



Université  
de Toulouse

**UNIVERSITE TOULOUSE III - PAUL SABATIER  
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES**

Année 2015

Thèse n° 2015/TOU3/2072

**MÉMOIRE DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPECIALISÉES  
D'INNOVATION PHARMACEUTIQUE ET RECHERCHE**

# **THESE**

**POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

Présentée et soutenue publiquement

Par

**MANTION BENOÎT**

**ENTEROCOQUES RESISTANTS A LA VANCOMYCINE (ERV) :  
DE GRANDES EPIDEMIES VERS UNE GESTION EN ROUTINE.**

Date de soutenance : 25 septembre 2015

Directeur de thèse : Madame le Professeur Christine ROQUES-CESCHIN

## **JURY**

**PRESIDENT :** Madame le Professeur Christine ROQUES-CESCHIN

**ASSESEURS :** Monsieur le Docteur Laurent CAVALIE  
Madame le Docteur Sandra MALAVAUD  
Madame le Docteur Marie-Françoise PRERE  
Monsieur le Docteur Mathieu TAFANI

**PERSONNEL ENSEIGNANT  
de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de l'Université Paul Sabatier  
au 1<sup>er</sup> octobre 2014**

**Professeurs Émérites**

M. BASTIDE R	Pharmacie Clinique
M. BERNADOU J	Chimie Thérapeutique
M. CAMPISTRON G	Physiologie
M. CHAVANT L	Mycologie
Mme FOURASTÉ I	Pharmacognosie
M. MOULIS C	Pharmacognosie
M. ROUGE P	Biologie Cellulaire

**Professeurs des Universités**

<b>Hospitalo-Universitaires</b>		<b>Universitaires</b>	
M. CHATELUT E	Pharmacologie	Mme BARRE A	Biologie
M. FAVRE G	Biochimie	Mme BAZIARD G	Chimie pharmaceutique
M. HOUIN G	Pharmacologie	Mme BENDERBOUS S	Mathématiques – Biostat.
M. PARINI A	Physiologie	M. BENOIST H	Immunologie
M. PASQUIER C (Doyen)	Bactériologie - Virologie	Mme BERNARDES-GÉNISSON V	Chimie thérapeutique
Mme ROQUES C	Bactériologie - Virologie	Mme COUDERC B	Biochimie
Mme ROUSSIN A	Pharmacologie	M. CUSSAC D (Vice-Doyen)	Physiologie
Mme SALLERIN B	Pharmacie Clinique	Mme DOISNEAU-SIXOU S	Biochimie
M. SIÉ P	Hématologie	M. FABRE N	Pharmacognosie
M. VALENTIN A	Parasitologie	M. GAIRIN J-E	Pharmacologie
		Mme MULLER-STAUMONT C	Toxicologie - Sémiologie
		Mme NEPVEU F	Chimie analytique
		M. SALLES B	Toxicologie
		Mme SAUTEREAU A-M	Pharmacie galénique
		M. SÉGUI B	Biologie Cellulaire
		M. SOUCHARD J-P	Chimie analytique
		Mme TABOULET F	Droit Pharmaceutique
		M. VERHAEGHE P	Chimie Thérapeutique

## Maîtres de Conférences des Universités

### Hospitalo-Universitaires

M. CESTAC P	Pharmacie Clinique
Mme GANDIA-MAILLY P (*)	Pharmacologie
Mme JUILLARD-CONDAT B	Droit Pharmaceutique
M. PUISSET F	Pharmacie Clinique
Mme SÉRONIE-VIVIEN S	Biochimie
Mme THOMAS F	Pharmacologie

### Universitaires

Mme ARÉLLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme AUTHIER H	Parasitologie
M. BERGÉ M. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme BON C	Biophysique
M. BOUJILA J (*)	Chimie analytique
Mme BOUTET E	Toxicologie - Sémiologie
M. BROUILLET F	Pharmacie Galénique
Mme CABOU C	Physiologie
Mme CAZALBOU S (*)	Pharmacie Galénique
Mme CHAPUY-REGAUD S	Bactériologie - Virologie
Mme COSTE A (*)	Parasitologie
M. DELCOURT N	Biochimie
Mme DERAËVE C	Chimie Thérapeutique
Mme ÉCHINARD-DOUIN V	Physiologie
Mme EL GARAH F	Chimie Pharmaceutique
Mme EL HAGE S	Chimie Pharmaceutique
Mme FALLONE F	Toxicologie
Mme GIROD-FULLANA S (*)	Pharmacie Galénique
Mme HALOVA-LAJOIE B	Chimie Pharmaceutique
Mme JOUANJUS E	Pharmacologie
Mme LAJOIE-MAZENC I	Biochimie
Mme LEFEVRE L	Physiologie
Mme LE LAMER A-C	Pharmacognosie
M. LEMARIE A	Biochimie
M. MARTI G	Pharmacognosie
Mme MIREY G (*)	Toxicologie
Mme MONTFERRAN S	Biochimie
M. OLICHON A	Biochimie
M. PERE D	Pharmacognosie
Mme PHILIBERT C	Toxicologie
Mme PORTHE G	Immunologie
Mme REYBIER-VUATTOUX K (*)	Chimie Analytique
M. SAINTE-MARIE Y	Physiologie
M. STIGLIANI J-L	Chimie Pharmaceutique
M. SUDOR J	Chimie Analytique
Mme TERRISSE A-D	Hématologie
Mme TOURRETTE A	Pharmacie Galénique
Mme VANSTEELANDT M	Pharmacognosie
Mme WHITE-KONING M	Mathématiques

(\*) titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

## Enseignants non titulaires

### Assistants Hospitalo-Universitaires

Mme COOL C (**)	Physiologie
Mme FONTAN C	Biophysique
Mme KELLER L	Biochimie
M. PÉRES M. (**)	Immunologie
Mme ROUCH L	Pharmacie Clinique
Mme ROUZAUD-LABORDE C	Pharmacie Clinique

### Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche

Mme PALOQUE L	Parasitologie
Mme GIRARDI C	Pharmacognosie
M IBRAHIM H	Chimie anal. - galénique

(\*\*) Nomination au 1<sup>er</sup> novembre 2014

## REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier mon jury :

A Madame le Professeur Christine Roques-Ceshin. Vous m'avez fait l'honneur de bien vouloir accepter d'être ma tutrice pendant mon internat, vous m'avez accompagné et suivi tout au long de mon évolution. Votre soutien a été très important pour moi. Vous avoir choisi comme directrice de thèse, et par la suite comme présidente de mon jury était une évidence. Merci encore.

A Madame le Docteur Marie Françoise Prère. Merci de m'avoir aidé et encadré dans l'élaboration des publications et posters réalisés pendant ma formation dans le laboratoire de bactériologie-hygiène mais aussi à la réalisation des nombreuses techniques de biologie moléculaire. Je tiens particulièrement à vous remercier pour votre gentillesse à mon égard, vous faites partie des personnes qui ont beaucoup compté pour moi même pendant mes périodes de doutes.

A Madame le Docteur Sandra Malavaud. Merci de m'avoir fait l'honneur d'accepter de rejoindre mon jury, votre rencontre a été déterminante dans ma formation. Vos conseils tant sur le plan de l'hygiène hospitalière mais aussi sur un plan plus personnel quand au choix de mon orientation professionnelle m'ont été précieux. Soyez assuré de ma profonde gratitude.

A Monsieur le Docteur Laurent Cavalié. Vous avez entièrement participé vous aussi à mon apprentissage et perfectionnement au laboratoire de bactériologie-hygiène. Vous m'avez accompagné dès le début de mon internat, merci de m'avoir accordé de votre temps, indispensable à l'apprentissage de mes connaissances.

A Monsieur le Docteur Mathieu Tafani. Merci d'avoir accepté de faire parti de mon jury de thèse, ta présence m'était importante, tu as toujours été là, du début de mon externat jusqu'à présent. Je me souviendrai toujours de toutes ces parties de baby endiablées avec la radio-pharmacie...

Merci à toute l'équipe opérationnelle d'hygiène du CHU de Toulouse (Hélène, Nicole, Simone, Valérie, Agnès, Nelly, Magalie et Laetitia). Merci aux infirmières hygiénistes pour vos relectures judicieuses, et bien entendu merci à Monsieur le Docteur Xavier Verdeil, praticien hygiéniste sur le site de Purpan.

A tout le laboratoire de Bactériologie Hygiène de l'IFB, Alain, Mélanie, Sylvie, Mélanie, Sabine, Laurent, Manu, Solange, Séverine, Marcelle ... et tous les autres techniciens qui ont participé de près ou de loin à ma formation.

Je tiens à présent à remercier ma famille :

A mes parents, qui m'ont tant soutenu tout au long de ces années. A ma maman, qui m'a toujours apporté ses conseils et dont le parcours exemplaire m'a toujours motivé. Tu es un modèle à mes yeux et j'espère qu'à ton tour, mon parcours te rend fière de moi. A mon papa, qui malgré le fait que mon domaine professionnel ne soit pas le sien, a toujours été d'un soutien à toute épreuve, toi aussi, tu restes à mes yeux un exemple de réussite, tant sur le plan professionnel que personnel. Tes encouragements, ta présence m'ont permis d'affronter toutes les difficultés rencontrées au travers de cette longue formation. Vous aurez été là pour m'accompagner à mon concours de première année, et maintenant, 10 ans après, toujours présents pour moi, en cette journée d'obtention de mon Doctorat en Pharmacie. Aucun mot ne pourra suffire pour vous témoigner toute ma reconnaissance et l'amour que j'ai pour vous.

A mon petit frère Arnaud, qui partage ma vie depuis 22 ans maintenant. (et oui déjà...) Tu es et restera mon petit frère avec qui j'ai partagé parmi les meilleurs moments de ma vie. Malgré la distance imposée par nos obligations professionnelles respectives mon affection pour toi n'a jamais changée. Je suis fier de toi et de pouvoir partager les prochaines années à tes côtés me reconforte, je t'aime petit frère.

A mes grands parents, Jeannot et Jeannette, avec qui j'ai appris que le bonheur se trouve dans les choses simples. Vous m'avez appris les choses essentielles à la vie. Je sais à quel point de vous avoir est une chance. Vous ne vous rendez pas compte comment il était important à mes yeux de vous avoir à mes côtés en cette journée.

A tout le reste de ma famille, Tonton Max, Tatie Claude, à mes cousins et cousines (Pierro, Tsimou, Peggy, mais aussi mon filleul Maxence), sans qui mon enfance n'aurait pas été ce qu'elle a été et à Taties Brigitte et Fabienne, Papi Mamie Michel et Jeannine.

Pour finir, merci à ma famille d'adoption, en commençant par mes beaux parents, Jean-Max et Martine, qui m'ont dès le début ouvert les portes de leur maison, et m'ont apporté une affection sans faille, un soutien durant toutes ces années de sacrifice. (et de très bons petits plats...) Je tiens également à remercier ma belle sœur Natacha et son compagnon Anthony avec qui j'ai partagé de supers moments, (vivement les prochains) votre présence était très importante pour moi. Mais aussi à Sylvie, Carla, Lilou, Jean Paul, Valérie, Paul et Inès, merci pour tout ce que vous avez pu faire pour nous.

Je tiens maintenant à remercier mes amis de fac :

Premièrement, à tous les membres de « la fine équipe » avec qui j'ai fais les 400 coups pendant toutes ces années, voilà maintenant 10 ans qu'on se suit, je tenais à vous témoigner toute mon amitié au travers de ces remerciements :

A mon binôme, Arnaud le réunionnais, toujours partant pour nos soirées, avec qui j'ai pu partager mes meilleurs moments de Fac, et qui malgré les années est encore et toujours présent pour moi, tu es mon ami fidèle, a présent bien casé avec Annabelle, je vous souhaite le meilleur pour la suite.

A Mix-Max, mon ami dévoué, merci d'avoir sponsorisé toutes nos soirées et WE made in MixMax Teuf, merci de m'avoir permis de découvrir la Guadeloupe à tes côtés, et je tiens à remercier aussi ta moitié, Clarisse, pour sa motivation à toute épreuve, (et ses ti'punch légendaires !) profitez bien de votre prochain départ mais cette fois ci revenez nous vite.

A Body, avec qui j'ai pu retourner tant de soirées, (et fait sauter pas mal de cautions...), ne tarde pas trop à nous rejoindre, tu es mon ami et complice déménageur (la reconversion est proche), la coloc' avec toi m'a bien régalié de tous tes petits plats protéinés !

A Alex, le body-surfer-enfumé de la bande, merci pour tous ces moments passés ensembles, tu es mon acolyte de soirées, je ne sais pas si je dois te remercier de m'avoir permis de rencontrer une certaine demoiselle ;) en tout cas, tu m'auras vendu du rêve, et j'espère que nos prochaines soirées ne seront que meilleures.

A Thomas, la grosse chamelle chevelue, heureusement que je t'avais à mes côtés en première année pour essayer quelques critiques capillairement parlantes, tu auras été présent toutes ces années, félicitations encore à toi et ta femme Justine pour la mini-chamelle nouvellement arrivée, j'espère que malgré cette nouvelle vie bien rangée tu me feras encore déguster quelques rhums arrangés...

A Polo chamelle, le tombeur de la bande, merci à toi aussi pour tous ces moments, mais aussi pour les découvertes en Guadeloupe que tu nous as permis de vivre, tu es la petite gazelle-globe-trotteuse du groupe, n'oublis pas de passer me voir à Béziers lors de ta prochaine étape.

Merci encore à vous tous, vous resterez mes amis pour toujours, avec qui j'aurais vécu les meilleurs moments de Fac qu'on puisse espérer, et je vous souhaite le meilleur dans vos vies futures.

Ensuite, à tous mes copains du P.O.R.C, avec qui on aura toujours bien fêté la troisième mi-temps et découvert les plus beaux recoins de la Tunisie... (Nabou, Greg, Jeff, Charles, Lolo Guerard, Cathalan, Jérôme, Alexis, Buffet, Loïc, Mayeul, Eynaud, Ruffel, Nico Laures, Karcher, Gayda, Coco, Garinet, Claude, et tous les autres) Et bien entendu tous les autres copains de fac (JB, Cazelles...)

A tous mes co-internes de la première heure, qui auront partagé une super année avec moi malgré le froid de Limoges, il est vrai qu'on aura bien « travaillé » au bureau des internes de la pharmacie : A toi mon ptit Dam, mais aussi mon Pierro l'hygiéniste, mon petit Patrick,

les amoureux Charlène et Vincent, Costes le chercheur, et à notre maman Hélène et tous ceux que j'oublie...

A mes co-internes Toulousains : Hélène, Etienne, Alice-Anne, Hadrien, Manu, Schérazade, Laura, Noémie, Marion, Pierre-Yves, Margaux, Yvan, Guillaume, Sandrine...

A tous les autres amis et copains avec qui j'ai pu passer de supers moments, plus particulièrement tous les carabins, opticiens, psychos, amis par alliance : Chalan, Chloé, Pauline, Céline, Anne Laure, Maud, Jérémy, Charlotte, Solène et bien entendu leurs moitiés !!!

Merci à tous mes collègues de baby et de foot en salle...

Et, pour finir, je tiens à remercier tout particulièrement la personne la plus importante à mes yeux, celle qui a été là pour moi pendant toutes ces années : ma moitié, ma confidente, ma meilleure amie : Samantha. Voici presque 9 ans que nous sommes ensemble, tu m'as soutenu dans tous les moments, même les plus difficiles, et malgré l'éloignement, nous avons toujours su nous préserver. J'espère que nous arriverons dans un avenir proche à fonder notre petite famille (... au soleil de préférence !!!) et surtout que si nous avons une fille... elle sera aussi jolie que toi... mais sans l'option caractère exotique !! Je t'aime pour la vie.

## SOMMAIRE

REMERCIEMENTS.....	1
SOMMAIRE .....	5
TABLE DES FIGURES.....	8
TABLE DES TABLEAUX.....	10
ABREVIATIONS .....	11
INTRODUCTION .....	13
1 <sup>ère</sup> Partie : Etude Bibliographique.....	15
I. Les glycopeptides .....	15
II. Mécanisme d'action des glycopeptides.....	16
1. La Paroi bactérienne .....	16
2. Synthèse du peptidoglycane .....	17
a. Etapes cytoplasmiques.....	17
b. Etapes membranaires .....	18
c. Insertion dans la paroi au peptidoglycane préexistant.....	19
3. Action des glycopeptides.....	20
III. Les entérocoques.....	21
1. Taxonomie et caractères bactériologiques.....	21
a. Taxonomie .....	21
b. Caractères bactériologiques.....	22
2. Habitat.....	23
3. Pouvoir pathogène.....	25
4. Facteurs de virulence.....	26
IV. Résistance aux antibiotiques .....	27
1. Histoire de l'antibiorésistance .....	27
2. Définition de la résistance .....	28
3. Résistance et sensibilité des entérocoques.....	29
a. Naturelle .....	29
b. Acquise .....	30
4. Entérocoques résistants à la vancomycine .....	31
5. Entérocoques et résistance aux antiseptiques.....	34

2 <sup>ème</sup> Partie : Épidémiologie et recommandations .....	36
I. Les Entérocoques dans le Monde .....	36
II. Les Entérocoques en Europe.....	37
III. Les Entérocoques en France.....	39
IV. Les BHRé : Bactéries Hautement Résistantes Emergentes .....	42
1. Définition BHRé.....	42
2. Maîtrise de la diffusion des BHRé.....	43
3. Patient hospitalisé suspect d'être porteur de BHRé.....	46
4. Rôle des mains .....	47
5. Rôle de l'environnement .....	48
6. Gestion des excreta.....	49
7. Principe de la prévention et maîtrise de la transmission croisée .....	50
a. Précautions Standard.....	51
b. Précautions Complémentaires.....	52
c. Précautions spécifiques de type « BHRé » (P <sub>Sp</sub> <sup>BHRé</sup> ).....	52
8. Décontamination du portage à ERV .....	53
9. Enjeux de la maîtrise .....	54
3 <sup>ème</sup> Partie : Gestion d'une épidémie à ERV au CHU de Toulouse .....	57
I. Contexte et départ de l'épidémie.....	57
1. Contexte.....	57
a. National selon les recommandations du HCSP .....	57
b. Local avec les recommandations de l'EOH du CHU de Toulouse .....	57
2. Description de l'épidémie .....	59
a. Hôpital Purpan.....	59
b. Hôpital Rangueil.....	64
c. Pour résumer.....	65
II. Mesures prises par l'EOH.....	67
III. Mesures institutionnelles .....	68
IV. Mesures administratives.....	69
V. Après la maîtrise de l'épidémie .....	70
VI. Adaptation des recommandations du HCSP par l'EOH du CHU de Toulouse	71
VII. Rôle du Laboratoire.....	73

1. Identification et caractères phénotypiques .....	73
2. Comparaison des isolats .....	75
a. Génotypique de résistance à la vancomycine.....	75
b. Détermination des pulsotypes .....	75
c. Génotypes de virulence.....	80
VIII. Perspectives et améliorations.....	83
CONCLUSION.....	87
ANNEXE.....	89
BIBLIOGRAPHIE.....	90

## TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Structure de la vancomycine et de la teicoplanine.....	15
Figure 2 : Différence de composition entre les bactéries à GRAM positifs et à GRAM négatifs. ....	16
Figure 3 : Etapes cytoplasmiques de la synthèse du peptidoglycane. ....	18
Figure 4 : Etapes membranaires avec formation du lipide II. ....	19
Figure 5 : Action de la vancomycine dans la synthèse du peptidoglycane. ....	20
Figure 6 : Dendrogramme ARN 16s de la position de l'espèce Enterococcus.....	22
Figure 7 : Les 10 microorganismes les plus fréquemment rencontrés dans les IAS (Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux, 2012). ....	25
Figure 8 : Histoire de l'antibiorésistance dans le monde .....	28
Figure 9 : Transposon 1546 .....	32
Figure 10 : Evolution de la résistance à la vancomycine pour les entérocoques (Etats Unis, 1989-2003) [Leclercq et al., 2006]. ....	37
Figure 11 : Evolution de la résistance aux glycopeptides en Europe 2002 à 2010.....	38
Figure 12 : Carte européenne de la résistance à la vancomycine en 2013.....	39
Figure 13 : Action de maîtrise des ERG par rapport aux signalements d'infections ou de colonisations d'août 2001 à décembre 2010 (57).....	40
Figure 14 : Nombre de signalements d'ERG par mois de 2003 à 2011 (InVS). ....	41
Figure 15 : Nombre de nouveaux cas d'ERG mois/mois au CHU de Nancy, octobre 2004 à juillet 2008.....	44
Figure 16 : Nombre d'entérobactéries productrices de carbapénémases par rapport aux nombres de cas secondaires. ....	45
Figure 17 : Provenance des patients porteurs d'entérobactéries productrices de carbapénémase dans les hôpitaux de l'AP-HP, de 2004 à 2011. ....	47
Figure 18 : Evolution résistance de l'ERV dans l'environnement pendant 4 ans.....	48

Figure 19 : Représentation graphique des différents niveaux de mesures à appliquer pour maîtriser la diffusion de la transmission croisée (HCSP 2013).....	51
Figure 20 : Evolution clinique du patient avant et après isolement du Staphylococcus aureus résistant à la vancomycine. ....	56
Figure 21 : Répartition dans le temps des patients porteurs d'ERV sur le site de Purpan et sur le site de Rangueil, en orange les « cas » de Purpan et en vert les « cas » de Rangueil. ....	65
Figure 22 : Tableau synoptique des cas du site de Purpan et du site de Rangueil.....	66
Figure 23 : Représentation d'ERG isolés à partir de selles sur gélose chromID ERV.....	74
Figure 24 : Identification d'E. faecium au laboratoire d'hygiène du CHU de Toulouse.....	74
Figure 25 : Plaque servant à la réalisation d'ECP. ....	76
Figure 26 : Site de restriction de Sma1. ....	77
Figure 27 : Résultats des différentes PCR réalisées sur 11 souches épidémiques.....	81

## TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Principaux tests biochimiques servant à l'identification de E. faecium et E. faecalis.....	23
Tableau 2 : Caractéristiques des différentes résistances chez les entérocoques. ....	35
Tableau 3 : Proportion d'épidémies et de cas secondaires avant et après 2009.....	45
Tableau 4 : Composition de la cohorte à J0 le 16 septembre.....	61
Tableau 5 : Composition de la cohorte à J2 le 18 septembre.....	62
Tableau 6 : Composition de la cohorte après identification du premier cas secondaire le 19 septembre.....	62
Tableau 7 : Récapitulatif du nombre de patients positifs, contact, sortis de cohorte et décédés (de leurs pathologies) sur les deux sites.....	65
Tableau 8. : Récapitulatif des adaptations des recommandations.....	71
Tableau 9 : Récapitulatif des résultats de l'ECP avec la correspondance des pulsotypes pour chaque patient et pour chaque site.....	78

## ABREVIATIONS

AP-HP : Assistance Publique - Hôpitaux de Paris

ARLIN : Antenne Régionale de Lutte contre les Infections Nosocomiales

ARS : Agence Régionale de Santé

ATB : Antibiotique

BHRe : Bactérie Hautement Résistante émergente

BMR : Bactérie Multirésistante aux antibiotiques

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

CCLIN : Centre de Coordination de la Lutte contre les Infections Nosocomiales

CDC : Center for Disease Control and Prevention

C3G : Céphalosporine de 3e génération

CLIN : Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales

CME : Commission Médicale d'Etablissement

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

DGOS : Direction Générale de l'Offre de Soins

DGS : Direction Générale de la Santé

EBLSE : Entérobactérie productrice de  $\beta$ -Lactamase à Spectre Etendu

eCDC : European Centre for Disease Prevention and Control

EOH : Equipe Opérationnelle d'Hygiène

EPC : Entérobactérie Productrice de Carbapénémase

ERG : Entérocoque Résistant aux Glycopeptides

ERV : Entérocoque Résistant à la Vancomycine

HCSP : Haut Conseil de la santé publique

IAS : Infection Associé aux Soins

ONERBA : Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques

PCC : Précautions Complémentaires de type Contact

PCR : Polymerase Chain Reaction (Réaction en chaîne par polymérase)

PHA : Produit Hydro-Alcoolique

PS : Précautions Standard

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

SARM : Staphylococcus Aureus Résistant à la Méricilline

SFHH : Société Française d'Hygiène Hospitalière

## INTRODUCTION

La diffusion de bactéries multi-résistantes (BMR) est un enjeu majeur de santé publique en France, en Europe et dans le monde. Parmi ces BMR, les bactéries hautement résistantes aux antibiotiques émergentes (BHRe) font partie des bactéries les plus surveillées de nos jours.

La maîtrise de la diffusion des BHRe telle que les entérocoques résistants aux glycopeptides et les entérobactéries productrices de carbapénèmase, est un véritable enjeu de santé publique dans notre pays. Dans le monde, ces résistances ne cessent de s'étendre, par opposition, elles restent encore maîtrisées en France. Devant l'émergence de ces bactéries, diverses mesures ont été mises en place depuis de nombreuses années pour lutter contre la diffusion des BMR, et principalement des BHRe aujourd'hui. Dans ce contexte, le Haut Conseil de la santé publique a publié un guide qui harmonise et actualise les différentes recommandations existantes sur les BHRe.

Ce guide propose des recommandations opérationnelles pour la prise en charge de patients porteurs de BHRe et celle des patients contacts. L'expertise de l'équipe opérationnelle d'hygiène (EOH) sera essentielle pour mettre en place les mesures et coordonner les actions des différents acteurs impliqués.

Ce guide vient aussi appuyer les objectifs donnés par le plan Antibiotiques français qui fixe comme objectif une réduction de -25 % en matière de consommation d'ici 2016. La France étant l'un des plus gros consommateurs d'antibiotiques en Europe et dans le Monde. De plus, bien que la consommation totale d'antibiotiques en France ait diminué de 16 % entre 2000 et 2010, une tendance à la hausse est actuellement notée dans les établissements de santé.

L'objet de ce travail a été d'évaluer les mesures mises en place pendant une épidémie à Entérocoque résistant à la vancomycine (ERV) sur le CHU de Toulouse. Nous allons ainsi pouvoir faire un bilan sur les adaptations des recommandations du Haut Conseil de Santé publique (HCSP) faites par le CHU de Toulouse tant par l'Equipe Opérationnelle en Hygiène, que le laboratoire d'Hygiène.

L'enjeu est d'éviter l'implantation et la diffusion de ces bactéries en France tout en préservant une prise en charge adaptée pour chaque patient.

# 1<sup>ère</sup> Partie : Etude Bibliographique

## I. Les glycopeptides

Les glycopeptides sont des antibiotiques naturels découverts dans les années 50. La vancomycine est issue de la fermentation de *Streptomyces* et la teicoplanine de la fermentation d'*Actinoplanes*. Leur action antibiotique provient de l'inhibition de la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne.

Ce sont les antibiotiques possédant la plus grosse structure : composé d'une partie glucidique associée à des acides aminés (Figure 1).

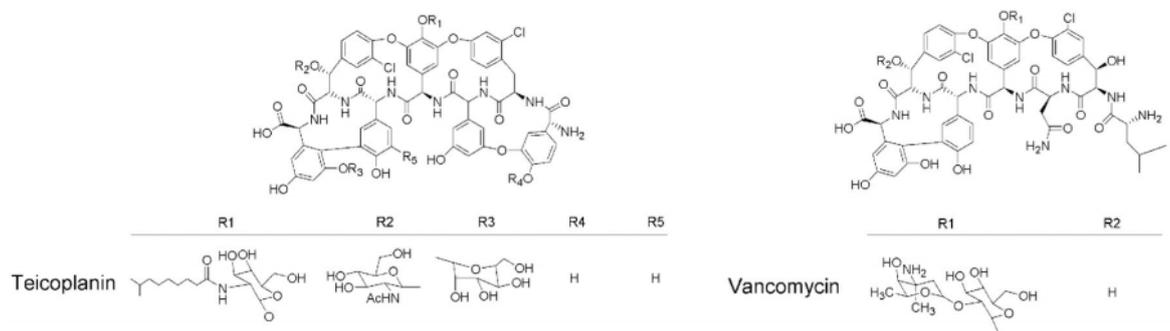


Figure 1 : Structure de la vancomycine et de la teicoplanine.

Les glycopeptides étant de grosses molécules, ils ne peuvent pas traverser la paroi des GRAM négatif (résistance naturelle), Ils ont donc une action exclusivement sur les Gram positifs aérobies et anaérobies.

Les glycopeptides sont utilisés en traitement de seconde intention, lorsque des résistances apparaissent comme celle à la méticilline pour *Staphylococcus aureus*. Ils ont donc un intérêt majeur en thérapeutique, car encore peu de bactéries possèdent des résistances vis à vis de ces antibiotiques. En revanche, nous relevons depuis quelques années l'émergence de souches résistantes notamment parmi les entérocoques.

## II. Mécanisme d'action des glycopeptides

### 1. La Paroi bactérienne

La paroi bactérienne est une structure rigide, de nature polymérique, qui protège et maintient la bactérie vis-à-vis de son environnement. Il existe plusieurs types de paroi bactérienne, nous allons surtout nous intéresser à deux types particuliers : celle des bactéries à Gram positif et celle des bactéries à Gram négatif. Tous les types de paroi sont constitués d'une substance commune : le peptidoglycane. La paroi est également responsable de la couleur prise lors de la coloration de Gram.

La paroi bactérienne est la cible privilégiée de plusieurs classes d'antibiotique, comme notamment les glycopeptides ou les  $\beta$ -lactamines.

Pour les bactéries à Gram positif (Figure 2), la paroi est épaisse (20 à 80 nm) et le constituant majeur est le peptidoglycane. La coloration de Gram donne des bactéries qui apparaissent en violet. Peu de protéines sont présentes dans ce type de paroi. Entre la membrane cytoplasmique et le peptidoglycane se situe l'espace périplasmique.

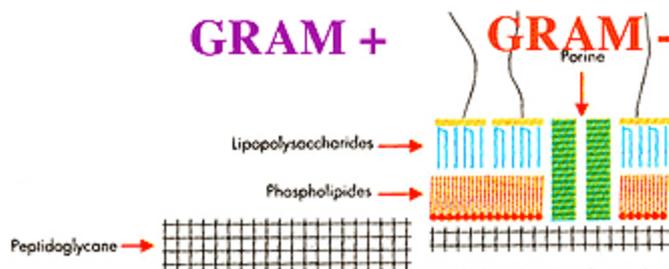


Figure 2 : Différence de composition entre les bactéries à GRAM positifs et à GRAM négatifs.

Pour les bactéries à Gram négatif (Figure 2), la couche de peptidoglycane est beaucoup plus fine que pour les Gram positif et la structure de la paroi est plus complexe. Pour ce type de bactéries, il y a en plus la présence d'une membrane externe qui est constituée d'une double couche de phospholipides. Dans la couche externe, les phospholipides peuvent être remplacés par des molécules de lipopolysaccharide.

Dans cette membrane, nous pouvons retrouver majoritairement deux types de protéines :

- Des protéines dites de structure, car elles consolident la membrane externe (OMP-A)
- Les porines, qui facilitent le transfert à travers la paroi de divers composés (comme les antibiotiques :  $\beta$ -lactamines, tétracyclines, quinolones..).

Il existe une troisième structure, les lipoprotéines, qui fait le lien entre le peptidoglycane et la membrane externe.

Pour les Gram négatif, le peptidoglycane est situé dans l'espace périplasmique.

Ce type de paroi ne prend pas la coloration de Gram et donne des bactéries qui apparaissent en rose (1).

## 2. Synthèse du peptidoglycane

La synthèse du peptidoglycane est similaire pour l'ensemble des bactéries. Sa synthèse se fait en trois étapes. La première, au cours de laquelle il y a formation des précurseurs cytoplasmiques, puis transfert de ceux-ci vers la membrane et finalement ajout au peptidoglycane préexistant (2).

### a. Etapes cytoplasmiques

Dans le cytoplasme, un enchaînement de 6 étapes sera nécessaire pour aboutir à la formation du monomère UDP-N-acétylmuramate-pentapeptide (MurNAc-pentapeptide)(3).

- Dans un premier temps, il y aura transfert d'un résidu énolpyruvate du phosphoénolpyruvate (PEP) à la position 3 de l'UDP-N-acétylglucosamine (GlcNAc), l'enzyme catalysant cette réaction est MurA,

- MurB, une réductase, réduira le groupement énoypyruvate en D-lactate, avec formation de l'UDP-N-acétylmuramate (MurNAc),
- MurC ajoutera le résidu L-Alanine (L-Ala),
- MurD ajoutera l'acide D-Glutamique (D-Glu),
- MurE ajoutera le résidu L-Lysine (L-Lys),
- MurF ajoutera le résidu D-Alanine-D-Alanine (D-Ala-D-Ala).

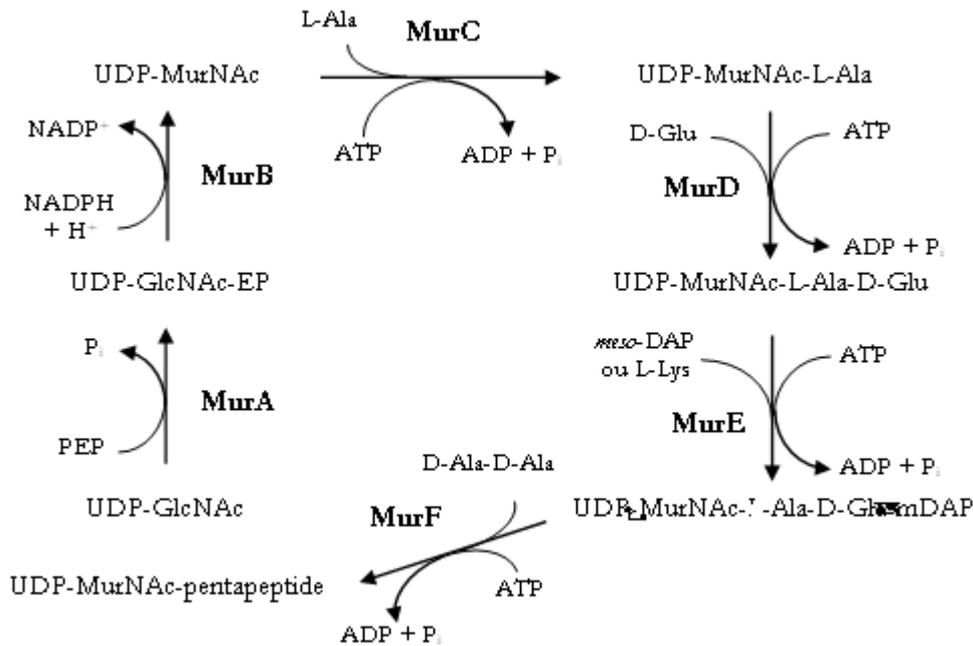


Figure 3 : Etapes cytoplasmiques de la synthèse du peptidoglycane.

## b. Etapes membranaires

Durant ces étapes, un transfert du précurseur UDP-N-acétylmuramate-pentapeptide du cytoplasme vers la membrane. Ce transfert sera catalysé par la translocase *MraY*, il y aura transfert du groupement phospho-MurNAc-pentapeptide de l'UDP-MurNAc-pentapeptide à l'accepteur membranaire : undécaprénol-phosphate. Il y aura formation du MurNAc-pentapeptide-pyrophosphoryl-undécaprénol ou lipide I.

Puis, la transférase *MurG* ajoutera un résidu GlcNAc au lipide I pour former le GlcNAc-MurNAc-pentapeptide-pyrophosphoryl-undécaprénol ou lipide II (4).

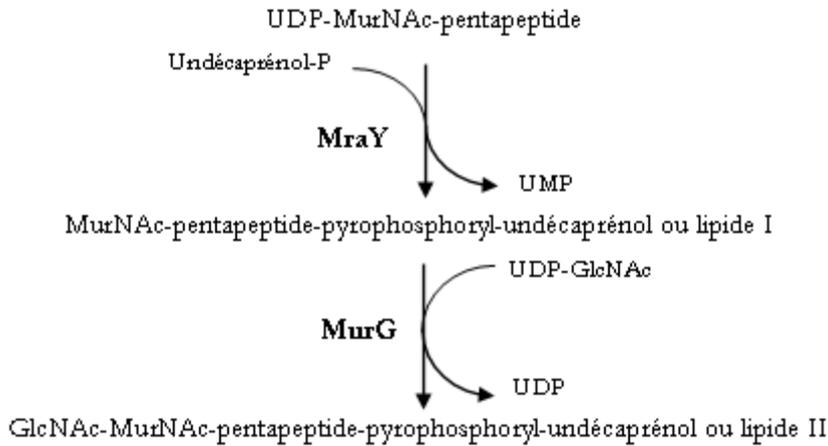


Figure 4 : Etapes membranaires avec formation du lipide II.

Le lipide II est une unité disaccharide-pentapeptide, il est considéré comme l'unité de base du peptidoglycane.

### c. Insertion dans la paroi au peptidoglycane préexistant

Après le transfert du lipide II dans le périplasma, la biosynthèse sera catalysée par des PLPs et implique des réactions de transglycosylation et de transpeptidation (2).

Pendant la transglycosylation, il y a élongation de la chaîne, l'extrémité réduite du MurNAc lié à la membrane est transférée au résidu GlcNAc du peptidoglycane préformé.

Lors de la transpeptidation, il y a formation d'une liaison entre l'extrémité N-terminale du troisième acide aminé (L-Lys) et l'extrémité C-terminale de l'avant dernier résidu D-Ala du pentapeptide.

La réaction de transpeptidation est accompagnée du clivage du lien D-Ala-D-Ala pour permettre la formation d'un térapeptide (4,5).

### 3. Action des glycopeptides

Les glycopeptides ont une action bactéricide lente temps-dépendant : le mécanisme de la bactéricidie n'est pas connu. Ils traversent la paroi bactérienne des GRAM + pour aller se fixer spécifiquement sur le motif D-Ala-D-Ala terminal du pentasaccharide. Ce pentasaccharide est précurseur de la synthèse du peptidoglycane, ce qui entraîne une inhibition de sa synthèse et donc de la paroi bactérienne des bactéries à GRAM positif.

L'action des glycopeptides s'exprime par un encombrement stérique (liaisons hydrogènes selon un modèle clé-serrure), ce qui va gêner le positionnement des transglycosylases et transpeptidases par rapport à leur substrat : il y a un double blocage de la polymérisation du peptidoglycane et inhibition de la croissance bactérienne (Figure 5).

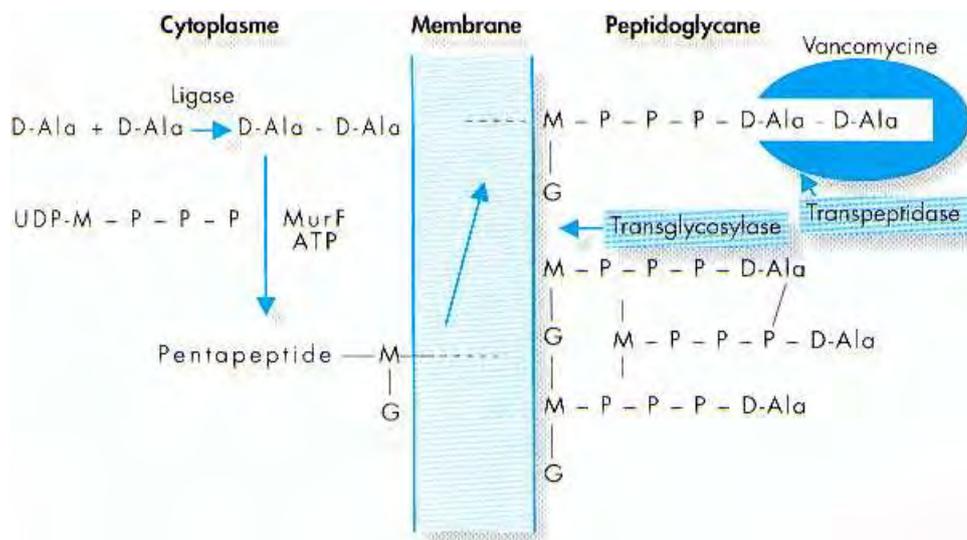


Figure 5 : Action de la vancomycine dans la synthèse du peptidoglycane.

### III. Les entérocoques

#### 1. Taxonomie et caractères bactériologiques

##### a. Taxonomie

Longtemps indifférenciés du genre *Streptococcus* les entérocoques appartiennent maintenant au groupe *Enterococcus* depuis 1984 grâce notamment aux évolutions dans le domaine de la biologie moléculaire (6).

Distinguer les espèces d'*Enterococcus* de celles des *Streptococcus* n'a pas été facile. Sherman, en 1937, a classé les espèces de *Streptococcus* en quatre sous-groupes : les streptocoques fécaux (entérocoques), les streptocoques du lait, le groupe viridans ( $\alpha$ -hémolytiques) et les streptocoques pyogènes ( $\beta$ -hémolytiques) (7).

En 1984, grâce à l'utilisation de nouvelles techniques de biologie moléculaire comme par exemple le séquençage de l'ARNr 16S, le genre *Enterococcus* a pu être créé par Schleifer et Klipper Bälz (6). Ce genre *Enterococcus* est constitué par les streptocoques fécaux du groupe D. Au départ, il comprenait deux espèces : *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* (6).

Le genre *Enterococcus* inclut actuellement plus d'une trentaine d'espèces dont *E. faecalis* et *E. faecium* sont les deux espèces les plus isolées (8).

La distinction entre les espèces *Enterococcus* et les autres coques n'exprimant pas l'antigène du groupe D, tels que les espèces *Pediococcus* ou les *Lactococcus* par exemple, est plus difficile. La comparaison de séquence d'ARNr 16s permet de mettre en évidence les différences entre ces espèces. La construction d'un dendrogramme avec ces séquences des ARNr-16S permet de visualiser la position de l'espèce *Enterococcus* parmi les autres espèce de bactéries GRAM positives (9). (Figure 4). Sa taxonomie et son écologie ont été révisées par Klein en 2003 (10).

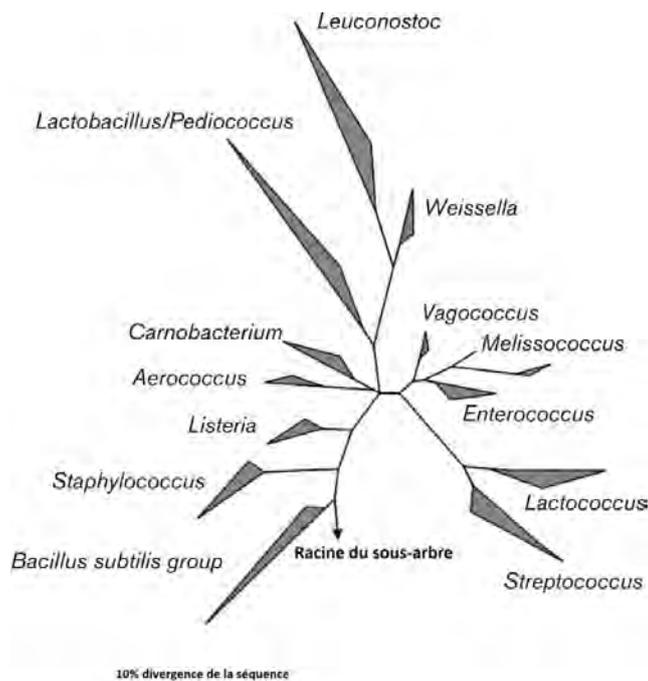


Figure 6 : Dendrogramme ARN 16s de la position de l'espèce *Enterococcus*.

## b. Caractères bactériologiques

Les entérocoques sont des bactéries cocci Gram positif, anaérobies facultatifs, catalase négative, se présentant sous forme de paires ou de courtes chainettes (11)(12). Sur le plan phénotypique, les entérocoques ne possèdent pas de caractéristiques qui permettent de les distinguer des autres coques à Gram-positif.

Ces bactéries possèdent toutefois des caractéristiques particulières servant à leur identification comme : présence de l'antigène du groupe D de Lancefield, hydrolyse de l'esculine en esculétine (noircissement caractéristique du milieu bile-esculine), tolérance avec 40% de bile, production d'acétoïne, fermentation du ribose, croissance à 10°C et à 45°C, croissance en présence de 6.5 % de NaCl, croissance à un pH 9.6 et synthèse d'une pyrrolidonyl-arylamidase (réaction dite PYR+).

Pour différencier les deux principales espèces, telle que *E. faecium* et *E. faecalis*, des tests biochimiques sont utilisés (tableau 1).

Tableau 1 : Principaux tests biochimiques servant à l'identification de *E. faecium* et *E. faecalis*.

	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>
Mobilité	-	-
Pigmentation jaune	-	-
Résistance au tellurite de potassium	+	-
Production d'acétoïne	+	+
Hydrolyse de l'arginine	+	+
Hydrolyse du pyruvate	+	-
Fermentation de l'arabinose	-	+
Fermentation du lactose	+	+
Fermentation du mannitol	+	+
Fermentation du méthyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside	-	-
Fermentation du raffinose	-	V
Fermentation du saccharose	+	+
Fermentation du sorbitol	+	-
Fermentation du sorbose	-	-

## 2. Habitat

### a. Chez l'Homme :

Les entérocoques sont des bactéries ubiquitaires, trouvées dans la flore microbienne normale du tractus gastro-intestinal de l'Homme, des autres mammifères, et des animaux à sang chaud. Ils peuvent aussi être retrouvés de façon normale dans les voies génitales féminines, et dans les voies respiratoires supérieures (11)(13). Ils sont donc de bons indicateurs de contamination fécale.

La présence de ces différentes espèces chez leur hôte est variable en fonction de l'âge, l'alimentation, mais aussi des conditions physiologiques telles que les pathologies sous-jacentes et les traitements antibiotiques(12).

La flore digestive est constituée principalement de bactéries anaérobies (90 %), les entérobactéries sont les bactéries aérobies majoritaires (plus de 80%). Les entérocoques sont donc minoritaires dans la flore digestive de l'Homme. Des analyses moléculaires donnent cette colonisation à environ 1%(14).

Chez l'Homme, les deux espèces les plus retrouvées sont *E. faecalis* et *E. faecium*.

b. Dans l'environnement :

Ces microorganismes sont aussi retrouvés dans les eaux et sur les végétaux. Pour démontrer la qualité des échantillons environnementaux tel que l'eau, les entérocoques sont recherchés pour éliminer une contamination fécale (15).

Comme nous l'avons vu, ces bactéries sont très résistantes dans l'environnement, car elles résistent à de nombreuses conditions :

- températures allant de 10 à 45°C,
- en milieu hypo- ou hypertonique,
- en milieu acide ou alcalin,
- en condition aérobie ou anaérobie...

Ces capacités en font un pathogène capable de persister pendant de longues périodes (plusieurs mois) dans l'environnement, hospitalier par exemple, sur toute surface ayant été en contact avec un élément souillé. Ainsi, Kramer et al. ont montré que les entérocoques sont capables de persister de 5 jours à 4 mois, sans différence de survie en fonction du profil de résistance aux antibiotiques (même persistance des souches « sauvages » que des ERG multi-résistants)(16).

### 3. Pouvoir pathogène

Les entérocoques deviennent occasionnellement des agents pathogènes entraînant des infections urinaires ou des suppurations profondes, et, plus rarement, des endocardites ou des septicémies. Les infections à entérocoques sont principalement d'origine endogène, elles proviennent directement du microbiote digestif du patient. Mais de nos jours, une forte contamination exogène, par l'environnement, est aussi démontrée.

*E. faecalis* est le 5<sup>ème</sup> germe en cause dans les Infections Associé aux soins (IAS). *E. faecium* est beaucoup moins rencontré sur des prélèvements cliniques, *E. faecalis* est responsable de plus de 90% des IAS. Mais ces dernières années, nous pouvons remarquer une forte augmentation des infections à *E. faecium* qui pourrait être en lien avec l'acquisition rapide de multiples résistances aux antibiotiques. Les résistances les plus souvent mises en évidence concerne l'ampicilline et la vancomycine. Il a été rapporté que la plupart des isolats cliniques à *E. faecium* en Europe et aux États-Unis sont résistants à ces antibiotiques, ce qui n'est pas encore le cas pour *E. faecalis*(17)(18)(19).

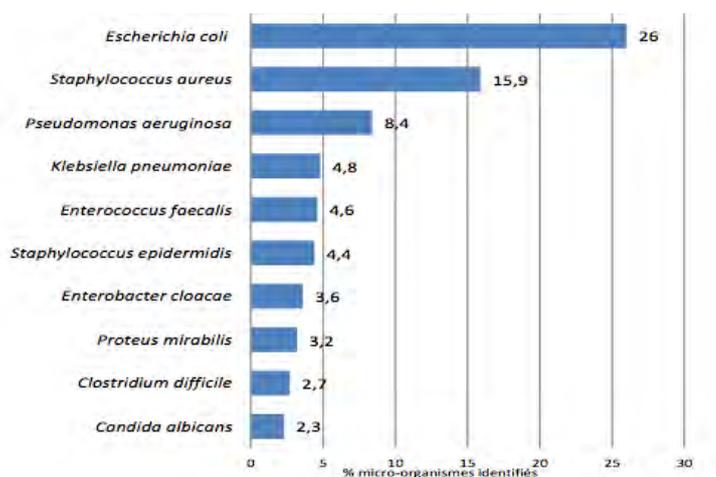


Figure 7 : Les 10 microorganismes les plus fréquemment rencontrés dans les IAS (Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux, 2012).

#### 4. Facteurs de virulence

Les facteurs de virulence permettent la colonisation et l'invasion des tissus ainsi que la perméabilisation des cellules épithéliales contournant ainsi les défenses immunitaires de l'hôte (20). Les facteurs de virulence les plus couramment étudiés chez les entérocoques sont la production de substances d'agrégation, la production de cytolysine (bactériocine) et les activités enzymatiques.

La substance d'agrégation (SA) est une glycoprotéine codée par le gène plasmidique *agg* régulé par des phéromones. Ces dernières favorisent le lien à des récepteurs de la surface des eucaryotes, jouent un rôle essentiel dans la colonisation de l'hôte (21) et facilitent le transfert des plasmides. L'adhérence des bactéries aux tissus de l'hôte étant une étape cruciale dans le processus d'infection, la présence de SA dans les souches peut conduire à l'accroissement de la capacité de colonisation (22).

La cytolysine ou  $\beta$ -hémolysine est le facteur de virulence le plus étudié. Cette toxine peptidique lyse les cellules animales en générant des pores dans la membrane cellulaire. La production de cytolysine semble être un facteur de risque important lié aux entérocoques pathogènes, ce mécanisme de lyse étant une stratégie bactérienne pour contourner les réactions immunitaires chez l'hôte (23). Les gènes de cytolysine sont souvent portés par des plasmides et régulés par des phéromones. La fréquence de mortalité causée par une infection par entérocoque  $\beta$ -hémolytique est cinq fois supérieure à celle observée par une infection à entérocoques non- $\beta$ -hémolytiques (24). Une étude suggère que la combinaison d'hémolysine et de la substance d'agrégation entraîne une mortalité accrue dans l'endocardite due à *E. faecalis* (25).

Les autres facteurs sont les enzymes hydrolytiques produites telles que la hyaluronidase, la gélatinase et la sérine protéase (26). La hyaluronidase est une enzyme qui dégrade l'acide hyaluronique, constituant majeur de la matrice extracellulaire des cellules animales (27). La gélatinase produite par *gelE* est l'un des facteurs de virulence largement étudié chez *E. faecalis* (28) : il s'agit d'une Zn-métalloprotéase, capable d'hydrolyser la  $\beta$ -insuline, la gélatine, le collagène, la caséine, l'hémoglobine et d'autres

peptides biologiquement actifs (21,26). La gélatinase contribue au processus de formation de biofilm, ce qui peut accroître la capacité des entérocoques à coloniser les tissus et à persister dans les sites d'infection (28). Dans la formation du biofilm, le gène *esp* a aussi un rôle important, il code pour une protéine associée à la paroi bactérienne qui est impliqué dans l'échappement immunitaire.

## **IV. Résistance aux antibiotiques**

Les antibiotiques étaient initialement considérés comme des médicaments miracles pour la lutte contre les infections. Aujourd'hui ces médicaments sont de plus en plus mis en défaut du fait de l'apparition de résistances à ces molécules. Le traitement de certaines infections devient de plus en plus problématique, car nous assistons à l'apparition de souches multi et toto résistantes, et conduisant, en cas d'infection, à une impasse thérapeutique.

### **1. Histoire de l'antibiorésistance**

Les antibiotiques, ainsi que la vaccination, ont été les découvertes médicales les plus contributives pour l'allongement de la durée de vie. Les événements majeurs dans la chronologie de l'antibiorésistance sont représentés dans la figure 8.

En 1928, Flemming découvre la pénicilline, il faudra attendre dix ans pour voir ses premières utilisations avec un très important succès. Après cette découverte, d'autres antibiotiques ont été commercialisés : les aminosides, les glycopeptides. Pendant les années soixante, les aminopénicillines et les céphalosporines ont fait leur apparition, restaurant l'activité des pénicillines sur le staphylocoque résistant à la pénicilline G par synthèse d'une  $\beta$ -lactamase. Avec la découverte des antibiotiques, beaucoup pensait à la fin des infections bactériennes. Mais les bactéries se sont adaptées aux antibiotiques et ont commencé à évoluer pour donner naissance aux premières souches résistantes.

L'apparition de SARM est la réponse au traitement par la méticilline. La réponse des entérobactéries aux antibiotiques est la production de  $\beta$ -lactamases qui évoluent dans le temps avec la première TEM hydrolysant que les aminopénicillines jusqu'aux  $\beta$ -lactamases à spectres élargis (BLSE) qui rendent les souches résistantes à presque toutes les  $\beta$ -lactamines. Le pneumocoque et les entérocoques vont eux aussi présenter des résistances aux pénicillines pour le pneumocoque et à la vancomycine pour les entérocoques.

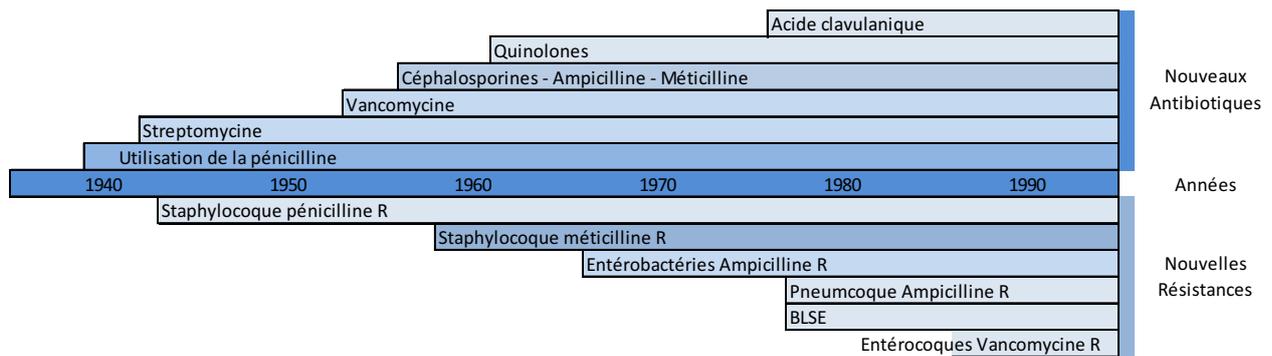


Figure 8 : Histoire de l'antibiorésistance dans le monde

## 2. Définition de la résistance

Les bactéries peuvent posséder deux types de résistance à un antibiotique :

- Résistance naturelle : dû à la structure cellulaire ou à son métabolisme. Elle touche toutes les bactéries de l'espèce. Elle est stable et transmissible à la descendance (car portée par le chromosome bactérien). En revanche, elle ne pourra pas être transmise d'une bactérie à l'autre sur un modèle horizontal.
- Résistance acquise : acquisition au cours du temps de nouveaux mécanismes de résistance par une souche. Elle ne concerne que quelques souches de l'espèce, est moins stable, mais se propage souvent de façon importante par transmission de matériel génétique (plasmide, transposon).

La résistance bactérienne est évaluée par la concentration minimale inhibitrice (CMI). La CMI est la concentration la plus petite d'un antibiotique empêchant les

bactéries de se multiplier. C'est un paramètre *in vitro* de mesure de l'activité d'un antibiotique.

La résistance bactérienne se traduit pour le clinicien par un non usage de l'antibiotique en question, car il n'aura aucun effet sur la souche et donc sur l'infection.

### **3. Résistance et sensibilité des entérocoques**

#### **a. Naturelle**

Les entérocoques sont des bactéries possédant de nombreuses résistances intrinsèques, ces résistances proviennent de leur génome. Ils sont beaucoup moins sensibles aux antibiotiques que les autres GRAM positif.

En fonction de l'espèce, ils peuvent être résistants aux  $\beta$ -lactamines, aux quinolones, aux aminoglycosides, aux lincosamides, acide fusique, fosfomycine, triméthoprime/sulfaméthoxazole et aux glycopeptides.

Trois espèces, *E. gallinarum*, *E. casseliflavus* et *E. flavescens*, ont une résistance modérée à la vancomycine (CMI entre 8 et 32  $\mu\text{g/ml}$ ) mais une sensibilité conservée pour la teicoplanine (29)(30). Cette résistance est la conséquence de la présence du gène *vanC* qui code pour une ligase D-Ala-D-Ser.

*E. faecalis* est une espèce qui est résistante à la streptogramine A et aux lincosamides, ces résistances sont dues à la présence du gène *lsa* qui coderait pour une protéine qui aurait le rôle de pompe à efflux(31).

Une des caractéristiques du genre *Enterococcus* est la présence d'une PLP, la PLP5, qui présente une faible affinité pour les  $\beta$ -lactamines, ce qui entraîne donc une résistance partielle ou complète à ces antibiotiques.

Les entérocoques possèdent de plus une résistance de bas niveau aux aminosides, cette résistance est le fait d'une inefficacité du transport actif de ces molécules à travers la membrane cytoplasmique et donc une non atteinte de leur cible. Les aminosides ne sont donc pas utilisés en monothérapie, mais il existe néanmoins une synergie lors de l'association avec des antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne, comme les  $\beta$ -lactamines et les glycopeptides (32). Cette synergie s'explique par une déstructuration de la paroi lors de l'utilisation de  $\beta$ -lactamine par exemple, ce qui permet une augmentation de la concentration intracytoplasmique en aminoside. Mais nous voyons de plus en plus l'émergence de souches avec une résistance de haut niveau aux aminosides notamment chez *E. faecium* (33).

#### b. Acquise

Avec l'utilisation abusive et intensive des antibiotiques, les souches se sont adaptées et ont développé de nouvelles résistances. Les entérocoques se sont adaptés, soit par des mutations spontanées soit par transfert de plasmides ou de transposons provenant d'autres microorganismes.

Pour les entérocoques ces résistances sont le plus souvent transmises de manière horizontale par du matériel génétique mobile : les plasmides.

Leur place comme bactéries commensales du tube digestif favorise les échanges avec les autres commensaux, ce qui leur permet ainsi d'acquérir des gènes de résistance et donc de pouvoir accentuer leur colonisation et de provoquer des infections.

Il a été décrit, que l'utilisation d'antibiotiques avait un rôle très important dans la colonisation par les ERV (34)(35)(36). Elle entrainerait des changements au niveau du microbiote intestinal.

En effet des études ont démontré que la diminution de bactéries à Gram négatif était en lien avec l'augmentation de la colonisation par les ERV (36)(37). Le LPS des bactéries à Gram négatif stimulerait la synthèse de REGIIIy par les cellules de Paneth. REGIIIy étant une lectine avec un pouvoir antimicrobien contre les bactéries à Gram positif (36), la diminution de la proportion de Gram négatifs entrainerait donc une

diminution de sa production et donc une surcroissance des bactéries GRAM positif comprenant les entérocoques.

#### 4. Entérocoques résistants à la vancomycine

Il existe 6 types de résistance aux Glycopeptides : VanA, VanB, VanC, VanD, VanE et VanG. Seule la résistance de type VanC est intrinsèque (chromosomique) et non transférable. Les autres types de résistance VanA, VanB, VanD, VanE et VanG sont dites acquises. Pour les types VanA, VanB et VanG, la résistance est inductible et transférable.

La première résistance plasmidique des entérocoques a été décrite pour la première fois en 1986 (38)(39), elle a été décrite chez *E. faecium* et *E. faecalis*. Cette résistance peut-être la conséquence soit de la synthèse de précurseur de faible affinité où le D-Ala terminal est remplacé, ou soit par l'élimination des précurseurs de haute affinité normalement synthétisés (40).

- Type VanA

Ce phénotype est responsable d'une résistance de haut niveau pour la vancomycine avec des CMI allant de 64 à 1000 mg/l et pour la teicoplanine également avec des CMI comprises entre 16 et 512 mg/l. De plus, le type VanA est inductible par exposition au traitement par la vancomycine et la teicoplanine.

Les gènes impliqués dans ce mécanisme de résistance sont situés sur le transposon Tn 1546, qui est capable de s'insérer dans des plasmides et donc d'être transféré (41).

Ce phénotype de résistance est celui qui est le plus souvent retrouvé chez les entérocoques et plus particulièrement chez *E. faecalis* et *E. faecium*.

Exemple de fonctionnement pour le phénotype VanA : le transposon 1546 code pour plusieurs protéines (Figure 9) :

- *ORF1* et *ORF2* codant respectivement pour une transposase et une résolvase indispensable à la transposition.

- VanR et VanS module la transcription de VanA et VanX car ils activent leurs promoteurs.
- *VanA* code pour une D-Ala-D-Ala ligase catalysant la formation d'un dipeptide D-Ala-D-Lac de basse affinité pour les glycopeptides.
- *VanH* code pour une lactate-déshydrogénase permettant à partir de pyruvate de former du lactate (D-Lac) indispensable à VanA.
- *VanX* permet l'élimination des précurseurs de haute affinité, car il entraîne l'hydrolyse du dipeptide D-Ala-D-Ala.
- *VanY* complète l'action de VanX, car il va cliver le D-Ala terminal des précurseurs de haute affinité si elle a été incomplète par VanX.
- *VanZ* code pour une fonction mal connue, mais est responsable de la résistance à la teicoplanine.

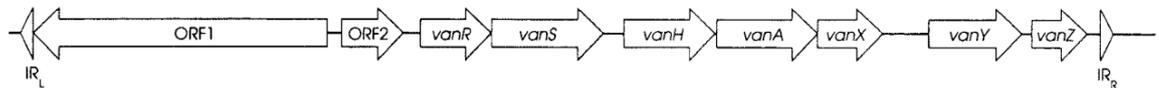


Figure 9 : Transposon 1546

- Type VanB

Le phénotype VanB est beaucoup moins courant que le phénotype VanA. Il est responsable d'une résistance de haut niveau pour la vancomycine avec des CMI allant de 4 à 1000 mg/l et d'une sensibilité pour la teicoplanine. Il est inductible par l'utilisation de la vancomycine, mais pas par celle de la teicoplanine.

Les gènes impliqués dans ce mécanisme sont le plus souvent chromosomiques, mais peuvent aussi être plasmidiques et portés par le transposon 1547. Ce mécanisme de résistance fonctionne à peu près de la même manière que celui de VanA, des précurseurs D-Ala-D-Lac de basse affinité sont aussi présents.

- Type VanC

Elle est présente chez *E. gallinarum* (gène Van C1), *E. casseliflavus* (gène Van C2) et *E. flavescens* (gène Van C3) (29). Cette résistance naturelle procure à la souche une résistance à la vancomycine (CMI entre 2 et 32 g/ml) et une sensibilité conservée pour la teicoplanine.

- Type VanD

Les souches possédant une résistance de type VanD vont présenter une résistance pour la vancomycine (CMI entre 64 et 256 mg/l) et une résistance de bas niveau pour la teicoplanine (CMI entre 4 et 64 mg/l).

Le type VanD est un mécanisme non transférable et chromosomique. Seule de rares souches d'*E. faecium* ont été isolées. Le modèle génétique est mal connue, mais il y aurait là aussi une production de précurseurs de faible activité : D-Ala-D-Lac.

- Type VanE

VanE est responsable de la production de précurseurs de faible activité : D-Ala-D-Ser. Il est non transférable car présent sur un chromosome, et procure aux souches une résistance de bas niveau à la vancomycine (CMI 16 mg/l) et une sensibilité à la teicoplanine.

- Type VanG

Retrouvé chez quelques souches *E. faecalis*, il donne une résistance de bas niveau à la vancomycine et reste sensible à la teicoplanine. La CMI est de 16 mg/l pour la vancomycine.

Les différences entre les types de résistance aux glycopeptides sont résumées dans le tableau 2.

## 5. Entérocoques et résistance aux antiseptiques

L'acquisition de la résistance des bactéries aux antiseptiques est un phénomène de plus en plus décrit pour les bactéries à Gram négatif. Cette résistance fait appel à divers mécanismes suivant les antiseptiques concernés. Elle est principalement de 2 types :

- Due à une mutation chromosomique,
- Due à l'acquisition de plasmide.

Peu d'études sont publiées sur la résistance des *Enterococcus faecium* aux antiseptiques. Une étude donne des concentrations minimales inhibitrices pour la Chlorhexidine de 2 à 32 mg/l (42). Les souches étudiées étaient des *Enterococcus faecium* isolés de l'environnement d'élevage. La résistance aux glycopptides n'avait pas été étudiée lors de cette étude. Par contre, ils montrent un lien positif entre la résistance à l'érythromycine et la résistance à la Chlorhexidine.

Des études menées sur des souches isolées des secteurs hospitaliers ou vétérinaires ont montré l'existence d'une résistance croisée entre les antiseptiques et les antibiotiques. Cette résistance antiseptique-antibiotique est surtout observée pour les ammoniums quaternaires, les phénols et la chlorhexidine chez des espèces comme *Pseudomonas sp*, *Klebsiella sp*, *Proteus sp*, *Citrobacter sp*, *Providencia sp*, *Escherichia coli*, *Serratia sp*, *Salmonella sp*, *Alcaligenes sp* (43–49).

De nouvelles molécules sont à l'étude, comme le mono-biguanide : 1-(3,4-dichlorobenzyl)-5-octylbiguanide gluconate (OPB-2045G) qui aurait une action antiseptique supérieure à celle de la povidone iodé (PVP-I) et à la chlorhexidine (50).

Tableau 2 : Caractéristiques des différentes résistances chez les entérocoques.

Résistance	Acquise					Intrinsèque	
	VanA	VanB	VanD	VanG	VanE	VanC1	VanC2/VanC3
<b>Précurseur</b>	D-Ala-D-Lac	D-Ala-D-Lac	D-Ala-D-Lac	D-Ala-D-Ser	D-Ala-D-Ser	D-Ala-D-Ser	D-Ala-D-Ser
<b>Gène</b>	Plasmide	Plasmide	Chromosome	Chromosome	Chromosome	Chromosome	Chromosome
<b>Expression</b>	Inductible (Constitutive)	Inductible	Constitutive	Inductible	Inductible Constitutive	Constitutive Inductible	Constitutive Inductible
<b>CMI (mg/l)</b>							
<b>Vancomycine</b>	64 - 1000	4 - 1000	64 - 128	16	8 - 32	2 - 32	2 - 32
<b>Teicoplanine</b>	16 - 512	0,5 - 1	4 - 64	0,5	0,5	0,5 - 1	0,5 - 1
<b>Espèce Bactériennes concernées</b>	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i> <i>E. gallinarum</i> <i>E. casseliflavus</i> <i>E. avium</i> <i>E. durans</i> <i>E. mundii</i> <i>E. raffinosus</i>	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. gallinarum</i>	<i>E. casseliflavus</i> <i>E. flavescens</i>

## 2<sup>ème</sup> Partie : Épidémiologie et recommandations

### I. Les Entérocoques dans le Monde

Les premières souches *E. faecium* résistantes aux glycopeptides (ERG) ont été isolées au Royaume Unis en 1986 et en France en 1987, puis dans les années 90 aux Etats Unis où elles sont devenues endémiques et se placent au 3<sup>ème</sup> rang des bactéries multirésistantes dans les unités de soins intensifs en 2003.

Aux Etats Unis, le rapport national « Antibiotic Resistance Threats in the United States » du Centers for Disease Control and Prevention (CDC) de 2013 fait état de 30% de résistance pour les entérocoques (51). Sur 66 000 infections nosocomiales à entérocoque, 20 000 sont dues à des entérocoques résistants à la vancomycine. Sur ces 20 000 infections nosocomiales à entérocoques résistants à la vancomycine 1300 décès, soit un taux de létalité de 6,5%.

Dans des centres hospitaliers aux Etats Unis, certains auteurs ont même isolé d'hémocultures plus de 70% d'entérocoques résistants à la vancomycine parmi les entérocoques (52). Le National Healthcare Safety Network des CDC publiait en 2006-2007 des taux de prévalence pour la résistance à la vancomycine chez *E. faecium* de 80 % dans les pneumopathies acquises sous ventilation (19).

Les recommandations du CDC pour la maîtrise des ERG n'ont été émises qu'en 1995, ce qui a été beaucoup trop tardif pour enrayer l'épidémie déjà largement implantée (53). Un autre facteur pouvant expliquer cette non maîtrise est la surconsommation de la vancomycine notamment dans l'utilisation pour le traitement des infections à *Clostridium difficile*.

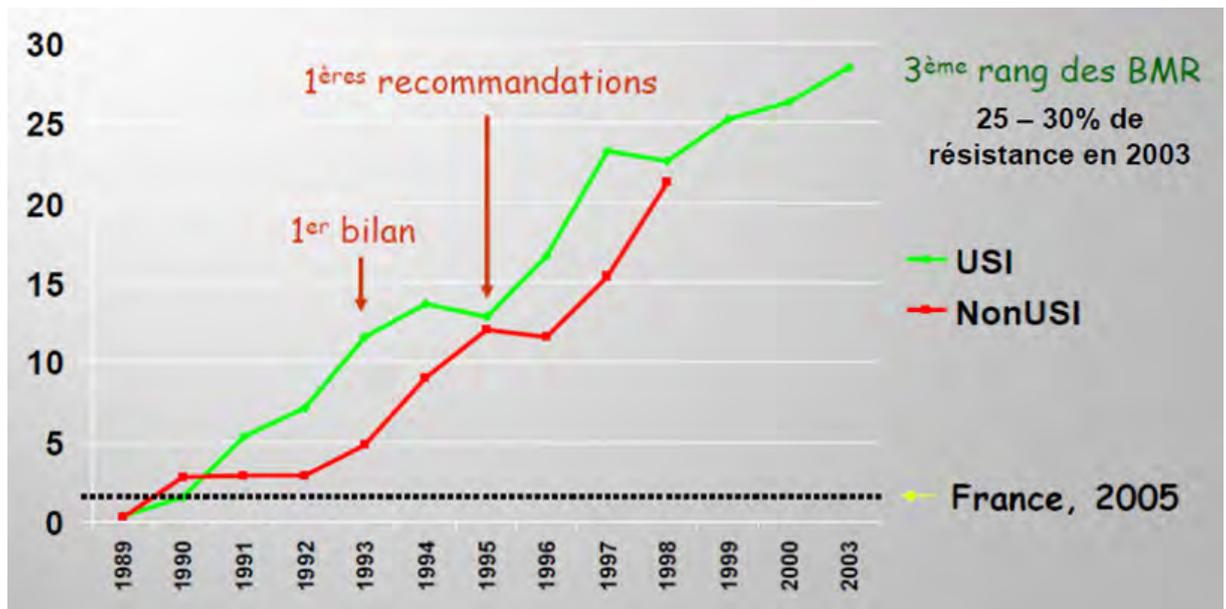


Figure 10 : Evolution de la résistance à la vancomycine pour les entérocoques (Etats Unis, 1989-2003) [Leclercq et al., 2006].

Aux Etats Unis et en Europe le type de résistance prédominant est VanA alors que pour les pays asiatiques et l'Australie, le phénotype VanB est prédominant (54).

En Turquie, en 2008, sur 100 souches d'entérocoques isolés d'ECBU 18.2% des *E. faecium* étaient résistants aux glycopeptides (33). En Amérique latine, la situation a été très compliquée, avec des taux d'*E. faecium* résistant à la vancomycine proches des 60% en 1997, ils ont toutefois réussi à faire diminuer ce taux à 39% en 2002 (55).

## II. Les Entérocoques en Europe

En Europe, les données du réseau EARSS (European Antimicrobial Resistance Surveillance System) montrent elles aussi une augmentation des ERG, mais avec des proportions contrastées. Concernant les bactériémies à ERG, leur proportion est au-delà des 20% pour plusieurs pays comme : Irlande, Portugal, Grèce, Grande Bretagne, ... Mais les taux restent < 1% pour la plupart des autres pays surveillés.

Durant ces dix dernières années, certains pays ont connu une forte augmentation de leur taux d'ERG, comme l'Irlande qui présente un taux de bactériémie supérieure à

40% en 2013. En Europe cette augmentation est en lien avec l'augmentation des épidémies hospitalières.

L'Emergence des ERG en Europe est moins forte qu'aux Etats Unis pour plusieurs raisons probables comme par exemple l'utilisation hospitalière plus fréquente de la vancomycine (5 à 10 fois plus). En France, le métronidazole est utilisé en 1<sup>ère</sup> intention dans les Infections gastro-intestinales à *Clostridium difficile*, ce qui explique une plus faible consommation de vancomycine.

La forte disparité entre les pays de l'Europe pour le taux ERG est liée à la différence de consommation d'antibiotique entre les pays, mais aussi à la prise de mesures préventives trop tardives et peut-être pas assez respectées et « strictes ».

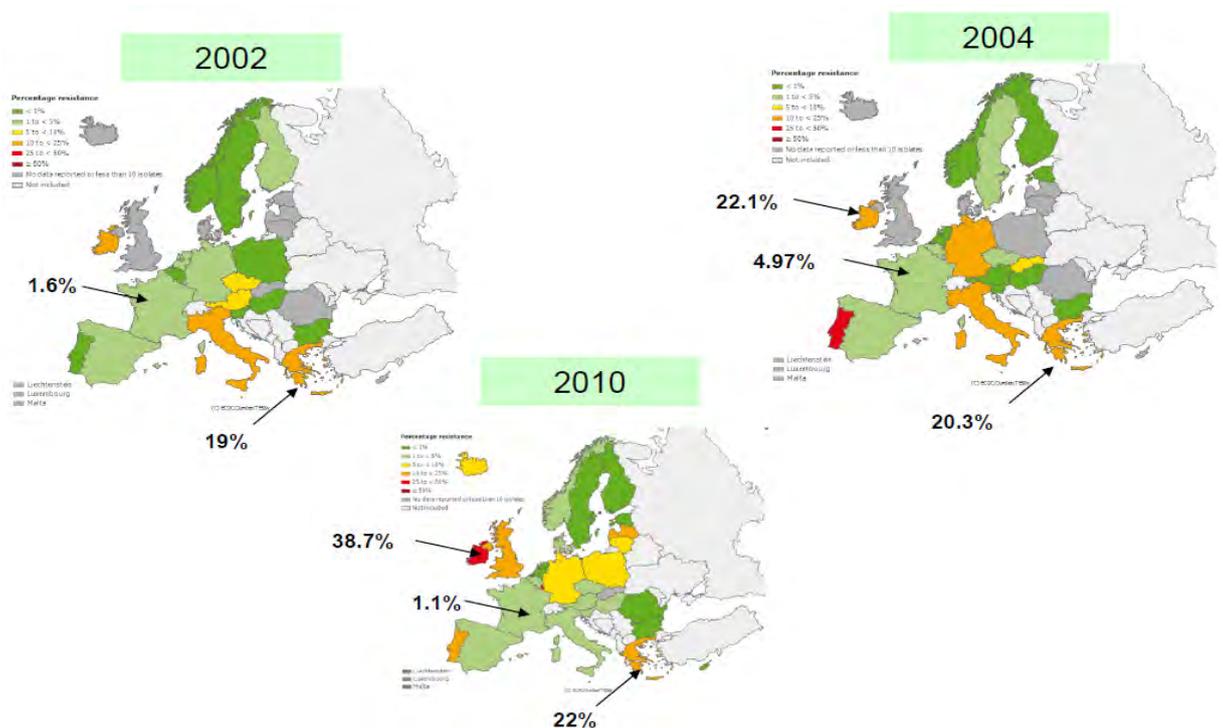


Figure 11 : Evolution de la résistance aux glycopeptides en Europe 2002 à 2010.

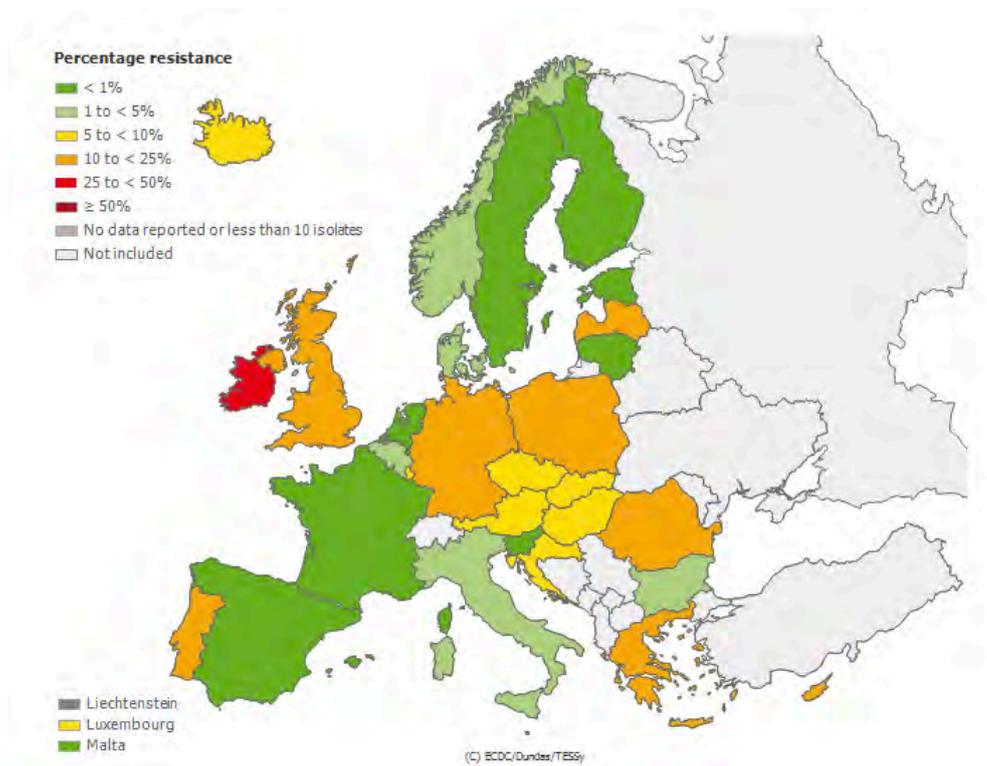


Figure 12 : Carte européenne de la résistance à la vancomycine en 2013.

### III. Les Entérocoques en France

En France, peu de signalements sont réalisés entre 2001 et 2003. Puis suite à l'augmentation depuis 2004 des signalements d'infections nosocomiales à ERG et à l'augmentation d'épidémies hospitalières, l'institut de veille sanitaire (InVS), a organisé une expertise collective en 2005 pour adapter les recommandations (56).

Le ministère en charge de la Santé a alors sensibilisé les établissements de santé français à la détection, au signalement et aux mesures de prévention des ERG. De nombreuses mesures et avis ont découlé de ces directives : ont ainsi paru une note de la Direction de l'hospitalisation et de l'organisation des soins (DHOS) en juillet 2005, un avis du Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie (CA-SFM), et les recommandations du Comité technique des infections nosocomiales et des infections liées aux soins (CTINILS) en octobre 2005 et en décembre 2006.

Depuis, les centres de coordination de la lutte contre les infections nosocomiales (CCLIN) se sont associés à l'InVS dans la surveillance et le suivi des signalements à ERG en France.

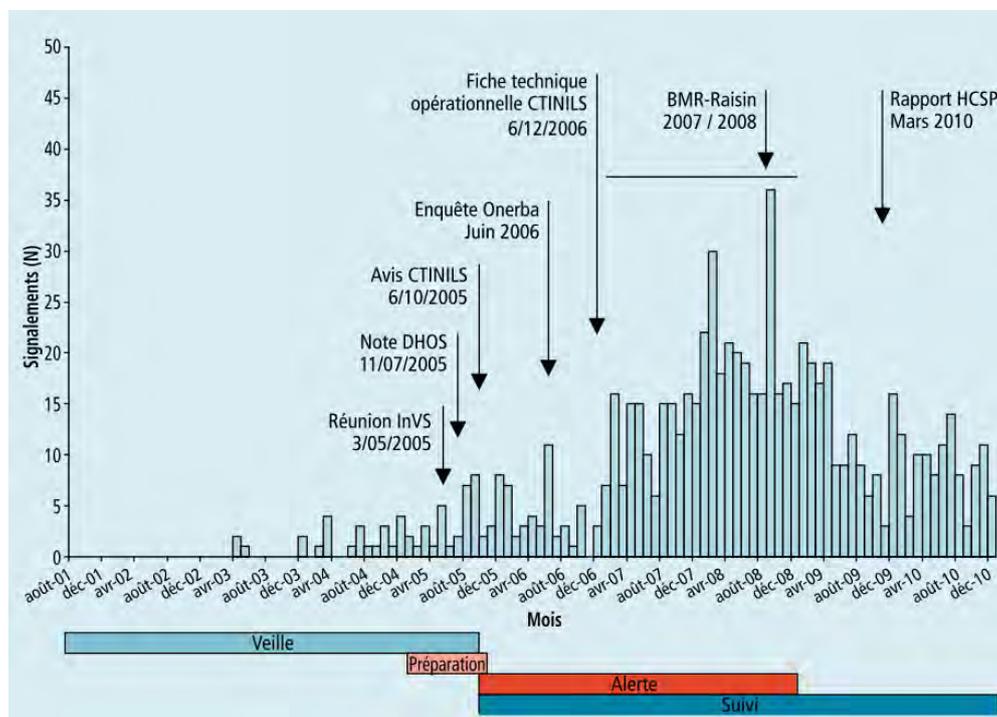


Figure 13 : Action de maîtrise des ERG par rapport aux signalements d'infections ou de colonisations d'août 2001 à décembre 2010 (57).

La maîtrise progressive de la diffusion des ERG en France a été confirmée par les réseaux de surveillance. L'étude réalisée par l'Observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques (Onerba) en 2006 sur 73 laboratoires estimait la prévalence du portage digestif à ERG à 0,3%. Le système de surveillance des bactéries multirésistantes (BMR) du Réseau d'alerte, d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales (Raisin) a modifié fin 2006 son protocole de surveillance pour inclure les ERG dans leur surveillance, et donnait une incidence de 0,002 cas pour 1 000 journées d'hospitalisation en 2008.

Le nombre de signalements a augmenté jusqu'en 2008 puis une diminution a pu être observée en 2009. Une stabilité pour 2010 et 2011 est observée, avec une émergence contrôlée à ce jour, car le pourcentage de résistance reste stable < 1% (Figure 13).

En 2010, un premier rapport du Haut Conseil de la santé publique (HCSP) venait confirmer les recommandations et les mesures de préventions précédentes en les adaptant pour les cas d'épidémies.

Aujourd'hui, l'InVS dénombre 2 078 cas d'infections ou de colonisations pour 888 signalements de 286 établissements de santé. *E. faecium* est l'ERG le plus souvent signalé, plus de 90%, car les recommandations ne demandent de signaler que les *E. faecium*. Parmi ces 888 signalements, il y a eu 224 épisodes de cas groupés (> 1 cas), ce qui représente 25% des signalements. Le nombre de cas par épidémie est assez variable, car l'étendue est de 2 à 55 cas et la médiane est de 2 cas. 935 sites de localisation des ERG ont été décrits, dont la répartition est de 77% de colonisation et 23 % d'infection, ce qui donne un ratio infection/colonisation de 0.3. On peut donc voir que ces bactéries sont le plus souvent retrouvées dans des colonisations et sont peu responsables d'infection.

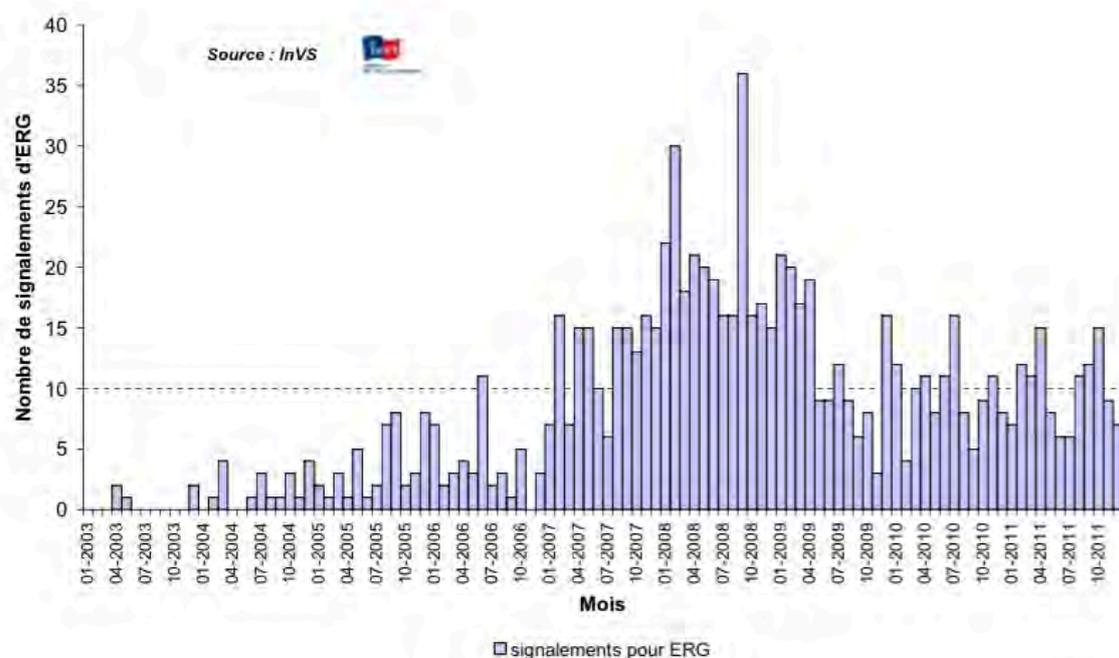


Figure 14 : Nombre de signalements d'ERG par mois de 2003 à 2011 (InVS).

En juillet 2013, devant l'augmentation du nombre d'épidémies, le Haut Conseil de la santé publique (HCSP) a rédigé un rapport sur les Recommandations pour la

prévention de la transmission croisée des « Bactéries Hautement Résistantes aux antibiotiques émergentes » (BHRe). Une circulaire est venue confirmer ces recommandations en 2014.

## **IV. Les BHRe : Bactéries Hautement Résistantes Emergentes**

Le rapport du Haut conseil de la santé publique (HCSP) de 2013 sur les BHRe (58) définit ces bactéries et leur politique de prévention. Dans les bactéries hautement résistantes émergentes (BHRe), nous retrouvons deux types de bactéries ; les entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC) et les entérocoques résistants à la vancomycine (ERV). Parmi les ERG, seuls les *E. faecium* seront considérés comme ERV par ces recommandations.

### **1. Définition BHRe**

Les BMR évoluant sous un mode endémo-épidémique en France (comme le SARM et les BLSE) n'étaient plus considérées comme des BHR. Les BHR sont des bactéries commensales du tube digestif à fort potentiel de diffusion tant à l'hôpital qu'en ville avec une forte émergence en France. Le HCSP a donc décidé de parler de BHRe, avec le « e » pour émergentes.

Ce sont donc des bactéries commensales du tube digestif, résistantes à de nombreux antibiotiques, et possédant des mécanismes de résistance transférables entre les bactéries.

Seul *E. faecium* résistant à la vancomycine (ERV) est considéré comme une BHRe, *E. faecalis* résistant aux glycopeptides ne sera pas considéré comme une BHRe car il est rarement impliqué dans les épidémies.

## 2. Maîtrise de la diffusion des BHRe

L'émergence de la résistance aux antibiotiques est un enjeu de santé publique. La maîtrise de la diffusion des bactéries hautement résistantes émergentes (BHRe) aux antibiotiques repose sur une double stratégie :

- Réduction de la prescription des antibiotiques
- Prévention de la diffusion à partir des patients porteurs = maîtrise de la transmission croisée

La prévention de la diffusion à partir de patients porteurs de BHRe se fait principalement par l'application des précautions standard mais aussi par la mise en place de précautions complémentaires contact. Les précautions standard doivent être systématiquement respectées par tous les professionnels de santé et pendant toutes prises en charge de tous patients. Les précautions complémentaires contact (PCC) viennent s'ajouter aux précautions standard, elles sont à appliquer par les soignants devant tout patient porteur de BMR. Devant l'émergence persistante des BHRe, le constat a été fait que les précautions complémentaires n'étaient pas suffisantes, et donc que des précautions encore plus ciblées devraient être utilisées pour les patients à risque d'infection ou de colonisation par des BHRe.

La limitation de la survenue de cas secondaires est une mesure importante pour la maîtrise de la diffusion de ces bactéries hautement résistantes aux antibiotiques, et dépend de la mise en œuvre rapide et adaptée des mesures de dépistage et d'isolement des porteurs et des éventuels patients contact (59).

L'expérience du CHU de Nancy avec l'article de Henard S. et al. nous a montré que le cohorting au sein des établissements était un facteur de réussite pour contenir une épidémie mais aussi qu'il se traduisait par la maîtrise de l'incidence de cas secondaire (Figure 15).

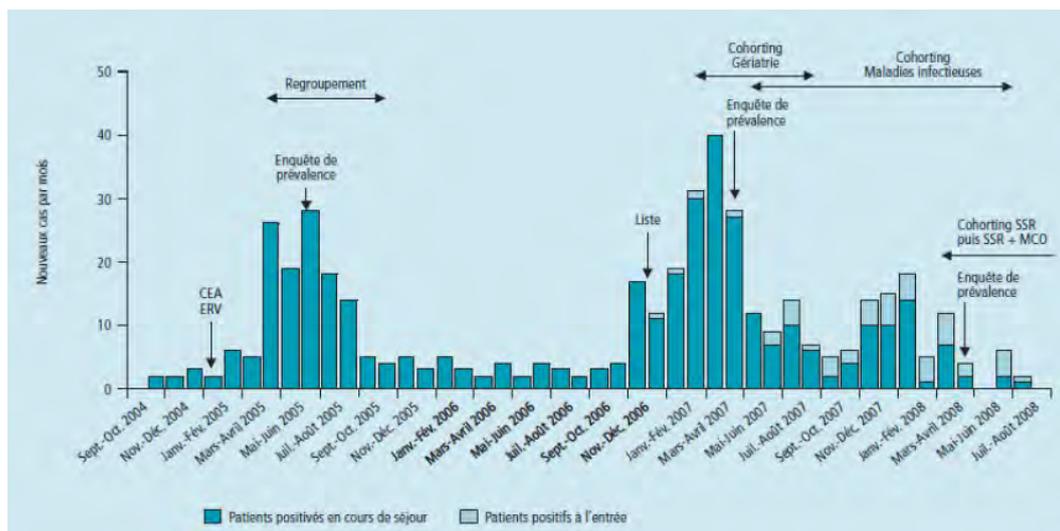


Figure 15 : Nombre de nouveaux cas d'ERG mois/mois au CHU de Nancy, octobre 2004 à juillet 2008.

Les hôpitaux de Paris (AP-HP : Assistance Publique – Hopitaux de Paris) ont essayé d'anticiper la production de recommandations pour limiter la diffusion des EPC en 2009. En 2008, il était déjà question de dépister et d'isoler tous les patients porteurs d'ERG et/ou d'EPC transférés d'un hôpital d'un pays étranger. Les recommandations de 2009 de l'AP-HP comportaient :

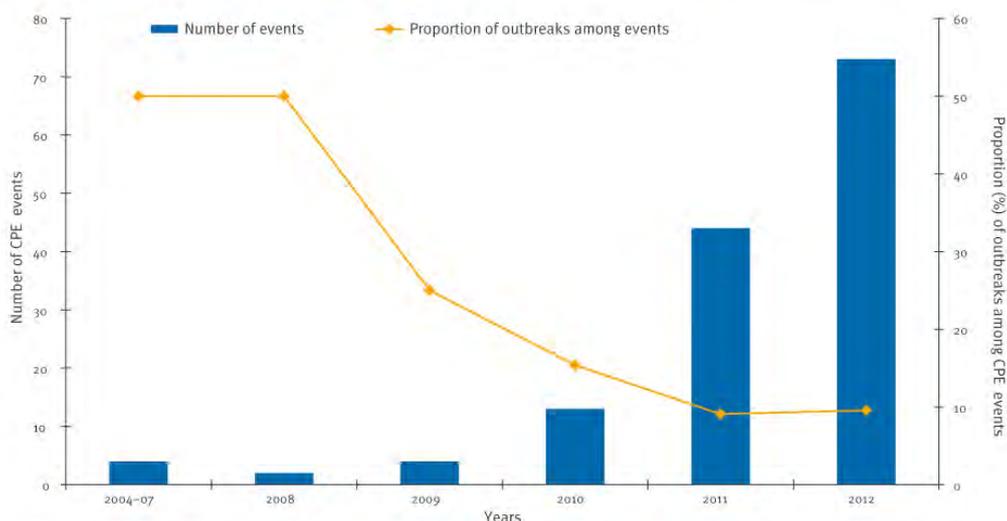
- L'isolement des porteurs
- L'arrêt du transfert des porteurs et des contacts
- Le dépistage et l'isolement des contacts, y compris ceux déjà transférés au moment de la découverte du premier cas
- Le dépistage des contacts 1 fois/semaine jusqu'à leur sortie
- En cas d'épidémie, le regroupement des patients dans 3 secteurs distincts avec du personnel dédié
  - patients porteurs (« secteur des cas »)
  - patients contact (« secteur des contacts »)
  - nouveaux admis (« secteur indemne »)
- L'identification des réadmissions des cas et des contacts

Grâce à la mise en place des mesures « BHRe », en 2008 et 2009, ils ont réussi à réduire significativement le nombre de cas par épisode et donc la durée des épisodes (figure 16). Le nombre d'isolement de BHRe est non maîtrisable, car en France beaucoup de patients proviennent de pays étrangers où la prévalence des BHRe est très

importante. En effet, les épidémies ne sont pas évitables à 100%, notamment lorsque le patient index (porteur initial) a été identifié avec retard et non mis en précautions complémentaires. En revanche, ils ont démontré que si les mesures étaient mises en place rapidement et avec rigueur, le nombre de cas secondaires restait limité (tableau 3).

**FIGURE**

Number of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (CPE) events (n=140) and proportion of outbreaks among these events at Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, France, 2004–2012



A CPE event was defined as one index case (respectively defined as infected or colonised with CPE), followed or not by secondary case(s).

Figure 16 : Nombre d'entérobactéries productrices de carbapénémases par rapport aux nombres de cas secondaires.

Tableau 3 : Proportion d'épidémies et de cas secondaires avant et après 2009

**TABLE 1**

Number of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (CPE) outbreaks among CPE events and number of secondary cases among all CPE cases, before and after implementation of a CPE control programme at Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, France, 2004–2012

	2004–2009	2010–2012	P value
Number of events	10	130	–
Number of outbreaks (proportion of outbreaks among events)	4 (40%)	13 (10%)	0.02
Number of cases	32	168	–
Number of secondary cases (proportion of secondary cases among total cases)	22 (69%)	38 (23%)	< 0.001

Over the whole period from 2004 to 2012 there were a total of 17 outbreaks among 140 CPE events and 60 secondary cases among 200 CPE cases.

C'est pour toutes ces raisons, que le Haut Conseil de la santé publique a élaboré un rapport (58) actualisant et harmonisant les recommandations sur la prévention de la transmission croisée des BHRé. Ces recommandations donnent la conduite à tenir dans

le cas de patients porteurs de BHRe, mais aussi pour les patients dits « contact ». Un patient contact est défini comme tout patient exposé à un cas, c'est-à-dire ayant été pris en charge en hospitalisation (hors consultation) par la même équipe soignante qu'un patient connu porteur de BHRe (cas) (58).

La détection et l'identification précoce des patients porteurs de BHRe ainsi qu'une communication efficace entre les acteurs concernés représentent la clef dans le suivi et la diffusion de ces BHRe.

### **3. Patient hospitalisé suspect d'être porteur de BHRe**

La politique de recherche de BHRe dans les établissements de santé doit reposer sur le dépistage de patients présentant des facteurs de risque de portage. Pour les patients dont une BHRe sera découverte de manière fortuite, c'est-à-dire sur un prélèvement à visée diagnostique, les recommandations seront les mêmes que pour les patients positifs à BHRe lors d'un dépistage rectal.

Les patients cibles (suspects) sont :

- Les patients ayant eu dans les 12 derniers mois une hospitalisation de plus de 24 h quel que soit le secteur ou de prise en charge dans une filière de soins spécifiques (dialyse) à l'étranger (=hors France métropolitaine).
- Tous les patients contact avec un patient porteur de BHRe
- Les patient ré-hospitalisés ou admis dans une structure type EHPAD et ayant été antérieurement connu porteurs ou contacts d'un patient porteur de BHRe.

Les données recueillies par l'AP-HP sur la provenance des patients porteurs d'entérobactéries productrices de carbapénémase est largement en faveur de ces recommandations du HCSP (Figure 17). En 2011, Ils ont dénombré pas moins de 87% de patients porteurs ayant un lien récent (<12 mois) avec un pays étranger dont 78% étaient des rapatriés (60).

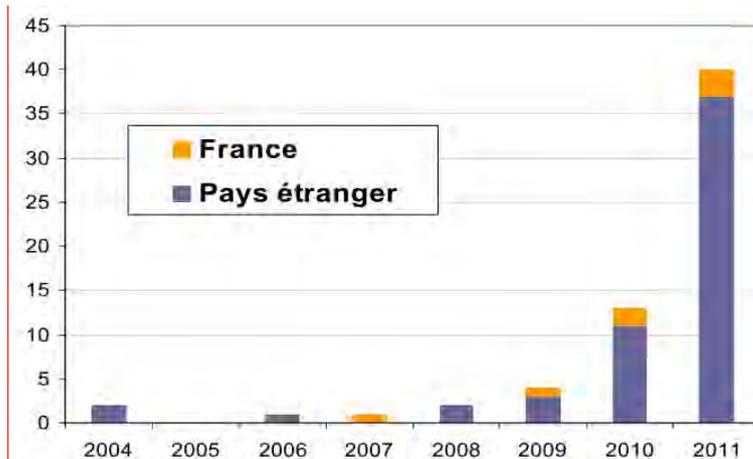


Figure 17 : Provenance des patients porteurs d'entérobactéries productrices de carbapénèmase dans les hôpitaux de l'AP-HP, de 2004 à 2011.

#### 4. Rôle des mains

Le port de gant est recommandé pour tout contact avec un patient porteur de BMR ou BHR et son environnement immédiat (61). L'étude de Tenorio en 2001 confirme le bénéfice du port de gant par les soignants, mais que le seul port de gant n'est pas suffisant pour maîtriser la transmission croisée. Le lavage des mains par friction hydro-alcoolique est nécessaire avant de mettre les gants, mais également dès leur retrait (62). De plus, les mains peuvent être contaminées lors de contacts avec des surfaces proches de patient contaminé ; ceci a été montré expérimentalement pour le SARM et pour les ERV (63–65).

L'utilisation des solutions hydro-alcoolique par les équipes de soins avant et après les soins est indispensable dans la maîtrise de la transmission croisée. Les solutions hydro-alcooliques sont à privilégier par rapport au lavage simple au savon doux, car elles présentent une plus grande efficacité, une action plus rapide, une meilleure tolérance, une facilité d'utilisation et donc une meilleure observance (61).

## 5. Rôle de l'environnement

*E. faecium* peut croître et survivre dans la plupart des milieux, sur la peau et sur les surfaces inertes.

Il survit dans l'environnement pendant des périodes pouvant aller de 7 jours (66) à 4 ans (67).

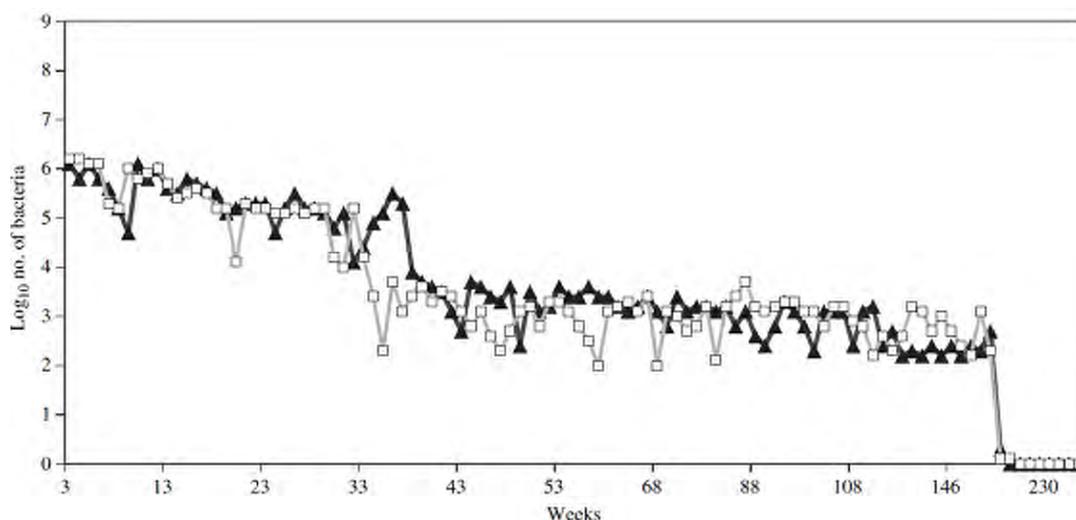


Figure 18 : Evolution résistance de l'ERV dans l'environnement pendant 4 ans.

De plus, de nombreuses études donnent l'environnement comme source de transmission des ERV (68). Le fait d'occuper la même chambre qu'un patient porteur d'ERV ou de séjourner dans une chambre préalablement occupée par un porteur d'ERV a été démontré comme représentant un risque pour l'acquisition d'un ERV (69–71).

En milieu hospitalier, des études montrent que l'environnement proche d'un patient colonisé à ERV est très souvent contaminé. Les surfaces (table de nuit, adaptables) ainsi que les objets proches de ces patients comme les télécommandes, téléphones, interrupteurs pouvaient être contaminés. Les équipements de soins comme les stéthoscopes, les thermomètres et les électrodes d'ECG peuvent eux aussi être touchés (71–76).

Une étude a même permis de constater que 42 % des rideaux séparateurs de chambres étaient contaminés par de l'ERV (77). Les tenues du personnel sont également fréquemment contaminées lors de soins de patients porteurs (72).

Par conséquent, l'hygiène de l'environnement représente une étape primordiale dans la prévention de la diffusion des ERV (65). De même, le matériel nécessaire aux soins ne devra pas être réutilisé sans entretien adapté (78). L'environnement proche du patient et les zones touchées par le personnel soignant devront subir un bionettoyage à une fréquence minimale d'une fois par jour (58). Le bionettoyage sera donc considéré comme un soin à part entière.

La transmission d'ERV a été démontrée à partir de surfaces restées contaminées après un bionettoyage mal maîtrisé (65). L'eau de Javel s'est révélée plus efficace qu'un détergent-désinfectant standard pour les ERV (79). Dans un autre cas, l'épidémie a été maîtrisée dès lors que le détergent-désinfectant classique a été correctement utilisé (application large, temps de contact prolongé, entretien approfondi) (80,81).

L'endoscopie a été aussi remise en cause, car par exemple aux États-Unis, deux duodénoscopes mal désinfectés seraient à l'origine d'infections chez près de 200 patients par une EPC. D'autres cas de transmissions d'EPC lors d'épidémies ont été décrits, mais aucun cas de transmissions d'ERV n'a encore été publié.

## **6. Gestion des excreta**

Les excreta représentent l'ensemble des substances éliminées par l'organisme. Leur gestion n'a pas toujours été une des préoccupations majeures dans les établissements de soins. Devant l'émergence de certaines bactéries en particulier du microbiote intestinal, la gestion et la maîtrise des excreta sont devenues indispensables.

Par exemple, les selles sont un des réservoirs majeurs de bactéries commensales du tube digestif qui peuvent comporter des gènes de résistance aux antibiotiques comme les ERG. La manipulation de ces matières va exposer le soignant, le patient et

l'environnement à une contamination microbienne. Certaines pratiques, comme l'utilisation de douchettes dans l'élimination des excréta, contribuent à la dispersion de ces bactéries, car un risque de formation d'aérosol est possible.

Comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent, une contamination de l'environnement et du personnel de soins sont des facteurs de transmission croisée pour les ERV.

La gestion des excréta aura donc un rôle important dans la diminution de la transmission croisée

## **7. Principe de la prévention et maîtrise de la transmission croisée**

Il existe trois niveaux de recommandations (ou précautions) dans la maîtrise du risque de diffusion de micro-organismes (58):

- i. La base, avec l'application systématique et par tous des précautions standard (PS) d'hygiène, quel que soit le statut infectieux du patient pour limiter la transmission croisée
- ii. Le niveau intermédiaire, avec les précautions complémentaires (PC) d'hygiène qui sont mises en place en cas de mise en évidence de BMR ou de pathologies infectieuses, contagieuses ou transmissibles (infections à *Clostridium difficile*, gale, etc.). Pour les BMR, ce sont les PC de type contact (PCC) qui sont appliquées.
- iii. Le niveau le plus élevé, avec les précautions spécifiques de type « BHR » ( $P_{Sp_{BHR}}$ ), à mettre en place en fonction du type de résistance et des situations épidémiologiques locales.

Les ERG faisant parties des BHR, dans le cas d'un patient colonisé ou infecté, les trois niveaux de précautions devront donc être respectés.

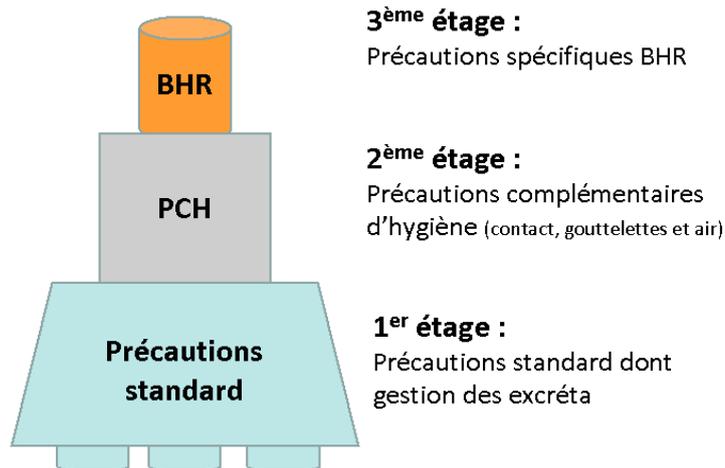


Figure 19 : Représentation graphique des différents niveaux de mesures à appliquer pour maîtriser la diffusion de la transmission croisée (HCSP 2013).

#### a. Précautions Standard

Les précautions standard sont basées sur le postulat que le sang, les liquides biologiques, les produits d'origine humaine, la peau lésée et les muqueuses, peuvent être à risque de contamination par des microorganismes.

Les précautions standard (PS) doivent être appliquées par tous les soignants lors de tout soin à tout patient quel que soit son statut infectieux. Elles ont été recommandées officiellement dans la circulaire DGS/DH - n° 98/249 du 20 avril 1998.

Les PS sont les précautions de base indispensables pour la réalisation de soins aux patients afin d'éviter la transmission de microorganismes. Le respect de l'hygiène des mains avec l'utilisation des produits hydro-alcooliques demeure la mesure principale, mais d'autres mesures d'hygiène de base sont aussi à mettre en place comme le respect des techniques de soins, l'hygiène du patient, la gestion du matériel, la maîtrise de l'environnement, l'organisation des soins, la tenue vestimentaire du personnel, mais aussi la gestion des excréta. La Société française d'hygiène hospitalière (SF2H) détaille ces principes dans son guide intitulé « Surveiller et prévenir » (82).

Nous pouvons résumer les PS en 3 principes de bases à respecter :

- Environnement sûr : nettoyage et désinfection de l'environnement, gestion du linge, des déchets et des excréta,
- Soins sûr : hygiène des mains et utilisation adapté des équipements de protections individuelle (EPI),
- Asepsie : hygiène des mains, antisepsie de la peau et des muqueuses, qualité dans l'introduction des dispositifs médicaux (Usage Unique (UU), stérilité ou pas, gestion des dispositifs médicaux réutilisable).

#### b. Précautions Complémentaires

Il s'agit majoritairement de PC de type contact (PCC) mais elles peuvent être complétées par des mesures de type « gouttelettes » ou « air ». La mise en précautions complémentaires est soumise à une prescription médicale, elles viennent s'ajouter aux précautions standard. Les PCC sont mises en place pour tout patient porteur de BMR pour lutter contre le risque de transmission croisée.

Les grands principes des PC sont la mise en chambre individuelle du patient, le renforcement du lavage des mains, l'utilisation dans la mesure du possible de matériel dédié, le port d'une surblouse pour tous les contacts directs avec le patient et une signalisation sur la porte du patient.

Les PCC ont été récemment revues (61) où il n'est recommandé le port de gants pour les contacts avec l'environnement et la peau saine des patients porteurs d'une BMR.

#### c. Précautions spécifiques de type « BHR » (P<sub>SpBHR</sub>)

La mise en précaution spécifique « BHR » (P<sub>SpBHR</sub>) d'un patient est aussi soumise à une prescription médicale et, elle vient se surajouter aux PS et au PC. Les P<sub>SpBHR</sub> sont faites pour accentuer le niveau d'hygiène, et par conséquent essayer de réduire d'autant le risque de transmission croisée. Les PCC et l'application des PS ne suffisaient pas pour

éliminer les cas de transmission croisée (83–87), les PCC ne sont pas systématiquement appliquées par l'ensemble des professionnels de santé.

Les principales actions à mettre en place pour les PSp<sub>BHRe</sub> (58) :

- Isolement en chambre individuelle
- Hygiène des mains par friction hydroalcoolique,
- Renforcement de la maîtrise de l'environnement y compris du matériel,
- Port de surblouse et de gants à usage unique.
- Dépistage rectal

Plusieurs études ont montré l'efficacité de mesures strictes incluant la prise en charge de patient par du personnel dédié, au niveau d'un établissement (83,86,88–90), entre plusieurs établissements (91) ou à l'échelle d'un pays (84,92).

En résumé, pour un patient porteur de BHRe, les précautions se surajoutent aux précautions standard = PS + PCC + PSp<sub>BHRe</sub>.

## **8. Décontamination du portage à ERV**

La décolonisation ou bien le traitement d'un portage à ERV, sont des hypothèses qui peuvent être évoquées. En effet, elles présentent en théorie deux avantages :

- réduire le risque de transmission croisée en réduisant l'inoculum du porteur et donc de son environnement,
- réduire la probabilité de survenue d'infections nosocomiales.

Les études faites à ce jour ont démontré que la décolonisation par la streptomycine, la bacitracine et l'association entre ceftazidime-vancomycine a été inefficace pour assurer une décolonisation durable après l'arrêt du traitement (93)(94).

Au CHU de Nancy, dans le cadre de l'essai de décolonisation de 28 patients porteurs d'ERV par de la streptomycine : 55% (16) des patients ont été décontaminés,

dont 6 patients recolonisés par la suite (94). Cependant, certains auteurs recommandent quand même une décontamination digestive adaptée (95,96).

Les études et les recommandations nationales sont pourtant en faveur de ne pas traiter des patients colonisés à ERV. De plus, aucune étude n'a été publiée à ce jour sur le risque de sélection de bactéries multi résistantes autres, ainsi que sur les conséquences d'un traitement sans infection pour le patient porteur d'ERV. La non utilisation d'antibiotique à tort est la conséquence d'une prévention d'un risque écologique pour le patient et pour la population générale. Le coût bénéfice/risque pourrait être aussi évalué. De principe, il a été décidé de ne plus traiter les colonisations quel que soit le germe ou le site anatomique.

## **9. Enjeux de la maîtrise**

La lutte contre les bactéries multirésistantes afin d'éviter une impasse thérapeutique dans le traitement des infections représente le principal enjeu de cette maîtrise.

Cependant, concernant les ERV, du fait de la résistance plasmidique (mobile), la lutte pour la maîtrise est d'autant plus importante qu'il existe une possibilité de transmission du gène aux staphylocoques. Cette transmission possible est inquiétante, car les staphylocoques et notamment *Staphylococcus aureus* méticilline résistant (SARM), en situation d'endémie élevée provoquent beaucoup plus d'infections nosocomiales que *E. faecium*.

Les souches de *Staphylococcus aureus* ayant acquis le gène de résistance aux glycopeptides sont appelées VRSA (Vancomycin Resistant *staphylococcus aureus*). Dans le monde, 13 souches de VRSA ont pu être isolées, dont une au Portugal en 2014 (la première en Europe) (97). Dans tous les cas, même s'il est aisé de penser que le transfert du VRSA vers une autre souche de SARM est plus facile, aucun cas secondaire n'a été trouvé.

Ce transfert est donc possible mais encore très rare, plusieurs hypothèses peuvent l'expliquer. En effet ces deux germes colonisent des sites écologiques différents, *Staphylococcus aureus* est retrouvé dans les fosses nasales alors que les Entérocoques font parties de la flore intestinale. Par contre certaines situations peuvent favoriser le transfert, comme par exemple la présence de plaies cutanées colonisées (escarres en particulier) par du *Staphylococcus aureus*. Mais fort heureusement en Europe, la surveillance reste importante car le taux de SARM est très élevé.

L'étude de Rossi et al. montre l'importance de la double contamination à la fois par le SARM et l'ERV dans l'apparition de *Staphylococcus aureus* résistant à la vancomycine (98). Un SARM sensible à la vancomycine a été initialement isolé d'une hémoculture, puis environ un mois plus tard, l'isolement d'une souche de VRSA porteur du gène *vanA* a été fait.

Cette apparition de VRSA est peut-être la conséquence directe ou indirecte (apparition ERV) de la pression de sélection exercée par les antibiotiques notamment la vancomycine et la teicoplanine ou la conséquence du transfert direct du gène *vanA* de l'entérocoque vers le Staphylocoque. En effet, l'ERV a été retrouvé sur un dépistage peu après (Figure 20).

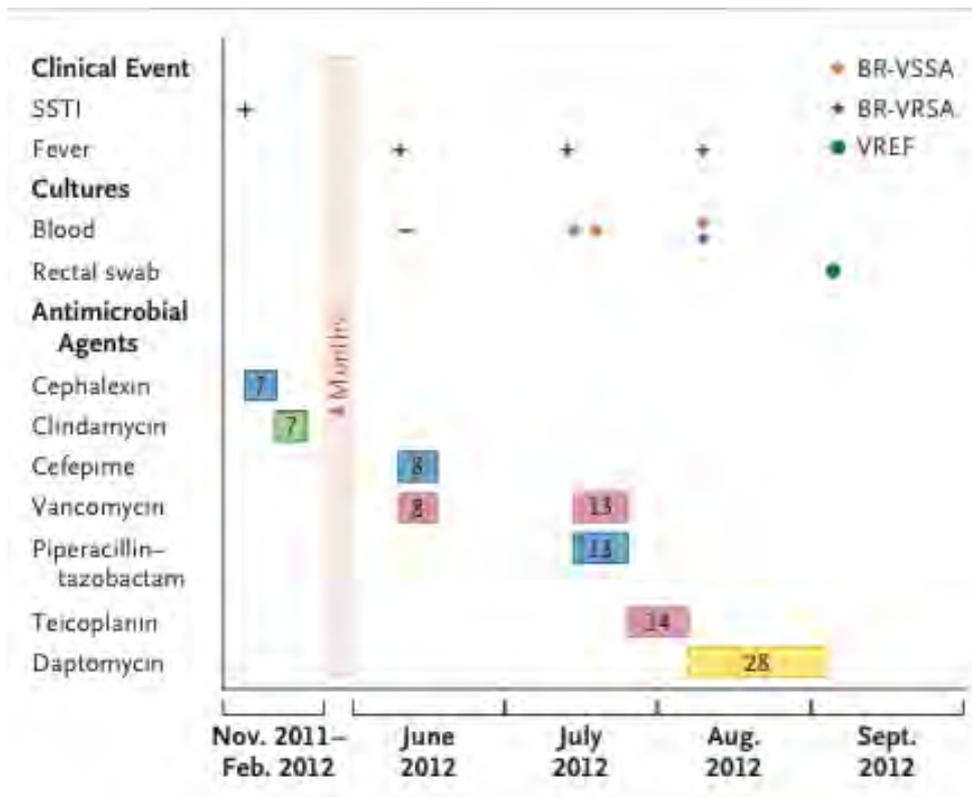


Figure 20 : Evolution clinique du patient avant et après isolement du *Staphylococcus aureus* résistant à la vancomycine.

## 3<sup>ème</sup> Partie : Gestion d'une épidémie à ERV au CHU de Toulouse

Dans cette partie, nous décrivons la gestion de l'épidémie à ERV à laquelle le CHU de Toulouse a dû faire face. Nous allons nous attacher à faire le comparatif entre les dernières recommandations du Haut Conseil de Santé Publique (HCSP) et les recommandations mises en place par l'équipe opérationnelle en hygiène (EOH) du CHU de Toulouse.

### I. Contexte et départ de l'épidémie

#### 1. Contexte

##### a. National selon les recommandations du HCSP

Les patients bénéficiant d'une recherche de BHRé sont ceux ayant eu dans les 12 derniers mois une hospitalisation de plus de 24 h quel que soit le secteur de soins à l'étranger. Un tel patient sera pris en chambre individuelle avec des PSp<sub>BHRé</sub> dès son admission. En ce qui concerne le dépistage : **i.** s'il est négatif, le patient ne sera pas maintenu en PSp<sub>BHRé</sub> et un dépistage pourra être renouvelé en cas d'antibiothérapie **ii.** s'il est positif, ce patient sera pris en charge par du personnel dédié et maintenu en PSp<sub>BHRé</sub> tout le long de son hospitalisation.

##### b. Local avec les recommandations de l'EOH du CHU de Toulouse

- *Venant de l'étranger*

Le dépistage des BHRé doit être réalisé dès l'entrée d'un patient ayant été hospitalisé (au moins 24 heures) dans l'année précédente à l'étranger dans un secteur à forte densité en soins ou ayant bénéficié de séance(s) de dialyse. Le dépistage est réalisé

à l'aide d'un écouvillonnage rectal, un seul écouvillonnage sera nécessaire pour la recherche des BHRe.

L'admission du patient doit se faire directement dans le service dont il va dépendre sans passer dans la mesure du possible par les urgences, car le dépistage des BHRe n'est pas réalisé dans ce service. Lorsque le patient passe par les urgences, 3 cas de figure se présentent :

- Soit le patient sort au domicile : pas de recommandation,
- Soit transfert en Unité d'Hospitalisation de Courte Durée (UHCD) : patient mis en chambre seule et précautions BHRe,
- Soit transfert dans un service d'aval : patient mis en chambre seule, précautions BHRe et dépistage des patients contact dans le service d'aval.

Les PSp<sub>BHRe</sub> doivent être mises en place dès l'entrée du patient, sans attendre les résultats du laboratoire. Elles seront maintenues jusqu'au rendu des résultats. Si les résultats sont négatifs, sans présence de portage de BHRe, alors le service pourra lever les PSp<sub>BHRe</sub> et le patient sera considéré comme plus à risque. Si les résultats sont positifs, c'est-à-dire avec présence d'ERV ou d'EPC, alors le patient sera maintenu en PSp<sub>BHRe</sub> pour tout le reste de son hospitalisation. Ce patient ne générera pas de patients contact et par conséquent pas de cohorte.

- *Découverte d'un patient porteur de BHRe en cours d'hospitalisation*

Un patient peut être découvert porteur de BHRe en cours d'hospitalisation, soit par transmission croisée, soit par pression de sélection ou par une ou plusieurs défaillances dans le suivi d'une hospitalisation à l'étranger. Ces patients devront, le plus rapidement possible, être mis en PSp<sub>BHRe</sub> avec mise en chambre individuelle. Ces PSp<sub>BHRe</sub> seront maintenues pour eux durant toute la durée de leurs séjours et ces patients seront considérés comme porteurs pendant toute l'année qui suit.

La mise en place d'une cohorte avec une identification des patients contacts devra être réalisée sur la période qui s'étend de la date d'entrée du cas index (ou de la date du dernier prélèvement négatif) jusqu'à la date de la mise en PSp<sub>BHRe</sub>. Pour chaque contact, trois dépistages par écouvillonnage rectal à la recherche de BHRe seront

réalisés. Les dépistages sont espacés de 5 à 7 jours, ce qui permet en théorie une sortie de cohorte en 10-15 jours pour les patients contact. Durant cette période, en attendant la négativation des 3 dépistages et donc la sortie de cohorte, les patients contact seront considérés comme des porteurs. Ils seront donc mis en chambre individuelle et en PSp<sub>BHRe</sub>.

Au CHU de Toulouse, il a été choisi de ne suivre et de dépister dans un premier temps que le 1er cercle du patient porteur : c'est à dire seulement les patients contact encore présents sur le CHU le jour où la cohorte a été mise en place.

Si un patient contact s'avère porteur de BHRe, alors il faut

- Rechercher le lien avec le patient index et vérifier si la souche isolée est la même et/ou si elle possède le même mécanisme de résistance.
- Elargir les dépistages au 2<sup>ème</sup> cercle : patients déjà transférés ou sortis.

Si la clonalité est prouvée, une épidémie commence avec la création d'une cellule de crise. Si la souche est différente une nouvelle cohorte est alors créée avec de nouveaux patients contact.

## 2. Description de l'épidémie

### a. Hôpital Purpan

- *Patient Index (I0)*

Au départ, le patient index a été hospitalisé le 25/07/2014 en soins intensifs de gastro-entérologie de Purpan pour une décompensation œdémato-ascitique franche. Ce patient a suivi le cursus de soin classique, dans le seul respect des PS. Un ERV a été isolé le 11/09/2015 sur un ECBU réalisé pour une hypothermie.

Il avait été auparavant hospitalisé en Belgique, pays étranger, où le taux d'ERV était de 1,7% en 2013 (source eCDC). Ce taux est plus élevé que celui rencontré en

France (0.1 %), et de plus, l'hôpital d'où provenait ce malade était en pleine épidémie à ERV. La notion d'hospitalisation dans un pays étranger pour ce patient n'était pas connue ou n'a pas été transmise par cet hôpital belge.

Donc le départ de l'épidémie s'explique par à un défaut d'interrogatoire à l'admission du patient au CHU de Toulouse quant à ses antécédents. Les mesures de précautions adéquates (P<sub>Sp<sub>BHRe</sub></sub>) n'ont pas été mises en place dès l'admission.

- *Mise place des premières précautions à J0*

Le jour de l'alerte par le laboratoire les P<sub>Sp<sub>BHRe</sub></sub> ont été mises en place le plus tôt possible à J0, le 16/09/2014. Cette alerte a été donnée plus de 1 mois et demi après le début de l'hospitalisation. Elles devaient donc permettre normalement de limiter la diffusion des BHRe ainsi que l'arrivée d'une épidémie. Etant donné le dépistage tardif de ce patient, dans un premier temps tous les patients présents dans le service ont été mis en P<sub>Sp<sub>BHRe</sub></sub> et ont bénéficié dans un premier temps d'un écouvillonnage rectal pour recherche de BHRe. L'EOH s'est rendu dans le service de SI de gastro-entérologie afin de former et d'informer le personnel de soin sur la mise en place des P<sub>Sp<sub>BHRe</sub></sub>.

L'identification des patients contacts a conduit à constituer une cohorte remontant au 25/07/14, à « flaguer » tous ces patients sur ORBIS, et à les maintenir en P<sub>Sp<sub>BHRe</sub></sub> toute leur hospitalisation, y compris lors de réhospitalisation.

Entre temps deux patients contact du service de SI Gastro ont été transférés dans le service de Gastro 1 de Purpan.

L'EOH procède au signalement réglementaire via l'application e-sin. Elle se rend dans tous les services où séjournent des patients contact pour procéder à l'information et à la formation du personnel de soin sur les P<sub>Sp<sub>BHRe</sub></sub>.

Les écouvillonnages rectaux sont prévus pour tous les patients contact, le premier à J0, puis le second 7 jours plus tard à J7 et le dernier 7 jours encore après à J15. Les dates d'écouvillonnages à suivre sont :

- 1<sup>er</sup> prélèvement : le 16/09/2014
- 2<sup>ème</sup> prélèvement : le 22/09/2014
- 3<sup>ème</sup> prélèvement : le 29/09/2014

3 dépistages négatifs pour les patients contact sont nécessaires pour sortir ces patients de la cohorte. La sortie de cohorte représente pour ces patients un arrêt du suivi en tant que patients contact et par ce fait un arrêt des dépistages et des PSp<sub>BHRe</sub>. Ils seront alors « déflagués » sur ORBIS.

Il sera aussi décidé de prélever le patient positif tous les mois jusqu'à la fin de l'année. Cette décision n'a pas été maintenue tous le long de l'épidémie.

*Tableau 4 : Composition de la cohorte à J0 le 16 septembre.*

	Nombre de patients	Nombre de services touchés
Positif	1	1
Contacts	13	6
Réanimation	1	
SI Gastro	5	
Gastro 1	4	

- *Les deux jours suivant, J1 et J2*

Dans l'attente des premiers résultats du laboratoire, les 17 septembre et 18 septembre 2014, l'EOH a poursuivi la recherche des patients contact et l'actualisation de la liste. Après avoir fait un premier bilan et éliminé les différents problèmes informatiques pour la recherche de cas contact, la liste s'élève à 129 patients contact sur le site de Purpan. Certains patients contact sont transférés sur des structures extérieures au CHU, par conséquent l'ARLIN Midi Pyrénées est prévenu de cette situation.

Tableau 5 : Composition de la cohorte à J2 le 18 septembre.

	Nombre de patients	Nombre de services touchés
Positif	1	1
Contacts	129	6
Réanimation	15	
SI Gastro	19	
Gastro 1	96	
Transféré hors CHU	9	

- *Identification d'un cas secondaires*

Les résultats du laboratoire sont rendus et un deuxième patient positif est détecté le 19/09/2014 dans le service de SI de Gastro. L'EOH demande la mise en PSp<sub>BHRe</sub> de 6 patients supplémentaires en Gastro 1 considérés comme patients contact de ce celui-ci.

Tableau 6 : Composition de la cohorte après identification du premier cas secondaire le 19 septembre.

	Nombre de patients	Nombre de services touchés
Positif	2	1
Contacts	135 (- 1 positif)	6
Réanimation	15	
SI Gastro	18 (- 1 positif)	
Gastro 1	102	
Transféré hors CHU	13	

Le week-end est passé, et l'EOH s'aperçoit que la mise en PSp<sub>BHRe</sub> des 6 nouveaux patients contact n'avait pas été réalisée car l'équipe médicale n'a pas prescrit les PSp<sub>BHRe</sub>. Après une visite des deux services de Gastrologie par l'EOH, les dépistages et la mise en PSp<sub>BHRe</sub> seront réalisés.

Une cellule de crise est installée, elle aura pour but d'évaluer les besoins et les ressources nécessaires à la gestion de l'épidémie. Elle sera maintenue tout au long de l'épidémie et se réunira toute les semaines.

- *Evolution de l'épidémie*
- 24 septembre, Gastro 1 : 1 nouveau cas positif

Trois cas positifs modifient les réflexions et les recommandations données à JO. Un secteur dédié aux patients positifs est mis en place par le service sur la demande du Praticien Hygiéniste.

- 29 septembre, Gastro 1 : 4 nouveaux cas positifs

Parmi eux, deux faisaient partie de la liste des 6 patients contact à mettre en PSp<sub>BHRe</sub> demandé par l'EOH le vendredi 19 septembre ce qui avait été refusé par le service.

- Semaine suivante : 4 patients supplémentaires s'ajoutent à la liste des positifs dans le service de Gastro 1. Le service décide :
  - de mettre tous les patients présents en PSp<sub>BHRe</sub>,
  - de les dépister,
  - de suspendre immédiatement les admissions dans ce service,
  - Quatre patients vont s'ajouter.

Un patient positif a été identifié à distance des autres cas, car il a été revu en consultation tardivement. Au total 16 patients porteurs d'ERV sont présents sur le site de Purpan.

## b. Hôpital Rangueil

L'alerte est donnée le 19 janvier 2015. Un nouveau patient fait une infection à ERV, le germe est isolé sur un prélèvement de liquide biliaire. Ce patient était hospitalisé en Gastro-entérologie 63 depuis le 14 janvier et il a été aussitôt mis en PSp<sub>BHRe</sub>. Etant donné le temps de latence entre la mise en place des PSp<sub>BHRe</sub> et l'entrée de ce patient, une nouvelle cohorte est organisée avec mise en PSp<sub>BHRe</sub> et dépistage des patients contact. Suite à la campagne de dépistage au sein de la cohorte, trois patients contact sont dépistés positifs à ERV.

Un des 3 patients était contact voisin de chambre du cas index de Rangueil et les deux autres ont eu une hospitalisation commune dans le service de Gastro-entérologie 63. Ces 2 patients ainsi que le cas index ont bénéficié d'un cathétérisme endoscopique bilio-pancréatique (CPRE) avec le même endoscope. De plus un des patients contact (patient contact 5 sur le tableau synoptique) porteur d'ERV de la cohorte de Purpan avait subi le même examen avec le même endoscope quelques jours auparavant. Donc l'hypothèse d'une contamination par cette technique a été évoquée. Elle a été rapidement écartée après investigation, car aucun germe suspect n'a été retrouvé. Cette hypothèse a été investiguée et les patients ayant eu une CPRE entre le 17/09/14 et le 02/10/14 ont été informés par écrit. Cependant, leur dépistage n'a pas été possible. Par ailleurs, les prélèvements de l'endoscope n'ont pas permis de confirmer cette hypothèse.

Fin février, deux patients supplémentaires dans le service de chirurgie digestive de Rangueil ont été dépistés positifs à ERV. Ces deux patients étaient des patients contact du patient index de gastro-entérologie de Rangueil.

c. Pour résumer

Tableau 7: Récapitulatif du nombre de patients positifs, contact, sortis de cohorte et décédés (de leurs pathologies) sur les deux sites.

Purpan		Rangueil	
Nombre de patients		Nombre de patients	
Patients positifs	16	Patients positifs	6
Patients contact	135	Patients contact	199
Sortis de cohorte	65	Sortis de cohorte	81
Décédés	16	Décédés	16

Au final 22 patients positifs ont été dépistés. Deux patients ont été dépistés porteurs d'ERV sur leur 2<sup>ème</sup> dépistage et un patient sur le 3<sup>ème</sup> dépistage. Un total de 334 patients ont été suivit comme patients contact. Seulement 146 patients ont pu être sortis de cohorte.

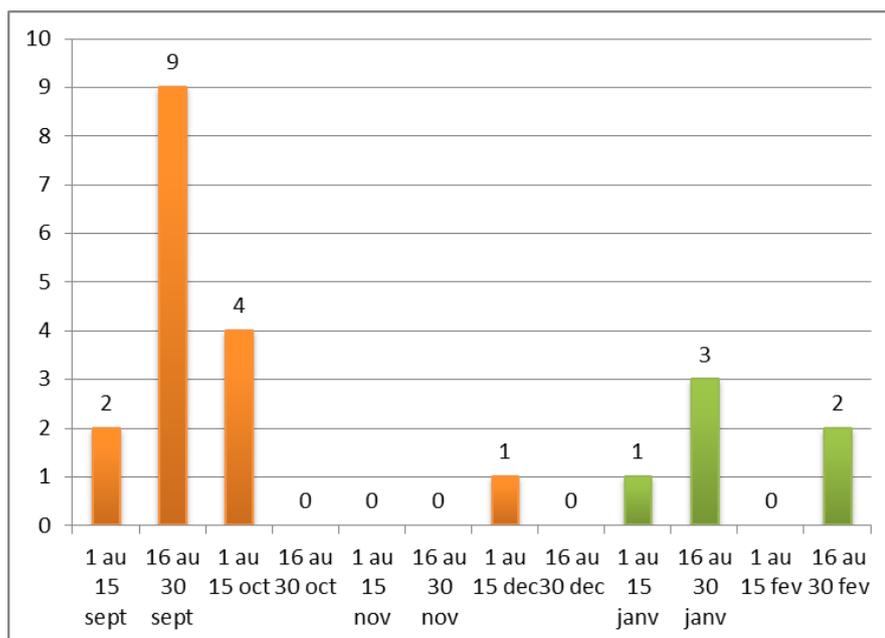


Figure 21 : Répartition dans le temps des patients porteurs d'ERV sur le site de Purpan et sur le site de Rangueil, en orange les « cas » de Purpan et en vert les « cas » de Rangueil.

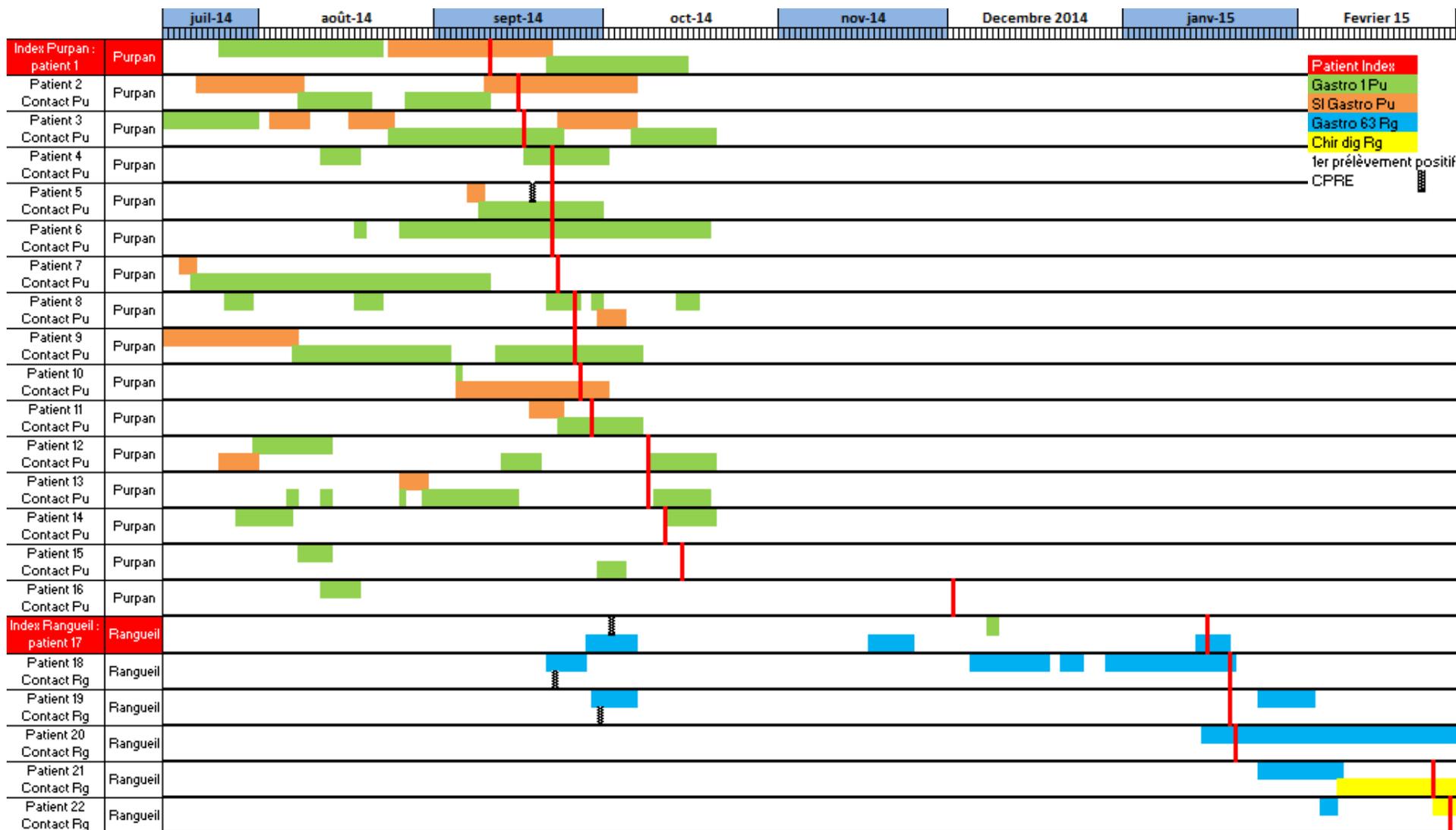


Figure 22 : Tableau synoptique des cas du site de Purpan et du site de Rangueil.

## II. Mesures prises par l'EOH

Les mesures préconisées par l'EOH sont très nombreuses. Mais elles sont toutes nécessaires pour éradiquer et limiter l'épidémie. Elles ont été mises en place dès l'apparition du premier cas et maintenues jusqu'à la fin de l'épidémie, la fin de l'épidémie et donc du suivi de la cohorte ont été déclarés le 24 août 2015 soit 6 mois après le dernier cas positif.

La liste des actions prises est indiquée ci-dessous :

- Compréhension et mise en application des PSp<sub>BHRe</sub> pour tous les cas et les contacts avec renforcement de l'hygiène des mains, protection de la tenue de travail et port de gants systématiques dès l'entrée dans la chambre et retrait de ces protections avant de sortir de la chambre, l'utilisation des produits hydro-alcooliques est fortement recommandée,
- Renforcement du bionettoyage de la chambre des patients, mais aussi de tous les équipements utilisés sur les patients porteurs comme les endoscopes. Les endoscopes ont subi un bionettoyage manuel, double écouvillonnages avec 2 écouvillons différents,
- Création d'un listing comprenant les patients porteurs et les contacts,
- Dépistage des patients contact à J0, J7 et à J15,
- Point régulier sur l'avancement des dépistages et des sorties de cohorte,
- Prévenir le CCLIN de tous transferts de patient porteur ou contact,
- Information de l'équipe médicale pour limiter la pression de sélection en utilisant les antibiotiques dans les situations légitimes,
- Mise en place d'une alerte BHRe dans le dossier médical informatisé du patient (ORBIS),
- Formation du personnel médical et paramédical à l'application des mesures et à la compréhension de la situation,
- Identification des souches, détermination du génotype et du pulsotype pour la recherche du caractère épidémique.

Toutes ces mesures doivent être appliquées avec rigueur. Cependant, il faut souligner que le fait d'être porteur de BHRe ne doit en aucun cas constituer une perte de chance pour le patient. En effet, la totalité des soins dont le patient a besoin doit être assurée.

### **III. Mesures institutionnelles**

Les mesures institutionnelles sont décidées en relation avec la direction de l'établissement. Elle s'est impliquée de façon durable dans cet épisode, qui aurait pu être plus importante sans cet engagement. Une cellule de crise pluridisciplinaire a été créée pour définir le plan d'actions à mettre en place, à suivre l'évolution des cohortes et adapter les ressources et aussi pour expliquer à tous les intervenants, les différents enjeux de la maîtrise d'une épidémie à ERV. La cellule a été mise en place dans un premier temps avec les acteurs impliqués dans l'épidémie de Purpan, puis dans un second temps avec ceux de Rangueil.

Au début, cette cellule se réunira quotidiennement. Cette cellule se réunira de façon quotidienne pour faire le bilan sur la gestion et l'évolution de l'épidémie. Elle était constituée de toute l'EOH, du laboratoire de bactériologie et d'hygiène, de la direction de l'établissement, de la direction qualité, de l'équipe médicale et paramédicale des services concernés, du chef de pôle, d'infectiologue (réfèrent antibiotique) et du responsable du bionettoyage.

Les mesures décidées par la cellule de crise sont listées ci-dessous :

- Arrêt des transferts des cas dans un autre service de l'établissement,
- Favorisation du retour au domicile des patients,
- Cohorting avec mise en place de trois secteurs dans le service de Gastro 1 : regroupement dans un secteur des cas positifs, dans un autre secteur regroupement des contacts,
- Adaptation permanente des locaux et des ressources à la taille de chacune des 3 cohortes,

- Création d'un secteur « sain » dans une autre aile du service avec des patients non porteurs et non contacts et bénéficiant d'un personnel dédié,
- Personnel dédié aux cas, avec restrictions des internes et des médecins s'occupant des cas,
- Personnel dédié aux contacts,
- Renforcement du bionettoyage avec mobilisation d'équipes supplémentaires : réalisé tous les jours dans les chambres des patients, nettoyage en 3 temps (détergence, rinçage et désinfection avec eau de javel) lors de sortie de patient porteur,
- Apparition de la notion de « cercle » : deux « cercles » ont été définis. Le premier cercle (cercle 1) représente les patients contact présents encore dans l'établissement. Le cercle 2 représente tous les autres patients contacts. Dans ce contexte, il a été décidé d'inclure dans la campagne de dépistage les patients du cercle 1 et 2
- Tous les patients contact ainsi que leurs médecins traitants ont bénéficié d'un courrier explicatif de leur situation. Un dépistage sera réalisé que si ces patients reviennent sur l'hôpital, soit en consultation ou en hospitalisation (dans une épidémie antérieure, en 2008, le CHU avait organisé des dépistages au domicile des patients sortis).

L'EOH du CHU de Toulouse s'est attachée à tenir à jour la liste des cas, en l'actualisant quotidiennement au fur et à mesure de l'apparition de nouveau cas et/ou de contacts, en assurant le suivi et la nécessité de poursuivre les dépistages dans les secteurs d'aval éventuels.

#### **IV. Mesures administratives**

Dans un premier temps, un signalement réglementaire de tous les cas positifs à été fait à l'ARS et au CCLIN est fait par l'application e-sin. Une alerte à la direction de l'établissement est également envoyée. La commission des médicaments anti-infectieux (CAI) et le comité de lutte contre les infections nosocomiales (CLIN) de l'établissement seront également informés. Les établissements périphériques ayant reçu des contacts ou

des porteurs sont également prévenus par le biais de l'ARLIN afin de mettre en place les mesures qui s'imposent.

Un courrier d'information a été envoyé au médecin traitant de chaque cas sorti et un à chacun d'eux pour les informer du portage.

Dans un second temps, un courrier d'information a été envoyé au médecin traitant de chaque contact et un à chacun d'eux pour les informer.

## **V. Après la maîtrise de l'épidémie**

L'EOH doit continuer à tenir à jour la liste des patients contact avec une obligation de demande d'un prélèvement si retour sur le CHU d'un patient porteur ou contact. Elle vérifie le retour de tous les patients porteurs ou tous les patients contact pour pouvoir appliquer les PSp<sub>BHRe</sub> dès leur arrivée.

Une investigation a été menée par le laboratoire en relation avec l'EOH pour la recherche d'ERV dans l'environnement direct des patients porteurs. Cette investigation n'a abouti à aucune conclusion, car aucune souche d'ERV n'a été trouvée dans les chambres.

Le suivi de la cohorte des contacts est assuré pendant 6 mois après la date d'identification du dernier porteur. Ceci est valable pour toutes épidémies à BHRe. Les ERV positifs sont suivis pendant un an : un nouveau dépistage est fait le plus tôt possible à partir de l'anniversaire de suivi. Si ce dépistage est négatif, alors le patient ne sera plus considéré comme porteur de BHRe et si le dépistage est positif, alors il sera considéré comme porteur de BHRe à vie.

## VI. Adaptation des recommandations du HCSP par l'EOH du CHU de Toulouse

Une adaptation des recommandations du HCSP par l'EOH du CHU de Toulouse a été mise en application, elle sera présentée sous forme de tableau comparatif avec celles données par le HCSP en 2013. Cette adaptation est à mettre en relation avec les contraintes budgétaires et la raréfaction des ressources (notamment en personnel). L'EOH et le CHU ont fait une application raisonnée des recommandations pour pénaliser le moins possible l'activité, protéger les recettes et ne pas alourdir les coûts. Une réflexion a été menée sur l'évaluation des besoins et des recommandations pour évaluer au mieux la balance bénéfique/risque, à savoir la maîtrise de l'épidémie par rapport aux coûts de l'épisode (perte de recette + coût direct en personnel, consommables, analyses ...)

Tableau 8. : Récapitulatif des adaptations des recommandations.

Applications faites par le CHU en 2014-2015	Recommandations faites par le HCSP en 2013
Sectorisation entre les cas et les contacts réalisée en milieu d'épidémie par une chambre tampon entre eux	Sectorisation en trois secteurs distincts jusqu'à la fin de l'épidémie : un pour les cas, un pour les contacts et un pour les patients sains (ni cas, ni contact)
En fin d'épidémie : Pas de personnel dédié patient porteur BHRe → pris en fin de soins (marche en avant)	Personnel dédié patient porteur BHRe tout le long de son hospitalisation
3 dépistages pour les contacts sauf si pas de retour en hospitalisation au bout de 6 mois (fin d'épidémie)	3 dépistages pour l'ensemble des contacts
Après 3 dépistages négatifs des contacts → sortis de cohorte et arrêt des PSpBHRe	Après 3 dépistages négatifs des contacts → dépistage hebdomadaire à continuer et maintien des PSpBHRe
Patient « cas » dépisté négatif à un an et	Patient « cas » dépisté négatif à un an et

patient sous ATB → pas de prélèvement	patient sous ATB → prélèvement
Patients contact avec ATB non surveillés	Patients contact avec ATB à dépister
Dépistage tous les 5 jours	Dépistage des contacts 1 fois par semaine
Transfert d'un cas ou d'un contact vers un autre établissement maintenu, mais encadré par l'ARLIN.	Arrêt des transferts des patients contact
Arrêt du suivi de la cohorte après 6 mois de surveillance sans nouveau patient porteur	Pas d'information sur la fin de l'épidémie
<p>Patient porteur de BHRe considéré porteur pendant un an, et si réhospitalisé → dépistage :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Si le dépistage est négatif, plus considéré comme porteur, arrêt des PSpBHRe et sorti de cohorte</li> <li>• Si dépistage positif, mise en PSpBHRe sans équipe dédiée (marche en avant) et considéré porteur à vie</li> </ul>	<p>Patient porteur de BHRe considéré porteur pendant un an, et si réhospitalisé → dépistage :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Si le dépistage est négatif, le patient est maintenu en <b>PSpBHRe</b> et dépisté une fois par semaine.</li> <li>• Si dépistage positif, mise en PSpBHRe avec équipe dédiée et considéré porteur à vie</li> </ul>
Pas de nouveau patient contact pour un nouveau porteur détecté si clone identique	Pour chaque nouveau porteur détecté, identifier les patients contact
<p>Patient porteur réhospitalisé :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• PSpBHRe dès son entrée sans équipe dédiée</li> </ul>	<p>Patient porteur réhospitalisé :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• PSpBHRe dès son entrée et équipe dédiée</li> </ul>
Laboratoire : Non utilisation d'un bouillon d'enrichissement	Utilisation d'un bouillon d'enrichissement surtout pour les prélèvements environnemental

## VII. Rôle du Laboratoire

### 1. Identification et caractères phénotypiques

- Recommandations selon l'avis du HCSP de 2013

Le HCSP recommande l'utilisation de milieux gélosés sélectifs pour la recherche d'ERG, ainsi que la détermination de la CMI de la vancomycine et de la teicoplanine vis-à-vis de ces souches. Le laboratoire doit être en mesure d'identifier les souches, car comme nous l'avons vu, seules les souches d'*Enterococcus faecium* résistantes à la vancomycine et/ou à la teicoplanine sont considérées comme BHRe. Le mécanisme de résistance devra aussi être recherché, pour déterminer si la résistance est liée au gène vanA ou vanB. Le laboratoire devra, pour tout ERG, le signaler aux autorités sanitaires (99).

- La détection des ERV par le laboratoire d'hygiène au CHU de Toulouse

Le laboratoire reçoit des services de soins les écouvillons rectaux (eSwab rose) avec milieu de transport. L'ensemencement est réalisé directement après réception de l'échantillon.

La gélose sélective utilisée pour l'ensemencement des écouvillons reçus est « chromID VRE » (BioMérieux). Elle donne une lecture rapide après 24h d'incubation et permet la différenciation dans l'identification de *E. faecium* et *E. faecalis*. Elle contient deux substrats chromogènes  $\alpha$ -glucosidase et  $\beta$ -galactosidase, et 8 mg/l de vancomycine. Elle est donc spécifique et sélective des ERV, et donne des colorations spécifiques des colonies (Figure 23) :

- **bleu-vert** pour *E. faecalis*
- **violet** pour *E. faecium*

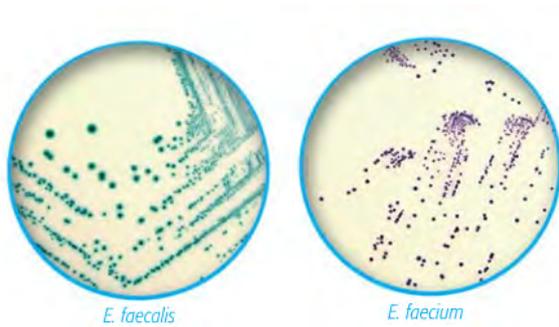


Figure 23 : Représentation d'ERG isolés à partir de selles sur gélose chromID ERV.

Après suspicion d'*E. faecium* sur la gélose, car présence de colonies roses, une identification par spectrométrie de masse Maldi-Tof (microflex Bruker) est réalisée. Un antibiogramme sur gélose Mueller-Hinton pourra ensuite être réalisé pour confirmation de la résistance et pouvoir commencer à comparer les souches de manière phénotypique.

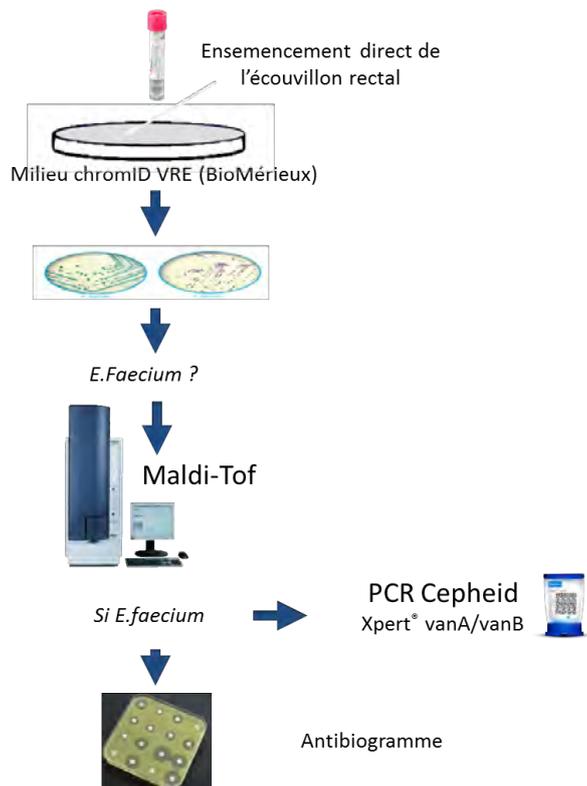


Figure 24 : Identification d'*E. faecium* au laboratoire d'hygiène du CHU de Toulouse.

## 2. Comparaison des isolats

### a. Génomique de résistance à la vancomycine

Après identification par spectrométrie de masse, le génotype est déterminé par PCR temps réel pour confirmer le type de résistance avec recherche du gène. Cette recherche est réalisée à l'aide du système GeneXpert (Cepheid) par l'utilisation du Kit Xpert® vanA/vanB. La PCR en temps réel est un avantage non négligeable pour la maîtrise des BHRé, car elle permet un résultat très rapide : moins d'une heure.

Le système GeneXpert® de PCR en temps réel intègre et automatise le traitement de l'échantillon (lyse et extraction), l'amplification des acides nucléiques et la détection des séquences cibles. Les kits contenant les réactifs nécessaires à l'extraction et à l'amplification sont jetables et à usage unique. Le kit Xpert® vanA/vanB (Cepheid) comprend les réactifs prêts à l'emploi pour la détection d'*E. faecium* résistant à la vancomycine de type *vanA* et *vanB*.

Le système GeneXpert® est un appareil comprenant plusieurs modules indépendants, ces modules accueillent les cartouches de PCR. Ils peuvent être lancés indépendamment les uns des autres avec des types de cartouches différentes.

### b. Détermination des pulsotypes

La comparaison des pulsotypes est réalisée au laboratoire d'hygiène du CHU de Toulouse, elle est réalisée grâce à la méthode d'électrophorèse en champ pulsé (ECP). Cette méthode est la technique de référence en matière de comparaison de souche. Cette comparaison est indispensable, car elle permet de déterminer des clones pour une même espèce, et donc de savoir si nous sommes en présence d'un clone épidémique ou non.

- *Principe de l'ECP*

L'électrophorèse en champ pulsé est une méthode d'analyse et de fractionnement basée sur la migration différentielle d'espèces chargées sous l'effet d'un champ électrique. La cuve d'ECP alterne des pulsions de champ électrique par le biais des électrodes réparties en hexagones autour du gel d'agarose. Ainsi, ces variations de champ électrique réorientent les molécules d'ADN dans le gel et ainsi facilitent leur migration à travers les mailles du gel. La migration des fractions d'ADN est variable en fonction de leurs tailles, et leurs vitesses de migration vont varier dans le sens inverse de leurs tailles. L'ECP permet ainsi de séparer des fragments d'ADN d'une taille allant de moins de 1 kb à une dizaine de mégabases.



Figure 25 : Plaque servant à la réalisation d'ECP.

L'ECP requiert une digestion enzymatique de l'acide désoxyribonucléique des bactéries que l'on souhaite analyser. Des enzymes de restrictions sont utilisées dans le but de découper l'ADN génomique afin d'obtenir différents fragments d'acide nucléique. Après migration sur gel d'agarose, les différences de migration de ces fragments permettront de comparer les isolats.

L'enzyme *SmaI* (issu de *Serratia marcescens*) est utilisé pour digérer l'ADN génomique des entérocoques. Cette enzyme est une protéine appartenant à la classe des endonucléases dont son rôle est de cliver les liaisons phosphodiester internes qui relient les nucléotides de la chaîne d'un acide nucléique (entre phosphate et sucre). Cette enzyme est spécifique d'un site de restriction de l'ADN bactérien, ce site est :

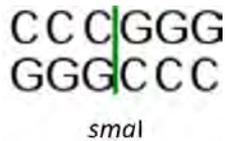


Figure 26 : Site de restriction de *SmaI*.

L'action de ces enzymes est possible seulement après la lyse de la paroi bactérienne. La première étape est une étape de lyse, elle utilise trois agents : la lysostaphine, la mutanolysine et le lysozyme. Ces agents permettent la libération de l'ADN bactérien par choc osmotique et donc par la suite l'action de l'enzyme de restriction *SmaI*.

Le tampon utilisé dans la cuve d'ECP assure la conduction électrique et le maintien des charges de l'ADN migrant (force ionique). Le gel d'agarose, composé principalement de polyholsides, a une grande porosité et permet des migrations de masse avec une bonne résolution.

- *Protocole*

Cette technique de comparaison est assez fastidieuse, car la lyse bactérienne et la préparation s'étendent sur 6 jours, alors que la lecture ne dure que quelques heures.

Le 1er jour, repiquage des souches d'ERV dont on veut faire la comparaison. Elles sont repiquées sur gélose au sang et incubé 24 heures à 37°C.

Le 2ème jour, la lyse bactérienne commence en utilisant successivement 3 agents de lyse tel que : le lysozyme, la lysostaphine et la mutanolysine. Cette lyse se fait pendant la nuit (24h).

Le 3ème jour, une étape de lavage précède la dernière étape de lyse où nous allons utiliser une protéinase K qui va finir de détruire les protéines autour de la membrane.

Le 4ème jour, après un dernier lavage pour éliminer et arrêter l'action de la protéinase K, la digestion de l'ADN bactérien commence avec l'utilisation de l'enzyme de restriction *SmaI*. La digestion enzymatique doit continuer pendant une vingtaine d'heures.

Le 5<sup>ème</sup> jour, la mise en place de l'ECP débute avec la préparation du gel d'agarose. La migration de l'ADN des différentes souches démarre, elle va se faire durant la nuit.

Le 6<sup>ème</sup> jour, la révélation du gel d'agarose est réalisée. Pour la lecture, nous utilisons du GelRed™ pour la coloration des acides nucléiques.

- *Résultats*

Le pulsotype des patients porteur d'ERV a été déterminé et comparé à d'autres souches présentes dans la souche de laboratoire du CHU de Toulouse. Ceci permet de déterminer un profil avec attribution d'une lettre (A, B, C, ...) en fonction de la clonalité ou pas de la souche.

*Tableau 9 : Récapitulatif des résultats de l'ECP avec la correspondance des pulsotypes pour chaque patient et pour chaque site.*

Patient	Site	Pulsotype
<b>Index Purpan : patient 1</b>	<b>Purpan</b>	<b>A</b>
Patient 2 Contact Pu	Purpan	A
Patient 3 Contact Pu	Purpan	B
Patient 4 Contact Pu	Purpan	A
Patient 5 Contact Pu	Purpan	A
Patient 6 Contact Pu	Purpan	A
Patient 7 Contact Pu	Purpan	A
Patient 8 Contact Pu	Purpan	A
Patient 9 Contact Pu	Purpan	A
Patient 10 Contact Pu	Purpan	A'
Patient 11 Contact Pu	Purpan	B
Patient 12 Contact Pu	Purpan	A
Patient 13 Contact Pu	Purpan	A
Patient 14 Contact Pu	Purpan	C
Patient 15 Contact Pu	Purpan	A
Patient 16 Contact Pu	Purpan	A
<b>Index Rangueil : patient 17</b>	<b>Rangueil</b>	<b>A</b>
Patient 18 Contact Rg	Rangueil	A
Patient 19 Contact Rg	Rangueil	A'
Patient 20 Contact Rg	Rangueil	A
Patient 21 Contact Rg	Rangueil	A
Patient 22 Contact Rg	Rangueil	D

- *Interprétations des résultats*

L'interprétation des résultats a été réalisée grâce à la méthode décrite par Tenover en 1995 (100). Il a défini 3 types de profils :

- Profils identiques : même pulsotype, aucune bande ne diffère (clone A)
- Profils différents de  $\leq 3$  bandes : sous-pulsotypes (A', A'', ...) du même clone A.
- Profils différents  $> 3$  bandes : souches différentes (clone B).

L'analyse visuelle des profils électrophorétiques a permis de classer les souches en plusieurs types clonaux :

- Clone A : clone épidémique,
- Clone B : profil d'électrophorèse avec plus de 3 bandes différentes, mais retrouvées chez deux patients,
- Clone C et D : souches différentes retrouvées que chez un seul patient à chaque fois.

Le clone A a été retrouvé chez 13 patients du service de gastro-entérologie de Purpan et chez 5 patients du site de Ranguel. Le profil épidémique sur ces deux sites est le même, de plus les deux patients index des deux sites présentent eux aussi ce même clone. Le lien entre les deux sites a donc été montré grâce aux profils de champ pulsé. Un patient sur chaque site possédait un sous pulsotype A', une bande sur le gel était déplacée par rapport à celle du clone épidémique A.

Le lien de transfert entre les deux sites n'a pas pu être mis en évidence pendant cette épidémie. Les patients et le personnel médical sont en effet amenés à se déplacer du site de Purpan vers celui de Ranguel et vice versa. Les patients ayant effectué une CPRE sur le site de Ranguel possèdent le même profil d'ECP que le premier patient de Purpan ayant eu une CPRE. L'endoscope ayant servi à la CPRE a donc longtemps été considéré comme le candidat idéal à cette diffusion. Mais l'investigation avec son prélèvement n'a rien donné, cette hypothèse a donc été écartée.

Les 4 patients présentant des clones différents du clone épidémique A, ne seront au final pas intégrées à la cohorte de cas de cette épidémie. Ce qui fait un total de 18 patients présentant le clone épidémique A. Les 4 autres patients sont porteurs d'un ERV, mais ce portage ne peut être imputé à l'épidémie. La découverte de leur portage n'est pas surprenante, car cela peut être la conséquence de la prévalence des ERV dans la population générale, mais surtout, car ce sont des patients présentant de nombreux facteurs de risques de portage. Pendant l'épidémie, pour ne pas compliquer la situation, surtout auprès des soignants, et vu le délai nécessaire pour la réalisation des ECP, il a été quand même décidé de considérer ces patients comme cas et de les traiter comme tel.

Les différents pulsotypes ont permis de mettre en évidence un profil de clone épidémique des souches d'*E. faecium* et de pouvoir les différencier de souches non épidémiques.

#### c. Génotypes de virulence

Nous avons recherché 6 gènes de virulence par amplification génique (PCR) : *agg*, *efaAfm*, *gelE*, *esp* (22) et *pilA*, *pilB* (101). De plus, nous avons recherché la présence de la séquence d'insertion IS16, qui a été décrite comme une séquence spécifique des souches hospitalière, elle est située sur le transposon contenant la résistance à la vancomycine pour les entérocoques (102). Après lyse bactérienne et extraction de l'ADN, chaque gène a été amplifié et analysés séparément. La détection des amplicons a été effectuée par électrophorèse en gel d'agarose coloré par le gel RED®.

Patient	Site	Clone	Genotype	efaAfm	gelE	esp	pilA	pilB	IS16	agg	β-hémolyse
Patient 4 Contact Pu	Purpan	A	VanA	Positif	négatif	Positif	Positif	Positif	Positif	négatif	Positive
Patient 5 Contact Pu	Purpan	A	VanA	Positif	négatif	négatif	négatif	Positif	Positif	négatif	Positive
Patient 7 Contact Pu	Purpan	A	VanA	Positif	négatif	Positif	négatif	Positif	Positif	négatif	Positive
Patient 8 Contact Pu	Purpan	A	VanA	Positif	négatif	Positif	Positif	Positif	Positif	négatif	Positive
Patient 10 Contact Pu	Purpan	A'	VanA	Positif	négatif	Positif	négatif	Positif	Positif	négatif	Positive
Patient 15 Contact Pu	Purpan	A	VanA	Positif	négatif	Positif	Positif	Positif	Positif	négatif	Positive
<b>Index Rangueil : patient 17</b>	Rangueil	A	VanA	Positif	négatif	Positif	négatif	Positif	Positif	négatif	Positive
Patient 18 Contact Rg	Rangueil	A	VanA	Positif	négatif	Positif	Positif	Positif	Positif	négatif	Positive
Patient 19 Contact Rg	Rangueil	A'	VanA	Positif	négatif	Positif	Positif	Positif	Positif	négatif	Positive
Patient 20 Contact Rg	Rangueil	A	VanA	Positif	négatif	Positif	Positif	Positif	Positif	négatif	Positive
Patient 21 Contact Rg	Rangueil	A	VanA	Positif	négatif	Positif	Positif	Positif	Positif	négatif	Positive

Figure 27 : Résultats des différentes PCR réalisées sur 11 souches épidémiques.

Seulement 11 souches sur les 18 possédant le même clone A ont pu être analysées. Sur ces 11 souches, aucun isolat ne possède le gène *agg*, ce qui est en accord avec la littérature. En effet, ce gène n'a été décrit que pour les souches d'*E. faecalis*. Le gène *efaAfm*, spécifique d'*E. faecium*, est bien retrouvé pour tous les isolats. Il code pour une adhésine spécifique d'*E. faecium*, pour *E. faecalis* le gène spécifique ayant la même activité est *efaAfs*. Les gènes *pilB* et IS16 sont présents sur tous les isolats.

Trois génotypes différents sont donc observés.

- 1<sup>er</sup> profil : Le profil majoritaire retrouvé pour 7 souches est :

<i>efaAfm</i>	<i>gelE</i>	<i>esp</i>	<i>pilA</i>	<i>pilB</i>	IS16	<i>agg</i>
Positif	négatif	Positif	Positif	Positif	Positif	négatif

- 2<sup>ème</sup> profil : 3 autres isolats présentent le profil suivant :

<i>efaAfm</i>	<i>gelE</i>	<i>esp</i>	<i>pilA</i>	<i>pilB</i>	IS16	<i>agg</i>
Positif	négatif	Positif	négatif	Positif	Positif	négatif

- 3<sup>ème</sup> : Enfin un seul isolat possède ce profil :

<i>efaAfm</i>	<i>gelE</i>	<i>esp</i>	<i>pilA</i>	<i>pilB</i>	IS16	<i>agg</i>
Positif	négatif	négatif	négatif	Positif	Positif	négatif

Au total, avec une exploration de 10 marqueurs (en comptant les résultats de l'ECP) dont 9 génomiques, nous avons 7 isolats sur 11 qui sont similaires. Les isolats classés en A' (éloigné d'une bande) par l'ECP ne présentent pas un profil sensiblement différent des autres. Ce résultat conforte le caractère épidémique de l'épisode, même si un seul profil aurait dû être retrouvé pour ces 11 isolats.

## VIII. Perspectives et améliorations

Dans la mesure du possible, je vais proposer des perspectives d'évolution et d'amélioration dans la gestion d'une épidémie à ERV. Ces propositions sont à prendre avec parcimonie car il faudra les mettre en opposition avec les contraintes budgétaires et le manque de personnel que subissent les hôpitaux.

- *Formation*

Rappel des précautions standards aux personnels de soins dans les services au moins une fois par mois. Un affichage des précautions standards dans le service pourra être effectué (annexe 1 : Marguerite).

La réalisation d'un audit des pratiques pourra être pratiquée dans les services pour s'assurer que les recommandations données par l'EOH sont appliquées. Un audit de suivi avec évaluation des bonnes pratiques d'hygiène pourra aussi être réalisé à distance de l'épidémie.

- *Dépistage*

Dépister un patient présentant un ou plusieurs facteurs de risques, car les patients porteurs d'une BHRe autochtones sont fortement en hausse. Le lien d'une hospitalisation à l'étranger dans l'année précédente n'est pas toujours retrouvé, la question peut se poser pour les patients ayant eu un voyage à l'étranger sans notion d'hospitalisation. Un des problèmes vient du fait que les services « épicode » d'épidémie comme la gastro-entérologie ou la néphrologie présentent plus de 90% des patients présentant des facteurs de risques. Donc faut-il faire des dépistages à l'entrée et de façon hebdomadaire dans ces services.

Une question pourrait être posée, le seul dépistage à l'entrée d'un patient hospitalisé à l'étranger suffit-il à écarter la colonisation par une BHRe ? Plusieurs arguments vont à l'encontre de cette pratique :

- La technique d'écouvillonnage n'est pas standardisée,
- La sensibilité des tests de laboratoire n'est pas de 100 %,
- Description de patients contact devenus porteur de BHRe après le deuxième voir le troisième dépistage
- L'excrétion de la BHRe au niveau rectal n'est pas constante dans le temps.

Pourquoi dépister 3 fois un patient contact et qu'une seule fois un patient de retour de l'étranger ? Le risque de colonisation est peut-être plus important ou du moins équivalent pour un patient hospitalisé à l'étranger que pour un patient contact.

Sur le CHU, deux patients ont été dépistés porteurs d'ERV sur leur 2<sup>ème</sup> dépistage et un patient sur le 3<sup>ème</sup> dépistage. Cela peut être expliqué de plusieurs façons :

- L'écouvillonnage rectal n'est pas standardisé,
  - Les tests de laboratoire ne présentent pas une sensibilité de 100 %
  - L'excrétion des ERV au niveau rectal n'est pas continue.
- *Prélèvements*

En ce qui concerne les prélèvements environnementaux comme les prélèvements d'endoscopes pour recherche d'ERV, l'utilisation de bouillons spécifiques à ERV est recommandée par le HCSP. Ceci est expliqué par le fait que l'inoculum est beaucoup plus faible que celui présent en portage digestif. L'utilisation de ces bouillons d'enrichissement aurait donc pu être utilisée sur le CHU pendant l'investigation (cette notion est à nuancer, car l'investigation pour les endoscopes a été réalisée 2 mois après les CPRE suspectées).

- *Evaluation de l'activité des désinfectants sur ces souches*

Une évaluation de l'activité des désinfectants pourrait être importante à réaliser, car dans la littérature peu d'étude sont sorties sur le sujet, et notamment sur les souches d'entérocoque résistantes à la vancomycine.

L'une des méthodes se rapprochant le plus des conditions environnementales est la méthode des « porte-germes. Il faut utiliser des cylindres d'acier inoxydable contaminés avec des ERV, et définir des conditions expérimentales se rapprochant le plus possible des conditions d'utilisation. Les cylindres sont ensuite séchés, immergés pendant 10 min ou plus dans le désinfectant à tester, transférés dans un milieu de culture puis incubés pendant deux jours à l'étuve à 30°C. Des concentrations différentes de désinfectants seront utilisées, et ainsi, nous pourrions déterminer la concentration en désinfectant capable de tuer tous les microorganismes dans ces conditions.

- *Identification et comparaison de souche*

Avec l'évolution des techniques, une méthode plus rapide dans l'identification et la comparaison des BMR et notamment des BHRé serait une des améliorations majeures à mettre en place.

Les espèces bactériennes possèdent un spectre de masse différent entre elles, mais très proche pour une espèce. Ces spectres sont enregistrés dans une base de données de l'appareil et l'identification se fait par comparaison avec cette base de données. Il en serait de même pour les bactéries multirésistantes telles que les BHRé, car l'acquisition de résistance supplémentaire crée ou déplace certains pics. L'analyse de ces différents pics pourrait identifier l'espèce de la bactérie, mais en plus le type de résistance. Cette hypothèse est encore à l'étude, difficile à l'heure actuelle de la passer en routine, mais des auteurs ont même réussi grâce à l'utilisation d'un algorithme à distinguer des souches non extraites de *Bactéroïdes fragilis* exprimant un gène de résistance aux carbapénèmes (103)(104).

De plus, la technique d'électrophorèse en champ pulsé reste le « gold standard » (selon les recommandations), mais étant très longue et fastidieuse, une amélioration dans la technique de comparaison de souches serait nécessaire. Car en période d'épidémie, attendre plus d'une semaine pour avoir une idée sur la clonalité des souches est difficilement acceptable. La comparaison de souche pourrait elle aussi être réalisée à l'aide du Maldi tof. Nous pourrions comparer ces souches entre elles grâce au spectre de masse (courbe) généré par le spectromètre de masse comme pour l'identification

bactérienne. Mais ce typage requiert une préparation de l'échantillon (extraction) et une analyse beaucoup plus standardisée que celles utilisées pour le diagnostic d'espèce (105). Plusieurs auteurs retrouvent une concordance entre le MALDI-TOF et l'électrophorèse en champ pulsé dans la comparaison des souches (106)(107) et notamment pour des souches de légionelles (108).

La réalisation d'identification des BMR et la comparaison de souches par Maldi tof seraient un gros avantage, car cette technique est très économique (quelques centimes d'euros sans compter l'investissement initial pour l'appareil) et c'est par ailleurs une technique ultra rapide, l'analyse d'une souche dure en moyenne moins d'une minute. Etant déjà utilisée pour l'identification des souches, un faible investissement serait nécessaire. Le plus gros travail réside dans la faisabilité et le temps nécessaire à la mise en place de ces techniques. De plus, rare sont à l'heure actuelle les études décrivant leurs fiabilités.

- *Communication*

Au niveau international et européen, meilleure coordination en cas de transferts de patients hospitalisés à l'étranger, ainsi que la diffusion d'alertes épidémiques à niveau européen au moins. Cela pourrait éviter grand nombre d'épidémies et notamment celle que l'on a subi sur Toulouse. La création d'un dossier informatisé pourrait être une des solutions.

De plus, le patient index de notre épidémie provenait d'un hôpital de Belgique où une épidémie à ERV était en cours. La comparaison de la souche épidémique belge n'a pas été réalisée avec celle responsable de l'épidémie sur Toulouse. La question peut se poser sur la présence d'un laboratoire de référence européen pour justement comparer ces souches et déterminer l'origine.

## CONCLUSION

Pratiquement un an après, l'épidémie n'est pas totalement terminée. Il persiste encore 188 patients dans la cohorte, contre seulement 146 patients ayant eu 3 dépistages ou étant décédés et donc sortis de cohorte. La gestion d'une épidémie de cette ampleur est donc très compliquée à gérer, et demande beaucoup de moyens humains et matériels. De plus le coût généré par la gestion de cette épidémie est non négligeable pour un hôpital même rapporté à l'ampleur du CHU de Toulouse. En effet, le coût global est estimé à plus d'un million d'euros.

La maîtrise de la diffusion des BHR<sub>e</sub> est un des enjeux majeurs de santé publique pour notre société autant pour le risque écologique, que pour la maîtrise du coût que représente la gestion d'une épidémie. Les épidémies à ERV représentent donc actuellement en France un problème émergent.

Les précautions à appliquer dès l'apparition d'un premier cas sont :

- Respecter rigoureusement les précautions standards,
- Renforcer l'hygiène des mains,
- Améliorer la gestion des excréta,
- Réduire l'utilisation des antibiotiques pour diminuer la pression de sélection
- Identifier les patients à risque d'être porteurs de BHR<sub>e</sub>,
- Patient porteur en PSp<sub>BHR<sub>e</sub></sub> et attribution de personnel dédié ou à défaut, utiliser la « marche en avant »,
- Si présence de patients contact mise en PSp<sub>BHR<sub>e</sub></sub>
- Si risque épidémique avéré :
  - Patients contact en PSp<sub>BHR<sub>e</sub></sub>,
  - Arrêter les transferts des porteurs et des contacts,
  - Dépister les contacts présents et déjà transférés,

- Mise en place de secteurs dédiés un pour les porteurs, un pour les contacts, et un pour les patients indemnes.

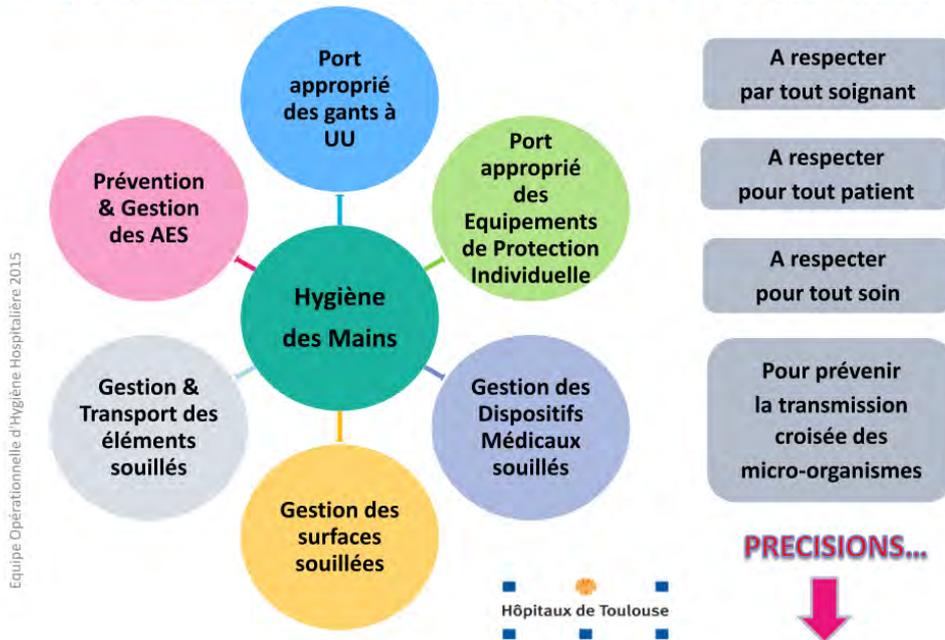
Le risque d'une telle diffusion est de se retrouver rapidement dans une situation épidémique semblable à celle des Etats Unis par exemple. L'application stricte des PS ainsi que l'application rigoureuse des PC ou des  $P_{Sp_{BHR_e}}$  dès l'apparition d'un premier cas dans un établissement devraient permettre d'endiguer le phénomène épidémique.

La rapidité dans la mise en place de ces mesures, est un des facteurs les plus discriminant dans la lutte contre la maîtrise de la transmission croisée et donc dans l'apparition d'épidémies. Plus elles sont prises rapidement, plus le nombre de patients contact se positivant sera faible.

# ANNEXE

Annexe 1 : « Margueritte », Affiche pour les services sur le rappel des précautions standard.

## Connaissez-vous LES 7 PRECAUTIONS STANDARD ?



Hôpitaux de Toulouse

**PS 1 : HYGIENE DES MAINS**  
Friction avec un Produit Hydro Alcoolique  
Ou avec savon doux et eau, puis friction PHA, si mains souillées  
Entre 2 patients  
Entre 2 activités, 2 activités chez un même patient  
Après le retrait des gants

**PS 2 : PORT DE GANTS**  
Si risque de contact avec du sang et/ou des produits biologiques, des muqueuses, une peau lésée, du linge sale, du matériel souillé, des déchets  
Lorsque le soignant présente une peau lésée  
Lors des soins à risque de piqûre ou de coupure  
Entre 2 patients,  
Entre 2 activités, 2 activités chez un même patient

**PS 3 : LE PORT DES EQUIPEMENTS DE PROTECTION INDIVIDUELLE**  
Si risque de projection ou d'aérosolisation de sang et/ou de produits biologiques:  
• Masque chirurgical  
• Lunettes de protection ou masque à visière  
• Surblouse et/ou tablier à Usage Unique  
Si toux: masque chirurgical pour soignant ou patient

**PS 4 : MATÉRIEL SOUILLÉ**  
Eliminer immédiatement après le geste, tout objet piquant, coupant, tranchant à usage unique dans un conteneur adapté, au plus près du soin  
Manipuler avec précaution et traiter le matériel souillé immédiatement après utilisation, selon technique adaptée  
Gestion des excréta en lave bassin

**PS 5 : SURFACE SOUILLÉE : 2 POSSIBILITÉS**  
Soit : Eliminer les souillures, nettoyer avec un détergent, rincer puis désinfecter avec de l'eau de Javel diluée à 0,4% dans l'eau froide  
Soit : Eliminer les souillures, passage Détergent Désinfectant, laisser agir quelques minutes, puis deuxième passage avec Détergent Désinfectant

**PS 6 : TRANSPORT**  
De prélèvements biologiques dans double emballage  
De matériel souillé, linge souillé, déchets,  
Dans des emballages fermés et étanches

**PS 7 : PRÉVENTION ET GESTION DES AES**  
Le port des EPI est systématique en cas de risque de contact, de projection, d'aérosolisation de sang ou de produits biologiques, le matériel adapté et sécurisé est utilisé pour tout soin, la procédure en cas d'AES est connu ou localisable par tout soignant

Réalisation: direction de la communication du CHU de Toulouse  
Impression: centre de reprographie du CHU de Toulouse

## BIBLIOGRAPHIE

1. Structure bactérienne [Internet]. [cité 22 août 2015]. Disponible sur: <http://www.microbiologie-medicale.fr/microbiologie-generale/structure-bacterienne.html>
2. Scheffers D-J, Pinho MG. Bacterial cell wall synthesis: new insights from localization studies. *Microbiol Mol Biol Rev MMBR*. déc 2005;69(4):585-607.
3. Zoeiby A El, Sanschagrín F, Darveau A, Brisson J-R, Levesque RC. Identification of novel inhibitors of *Pseudomonas aeruginosa* MurC enzyme derived from phage-displayed peptide libraries. *J Antimicrob Chemother*. mars 2003;51(3):531-43.
4. van Heijenoort J. Formation of the glycan chains in the synthesis of bacterial peptidoglycan. *Glycobiology*. 1 mars 2001;11(3):25R - 36R.
5. Matsushashi M, Wachi M, Ishino F. Machinery for cell growth and division: penicillin-binding proteins and other proteins. *Res Microbiol*. janv 1990;141(1):89-103.
6. Schleifer KH, Kilpper-Balz R. Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the Genus *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* comb. nov. and *Enterococcus faecium* comb. nov. *Int J Syst Bacteriol*. 1 janv 1984;34(1):31-4.
7. Sherman JM. THE STREPTOCOCCI. *Bacteriol Rev*. déc 1937;1(1):3-97.
8. Köhler W. The present state of species within the genera *Streptococcus* and *Enterococcus*. *Int J Med Microbiol*. juin 2007;297(3):133-50.
9. Ludwig W, Seewaldt E, Kilpper-Bälz R, Schleifer KH, Magrum L, Woese CR, et al. The phylogenetic position of *Streptococcus* and *Enterococcus*. *J Gen Microbiol*. mars 1985;131(3):543-51.
10. Klein G. Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract. *Int J Food Microbiol*. 1 déc 2003;88(2-3):123-31.
11. Gillespie S, Hawkey PM. *Principles and Practice of Clinical Bacteriology*. John Wiley & Sons; 2006. 621 p.
12. Versalovic J, Jorgensen JH, Funke G, Warnock DW, Landry ML, Carroll KC, éditeurs. *Manual of Clinical Microbiology*, 10th Edition [Internet]. American Society of

Microbiology; 2011 [cité 22 août 2015]. Disponible sur:

<http://www.asmscience.org/content/book/10.1128/9781555816728>

13. Sweet RL, Gibbs RS. Infectious Diseases of the Female Genital Tract. Lippincott Williams & Wilkins; 2009. 478 p.
14. Sghir A, Gramet G, Suau A, Rochet V, Pochart P, Dore J. Quantification of Bacterial Groups within Human Fecal Flora by Oligonucleotide Probe Hybridization. *Appl Environ Microbiol.* mai 2000;66(5):2263-6.
15. Wheeler AL, Hartel PG, Godfrey DG, Hill JL, Segars WI. Potential of *Enterococcus faecalis* as a human fecal indicator for microbial source tracking. *J Environ Qual.* août 2002;31(4):1286-93.
16. Kramer A, Schwebke I, Kampf G. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. *BMC Infect Dis.* 16 août 2006;6(1):130.
17. 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.* 20 nov 2008;13(47).
18. Arias CA, Contreras GA, Murray BE. Management of multidrug-resistant enterococcal infections. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis.* juin 2010;16(6):555-62.
19. Hidron AI, Edwards JR, Patel J, Horan TC, Sievert DM, Pollock DA, et al. NHSN annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007. *Infect Control Hosp Epidemiol.* nov 2008;29(11):996-1011.
20. Franz CMAP, Holzapfel WH. The genus *Enterococcus*: biotechnological and safety issues. *Food Sci Technol* 139. 2004;(Ed.3):199-247.
21. Jett BD, Huycke MM, Gilmore MS. Virulence of enterococci. *Clin Microbiol Rev.* oct 1994;7(4):462-78.
22. Eaton TJ, Gasson MJ. Molecular screening of *Enterococcus* virulence determinants and potential for genetic exchange between food and medical isolates. *Appl Environ Microbiol.* avr 2001;67(4):1628-35.
23. LeBlanc D. *Enterococcus*. 2006. 175-204 p.
24. Huycke MM, Spiegel CA, Gilmore MS. Bacteremia caused by hemolytic,

high-level gentamicin-resistant *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob Agents Chemother.* août 1991;35(8):1626-34.

25. Chow JW, Thal LA, Perri MB, Vazquez JA, Donabedian SM, Clewell DB, et al. Plasmid-associated hemolysin and aggregation substance production contribute to virulence in experimental enterococcal endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother.* nov 1993;37(11):2474-7.

26. Fisher K, Phillips C. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiol Read Engl.* juin 2009;155(Pt 6):1749-57.

27. Kayser FH. Safety aspects of enterococci from the medical point of view. *Int J Food Microbiol.* 1 déc 2003;88(2-3):255-62.

28. Del Papa MF, Hancock LE, Thomas VC, Perego M. Full activation of *Enterococcus faecalis* gelatinase by a C-terminal proteolytic cleavage. *J Bacteriol.* déc 2007;189(24):8835-43.

29. Leclercq R, Dutka-Malen S, Duval J, Courvalin P. Vancomycin resistance gene *vanC* is specific to *Enterococcus gallinarum*. *Antimicrob Agents Chemother.* sept 1992;36(9):2005-8.

30. Navarro F, Courvalin P. Analysis of genes encoding D-alanine-D-alanine ligase-related enzymes in *Enterococcus casseliflavus* and *Enterococcus flavescens*. *Antimicrob Agents Chemother.* août 1994;38(8):1788-93.

31. Singh KV, Weinstock GM, Murray BE. An *Enterococcus faecalis* ABC homologue (*Lsa*) is required for the resistance of this species to clindamycin and quinupristin-dalfopristin. *Antimicrob Agents Chemother.* juin 2002;46(6):1845-50.

32. Dressel DC, Tornatore-Reuscher MA, Boschman CR, Stosor V, Zembower T, Postelnick MJ, et al. Synergistic effect of gentamicin plus ampicillin on enterococci with differing sensitivity to gentamicin: a phenotypic assessment of NCCLS guidelines. *Diagn Microbiol Infect Dis.* nov 1999;35(3):219-25.

33. Butcu M, Akcay SS, Inan AS, Aksaray S, Engin DO, Calisici G. In vitro susceptibility of enterococci strains isolated from urine samples to fosfomycin and other antibiotics. *J Infect Chemother.* 2 févr 2011;17(4):575-8.

34. Donskey CJ, Chowdhry TK, Hecker MT, Huyen 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.* 28 déc 2000;343(26):1925-32.

35. Ubeda C, Taur Y, Jenq RR, Equinda MJ, Son T, Samstein M, et al.

Vancomycin-resistant *Enterococcus* domination of intestinal microbiota is enabled by antibiotic treatment in mice and precedes bloodstream invasion in humans. *J Clin Invest.* déc 2010;120(12):4332-41.

36. Brandl K, Plitas G, Mihu CN, Ubeda C, Jia T, Fleisher M, et al. Vancomycin-resistant enterococci exploit antibiotic-induced innate immune deficits. *Nature.* 9 oct 2008;455(7214):804-7.

37. Kinnebrew MA, Ubeda C, Zenewicz LA, Smith N, Flavell RA, Pamer EG. Bacterial flagellin stimulates Toll-like receptor 5-dependent defense against vancomycin-resistant *Enterococcus* infection. *J Infect Dis.* 15 févr 2010;201(4):534-43.

38. Leclercq R, Derlot E, Duval J, Courvalin P. Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. *N Engl J Med.* 21 juill 1988;319(3):157-61.

39. Uttley AH, Collins CH, Naidoo J, George RC. Vancomycin-resistant enterococci. *Lancet Lond Engl.* 2 janv 1988;1(8575-6):57-8.

40. Courvalin P. Vancomycin resistance in gram-positive cocci. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 1 janv 2006;42 Suppl 1:S25-34.

41. Arthur M, Molinas C, Depardieu F, Courvalin P. Characterization of Tn1546, a Tn3-related transposon conferring glycopeptide resistance by synthesis of depsipeptide peptidoglycan precursors in *Enterococcus faecium* BM4147. *J Bacteriol.* janv 1993;175(1):117-27.

42. Martin H, MARIS P. Résistance aux antiseptiques et antibiotiques de 310 souches à Gram-positif isolées de trayons après application de produits de trempage. *Vet Res.* 1995;26(1):43-56.

43. MARIS P. Résistance aux antiseptiques et aux antibiotiques de 700 souches bactériennes à Gram négatif. *Ann Rech Vét.* 1991;22(1):11-23.

44. Izaki K, Takahashi M, Sato Y, Sasagawa Y, Sato K, Furusaka C. Some Properties of Pentachlorophenol-resistant Gram-negative Bacteria. *Agric Biol Chem.* 1981;45(3):765-7.

45. Fox JG, Beaucage CM, Folta CA, Thornton GW. Nosocomial transmission of *Serratia marcescens* in a veterinary hospital due to contamination by benzalkonium chloride. *J Clin Microbiol.* août 1981;14(2):157-60.

46. Stickler DJ, Thomas B. Antiseptic and antibiotic resistance in Gram-negative bacteria causing urinary tract infection. *J Clin Pathol.* mars 1980;33(3):288-96.

47. Van Cuyck-Gandre H, Moulin G, Cenatiempo Y. [Plasmid resistance to antiseptics. Demonstration of methods]. *Pathol Biol (Paris)*. juin 1985;33(5 Pt 2):623-7.
48. Boussougant Y, Witchitz J, Hornstein M, Christol D. [Comparative study of 3 quaternary ammonium salts and phenyl mercury borate on 600 strains of hospital bacteria]. *Pathol Biol (Paris)*. oct 1973;21(8):871-8.
49. Cluzel R, Joly B, Cluzel M, Sirot J. [Determination of the bactericidal activity of an antiseptic by the membrane filtration method]. *Pathol Biol (Paris)*. oct 1973;21(8):861-9.
50. Inoue Y, Hagi A, Nii T, Tsubotani Y, Nakata H, Iwata K. Novel antiseptic compound OPB-2045G shows potent bactericidal activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococcus* both in vitro and in vivo: a pilot study in animals. *J Med Microbiol*. 1 janv 2015;64(Pt\_1):32-6.
51. Antibiotic Resistance Threats in the United States. Centers for Disease Control and Prevention; 2013.
52. Karlowsky JA, Jones ME, Draghi DC, Thornsberry C, Sahm DF, Volturo GA. Prevalence and antimicrobial susceptibilities of bacteria isolated from blood cultures of hospitalized patients in the United States in 2002. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 10 mai 2004;3:7.
53. Recommendations for preventing the spread of vancomycin resistance. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. *Emerg Infect Dis*. juin 1995;1(2):66.
54. Yang K-S, Fong Y-T, Lee H-Y, Kurup A, Koh T-H, Koh D, et al. Predictors of vancomycin-resistant enterococcus (VRE) carriage in the first major VRE outbreak in Singapore. *Ann Acad Med Singapore*. juin 2007;36(6):379-83.
55. Biedenbach DJ, Moet GJ, Jones RN. Occurrence and antimicrobial resistance pattern comparisons among bloodstream infection isolates from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2002). *Diagn Microbiol Infect Dis*. sept 2004;50(1):59-69.
56. Poujol I, Thiolet J, Bernet C, Carbonne A, Dumartin C, Sénéchal H. Signalements externes des infections nosocomiales, France, 2007-2009. *Bull Epidemiol Hebd*. 2010;393(7):38-9.
57. Thiolet J, Poujol I, Vaux S, Alleaume S, Coignard B. Le signalement des infections nosocomiales : un outil pour la détection et le suivi des infections émergentes

en établissements de santé en France. Bull Epidemiol Hebd. 2011;193-7.

58. HCSP. Prévention de la transmission croisée des « Bactéries Hautement Résistantes aux antibiotiques émergentes » (BHRe) [Internet]. Paris: Haut Conseil de la Santé Publique; 2013 juill [cité 16 août 2015]. Disponible sur:

<http://www.hcsp.fr/Explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=372>

59. PROPIAS. Programme national d'actions de prévention des infections associées aux soins [Internet]. Direction générale de l'offre de soins (DGOS); 2015. Disponible sur: [www.sante.gouv.fr](http://www.sante.gouv.fr)

60. Fournier S, Monteil C, Brun-Buisson C, Richard C, Jarlier V. Maitrise de la diffusion des entérobactéries productrices de carbapénèmase dans les hôpitaux de l'AP-HP : 9 ans d'expérience. Congrès présenté à; 2013; SFHH Société Française d'Hygiène Hospitalière.

61. SFHH. Prévention de la transmission croisée : précautions complémentaires contact [Internet]. Société Française d'Hygiène Hospitalière; 2009. Disponible sur: [www.sf2h.net](http://www.sf2h.net)

62. Tenorio AR, Badri SM, Sahgal NB, Hota B, Matushek M, Hayden MK, et al. Effectiveness of gloves in the prevention of hand carriage of vancomycin-resistant enterococcus species by health care workers after patient care. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 1 mars 2001;32(5):826-9.

63. Ray AJ, Hoyen CK, Taub TF, Eckstein EC, Donskey CJ. Nosocomial transmission of vancomycin-resistant enterococci from surfaces. JAMA. 20 mars 2002;287(11):1400-1.

64. Boyce JM. Environmental contamination makes an important contribution to hospital infection. J Hosp Infect. 1 juin 2007;65:50-4.

65. Bhalla A, Pultz NJ, Gries DM, Ray AJ, Eckstein EC, Aron DC, et al. Acquisition of nosocomial pathogens on hands after contact with environmental surfaces near hospitalized patients. Infect Control Hosp Epidemiol. févr 2004;25(2):164-7.

66. Gary A, Noskin VS. Recovery of Vancomycin-Resistant Enterococci on Fingertips and Environmental Surfaces. Infect Control Hosp Epidemiol Off J Soc Hosp Epidemiol Am. 1995;16(10):577-81.

67. Wagenvoort JHT, De Brauwier EIGB, Penders RJR, Willems RJ, Top J, Bonten MJ. Environmental survival of vancomycin-resistant Enterococcus faecium. J Hosp Infect. mars 2011;77(3):282-3.

68. 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.* mai 2003;24(5):362-86.
69. Hamel M, Zoutman D, O'Callaghan C. Exposure to hospital roommates as a risk factor for health care-associated infection. *Am J Infect Control.* avr 2010;38(3):173-81.
70. Huang SS, Datta R, Rifas-Shiman S, Kleinman K, Placzek H, Lankiewicz JD, et al. Colonization with antibiotic-susceptible strains protects against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* but not vancomycin-resistant enterococci acquisition: a nested case-control study. *Crit Care Lond Engl.* 2011;15(5):R210.
71. Martínez JA, Ruthazer R, Hansjosten K, Barefoot L, Snyderman DR. Role of environmental contamination as a risk factor for acquisition of vancomycin-resistant enterococci in patients treated in a medical intensive care unit. *Arch Intern Med.* 8 sept 2003;163(16):1905-12.
72. Perry C, Marshall R, Jones E. Bacterial contamination of uniforms. *J Hosp Infect.* juill 2001;48(3):238-41.
73. Puzniak LA, Leet T, Mayfield J, Kollef M, Mundy LM. To gown or not to gown: the effect on acquisition of vancomycin-resistant enterococci. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 1 juill 2002;35(1):18-25.
74. Trick WE, Temple RS, Chen D, Wright MO, Solomon SL, Peterson LR. Patient colonization and environmental contamination by vancomycin-resistant enterococci in a rehabilitation facility. *Arch Phys Med Rehabil.* juill 2002;83(7):899-902.
75. Montecalvo MA, Jarvis WR, Uman J, Shay DK, Petrullo C, Horowitz HW, et al. Costs and savings associated with infection control measures that reduced transmission of vancomycin-resistant enterococci in an endemic setting. *Infect Control Hosp Epidemiol.* juill 2001;22(7):437-42.
76. DeLisle S, Perl TM. Vancomycin-resistant enterococci: a road map on how to prevent the emergence and transmission of antimicrobial resistance. *Chest.* mai 2003;123(5 Suppl):504S - 18S.
77. Trillis F, Eckstein EC, Budavich R, Pultz MJ, Donskey CJ. Contamination of hospital curtains with healthcare-associated pathogens. *Infect Control Hosp Epidemiol.* nov 2008;29(11):1074-6.

78. Livornese LL, Dias S, Samel C, Romanowski B, Taylor S, May P, et al. Hospital-acquired infection with vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* transmitted by electronic thermometers. *Ann Intern Med.* 15 juill 1992;117(2):112-6.
79. 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.
80. Byers KE, Durbin LJ, Simonton BM, Anglim AM, Adal KA, Farr BM. Disinfection of hospital rooms contaminated with vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *Infect Control Hosp Epidemiol.* avr 1998;19(4):261-4.
81. Smith TL, Iwen PC, Olson SB, Rupp ME. Environmental contamination with vancomycin-resistant enterococci in an outpatient setting. *Infect Control Hosp Epidemiol.* juill 1998;19(7):515-8.
82. SFHH. Surveiller et prévenir les infections associées aux soins [Internet]. Société Française d'Hygiène Hospitalière; 2010. Disponible sur: [www.sf2h.net](http://www.sf2h.net)
83. Agodi A, Voulgari E, Barchitta M, Politi L, Koumaki V, Spanakis N, et al. Containment of an Outbreak of KPC-3-Producing *Klebsiella pneumoniae* in Italy. *J Clin Microbiol.* 1 nov 2011;49(11):3986-9.
84. 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.* juill 2011;32(7):673-8.
85. 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.* 18 nov 2010;15(46).
86. Christiansen KJ, Tibbett PA, Beresford W, Pearman JW, Lee RC, Coombs GW, et al. Eradication of a large outbreak of a single strain of vanB vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* at a major Australian teaching hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol.* mai 2004;25(5):384-90.
87. Akova M, Daikos GL, Tzouveleki L, Carmeli Y. Interventional strategies and current clinical experience with carbapenemase-producing Gram-negative bacteria. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis.* mai 2012;18(5):439-48.

88. Kochar S, Sheard T, Sharma R, Hui A, Tolentino E, Allen G, et al. Success of an infection control program to reduce the spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Infect Control Hosp Epidemiol*. mai 2009;30(5):447-52.
89. Ridwan B, Mascini E, van der Reijden N, Verhoef J, Bonten M. What action should be taken to prevent spread of vancomycin resistant enterococci in European hospitals? *BMJ*. 16 mars 2002;324(7338):666-8.
90. Kurup A, Chlebicki MP, Ling ML, Koh TH, Tan KY, Lee LC, et al. Control of a hospital-wide vancomycin-resistant *Enterococci* outbreak. *Am J Infect Control*. avr 2008;36(3):206-11.
91. Fournier S, Brossier F, Fortineau N, Gillaizeau F, Akpabie A, Aubry A, et al. Long-term control of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* at the scale of a large multihospital institution: a seven-year experience. *Euro Surveill Bull Eur Sur Mal Transm Eur Commun Dis Bull*. 26 juill 2012;17(30).
92. 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*. 1 avr 2011;52(7):848-55.
93. Dahms R, Carlson M, Lohr B, Beilman G. Selective digestive tract decontamination and vancomycin-resistant enterococcus isolation in the surgical intensive care unit. *Shock Augusta Ga*. sept 2000;14(3):343-6.
94. Gendrin V, Hénard S, Petitfrère M, May T, Rabaud C. Efficacité et risques inhérents à la décolonisation digestive par streptomycine orale chez les porteurs d'entérocoques résistants aux glycopeptides. *Médecine Mal Infect*. oct 2011;41(10):563-4.
95. Armstrong-Evans M, Litt M, McArthur MA, Willey B, Cann D, Liska S, et al. Control of transmission of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in a long-term-care facility. *Infect Control Hosp Epidemiol*. mai 1999;20(5):312-7.
96. O'Donovan CA, Fan-Havard P, Tecson-Tumang FT, Smith SM, Eng RH. Enteric eradication of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* with oral bacitracin. *Diagn Microbiol Infect Dis*. févr 1994;18(2):105-9.
97. Friães A, Resina C, Manuel V, Lito L, Ramirez M, Melo-Cristino J. Epidemiological survey of the first case of vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in Europe. *Epidemiol Infect*. mars 2015;143(4):745-8.

98. Rossi F, Diaz L, Wollam A, Panesso D, Zhou Y, Rincon S, et al. Transferable Vancomycin Resistance in a Community-Associated MRSA Lineage. *N Engl J Med.* avril 2014;370(16):1524-31.
99. Circulaire DHOS\E2 - DGS\SD5C. Circulaire DHOS\E2 - DGS\SD5C N° 21 du 22 janvier 2004 relative au signalement des infections nosocomiales et à l'information des patients dans les établissements de santé. [Internet]. 2004. Disponible sur: <http://www.sante.gouv.fr/fichiers/bo/2004/04-06/a0060429.htm>
100. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol.* sept 1995;33(9):2233-9.
101. Hendrickx APA, Bonten MJM, van Luit-Asbroek M, Schapendonk CME, Kragten AHM, Willems RJL. Expression of two distinct types of pili by a hospital-acquired *Enterococcus faecium* isolate. *Microbiol Read Engl.* oct 2008;154(Pt 10):3212-23.
102. Werner G, Fleige C, Geringer U, van Schaik W, Klare I, Witte W. IS element IS16 as a molecular screening tool to identify hospital-associated strains of *Enterococcus faecium*. *BMC Infect Dis.* 2011;11:80.
103. Nagy E, Becker S, Sóki J, Urbán E, Kostrzewa M. Differentiation of division I (cfiA-negative) and division II (cfiA-positive) *Bacteroides fragilis* strains by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *J Med Microbiol.* nov 2011;60(Pt 11):1584-90.
104. Wybo I, Bel AD, Soetens O, Echahidi F, Vandoorslaer K, Cauwenbergh MV, et al. Differentiation of cfiA-Negative and cfiA-Positive *Bacteroides fragilis* Isolates by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry. *J Clin Microbiol.* 1 mai 2011;49(5):1961-4.
105. Murray PR. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry: usefulness for taxonomy and epidemiology. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis.* nov 2010;16(11):1626-30.
106. Arnold RJ, Karty JA, Reilly JP. Bacterial Strain Differentiation by Mass Spectrometry. In: Wilkins CL, Jr JOL, éditeurs. *Identification of Microorganisms by Mass Spectrometry* [Internet]. John Wiley & Sons, Inc.; 2005 [cité 22 août 2015]. p. 181-201. Disponible sur:

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/0471748641.ch9/summary>

107. Jackson KA, Edwards-Jones V, Sutton CW, Fox AJ. Optimisation of intact cell MALDI method for fingerprinting of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Microbiol Methods*. sept 2005;62(3):273-84.

108. Fujinami Y, Kikkawa HS, Kurosaki Y, Sakurada K, Yoshino M, Yasuda J. Rapid discrimination of *Legionella* by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Microbiol Res*. 20 févr 2011;166(2):77-86.

---

## **Entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) : De grandes épidémies vers une gestion en routine.**

### **Résumé**

La diffusion de bactéries multi-résistantes (BMR) est un enjeu majeur de santé publique en France, en Europe et dans le monde. Parmi ces BMR, les bactéries hautement résistantes aux antibiotiques émergentes (BHRe) font partie des bactéries les plus surveillées de nos jours. Dans les BHRe, nous trouvons les entérocoques résistants aux glycopeptides (ERG) et les entérobactéries productrices de carbapénémase (EPC). Le Haut Conseil de la santé publique (HCSP) a publié un guide sur les recommandations de prise en charge des BHRe. L'objet principal de ce travail a été d'évaluer les mesures mises en place pendant une épidémie à *Enterococcus faecium* résistant à la vancomycine (ERV) sur le CHU de Toulouse. Nous avons fait un état des lieux sur les recommandations du HCSP et discuté de l'adaptation que l'équipe opérationnelle d'hygiène en a faite. Nous présentons le rôle et les résultats du laboratoire de bactériologie/Hygiène dans l'identification et la comparaison des isolats d'ERV.

---

## **Vancomycin-resistant enterococci (VRE): From large outbreaks to a routine management.**

### **Abstract**

The spread of multi-resistant bacteria (BMR) is a major public health issue in France, Europe and worldwide. Among these BMR, highly resistant to antibiotics emerging bacteria (BHRe) are part of the actually monitored bacteria. BHRe include the glycopeptide-resistant enterococci (ERG) and the carbapenemase producing enterobacteria (EPC). The High Council for Public Health (HCSP) has published a guide about the recommendations concerning management of the BHRe. The main purpose of this work was to evaluate the implemented measures during an outbreak of Vancomycin Resistant *Enterococcus faecium* (VRE) in the Toulouse University Hospital.

We examine the choice of measures adopted by the medical hygiene service in comparison with the HCSP recommendations. We present the role and the results of the our bacteriology-hygiene laboratory in the identification and comparison of the ERV isolates.

---

**Discipline administrative : Pharmacie.**

---

**MOTS-CLES :** Bactérie – Résistance – Hygiène - Entérobactérie – Carbapénémase – BHRe– ERV – EOH – Glycopeptides – ERG – Vancomycine – ERV - Haut Conseil de la santé publique – EPC – *vanA* – *Enterococcus faecium*.

---

**UNIVERSITE PAUL SABATIER TOULOUSE III - Faculté des Sciences Pharmaceutiques**  
**31062 TOULOUSE cedex 09 – France.**

**Directeur de thèse : Pr ROQUES-CESCHIN Christine**