20;49(20):11993–2004.

367. Ostholm-Balkhed A, Tärnberg M, Nilsson M, Nilsson LE, Hanberger H, Hällgren A, et al. Travel-associated faecal colonization with ESBL-producing Enterobacteriaceae: incidence and risk factors. J Antimicrob Chemother. 2013 Sep;68(9):2144–53.

368. Lucet J-C, Paoletti X, Demontpion C, Degrave M, Vanjak D, Vincent C, et al. Carriage of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in home care settings: prevalence, duration, and transmission to household members. Arch Intern Med. 2009 Aug 10;169(15):1372–8.

369. Cattoen C. Persistance du portage de bactéries multirésistantes après la réanimation. Réanimation. 2015 May 1;24(3):249–55.

370. Durand A, Dupré C, Robriquet L. Faut-il isoler les patients porteurs de BMR ? Réanimation. 2016 May 1;25(3):318–27.

371. Brun-Buisson C. Le dépistage des porteurs de bactéries multirésistantes : chez quels patients ? Réanimation. 2015 Jan 1;24(2):304–14.

372. Friedmann R, Raveh D, Zartzer E, Rudensky B, Broide E, Attias D, et al. Prospective evaluation of colonization with extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing enterobacteriaceae among patients at hospital admission and of subsequent colonization with ESBL-producing enterobacteriaceae among patients during hospitalization. Infect Control Hosp Epidemiol. 2009 Jun;30(6):534–42.

373. Kluytmans-van den Bergh MFQ, Verhulst C, Willemsen LE, Verkade E, Bonten MJM, Kluytmans J a. JW. Rectal Carriage of Extended-Spectrum-Beta-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in Hospitalized Patients: Selective Preenrichment Increases Yield of Screening. J Clin Microbiol. 2015 Aug;53(8):2709–12.

374. Girlich D, Ouzani S, Langlois I, Fortineau N, Naas T, Dortet L. Usefulness of Xpert® Carba-R on enrichment broth for the early detection of carbapenemase-producing Enterobacterales. Int J Infect Dis IJID Off Publ Int Soc Infect Dis. 2021 Sep 20;112:183–5.

375. Girlich D, Ouzani S, Langlois I, Begasse C, Arangia N, Fortineau N, et al. Successful use of culture and enrichment for the detection of OXA-181-producing Escherichia coli from rectal swab samples falsely categorized as negative by Xpert® Carba-R. Diagn Microbiol Infect Dis. 2020 Jan;96(1):114909.

376. Golan Y, Doron S, Griffith J, El Gamal H, Tanios M, Blunt K, et al. The impact of gown-use requirement on hand hygiene compliance. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 2006 Feb 1;42(3):370–6.

377. Yoonchang SW, Peck KR, Kim OS, Lee JH, Lee NY, Oh WS, et al. Efficacy of infection control strategies to reduce transmission of vancomycin-resistant enterococci in a tertiary care hospital in Korea: a 4-year follow-up study. Infect Control Hosp Epidemiol. 2007 Apr;28(4):493–5.

378. Dhar S, Marchaim D, Tansek R, Chopra T, Yousuf A, Bhargava A, et al. Contact precautions: more is not necessarily better. Infect Control Hosp Epidemiol. 2014 Mar;35(3):213–21.

379. Tschudin-Sutter S, Frei R, Dangel M, Stranden A, Widmer AF. Rate of transmission of extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae without contact isolation. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 2012 Dec;55(11):1505–11.

380. Karki S, Leder K, Cheng AC. Patients under contact precautions have an increased risk of injuries and medication errors: a retrospective cohort study. Infect Control Hosp Epidemiol. 2013 Oct;34(10):1118–20.

381. Martin EM, Bryant B, Grogan TR, Rubin Z, Russell D, Elashoff D, et al. Noninfectious Hospital Adverse Events Decline After Elimination of Contact Precautions for MRSA and VRE. Infect Control Hosp Epidemiol. 2018 Jul;39(7):788–96.

382. Morgan DJ, Pineles L, Shardell M, Graham MM, Mohammadi S, Forrest GN, et al. The effect of contact precautions on healthcare worker activity in acute care hospitals. Infect Control Hosp Epidemiol. 2013 Jan;34(1):69–73.

383. Zahar JR, Garrouste-Orgeas M, Vesin A, Schwebel C, Bonadona A, Philippart F, et al. Impact of contact isolation for multidrug-resistant organisms on the occurrence of medical errors and adverse events. Intensive Care Med. 2013 Dec;39(12):2153–60.

384. Day HR, Perencevich EN, Harris AD, Himelhoch SS, Brown CH, Gruber-Baldini AL, et al. Do contact precautions cause depression? A two-year study at a tertiary care medical centre. J Hosp Infect. 2011 Oct;79(2):103–7.

385. Tschudin-Sutter S, Pargger H, Widmer AF. Hand hygiene in the intensive care unit. Crit Care Med. 2010 Aug;38(8 Suppl):S299-305.

386. Kaier K, Frank U, Hagist C, Conrad A, Meyer E. The impact of antimicrobial drug consumption and alcohol-based hand rub use on the emergence and spread of extended-spectrum beta-lactamase-producing strains: a time-series analysis. J Antimicrob Chemother. 2009 Mar;63(3):609–14.

387. 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.

388. Larson E. Skin hygiene and infection prevention: more of the same or different approaches? Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 1999 Nov;29(5):1287–94.

389. Kollef MH, Fraser VJ. Antibiotic resistance in the intensive care unit. Ann Intern Med. 2001 Feb 20;134(4):298–314.

390. Su D, Hu B, Rosenthal VD, Li R, Hao C, Pan W, et al. Impact of the International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) Multidimensional Hand Hygiene Approach in five intensive care units in three cities of China. Public Health. 2015 Jul;129(7):979–88.

391. Eckmanns T, Bessert J, Behnke M, Gastmeier P, Ruden H. Compliance with antiseptic hand rub use in intensive care units: the Hawthorne effect. Infect Control Hosp Epidemiol. 2006 Sep;27(9):931–4.

392. Marra AR, Edmond MB. New technologies to monitor healthcare worker hand hygiene. Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis. 2014 Jan;20(1):29–33.

393. Yumpu.com. Consommation des produits d'hygiène des mains en ... - CLIN Ouest [Internet]. yumpu.com. [cited 2021 Nov 22]. Available from: https://www.yumpu.com/fr/document/view/10940426/consommation-des-produits-dhygiene-des-mains-en-clin-ouest

394. Trick WE, Vernon MO, Welbel SF, Demarais P, Hayden MK, Weinstein RA, et al. Multicenter intervention program to increase adherence to hand hygiene recommendations and glove use and to reduce the incidence of antimicrobial resistance. Infect Control Hosp Epidemiol. 2007 Jan;28(1):42–9.

395. DalBen M de F, Teixeira Mendes E, Moura ML, Abdel Rahman D, Peixoto D, Alves Dos Santos S, et al. A Model-Based Strategy to Control the Spread of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae: Simulate and Implement. Infect Control Hosp Epidemiol. 2016 Nov;37(11):1315–22.

396. Almaguer-Leyva M, Mendoza-Flores L, Medina-Torres AG, Salinas-Caballero AG, Vidaña-Amaro JA, Garza-Gonzalez E, et al. Hand hygiene compliance in patients under contact precautions and in the general hospital population. Am J Infect Control. 2013 Nov;41(11):976–8.

397. Harris AD, Pineles L, Belton B, Johnson JK, Shardell M, Loeb M, et al. Universal glove and gown use and acquisition of antibiotic-resistant bacteria in the ICU: a randomized trial. JAMA. 2013 Oct 16;310(15):1571–80.

398. Eveillard M. Wearing gloves: the worst enemy of hand hygiene? Future Microbiol. 2011 Aug;6(8):835–7.

399. Han JH, Bilker WB, Nachamkin I, Zaoutis TE, Coffin SE, Linkin DR, et al. The effect of a hospital-wide urine culture screening intervention on the incidence of extended-spectrum β-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella species. Infect Control Hosp Epidemiol. 2013 Nov;34(11):1160–6.

400. Huskins WC, Huckabee CM, O'Grady NP, Murray P, Kopetskie H, Zimmer L, et al. Intervention to reduce transmission of resistant bacteria in intensive care. N Engl J Med. 2011 Apr 14;364(15):1407–18.

401. Hilliquin D, Lomont A, Zahar J-R. Cohorting for preventing the nosocomial spread of Carbapenemase-Producing Enterobacterales, in non-epidemic settings: is it mandatory? J Hosp Infect [Internet]. 2020 Apr 18 [cited 2020 May 6]; Available from: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195670120301973

402. Palmore TN, Henderson DK. Managing transmission of carbapenem-resistant enterobacteriaceae in healthcare settings: a view from the trenches. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 2013 Dec;57(11):1593–9.

403. Austin DJ, Bonten MJ, Weinstein RA, Slaughter S, Anderson RM. Vancomycin-resistant enterococci in intensive-care hospital settings: transmission dynamics, persistence, and the impact of infection control programs. Proc Natl Acad Sci U S A. 1999 Jun 8;96(12):6908–13.

404. Schwaber MJ, Lev B, Israeli A, Solter E, Smollan G, Rubinovitch B, et al. Containment of a country-wide outbreak of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae in Israeli hospitals via a nationally implemented intervention. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 2011 Apr 1;52(7):848–55.

405. Guidelines for the Prevention and Control of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae, Acinetobacter baumannii and Pseudomonas aeruginosa in Health Care Facilities [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2017 [cited 2021 Nov 23]. (WHO Guidelines Approved by the Guidelines Review Committee). Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK493061/

406. Paul P, Slayton RB, Kallen AJ, Walters MS, Jernigan JA. Modeling Regional Transmission and Containment of a Healthcare-associated Multidrug-resistant Organism. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 2020 Jan 16;70(3):388–94.

407. Munoz-Price LS, Quinn JP. Deconstructing the infection control bundles for the containment of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. Curr Opin Infect Dis. 2013 Aug;26(4):378–87.

408. García-Arenzana N, Redondo-Bravo L, Espinel-Ruiz MA, Borrego-Prieto P, Ruiz-Carrascoso G, Quintas-Viqueira A, et al. Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Outbreak in a Medical Ward in Spain: Epidemiology, Control Strategy, and Importance of Environmental Disinfection. Microb Drug Resist Larchmt N. 2020 Jan;26(1):54–9.

409. Decraene V, Phan HTT, George R, Wyllie DH, Akinremi O, Aiken Z, et al. A Large, Refractory Nosocomial Outbreak of Klebsiella pneumoniae Carbapenemase-Producing Escherichia coli Demonstrates Carbapenemase Gene Outbreaks Involving Sink Sites Require Novel Approaches to Infection Control. Antimicrob Agents Chemother. 2018 Dec;62(12):e01689-18.

410. Pirš M, Cerar Kišek T, Križan Hergouth V, Seme K, Mueller Premru M, Jeverica S, et al. Successful control of the first OXA-48 and/or NDM carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae outbreak in Slovenia 2014-2016. J Hosp Infect. 2019 Feb;101(2):142–9.

411. Tomczyk S, Zanichelli V, Grayson ML, Twyman A, Abbas M, Pires D, et al. Control of Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, Acinetobacter baumannii, and Pseudomonas aeruginosa in Healthcare Facilities: A Systematic Review and Reanalysis of Quasi-experimental Studies. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 2019 Feb 15;68(5):873–84.

412. Schwaber MJ, Lev B, Israeli A, Solter E, Smollan G, Rubinovitch B, et al. Containment of a country-wide outbreak of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae in Israeli hospitals via a nationally implemented intervention. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 2011 Apr 1;52(7):848–55.

413. Lepelletier D, Lucet JC, Astagneau P, Coignard B, Vaux S, Rabaud C, et al. Control of emerging extensively drug-resistant organisms (eXDRO) in France: a survey among infection preventionists from 286 healthcare facilities. Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol. 2015 Aug;34(8):1615–20.

414. Atamna-Mawassi H, Huberman-Samuel M, Hershcovitz S, Karny-Epstein N, Kola A, Cortés LEL, et al. Interventions to reduce infections caused by multidrug resistant Enterobacteriaceae (MDR-E): A systematic review and meta-analysis. J Infect. 2021 Aug;83(2):156–66.

415. Bonten MJ, Slaughter S, Ambergen AW, Hayden MK, van Voorhis J, Nathan C, et al. The role of "colonization pressure" in the spread of vancomycin-resistant enterococci: an important infection control variable. Arch Intern Med. 1998 May 25;158(10):1127–32.

416. Merrer J, Santoli F, Appéré de Vecchi C, Tran B, De Jonghe B, Outin H. "Colonization pressure" and risk of acquisition of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in a medical intensive care unit. Infect Control Hosp Epidemiol. 2000 Nov;21(11):718–23.

417. DalBen MF, Basso M, Garcia CP, Costa SF, Toscano CM, Jarvis WR, et al. Colonization pressure as a risk factor for colonization by multiresistant Acinetobacter spp and carbapenem-resistant Pseudomonas aeruginosa in an intensive care unit. Clin Sao Paulo Braz. 2013;68(8):1128–33.

418. Williams VR, Callery S, Vearncombe M, Simor AE. The role of colonization pressure in nosocomial transmission of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Am J Infect Control. 2009 Mar;37(2):106–10.

419. Ajao AO, Harris AD, Roghmann M-C, Johnson JK, Zhan M, McGregor JC, et al. Systematic review of measurement and adjustment for colonization pressure in studies of methicillin-resistant Staphylococcus aureus, vancomycin-resistant enterococci, and clostridium difficile acquisition. Infect Control Hosp Epidemiol. 2011 May;32(5):481–9.

420. Swaminathan M, Sharma S, Poliansky Blash S, Patel G, Banach DB, Phillips M, et al. Prevalence and risk factors for acquisition of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in the setting of endemicity. Infect Control Hosp Epidemiol. 2013 Aug;34(8):809–17.

421. Torres-Gonzalez P, Cervera-Hernandez ME, Niembro-Ortega MD, Leal-Vega F, Cruz-Hervert LP, García-García L, et al. Factors Associated to Prevalence and Incidence of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Fecal Carriage: A Cohort Study in a Mexican Tertiary Care Hospital. PloS One. 2015;10(10):e0139883.

422. Papadimitriou-Olivgeris M, Christofidou M, Fligou F, Bartzavali C, Vrettos T, Filos KS, et al. The role of colonization pressure in the dissemination of colistin or tigecycline resistant KPC-producing Klebsiella pneumoniae in critically ill patients. Infection. 2014 Oct;42(5):883–90.

423. Otter JA, Burgess P, Davies F, Mookerjee S, Singleton J, Gilchrist M, et al. Counting the cost of an outbreak of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: an economic evaluation from a hospital perspective. Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis. 2017 Mar;23(3):188–96.

424. Hawkey PM. Multidrug-resistant Gram-negative bacteria: a product of globalization. J Hosp Infect. 2015 Apr;89(4):241–7.

425. Collin SM, Farra A. Antimicrobial resistance, infection prevention and control, and conflict in the Middle East. Int J Infect Dis IJID Off Publ Int Soc Infect Dis. 2021 Oct;111:326–7.

426. Safdar N, Sengupta S, Musuuza JS, Juthani-Mehta M, Drees M, Abbo LM, et al. Status of the Prevention of Multidrug-Resistant Organisms in International Settings: A Survey of the Society for Healthcare Epidemiology of America Research Network. Infect Control Hosp Epidemiol. 2017 Jan;38(1):53–60.

427. Lepelletier D, Berthelot P, Lucet J-C, Fournier S, Jarlier V, Grandbastien B, et al. French recommendations for the prevention of "emerging extensively drug-resistant bacteria" (eXDR) cross-transmission. J Hosp Infect. 2015 Jul;90(3):186–95.

428. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 9.0, valid from 2019-01-01 [Internet]. Available from: https://www.sfm-microbiologie.org/casfm-eucast

429. Dortet L, Cuzon G, Plésiat P, Naas T. Prospective evaluation of an algorithm for the phenotypic screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. J Antimicrob Chemother. 2016 Jan;71(1):135–40.

430. Compain F, Gallah S, Eckert C, Arlet G, Ramahefasolo A, Decré D, et al. Assessment of Carbapenem Resistance in Enterobacteriaceae with the Rapid and Easy-to-Use Chromogenic β Carba Test. J Clin Microbiol. 2016;54(12):3065–8.

431. Pilmis B, Billard-Pomares T, Martin M, Clarempuy C, Lemezo C, Saint-Marc C, et al. Can environmental contamination be explained by particular traits associated with patients? J Hosp Infect. 2020 Mar;104(3):293–7.

432. Austin SR, Wong Y-N, Uzzo RG, Beck JR, Egleston BL. Why summary comorbidity measures such as the Charlson Comorbidity Index and Elixhauser score work. Med Care. 2015 Sep;53(9):e65.

433. Wallace M, Shelkey M. Monitoring functional status in hospitalized older adults. Am J Nurs. 2008 Apr;108(4):64–71; quiz 71–2.

434. Ruppé E, Lixandru B, Cojocaru R, Büke C, Paramythiotou E, Angebault C, et al. Relative fecal abundance of extended-spectrum-β-lactamase-producing Escherichia coli strains and their occurrence in urinary tract infections in women. Antimicrob Agents Chemother. 2013 Sep;57(9):4512–7.

435. Pilmis B, Mizrahi A, Péan de Ponfilly G, Philippart F, Bruel C, Zahar J-R, et al. Relative faecal abundance of extended-spectrum β-lactamase-producing Enterobacterales and its impact on infections among intensive care unit patients: a pilot study. J Hosp Infect. 2021 Mar 29;112:92–5.

436. Lerner A, Romano J, Chmelnitsky I, Navon-Venezia S, Edgar R, Carmeli Y. Rectal swabs are suitable for quantifying the carriage load of KPC-producing carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. Antimicrob Agents Chemother. 2013 Mar;57(3):1474–9.

437. Lucet J-C, Paoletti X, Lolom I, Paugam-Burtz C, Trouillet J-L, Timsit J-F, et al. Successful long-term program for controlling methicillin-resistant Staphylococcus aureus in intensive care units. Intensive Care Med. 2005 Aug;31(8):1051–7.

438. Loveday HP, Pellowe CM, Jones SRLJ, Pratt RJ. A systematic review of the evidence for interventions for the prevention and control of meticillin-resistant Staphylococcus aureus (1996-2004): report to the Joint MRSA Working Party (Subgroup A). J Hosp Infect. 2006 May;63 Suppl 1:S45-70.

439. Cooper BS, Stone SP, Kibbler CC, Cookson BD, Roberts JA, Medley GF, et al. Isolation measures in the hospital management of methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA): systematic review of the literature. BMJ. 2004 Sep 4;329(7465):533.

440. Jarlier V, Trystram D, Brun-Buisson C, Fournier S, Carbonne A, Marty L, et al. Curbing methicillin-resistant Staphylococcus aureus in 38 French hospitals through a 15-year institutional control program. Arch Intern Med. 2010 Mar 22;170(6):552–9.

441. Abad C, Fearday A, Safdar N. Adverse effects of isolation in hospitalised patients: a systematic review. J Hosp Infect. 2010 Oct;76(2):97–102.