

*ÉCOLE DOCTORALE
DES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTÉ*

EA7290 Virulence Bactérienne Précoce

THÈSE

présentée par :

Thierry LAVIGNE

soutenue le : 22 Décembre 2016

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'Université de Strasbourg**

Discipline / Spécialité : Vie et Santé / Aspects Moléculaires et Cellulaires de la Biologie

**Surveillance des infections nosocomiales en
réanimation : intérêt d'une approche multimodale
clinico-biologique et étude d'impact**

THÈSE dirigée par :

**Mr PREVOST Gilles
Mr MEZIANI Ferhat**

MCU-PH, Université de Strasbourg
PU-PH, Université de Strasbourg

RAPPORTEURS :

**Mr ZAHAR Jean-Ralph
Mr LEPELLETIER Didier**

PU-PH, Université de Paris
PU-PH, Université de Nantes

AUTRES MEMBRES DU JURY :

**Mr SAULEAU Erik-André
Mr BOLLAERT Pierre-Edouard**

PU-PH, Université de Strasbourg
PU-PH, Université de Lorraine

***Half of the medicine today is wrong
but we don't know which half ...***

New York Times

March 16, 2003

Remerciements

Mes remerciements s'adressent en premier lieu aux membres du jury qui me font l'honneur d'évaluer mon travail.

Particulièrement à mes directeurs :

Au Pr Ferhat MEZIANI qui déjà bien avant cette thèse m'a toujours soutenu et aidé, et en témoignage de mon amitié.

Au Dr Gilles PREVOST pour m'avoir accordé sa confiance, pour sa patience et son accueil bienveillant au sein de l'équipe EA7290. Avec toute ma gratitude.

Aux Prs Jean-Ralph ZAHAR et Didier LEPELLETIER qui m'ont fait l'honneur d'être rapporteurs de ce travail, pour votre disponibilité et en témoignage de mon profond respect. En espérant pouvoir collaborer avec vous sur de passionnants sujets !

Aux Prs Erik-André SAULEAU et Pierre-Edouard BOLLAERT qui m'ont fait l'honneur d'être examinateurs de cette thèse. Avec tout mon respect.

Je tiens aussi à remercier tout particulièrement :

L'ensemble de l'équipe opérationnelle d'hygiène du CHU de Strasbourg pour avoir tous largement contribué à l'aboutissement de ce travail ; Noëlle pour sa patience et plus particulièrement ... La *dream team* ... pour une dernière ligne droite mémorable : Stéphanie, Joris, Laure, Céline & Céline, Dominique, Béatrice ... chacun à sa manière et pour ses compétences !

Mes parents, ma famille et mes amis Ian, Malika, Dominique, Harry-Paul, qui savent redonner à chaque chose son importance, pour leur présence et leurs encouragements. Dédicace toute particulière à Evelyne pour sa disponibilité, sa patience et son aide précieuse.

Merci à Daniel, à Mira et à Wardi, pour votre importante contribution et à tous les collègues de l'équipe de recherche. Merci à Dyane et au Pr Michel Velten pour avoir été avec moi au démarrage de ce projet.

Merci aux collègues du service de Santé publique des HUS pour leur assistance : François & François, Mickaël, Pierre, Jérémie,...

Merci à toute l'équipe de Réanimation médicale de l'Hôpital de Hautepierre !

Table des matières

Remerciements	3
Table des matières	4
Liste des tableaux.....	6
Liste des figures	8
Liste des annexes.....	10
Liste des abréviations.....	11
INTRODUCTION	13
I. Les infections nosocomiales.....	14
A. Emergence des infections nosocomiales et prise de conscience des transmissions croisées	14
B. Définitions	15
C. Facteurs de risque des IAS.....	17
D. Epidémiologie des infections nosocomiales en France	22
II. Les bactéries multi-résistantes aux antibiotiques (BMR)	27
A. Définitions	27
B. Multi-résistance et virulence	29
C. Conséquences de la multi-résistance	29
III. La surveillance des infections nosocomiales.....	31
A. Surveillance : définition et objectifs.....	31
B. Méthodes	32
C. Organisation française de la surveillance des maladies infectieuses.....	33
D. La surveillance des infections nosocomiales est-elle obligatoire en France ?	35
E. Contexte réglementaire particulier et recommandations portant sur la surveillance des IN en réanimation	39
F. Surveillance épidémiologique des infections acquises en réanimation.....	40
IV. Problématiques de recherche.....	46
V. Approches expérimentales.....	49
A. Mesure d'impact des infections acquises en réanimation	49
B. Etude microbiologique des phénomènes épidémiques.....	51

PREMIERE PARTIE : EXPLOITATION DES DONNEES DE SURVEILLANCE	54
I. Etude de l'impact des infections acquises en réanimation sur la mortalité et la durée de séjour.....	55
A. Introduction	55
a) Démarche scientifique	55
b) Analyse statistique.....	57
B. Article (<i>Article en cours de préparation, non encore soumis</i>)	59
II. Epidémiologie des infections acquises en réanimation : étude sur 11 ans de suivi	76
A. Introduction	76
B. Article (<i>Article en cours de préparation, non encore soumis</i>)	77
DEUXIEME PARTIE : DETECTION D'UNE EPIDEMIE PAR LA SURVEILLANCE	
EPIDEMIOLOGIQUE DES BACTERIES MULTI-RESISTANTES EN REANIMATION	102
Surveillance épidémiologique de <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline en réanimation adulte : étude de la détectabilité des épidémies.	103
CONCLUSIONS	130
I. Conclusion.....	131
II. Perspectives.....	131
BIBLIOGRAPHIE	133
ANNEXE	148

Liste des tableaux

Tableau 1	Facteurs de risques d'acquisition d'une infection nosocomiale liés à l'hôte	19
Tableau 2	Facteurs de risques d'acquisition d'une infection nosocomiale liés à l'environnement	20
Tableau 3	Facteurs de risques d'acquisition d'une infection nosocomiale liés au soin	21
Tableau 4	Données nationale et tendances 2004-2014 du réseau REA RAISIN	25
Art.1. Tableau 1	Patients' characteristics	71
Art.1. Tableau 2	HR until death or discharge alive from hospital and extended length of stay in the hospital for each ICU-AI type	72
Art.1. Tableau 3	Subgroup analysis of crude and estimates from multi-state model of extended length of stay until hospital discharge	73
Art.2. Tableau 1	Description des séjours en réanimation (variables quantitatives)	85
Art.2. Tableau 2	Description des séjours en réanimation (variables qualitatives)	86
Art.2. Tableau 3	Comparaison des patients avec et sans pneumopathies acquises en réanimation	89
Art.2. Tableau 4	Comparaison des patients avec et sans infections urinaires acquises en réanimation	90
Art.2. Tableau 5	Comparaison des patients avec et sans BLC acquises en réanimation	91
Art.2. Tableau 6	Analyse de survie (analyse univariée)	93-94
Art.2. Tableau 7	Modèle multivarié à risques proportionnels de Cox	94
Tableau 5	Liste des amorces utilisées pour la PCR à la recherche de gènes de facteurs de virulence membranaires	110
Tableau 6	Répartition de la présence de gènes de virulence membranaires de <i>S. aureus</i>	118

Tableau 7	Hiérarchisation des souches de <i>S. aureus</i> selon leur similarité (procédé Diversilab®). A droite du tableau, équivalent de pseudogel. A gauche du tableau, les regroupements de pattern en grand groupe de souches génétiquement très proches	122
Tableau 8	Situations de transmissions croisées identifiées à l'aide de l'analyse Diversilab®	125
Tableau 9	Comparaison des différentes techniques de typage de <i>S. aureus</i>	128

Liste des figures

Figure 1	Distribution des principaux sites infectieux. ENP, France, juin 2012	23
Figure 2	Evolution des incidences des infections acquises en réanimation, par site infectieux. Données REA RAISIN 2004-2014	26
Figure 3	Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques	28
Figure 4	Evolution du taux d'incidence des pneumopathies acquises sous ventilation mécanique de 2 services de réanimation, de 2004 à 2010, des Hospices Civils de Lyon	41
Figure 5	Sensibilité et spécificité à faire le diagnostic correct d'IN de la part de 189 responsables locaux de surveillance des infections acquises en réanimation (Réseau KISS, Allemagne, 2015)	42
Figure 6	Modèle en 4 états	50
Art. 1. Figure 1	Multistate model used to determine length of stay	74
Art. 1. Figure 2	Excess length of stay in intensive-care units related to different type of HAI	75
Art. 2. Figure 1	Construction de la base de données de l'étude	84
Art. 2. Figure 2	Incidence des infections acquises en réanimation de 2004 à 2014 (pour 1000 journées d'hospitalisation en réanimation)	88
Art. 2. Figure 3	Critères diagnostic des pneumopathies acquises en réanimation	89
Art. 2. Figure 4	Incidence de différentes infections acquises en réanimation de 2004 à 2014 par rapport au nombre de jours d'exposition au dispositif invasif concerné	91
Art. 2. Figure 5	Nombres d'infections observées (en noir) et nombres prédits par le modèle (en rouge)	97
Art. 2. Figure 6	Evolution des taux d'incidence de 2004 à 2014 sur l'ensemble du réseau national REA RAISIN	99
Figure 7	Evolution des densités d'incidence des SARM et EBLSE pour 1000 journées d'hospitalisation en France. Réseau BMR RAISIN	103

Figure 8	Principes de la technique de typage Diversilab® (notice d'utilisation)	111
Figure 9	Exemple d'analyse de similarité de plusieurs souches : à gauche le dendrogramme, au milieu un pseudogel, à droite la matrice de similarité	114
Figure 10	Exemple de superposition de graphiques	114
Figure 11	Exemple de superposition parfaite de deux graphiques (similarité 99,6%) : souches non différenciables	115
Figure 12	Exemple de superposition de deux graphiques avec seulement une différence (similarité 96,9%) : souches similaires	115
Figure 13	Exemple de superposition de deux graphiques avec plusieurs pics de différence (similarité : 75,6%) : souches différentes	116
Figure 14	Dendrogramme de hiérarchisation des souches de <i>S. aureus</i> selon la présence de toxines ou de gènes de virulence membranaires (analyse en correspondances multiples). 7 clusters sont identifiés	119
Figure 15	Représentation en trois dimensions du dendrogramme de hiérarchisation des souches de <i>S. aureus</i> selon la présence de toxines ou de gènes de virulence membranaires (analyse en correspondance multiple)	120
Figure 16	Rapport d'analyse de la plateforme Diversilab®	123
Figure 17	Représentation graphique des différents patterns obtenus par la méthode Diversilab®	124

Liste des annexes

Annexe 1	Définitions des IAS par site anatomique	149
----------	---	-----

Liste des abréviations

ABREVIATIONS	INTITULES
ACM	Analyse des Correspondances Multiples
ARS	Agence Régionale de Santé
ATB	Antibiotique
BHR	Bactérie Hautement Résistante aux antibiotiques
BLC	Bactériémie Liée au Cathéter
BMR	Bactérie Multi-Résistante
BTR	Bactérie Toto-ou pan-Résistante aux antibiotiques
CCLIN	Centre de Coordination de la Lutte contre les Infections Nosocomiales
CHU	Centre Hospitalier Universitaire
CLIN	Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales
CMD	Catégorie Majeure de Diagnostic
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
CNIL	Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés
CNR	Centre National de Référence
CTIN	Comité Technique National des Infections Nosocomiales
CTINILS	Comité Technique National des Infections Nosocomiales et des Infections Liées aux Soins
CVC	Cathéters Veineux Centraux
EBLSE	Entérobactérie productrice d'une Béta-Lactamase à Spectre Etendue
EOH	Equipe Opérationnelle d'Hygiène
EPRUS	Etablissement Public de Réponse à l'Urgence Sanitaire
EARS Net	European Antimicrobial Resistance Surveillance Network
GHM	Groupes Homogènes de Malades
GROG	Groupes Régionaux d'Observation de la Grippe
HUS	Hôpitaux Universitaires de Strasbourg
IAR	Infection Acquise en Réanimation
IAS	Infection Associée aux Soins
IN	Infection Nosocomiale
INPES	Institut National de Prévention et d'Education à la Santé
INVS	Institut National de Veille Sanitaire
IU	Infection Urinaire
KL	Kullback-Leibler
MCJ	Maladie de Creutzfeldt-Jakob
NEOCAT	Réseau de Surveillance des Cathéters Centraux en Néonatalogie
ONERBA	Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques
PCR	Polymerase Chain Reaction
PDP	Prélèvement Distal Protégé
PMSI	Programme de Médicalisation des Systèmes d'Information
PN	Pneumopathie

PROPIAS	Programme National d'Actions de Prévention des Infections Associées aux Soins
RAISIN	Réseau d'Alerte, d'Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales
RN-MCJ	Réseau National de Surveillance de la Maladie de Creutzfeldt-Jakob
SARM	<i>Staphylococcus Aureus</i> Résistant à la Méricilline
SASM	<i>Staphylococcus Aureus</i> Sensible à la Méricilline
SFAR	Société Française d'Anesthésie et de Réanimation
SRLF	Société de Réanimation de Langue Française
VAC	Appareil de traitement à pression négative continue

INTRODUCTION

I. Les infections nosocomiales

A. Emergence des infections nosocomiales et prise de conscience des transmissions croisées

Au 19^{ème} siècle, alors que la fièvre puerpérale et surtout les infections postopératoires étaient malheureusement le quotidien des hôpitaux et dispensaires, les épidémies provenaient d'une méconnaissance des principes de la transmission croisée.

En 1795, Alexander Gordon d'Aberdeen suggéra en premier que les fièvres puerpérales étaient le résultat de processus infectieux transmissibles (par l'air ...) (1), mais il se heurta à l'incompréhension de ses confrères.

Un demi-siècle plus tard, les observations d'I. P. Semmelweis (2) confirmèrent cette hypothèse. En effet, c'est en 1847 que la mort du Dr Jakob Kolletschka, professeur d'anatomie et ami de Semmelweis, fait comprendre à ce dernier le rôle des mains dans cette transmission : Kolletschka meurt d'une infection après s'être blessé accidentellement au doigt avec un scalpel au cours de la dissection d'un cadavre. Son autopsie révèle des constatations identiques à celles des femmes mortes de fièvre puerpérale. Semmelweis fait le rapprochement entre une possible contamination des mains lors d'autopsies de cadavres et la fièvre puerpérale survenue chez des parturientes pris en charge par des étudiants en médecine. L'étude des statistiques de mortalité des deux cliniques obstétriques de l'Hôpital général de Vienne où il travaille est édifiante. Il en arrive à la conclusion que c'était lui et ses étudiants qui apportaient sur leurs mains les particules de contamination aux patientes qu'ils soignent dans la première clinique, depuis la salle d'autopsie. La théorie des maladies microbiennes n'est pas encore connue. C'est pourquoi Semmelweis conclut que c'est une substance cadavérique inconnue qui provoque la fièvre puerpérale. Il prescrit, en mai 1847, l'utilisation d'une solution d'hypochlorite de calcium pour le lavage des mains après le

travail en salle d'autopsie et avant l'examen des patientes ; le taux de mortalité chute alors de 12 % à 2,4 %, soit un taux comparable à celui de la deuxième clinique (2).

Il faudra attendre 1893 pour que les principales mesures de prévention des infections nosocomiales (asepsie de la peau, traitement du matériel, désinfection des mains, isolement des malades contagieux, ...) soient colligées pour la première fois en France dans une encyclopédie « Hygiène et Médecine publique » (3). Cela implique qu'à partir de cette période, alors que l'hôpital va progressivement se moderniser, les infections hospitalières surviennent alors que l'on disposait des connaissances scientifiques et de moyens techniques pour en éviter un certain nombre. Le développement de l'antibiothérapie rend ces infections curables ; elles ne sont plus préoccupantes. Après les années 1950, on assiste à une baisse incroyable des maladies transmissibles en France. Mais cette réduction se fait surtout aux dépens des infections communautaires.

A l'hôpital, les énormes progrès de la médecine vont masquer le développement du risque infectieux hospitalier.

B. Définitions

Une première définition de l'infection nosocomiale est énoncée dans la circulaire ministérielle n°263 du 13 octobre 1988 (4) relative à l'organisation de la surveillance et de la prévention des infections nosocomiales.

« Par infection nosocomiale, on entend :

- *toute maladie provoquée par un micro-organisme,*
- *contractée dans un établissement de soins par tout patient après son admission, soit pour une hospitalisation, soit pour y recevoir des soins ambulatoires,*
- *que les symptômes apparaissent lors du séjour à l'hôpital ou après,*
- *que l'infection soit reconnaissable aux plans clinique ou microbiologique, données sérologiques comprises, ou encore les deux à la fois.*

Ces caractéristiques concernent également les personnels hospitaliers en raison de leurs activités ».

Cette circulaire a été remplacée par une autre circulaire du 29 décembre 2000 du Ministère de l'emploi et de la solidarité, prise en application de la loi du 1er juillet 1998 relative « au renforcement de la veille sanitaire et au contrôle de la sécurité sanitaire des produits destinés à l'homme », laquelle met à la charge des établissements de santé publics et privés l'obligation d'organiser en leur sein la lutte contre les infections nosocomiales et autres affections iatrogènes (article L. 6111-1 CSP), ainsi que du décret du 6 décembre 1999 lequel organise les modalités de cette lutte menée par un comité de lutte contre les infections nosocomiales dans chaque établissement. Aux termes de cette circulaire « les infections nosocomiales sont des infections contractées (uniquement) dans un établissement de santé » (5).

Le Comité Technique national des Infections Nosocomiales (CTIN), devenu Comité Technique national des Infections Nosocomiales et des Infections Liées aux Soins (CTINILS) en 2004, élabore en mai 2007 de nouvelles définitions considérant les définitions de 1999 non satisfaisantes au vu de la multiplication des parcours de soins, des intervenants dans la dispensation des soins, de la diversification des structures et des systèmes de soins, et de la survenue parfois tardive de l'infection après une chirurgie, en particulier avec prothèses implantées (6).

On voit ainsi apparaître la notion d'infection associée aux soins (IAS) qui est définie comme suit :

« Une infection est dite associée aux soins si elle survient au cours ou au décours d'une prise en charge (diagnostique, thérapeutique, palliative, préventive ou éducative) d'un patient, et, si elle n'était ni présente ni en incubation au début de la prise en charge.

Lorsque l'état infectieux au début de la prise en charge n'est pas connu précisément, un délai d'au moins 48 heures ou un délai supérieur à la période d'incubation est couramment accepté pour définir une IAS. Toutefois, il est recommandé d'apprécier dans chaque cas la plausibilité de l'association entre la prise en charge et l'infection.

Pour les infections du site opératoire, on considère habituellement comme associées aux soins les infections survenant dans les 30 jours suivant l'intervention ou, s'il y a mise en place d'un implant, d'une prothèse ou d'un matériel prothétique dans l'année qui suit l'intervention. Toutefois, et quel que soit le délai de survenue, il est recommandé d'apprécier dans chaque cas la plausibilité de l'association entre l'intervention et l'infection, notamment en prenant en compte le type de germe en cause » (6).

Cette définition générale est déclinée en définition par sites anatomiques : les pneumopathies, les infections urinaires, les bactériémies, les infections du site opératoire, les infections liées aux cathéters (voir annexe 1).

C. Facteurs de risque des IAS

Il y a quatre familles de facteurs de risque des IAS. Elles vont jouer un rôle variable selon chaque type d'infection, mais seront toujours présentes. Ces familles ont été rappelées lors de l'actualisation de la définition des infections nosocomiales par le CTINILS en 2007 (7).

Ces familles sont :

- les facteurs liés à l'hôte, au patient (voir tableau 1),
- les facteurs liés à l'agent pathogène en cause. Ces facteurs sont relativement peu spécifiques d'un type d'infection acquise en réanimation. On trouve dans la littérature les notions de virulence (8,9) du pathogène incriminé, sa multi-résistance aux antibiotiques et sa résistance à certains antiseptiques (10). Vont intervenir également la taille de l'inoculum microbien auquel le patient est exposé et la notion de survie du micro-organisme dans l'environnement du patient source permettant des transmissions croisées vers d'autres patients (11),
- les facteurs liés à l'environnement (voir tableau 2),
- les facteurs liés aux soins pratiqués (voir tableau 3).

Il est important de connaître ces facteurs de risques pour pouvoir étudier ces infections, les investiguer lorsqu'elles surviennent, stopper d'éventuels phénomènes épidémiques et les prévenir.

Facteurs de risques	Pneumopathies (12)	Infections urinaires (13)	Infections du site opératoire (14–16)	Infections liées aux cathéters (17–19)
Age ¹ (<1an, >65 ans)	Troubles de la déglutition, fausses routes alimentaires		Complexité du geste opératoire chez l'enfant en bas âge	
Sexe ¹		Contiguïté avec la sphère digestive		
Gravité de la pathologie aiguë : urgence, densité de soins...	Inhalation, chirurgie abdominale récente, traumatologie, SDRA, densité de soins, geste en urgence	Densité de soins, geste en urgence	Geste en urgence, hémorragie importante	Geste en urgence, transfusion
Pathologies sous-jacentes (diabète, escarres, immunodépression, ...)	Troubles neurologiques ou ORL, pathologie respiratoire chronique (BPCO), traitement immunosuppresseur, greffe pulmonaire, tabagisme	Vessie neurologique, affection urétérale, lésion vésicale, zone irradiée, diarrhée, diabète	Diabète, autre foyer infectieux, défaut de vascularisation locale, traitement immunosuppresseur, greffe	Atteinte cutanée étendue, diabète
État nutritionnel (obésité, cachexie)	Troubles ventilatoires chroniques dans le cadre de l'obésité, nutrition entérale	Difficultés de sondage pour les sujets obèses	Problèmes de cicatrisation	Difficultés de pose de l'abord vasculaire, nutrition parentérale
Durée de séjour	Liée à la durée d'exposition au matériel invasif (sonde d'intubation ou de trachéotomie)	Liée à la durée d'exposition au matériel invasif (sonde urinaire, cathéter sus-pubien)	Séjour prolongé pré-opératoire, soins post-opératoires	Liée à la durée d'exposition au matériel invasif (accès vasculaire)

Tableau 1 : Facteurs de risques d'acquisition d'une infection nosocomiale liés à l'hôte

¹ L'âge et le sexe sont souvent cités ou identifiés dans les études sur les facteurs de risque des infections nosocomiales. Ce sont des facteurs de risques peu spécifiques, parfois facteurs de confusion et marqueurs du terrain du patient.

Facteurs de risques	Pneumopathies	Infections urinaires	Infections du site opératoire	Infections liées aux cathéters
Ratio nombre de personnels soignants par patient ²	+	+	+	+
Défaut d'application des règles d'asepsie ²	+++	+++	+++	+++
Défaut d'application des précautions d'hygiène (précautions standard et complémentaires) ²	++	+	++	+++
Exposition à une aéro-bio-contamination (fenêtre ou porte ouverte, nombre de personnes présentes, dispositif médical générant des aérosols, ...)	+	+	+++	++
Non compliance des visiteurs aux règles d'hygiène prescrites	+	+	+	+
Présence d'un visiteur présentant une pathologie contagieuse ou transmissible	++	+	+	+
Conception architecturale : ventilation ou atmosphère protégée	+++	+	+++	++
Conception architecturale : surfaces nettoyables	+	+	+	+
Conception architecturale : nombre de patients par chambre, promiscuité	+++	+	+	+
Conception architecturale : existence de travaux à proximité des patients	+++	+	+	+

+++ : le facteur joue un rôle important ; ++ rôle modéré ; + faible rôle

Tableau 2 : Facteurs de risques d'acquisition d'une infection nosocomiale liés à l'environnement

² Ces facteurs pourraient être classés dans les facteurs associés au soin lui-même. Ils participent à l'environnement du soin(7).

Facteurs de risques	Pneumopathies	Infections urinaires	Infections du site opératoire	Infections liées aux cathéters
Type de geste(s), complexité du geste	Intubation en urgence, ré-intubation, trachéostomies, transport	Manœuvre urinaire rétrograde, geste endo-vésical	Technique chirurgicale, ré-intervention, geste multiple, position peropératoire	Site d'insertion
Durée d'intervention ou d'exposition	Durée de la ventilation mécanique, durée de sédation, curarisation prolongée	Durée du sondage	Durée d'hospitalisation préopératoire, durée d'intervention	Durée de cathétérisme
Mise en place d'un matériel étranger (type, durée, traitement associé)	Ventilation invasive ou non, intubation ou trachéotomie, voie buccale ou nasale, sonde naso-gastrique	Sonde urinaire, cathéter sus-pubien, étui pénien	Implant drainage post-opératoire	Cathéter veineux ou artériel
Défaut de stérilisation ou de traitement du matériel	Endoscopie, matériel d'intubation, respirateur	Rupture du système clos, déstérilisation de la sonde si geste difficile	Défaut de stérilisation du matériel (problème de conditionnement, stockage, transport), contamination avant utilisation	Déstérilisation du matériel car geste difficile
Défaut dans les pratiques de soins (asepsie, mode opératoire)	Geste endo-bronchique (aspiration, endoscopie, aérosols, humidification), position non proclive, absence de soins de bouche, non respect des précautions standard	Défaut dans la technique de sondage, non respect du système clos, technique de prélèvement, gestion de la sonde (toilette), non respect des précautions standard	Dépilation par rasage, défaut de préparation cutanée (champ opératoire), défaut d'asepsie chirurgicale, non respect des précautions standard	Défaut de préparation cutanée (champ), défaut d'asepsie chirurgicale lors de la pose, entretien du pansement, manipulation des lignes de perfusion, non respect des précautions standard
Expérience ou compétence de l'opérateur(20)	+++	+++	+++	+++
Traitement(s) associé(s) au soin (immunosuppresseurs, antibiothérapie)	Antibiothérapie, protecteurs gastriques, nutrition entérale	Antibiothérapie	Défaut dans l'antibioprophylaxie	Transfusion sanguine, perfusion de solutions lipidiques

+++ : le facteur joue un rôle important

Tableau 3 : Facteurs de risques d'acquisition d'une infection nosocomiale liés au soin

D. Epidémiologie des infections nosocomiales en France

L'épidémiologie des infections nosocomiales est bien connue en France grâce à plusieurs outils de mesure : les enquêtes de prévalence et les enquêtes d'incidence. Ces enquêtes contribuent à la priorisation des actions de surveillance et à l'évaluation des actions de prévention des IN.

Au niveau national, une **enquête de prévalence** (21)(22) est organisée tous les 5 ans environ. Elle est coordonnée par Santé Publique France et proposée par le Réseau d'Alerte, d'Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales (RAISIN) (23). Elle s'adresse à tous les établissements de santé français, publics ou privés, sur le principe d'une participation volontaire. Elle porte également sur la mesure des consommations en traitements anti-infectieux. La dernière enquête a été réalisée en 2012 et a couvert près de 97% des lits d'hospitalisation publique français, 83% de ceux des établissements privés d'intérêt collectif et 75% des lits des établissements privés à but lucratif. En 2012, en France, 5% des patients étaient porteurs d'au moins une infection nosocomiale.

L'IN la plus fréquente est l'infection urinaire (30% des IN), puis les pneumopathies (17%), puis les infections du site opératoire (14%) pour ce qui est du « trio » en tête (Figure 1) (21).

Pour les établissements de santé qui ont participé aux enquêtes de 2006 et 2012, la prévalence des patients infectés, non ajustée, est restée stable, mais cette conclusion est plus contrastée lorsque l'on étudie les détails de ces enquêtes (selon le type d'établissement par exemple). Après ajustement sur les facteurs patients, établissement et région, on note une diminution de près de 10% ($p < 0,001$) de la prévalence des patients infectés. En stratifiant sur le type de séjour, on note une stabilité pour les lits du court séjour, mais une diminution importante (-21%, $p < 0,001$) pour les autres types de séjours (en soins de suite et de réadaptation, en soins de longue durée et en psychiatrie) (21).

Si l'on étudie l'évolution de la prévalence des IN par site infectieux, on observe une diminution des infections urinaires de 15%. Cette diminution est à mettre en perspective du changement de définition réalisé en 2007 (6) où les colonisations urinaires ont été

exclues. Les auteurs du rapport en ont tenu compte. Les infections du site opératoire diminuent également (-7%) alors que les bactériémies augmentent fortement (+21%).

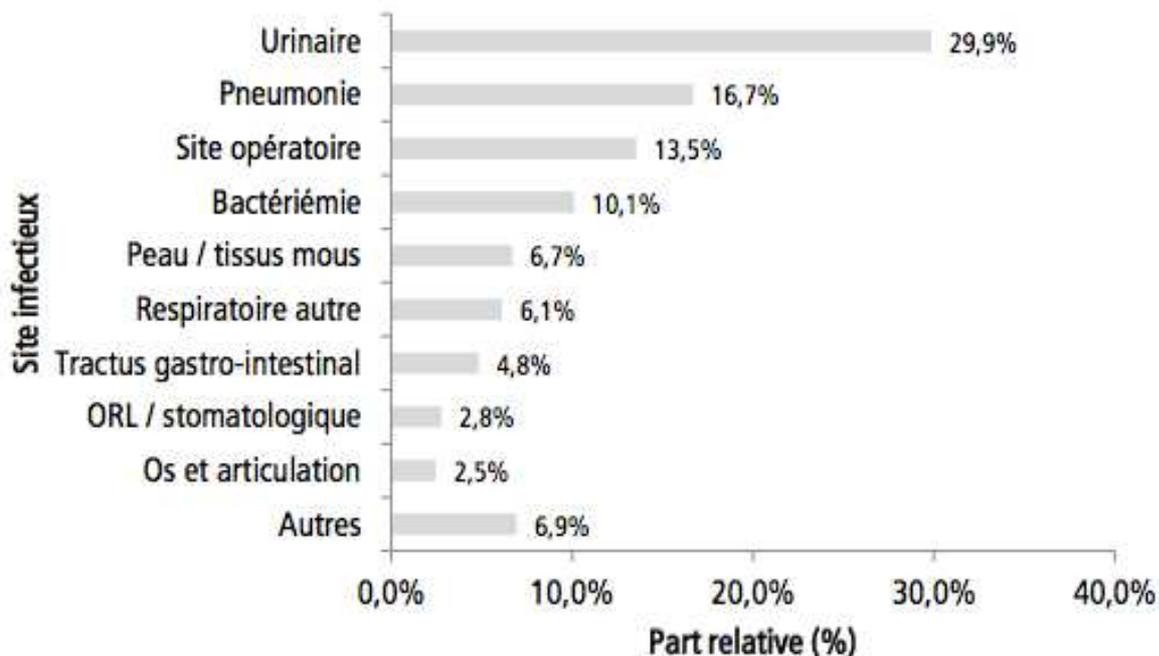


Figure 1 : Distribution des principaux sites infectieux. ENP, France, juin 2012 (21)

D'un point de vue microbiologique, le nombre d'infections à *Escherichia coli* est stable (+0,6), alors que celui à *Klebsiella pneumoniae* augmente (+36%). La prévalence des infections à *Staphylococcus aureus* et à *Pseudomonas aeruginosa* diminue (-19%).

Pour ce qui est des marqueurs de résistance aux antibiotiques, la fréquence des entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération est en nette augmentation (+80% pour *E. coli* et +113% pour *K. pneumoniae*). Cette augmentation est confirmée (+38%, $p < 0,001$) par une analyse multi-niveaux réalisée sur la cohorte des 1714 établissements ayant participé aux deux enquêtes. Par contre, la situation s'améliore quant à la prévalence des infections à *S. aureus* résistant à la méticilline (-46%), alors que les infections à SASM restent stables. La résistance à la méticilline diminue de 29% sur la période entre les deux enquêtes.

Les **enquêtes d'incidence** du RAISIN sont ciblées sur un site infectieux particulier (infections du site opératoire, accidents d'exposition au sang et aux liquides biologiques), sur une activité médicale (réanimation, maternité (CCLIN Sud-Est), dialyse (CCLIN Sud-Est), bactériémies liées aux cathéters centraux en néonatalogie (NEOCAT)), sur la consommation en antibiotiques (ATB) ou sur les bactéries multi-résistantes (BMR).

La surveillance dédiée aux infections acquises en réanimation est produite par le réseau REA (24,25) du RAISIN. Elle est portée par l'équipe du Centre de coordination de la lutte contre les infections associées aux soins du Sud-Est. La surveillance est disponible au niveau national depuis 2004, ce qui donne au réseau un recul très intéressant. En 2014, le réseau a couvert 50% des lits de réanimation (2548 lits selon les données de la Statistique Annuelle des Etablissements), soit 81% des lits des établissements publics.

Les principaux résultats du rapport national sont présentés dans le tableau 4.

Le protocole de surveillance a évolué depuis la création du réseau. Ainsi, depuis 2013, la surveillance ne porte plus sur les infections urinaires, mais inclut le portage de bactéries multi-résistantes aux antibiotiques (BMR) qu'elles soient importées ou acquises en réanimation. C'est une information intéressante car il y a peu de données publiées sur la surveillance épidémiologique (par rapport aux données liées aux prélèvements cliniques). Il y a donc 9 à 10% de patients porteurs de BMR dans les réanimations qui participent à la surveillance ; un tiers d'entre eux acquiert la BMR pendant le séjour en réanimation (26). Cette acquisition se fait surtout aux dépens des entérobactéries productrices d'une β -lactamase de spectre étendu (EBLSE).

Variables		2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	
Participation REA-RAISIN (% lits SAE)		-	-	-	32,1	36,1	36,4	36,8	39,7	42,1	47,2	50,4	
Etalissements	n	102	132	141	148	153	162	166	165	174	186	186	
Services	n	116	141	158	165	174	176	181	184	196	213	212	
Lits	n	-	-	-	1 847	1 981	1 994	2 030	2 168	2 284	2 579	2 548	
Patients	n	14 752	19 693	22 090	22 927	25 225	24 459	25 685	27 722	29 554	34 278	34 226	
Caractéristiques													
Age	(en années)	moy.	61,0	61,6	61,4	61,4	62	62,8	63,0	63,0	63,7	63,9	64,3
Sex-ratio		H/F	1,65	1,63	1,56	1,58	1,63	1,59	1,55	1,63	1,62	1,65	1,64
Durée du séjour	(en jours)	moy.	11,2	11,3	11,1	11,2	11,2	11,8	11,6	11,6	11,6	11,7	11,2
IGS II		moy.	39,4	40,4	40,2	41,7	42	42,8	43,1	43,9	44,4	45,7	45,3
Décès		%	16,8	17,2	16,8	18,1	17,7	18,5	18,1	18,5	18,4	18,5	17,2
Antibiotiques à l'admission		%	48,8	51,5	51,2	55,2	53,4	55,4	56,2	57,5	58,3	58,5	57,0
Provenance du patient	domicile	%	57,7	53,9	54,9	55,4	51,7	52,9	53,1	54,4	54,6	52,0	51,5
	EHPAD	%							1,1	1,1	1,8	1,8	
	SLD	%							5,7	2,6	2,9	2,5	
	SSR	%	5,4	4,1	4,6	5	4,4	3,8	3,8	2,0	1,8	1,4	1,5
	court séjour	%	33,6	39,2	37,5	36,4	40,9	39,7	39,5	32,7	36,0	37,7	38,3
	réanimation	%	3,3	2,8	3	3,2	3,1	3,6	3,6	4,1	4,0	4,3	4,4
Catégorie diagnostique	médecine	%	66,5	68,5	67,9	67,6	66,7	66,5	68,4	68,7	67,5	69,0	68,8
	chir. urgente	%	17,1	16,7	17,6	18,6	18,2	18,8	17,8	18,6	18,7	18,3	18,0
	chir. réglée	%	16,4	14,9	14,5	13,8	15	14,7	13,8	12,8	13,8	12,6	13,2
Traumatisme		%	10,4	9,3	10,2	10,2	9,5	9,3	8,6	9,3	8,4	7,7	7,8
Immunodépression		%	13,4	12,2	11,7	12,8	14,5	14,2	14,5	14,0	15,0	15,6	15,9
Patient porteur de BMR ciblée		%									9,0	10,0	
	dont origine acquise en réanimation	%									3,6	3,4	
Exposition aux dispositifs invasifs													
Patients exposés	intubation	%	59,2	61,3	61,3	63,9	64,5	65,4	64,5	66,2	66,0	67,2	63,8
	CVC	%	55,9	58,5	59	59,7	61,2	64,8	63,3	65,3	65,2	61,2	65,3
	sonde urinaire	%	81,3	80,5	80,9	83,8	84,6	86,5	87,0	87,2	87,6	88,0	87,4
Ratio d'exposition	intubation	%	56,1	58,9	58,7	61	60	60,9	60,8	59,1	60,5	57,7	56,3
	CVC	%	60,3	62,8	63,8	63,2	63,6	65,9	66,0	64,8	66,3	59,9	65,7
	sonde urinaire	%	78,1	78	79,6	81,6	81,9	83,2	84,2	81,0	83,6	80,9	82,4
Durée d'expo. (en j)	intubation	moy.	10,7	10,9	10,6	10,7	10,5	11	10,9	10,7	10,6	10,0	9,9
	CVC	moy.	12,1	12,2	12	11,9	11,7	12	12,2	11,9	11,9	11,5	11,3
	sonde urinaire	moy.	10,7	10,9	10,9	11	10,8	11,4	11,3	11,1	11,2	10,8	10,6
Indicateurs niveau patient													
Taux Incidence cumulée / 100 patients													
	Patients infectés (PNE, BAC, ILC, BLC)		11,11	11,48	10,84	11,62	11,23	12,10	11,36	11,51	11,22	10,47	10,68
	Patients infectés à SARM		-	-	-	0,90	0,95	0,97	0,83	0,62	0,53	0,41*	0,39
	Patients infectés à EBLSE		-	-	-	0,86	0,80	1,01	1,08	1,27	1,17	1,03*	0,92
	Patients infectés à PARC		-	-	-	0,78	0,67	0,55	0,50	0,86	0,80	0,54*	0,42
Taux Incidence cumulée / 100 patients exposés													
	Pneumopathie liée à l'intubation		13,46	13,82	12,80	13,04	12,19	13,27	12,43	12,76	12,49	10,80	11,46
	Bactériémie liée au séjour		3,49	3,54	3,41	3,81	3,73	3,98	3,68	3,93	3,77	3,56	3,73
	Culture CVC + (COL, ILC, BLC)		6,62	6,29	5,53	6,91	6,33	6,72	6,40	6,41	6,69	5,93	6,36
	ILC		1,56	1,66	1,17	1,60	1,26	1,30	1,09	0,96	0,92	0,84	0,71
	BLC		0,84	0,86	0,97	1,14	1,04	1,07	0,56	0,77	0,81	0,68	0,56
Taux Incidence / 1000 j d'exposition													
	Pneumopathie liée à l'intubation		16,26	16,71	15,36	15,48	14,5	15,21	14,14	14,92	14,66	13,00	14,26
	Bactériémie liée au séjour		3,31	3,35	3,26	3,63	3,52	3,57	3,37	3,63	3,47	3,22	3,53
Indicateurs niveau CVC													
	Mise en culture des CVC	%		-	-	54,6	55,2	57,3	52,2	52,5	53,1	52,5	53,3
	Culture CVC + / 100 CVC cultivés			-	-	12,04	10,75	10,66	11,42	11,18	11,21	10,22	10,85
	Taux Incidence ILC / 1000 j CVC			-	-	1,38	1,11	1,11	0,94	0,84	0,79	0,78	0,66
	Taux Incidence BLC / 1000 j CVC			-	-	0,99	0,84	0,90	0,48	0,66	0,68	0,61	0,51

* arrêt du recueil des infections urinaires à partir de 2013 → non comptabilisation des BMR des URI en conséquence

Tableau 4 : Données nationales et tendances 2004-2014 du réseau REA RAISIN (26)

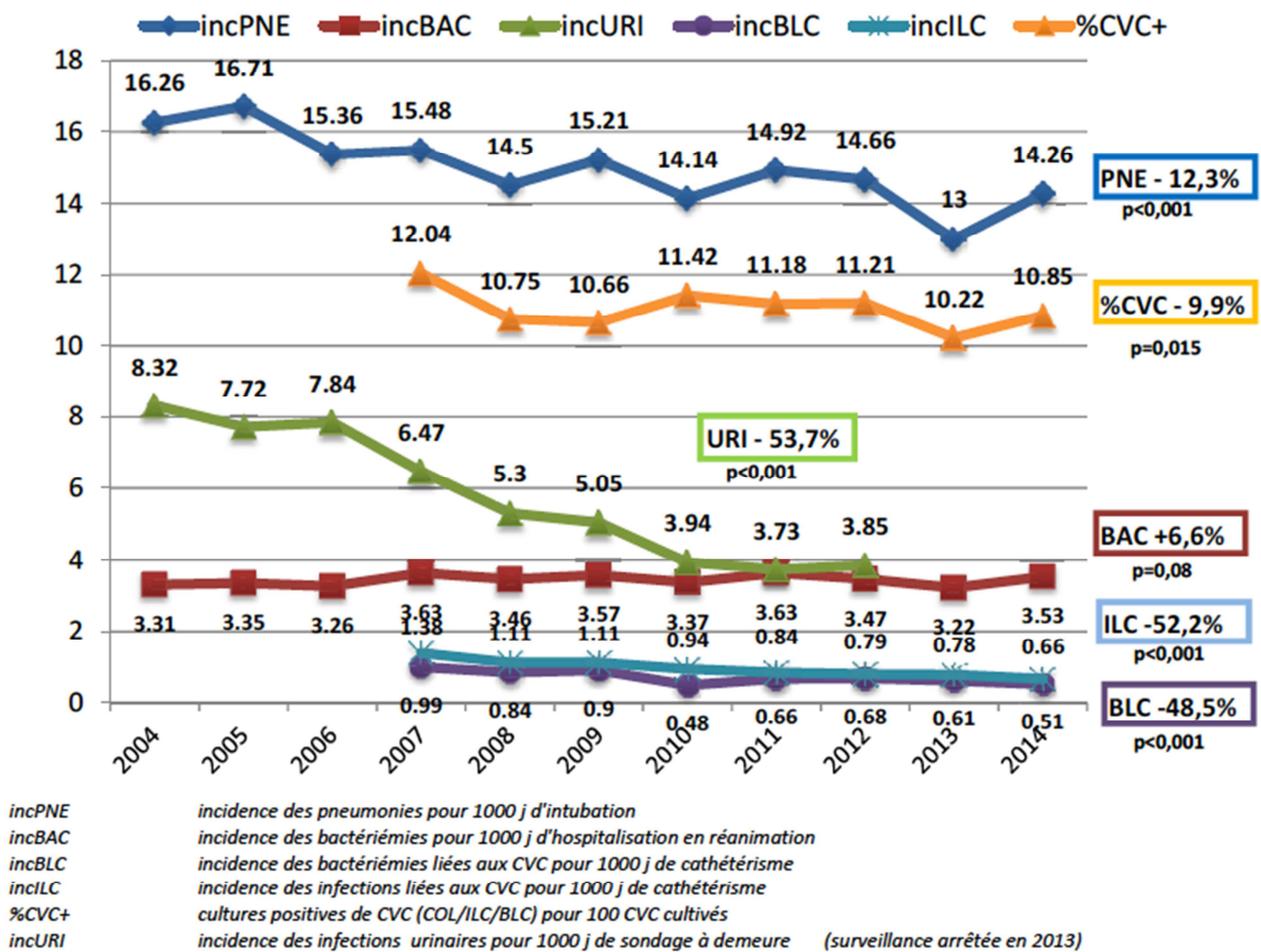


Figure 2 : Evolution des incidences des infections acquises en réanimation, par site infectieux. Données REA RAISIN 2004-2014 (26)

Sur les données nationales, on note une diminution de toutes les incidences d'IN par site infectieux hormis les bactériémies qui ont une tendance à augmenter ($p=0,08$) (Figure 2).

II. Les bactéries multi-résistantes aux antibiotiques (BMR)

A. Définitions

La résistance d'une bactérie à un antibiotique est sa capacité à acquérir ou à développer un phénotype de résistance à cet antibiotique : la croissance bactérienne n'est pas inhibée par l'antibiotique. Il y a ainsi une forte probabilité d'échec d'un traitement utilisant cette molécule. Cela se traduit également par une mesure de la concentration minimale inhibitrice (CMI) supérieure à la valeur critique basse de concentration de l'antibiotique concerné (27).

Plusieurs mécanismes de résistance existent. Les principaux sont :

- la production d'une enzyme détruisant ou modifiant l'antibiotique pour le rendre inactif (exemple des β -lactamases chez les entérobactéries),
- la diminution de l'affinité ou la modification de la cible de la molécule active l'empêchant ainsi d'agir (exemple de la mutation de la PLP2a aboutissant à la résistance du SARM à toutes les β -lactamines),
- la diminution de la perméabilité membranaire (la perte ou le dysfonctionnement d'une protéine constitutive des porines va affecter le passage des β -lactamines par exemple) et la production de pompes à efflux (exemple pour les β -lactamines, les protéines MexA-B/oprM) qui vont empêcher l'obtention d'une concentration suffisante à l'intérieur de la bactérie.
- Sont aussi évoqués des shunts métaboliques (exemple du cotrimoxazole (28)) (figure 3) (29,30).

Plusieurs définitions de la multi-résistance aux antibiotiques sont disponibles dans la littérature, basées essentiellement sur les données fournies par l'antibiogramme (31). La définition la plus répandue d'une bactérie multi-résistante (BMR) est : « lorsque la bactérie est dite résistante à au moins trois familles d'antibiotiques » (31).

D'autres définitions se basent sur l'existence d'une résistance à un antibiotique particulier utilisé comme marqueur. Les bactéries ainsi déterminées présentent d'autres résistances

associées (exemples *Acinetobacter baumannii* résistant à l'imipénème, *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline, ...) (24)(32)(33).

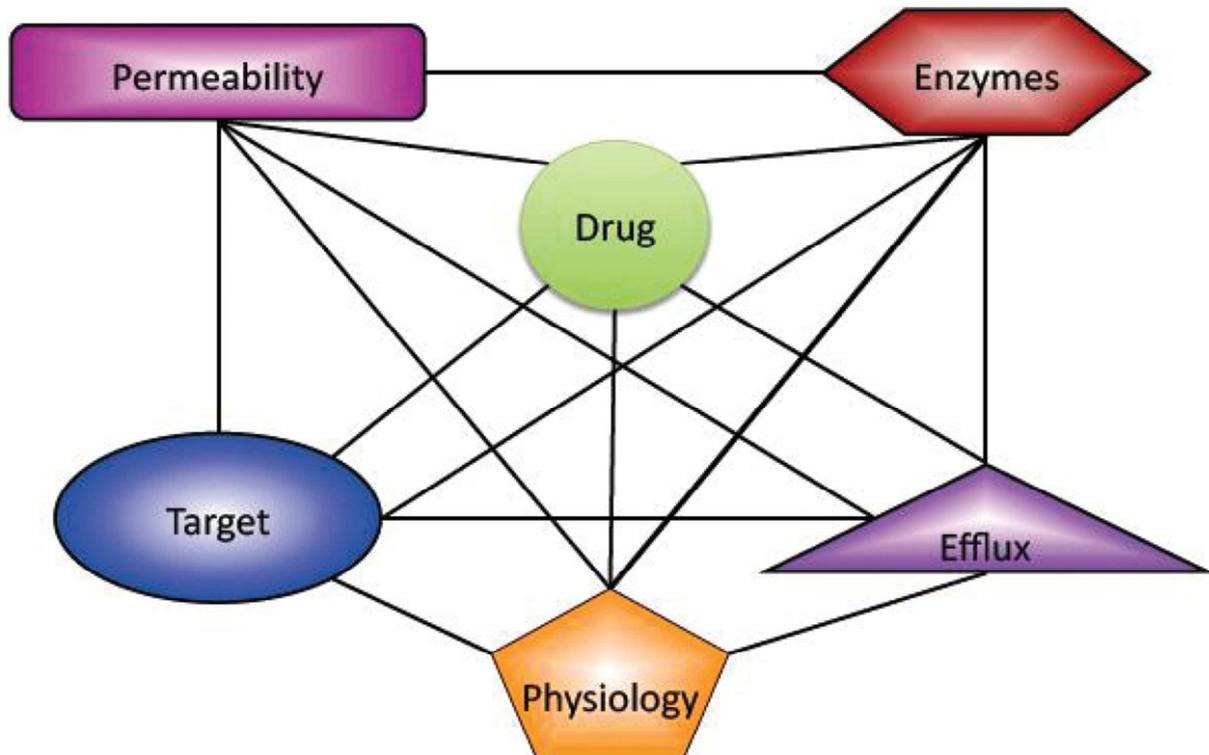


FIGURE A21-3 Combinatorial resistance. In many cases, antibiotic resistance in organisms is not only the result of a single gene product, but several mechanisms can contribute including alternate transport, the physiological state of the cell (biofilms, growth, etc.) and the presence of modifying enzymes. The diagram shows the possible mechanisms available to confer resistance to antibiotics and the inter-locking lines the known combinations found in resistant bacteria. Not all elements are found in all resistance organisms, but combinations of two or more are common leading to a highly connected chemical-genetic profile that confers high level resistance and is challenging to overcome.

Figure 3 : Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques (29)

En 2012, Magiorakos et al. ont proposé des définitions plus précises, également basées sur la lecture de l'antibiogramme (34).

- Une BMR se définit par l'existence d'un phénotype de résistance à au moins une molécule d'au moins 3 classes différentes d'antibiotiques.

- Une bactérie est dite hautement résistante (BHR) aux antibiotiques lorsqu'il n'y a plus qu'une ou deux classes d'antibiotiques qui sont entièrement sensibles (pour toutes les autres classes, il y a au moins une molécule pour laquelle la bactérie est résistante).
- Une bactérie est toto- ou pan-résistante (BTR) lorsqu'elle présente une résistance à l'ensemble des antibiotiques existants (toutes les molécules de toutes les classes d'antibiotiques).

B. Multi-résistance et virulence

La virulence bactérienne est définie par l'intensité de la pathologie induite par la bactérie (35). Celle-ci va être d'expression variable selon la présence de toxines ou de facteurs d'adhérence, la capacité de la bactérie à envahir un tissu ou à déclencher des réactions immunes, sa vitesse de réplication et sa transmissibilité.

Pour plusieurs espèces bactériennes, il a été montré que des variations de l'expression de la virulence ont abouti à des modifications du phénotype de résistance aux antibiotiques (36)(37). D'autres études ont montré le phénomène inverse : un impact de modifications du phénotype de résistance sur l'expression de la virulence de la bactérie (38)(39). Il a été montré des modifications du génome bactérien par l'intégration de nouveau matériel génétique (plasmides, transposons) (40) qui induiraient un « coût » (*Fitness cost*) pour la bactérie. Mais des mutations compensatoires très rapides peuvent limiter ce coût induit (41–43).

C. Conséquences de la multi-résistance

Quelles sont les conséquences possibles de la colonisation ou de l'infection par une bactérie multi-résistante aux antibiotiques ?

Pour le patient lui-même, les conséquences sont tout d'abord infectieuses. La nécessité d'avoir recours à des molécules antibiotiques de seconde ligne ou difficiles à manier pour obtenir la juste concentration pour être efficace ou du fait d'une toxicité de la molécule,

rend la prise en charge infectieuse du patient plus difficile, avec potentiellement un retard de prise en charge efficace. Une conséquence sur le pronostic vital du patient est donc possible, mais les études ne sont pas toujours ajustées sur tous les facteurs de confusion (44–46). La confusion provient surtout du fait que les patients porteurs de BMR ont des caractéristiques particulières par rapport aux porteurs de souches sensibles. Il est méthodologiquement difficile de faire la part des choses.

Les conséquences non infectieuses pour le patient sont liées à la toxicité de la ou des molécules utilisées car le patient est fréquemment pris en charge avec des associations d'antibiotiques. Ces molécules nécessitent parfois des dosages biologiques réguliers pour pouvoir adapter les doses administrées (exemple de la vancomycine ou des aminosides) (47).

Le patient, parce qu'il est porteur d'une BMR, relève d'une prise en charge avec des précautions complémentaires. La stratégie de prise en charge des patients porteurs de BMR est orientée au niveau national (32,48,49), mais ce sont les équipes opérationnelles avec le Comité de lutte contre les infections nosocomiales (CLIN), lorsqu'il existe, qui l'organise sur le terrain. Le principe du « *search and isolate* » est encore appliqué. Les consignes d'isolement (ancienne appellation pour les précautions complémentaires) ont des conséquences néfastes sur les patients (50–52), alors que leur efficacité dans la limitation de la diffusion des BMR n'est pas toujours vérifiée (53) et qu'elles sont coûteuses (54).

Des conséquences existent également pour le service hébergeant le patient porteur. Elles sont essentiellement de trois ordres :

- une modification de l'écologie du service avec augmentation de la prévalence des patients porteurs de BMR qui conduira à utiliser de plus en plus d'antibiotiques à large spectre en début de prise en charge thérapeutique pour couvrir une éventuelle BMR : il s'agit de la spirale de la résistance (55) qui favorise la production de bactéries de plus en plus résistantes voire toto-résistantes (56,57) ;
- une modification des coûts liés au traitement mais aussi à la prise en charge en précautions complémentaires voire en cohorting selon la BMR incriminée (54) ;

- une modification de la charge en soins du service, voire une altération de son fonctionnement en cas de nécessité d'arrêter les admissions ou d'organiser un cohorting en son sein (58).

Ces conséquences sont bien-sûr à moduler selon le nombre de patients concernés, selon la spécialité médicale ou chirurgicale touchée et le type de multi-résistance présenté par le micro-organisme.

III. La surveillance des infections nosocomiales

A. Surveillance : définition et objectifs

La surveillance se définit comme « un processus continu et systématique de collecte, de compilation et d'analyse de données de santé ainsi que de leur diffusion à tous ceux qui ont contribué à la collecte et à tous ceux qui ont besoin d'en être informés » (59)(22).

La surveillance permet :

- de décrire un phénomène de santé comme une maladie infectieuse : elle donnera des informations sur la dynamique du phénomène en termes de temps, de lieu(x) et de personnes concernées. Des tendances ou prédictions évolutives pourront parfois être élaborées,
- d'alerter grâce à la détection précoce de l'émergence d'un problème de santé ou d'une épidémie,
- d'évaluer l'efficacité d'une action de contrôle ou d'une action préventive sur le phénomène surveillé,
- de vérifier des hypothèses de recherche.

L'objectif est donc de mettre à disposition des décideurs de l'ensemble des éléments nécessaires pour pouvoir agir sur un phénomène de santé.

Le suivi des infections nosocomiales peut correspondre à une mesure de la qualité et la sécurité des soins pour un service de soins (y compris en réanimation).

B. Méthodes

On distingue deux modes de surveillance : la **surveillance passive ou active** (60).

La surveillance passive se caractérise par un caractère habituellement obligatoire, encadré par un texte réglementaire. Le déclarant transmet l'information à celui qui la collecte sans que celui-ci n'ait de démarche à faire. Plusieurs systèmes de ce type existent en France, par exemple les maladies à déclaration obligatoire, le signalement externe des infections nosocomiales, les certificats de décès. L'autorité sanitaire n'intervient pas dans le processus de collecte des données.

La surveillance active implique que la structure désignée pour assurer cette surveillance, doit en assurer la collecte. La participation est habituellement volontaire et nécessite une certaine motivation à participer. Celle-ci peut être obtenue par le retour d'informations utiles pour le participant, par un soutien apporté au participant, ou par une rémunération. La surveillance active est en général plus coûteuse que la surveillance passive.

La **surveillance en réseau** permet de répondre à plusieurs objectifs :

- collecter des données sur une même période de temps sur un grand territoire géographique,
- recueillir de manière identique les données pour assurer une comparabilité entre les centres participants.

Cette surveillance active implique l'existence d'un centre coordonnateur qui, outre la rédaction d'un protocole de surveillance, assurera la collecte et le traitement des données.

Une surveillance peut être **continue ou discontinue** dans le temps. Les surveillances discontinues peuvent être périodiques (exemple : 3 mois par an).

Une surveillance peut cibler une population de manière **exhaustive** (tous les individus de la population sont surveillés ou tous les cas identifiés doivent être transmis) ou **représentative** (un échantillon des individus d'une population est surveillé par exemple).

Le signalement externe des infections nosocomiales est donc une surveillance passive, continue et exhaustive. La surveillance des BMR par le RAISIN est une surveillance active en réseau, périodique (3 mois) et représentative (SARM, EBLSE).

C. Organisation française de la surveillance des maladies infectieuses

En France, la surveillance des maladies infectieuses a été organisée. L'agence nationale Santé publique France (née de la fusion en 2016 de l'Institut national de Veille Sanitaire - InVS-, de l'Institut national de prévention et d'éducation à la Santé –INPES- et de l'Établissement public de réponse à l'urgence sanitaire (-EPRUS-)) est chargée de cette surveillance. Elle s'appuie sur un certain nombre d'acteurs :

- le réseau national des centres nationaux de référence (CNR) qui sont des laboratoires de microbiologie experts pour les différents agents infectieux pathogènes pour l'homme, hébergés soit par l'Institut Pasteur, soit par des centres hospitalo-universitaires, soit par des organismes de recherche. Les CNR contribuent à la surveillance épidémiologique de plusieurs pathologies infectieuses en apportant des informations complémentaires sur les pathogènes dont ils ont la charge (confirmation de l'identification, génotypage ou sérotypage ou caractérisation d'une souche particulière, sensibilité aux agents anti-infectieux), mais sont aussi des acteurs dans la détection de signaux susceptibles de conduire à une alerte et à leur investigation. Ils informent en temps réel l'agence Santé publique France et la Direction générale de la Santé ;
- le Réseau d'alerte, d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales (RAISIN), qui correspond à une collaboration entre l'agence Santé publique France et les 5 centres de coordination de la lutte contre les infections associées aux soins, et qui est donc spécialisé dans les infections associées aux soins. Le RAISIN organise

plusieurs réseaux de surveillance (bactéries multi-résistantes, infections acquises en réanimation, infections du site opératoire, ...) ;

- les agences régionales de santé qui sont un « passage obligé » pour différents systèmes de surveillance : maladies à déclaration obligatoire (actuellement 31 pathologies), signalement des infections nosocomiales (pour les établissements de santé), certificats de décès (analyse des causes médicales de décès), déclaration des cas groupés de gastro-entérites ou d'infections respiratoires basses en secteur médico-social ;
- des réseaux spécialisés de laboratoires de microbiologie volontaires : **Renachia** pour les chlamydioses, **Renago** pour les gonococcies, **Epibac** pour les infections invasives à *Haemophilus influenzae*, *Listeria monocytogenes*, méningocoque, pneumocoque, streptocoques A et B, **RENA-VHC** pour l'activité de dépistage du virus de l'hépatite C, ... ;
- des réseaux de médecins volontaires ou des réseaux mixtes de biologistes et de cliniciens : **Renashu** réseau de surveillance des syndromes hémolytiques et urémiques, **Renacoq** pour la coqueluche, réseau **Sentinelles** qui surveille plusieurs pathologies infectieuses comme la grippe, la rougeole, les oreillons, la varicelle, les hépatites A et B, les urétrites masculines, les diarrhées aiguës et le zona, réseau des Groupes régionaux d'observation de la grippe (**GROG**) ;
- le Réseau national de surveillance de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ) et des maladies apparentées (**RN-MCJ**) est un réseau de neurologues et de neuropathologistes volontaires coordonné par l'unité INSERM U975, le CNR des MCJ et l'agence Santé publique France ;
- l'Observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques (**ONERBA**) est une structure associative fédérant des réseaux de laboratoires de biologie médicale s'intéressant à la résistance aux antibiotiques ;
- des réseaux au sein de populations particulières : exemples du Baromètre santé (enquêtes déclaratives sur des thèmes de santé comme les pratiques vaccinales, le comportement sexuel, les consommations de soins, ...), des enquêtes nationales périnatales.

Ainsi, l'infection nosocomiale est un événement indésirable associé aux soins qui fait l'objet d'une attention accrue de la part de l'agence Santé publique France.

D. La surveillance des infections nosocomiales est-elle obligatoire en France ?

L'évolution des textes réglementaires permet de répondre à cette interrogation.

Le décret n°88-657 du 6 mai 1988 relatif à l'organisation de la surveillance et de la prévention des infections nosocomiales dans les établissements d'hospitalisation publics et privés participant au service public hospitalier (abrogé par le décret du 6 décembre 1999 ; circulaire d'application n°263 du 13 octobre 1988), a créé les Comités de lutte contre les infections (déjà créés dans les établissements de santé publics par la circulaire n° 75-2805 du 1er septembre 1975) dont une des missions était d'organiser et de coordonner une surveillance continue des infections dans les établissements de santé publics et privés participant au service public hospitalier.

L'arrêté du 3 août 1992 relatif à l'organisation de la lutte contre les infections nosocomiales, modifié le 19 octobre 1995 puis le 20 octobre 2007, détermine des structures de coordination nationale et inter-régionales : un comité technique national des infections nosocomiales (CTIN) et cinq centres de coordination de la lutte contre les infections nosocomiales (CCLIN). Chacun des centres est chargé de l'organisation du recueil épidémiologique standardisé de données d'incidence et de prévalence des infections nosocomiales à partir d'un réseau local d'établissements ou organismes publics ou privés de prévention ou de soins.

La circulaire DGS/VS/VS2-DH/E01 n°1995-17 du 19 avril 1995 relative à la lutte contre les infections nosocomiales dans les établissements de santé publics ou privés participant à l'exécution du service public (texte actuellement abrogé par la circulaire du 29 décembre 2000) définit que le CLI devient un Comité de lutte contre les infections nosocomiales (CLIN). En matière de surveillance, le CLIN veillera à ce que soit mis en place un recueil d'indicateurs pertinents permettant de juger de l'évolution de la fréquence des infections nosocomiales dans l'établissement et donc de l'efficacité des actions entreprises. Il

s'appuiera sur les recommandations élaborées au niveau national par le CTIN pour la mise en place de ces indicateurs (méthodes de recueil et d'analyse). La surveillance dans les établissements reposera notamment sur :

- une surveillance générale pour l'ensemble des services de l'établissement comportant au minimum l'organisation d'enquêtes de prévalence "un jour donné" et la surveillance des bactéries multi-résistantes, complétées par des indicateurs choisis pour leur pertinence, en fonction du recrutement et de l'activité des services,
- une stratégie spécifique de surveillance dans les services présentant un risque élevé d'infections nosocomiales : incidence des infections nosocomiales en continu sur une période d'au moins trois mois par an pour les services de réanimation, et incidence en continu sur une période d'au moins trois mois par an, des infections des sites opératoires dans les services de chirurgie.

Le décret n° 97-1165 du 16 décembre 1997 précisant les modalités d'évaluation des dossiers de demande d'autorisation d'activité ou de renouvellement d'autorisation comprend un item dédié au recueil des données nécessaires à la surveillance des risques iatrogènes et nosocomiaux. La surveillance des infections nosocomiales prend un caractère obligatoire dans la mesure où il s'agit d'un critère d'accord d'activité pour un établissement de santé.

Le décret n° 99-1034 du 6 décembre 1999 (abrogé par le décret du 20 juillet 2005) donne naissance aux Equipes opérationnelles d'hygiène qui définit un programme annuel d'action comprenant la surveillance des infections nosocomiales.

La circulaire DGS/DHOS/E2 n°2000-645 du 29 décembre 2000 rappelle l'importance de la surveillance des infections nosocomiales. Elle recommande la participation à des réseaux de surveillance animés par les CCLIN. Une priorité est donnée aux infections du site opératoire, mais aussi à la mesure de la fréquence des bactéries multi-résistantes aux antibiotiques et de la consommation de certains antibiotiques.

La lettre-circulaire du 27 novembre 2003 est dédiée à la surveillance des infections nosocomiales. Le Réseau d'alerte, d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales (RAISIN) est créé (via les 5 CCLIN et l'Institut de Veille Sanitaire). Celui-ci collecte et analyse des données fournies par les établissements de santé, sur la base du volontariat, dans le cadre des réseaux inter-régionaux mis en place par les cinq CCLIN.

Ceux-ci ont harmonisé leurs méthodes de travail progressivement pour aboutir à la création de bases nationales standardisées. Sont définis :

- l'enquête de prévalence nationale des infections nosocomiales tous les cinq ans (depuis 1996),
- l'enquête d'incidence des bactéries multi-résistantes (base nationale à partir de 2004),
- l'enquête d'incidence des bactériémies (base nationale depuis 2002),
- l'enquête d'incidence des accidents avec exposition au sang (base nationale depuis 2003),
- l'enquête d'incidence des infections en réanimation (base nationale à partir de 2004),
- l'enquête d'incidence des infections du site opératoire (base nationale depuis 1999).

La circulaire DHOS/DGS/E2/5C n°2004-599 du 13 décembre 2004 détermine les modalités de mise en œuvre du programme national de lutte contre les infections nosocomiales 2005/2008 dans les établissements de santé. Le troisième axe de ce plan est dédié à l'optimisation du recueil et de l'utilisation des données de surveillance et du signalement des infections nosocomiales. L'accent est à nouveau mis sur la surveillance des infections du site opératoire. Le texte sera abrogé par la publication du plan suivant le 26 août 2009.

Le décret n°2005-840 du 20 juillet 2005 rappelle les dispositions exposées dans le décret n°99-1034 du 6 décembre 1999 dont la surveillance des infections nosocomiales faisant partie du programme d'action du CLIN et de l'EOH de l'établissement.

La circulaire DHOS/E2/DGS/5C n°2006-82 du 24 février 2006 précise le calendrier de diffusion publique des indicateurs du tableau de bord des infections nosocomiales déterminé à partir du bilan annuel des activités de lutte contre les infections nosocomiales (arrêté du 11 juin 2002). La réalisation d'une enquête d'incidence des infections nosocomiales, la participation à l'enquête nationale de prévalence, la participation à un réseau de surveillance, ... sont plusieurs éléments valorisables dans le tableau de bord. La surveillance devient visible du grand public.

La circulaire interministérielle DGS/DHOS/DGAS n°2009-264 du 19 août 2009 diffuse le plan stratégique national 2009-2013 de prévention des infections associées aux soins. La

surveillance des infections nosocomiales y figure également. Toutefois il est précisé qu'il faudra être « particulièrement attentif, une fois encore, à l'optimisation de l'utilisation des moyens. Ceci implique notamment de rationaliser le temps consacré au recueil de données pour les surveillances et le signalement, afin de permettre à l'EOH de s'acquitter de ses autres missions ». Le texte sera abrogé par l'instruction du 15 juin 2015.

La circulaire DHOS/E2/DGS/RI n°2009-272 du 26 août 2009 précise la mise en œuvre du programme national de prévention des infections nosocomiales 2009-2013 (qui sera abrogé par l'instruction du 15 juin 2015). Parmi les six grandes orientations qui structurent ce plan, la deuxième correspond à l'optimisation du recueil et de l'utilisation des données de surveillance. Des actions nationales sont précisées dont trois sont particulières :

- renforcement de la qualité méthodologique et de la représentativité des données de la surveillance épidémiologique nationale des infections nosocomiales (RAISIN) et développement des méthodes de comparaison en vue de l'amélioration des résultats (benchmarking) : cette action semble indiquer qu'il existe des biais dans les outils de surveillance proposés et que l'interprétation des données produites prête à discussion. Chacune des surveillances a évolué dans le temps sous l'impulsion de son comité de pilotage national (propre à chaque surveillance),
- développement et mise en œuvre des outils informatisés de déclaration en ligne pour la surveillance des infections nosocomiales dans le cadre des réseaux nationaux : l'ensemble des réseaux de surveillance a développé des plateformes web pour la collecte des données et la production des rapports automatisés pour les établissements participants pour remplacer les anciennes applications Epi-Info,
- évaluation de la pertinence et de l'efficacité des réseaux nationaux au regard des priorités nationales : on peut s'interroger sur les méthodologies à développer pour répondre à cette action.

La circulaire DGOS/PF2 n°2011-416 du 18 novembre 2011 précise les modalités d'application du décret n° 2010-1408 du 12 novembre 2010 relatif à la lutte contre les événements indésirables associés aux soins dans les établissements de santé. La surveillance des infections nosocomiales est toujours citée dans les missions de l'EOH.

L'instruction DGOS/PF2/DGS/RI1/DGCS n°2015-202 du 15 juin 2015 diffuse le programme national d'actions de prévention des infections associées aux soins (Propias)

2015. Le Propias est un programme pluriannuel susceptible d'être modifié dans le futur. Le thème 5 de l'axe 1 porte sur le renforcement de la surveillance des infections associées aux soins.

La surveillance des infections nosocomiales apparaît très tôt dans la politique française de lutte contre les infections associées aux soins. C'est une thématique de travail incontournable pour les EOH. Le législateur insiste sur l'utilisation des données de surveillance pour cibler ou hiérarchiser les actions locales et régionales des structures impliquées dans la lutte contre les IAS, pour évaluer l'impact des actions de préventions engagées et pour repérer d'éventuels phénomènes épidémiques.

La surveillance des IAS est très fortement recommandée dans les textes réglementaires et représente un véritable outil de mesure de la qualité et du niveau de sécurité des soins dans un établissement de santé. C'est pour cette raison qu'il est utilisé en France comme un des critères pour l'attribution ou le renouvellement d'une autorisation d'activité.

E. Contexte réglementaire particulier et recommandations portant sur la surveillance des IN en réanimation

Deux références particulières au monde de la réanimation viennent renforcer la consigne de surveillance : une circulaire spécifique à la réanimation et une conférence de consensus des sociétés savantes de réanimation.

La circulaire DHOS/SDO n°2003-413 du 27 août 2003 (circulaire d'application du décret n°2002-466 du 5 avril 2002) précise les modalités techniques, architecturales, organisationnelles et logistiques de fonctionnement des services de réanimation, des unités de surveillances continues ou de soins intensifs. Parmi les critères pour l'attribution de l'autorisation d'activité de réanimation par l'Agence régionale de santé (ARS) figurent la prévention et la surveillance des infections nosocomiales. La circulaire rappelle que la prise en charge du risque infectieux nosocomial est une priorité en réanimation.

La 5^{ème} conférence de consensus commune à la Société française d'anesthésie et de réanimation (SFAR) et à la Société de réanimation de langue française (SRLF), a porté sur la prévention des infections nosocomiales en réanimation – transmission croisée et

nouveau-né exclue (61). La surveillance des infections acquises en réanimation y est également recommandée (question 1). Les principales définitions d'IN sont rappelées et le réseau REA RAISIN est évoqué.

La surveillance des IN en réanimation est donc vivement souhaitable, idéalement dans le cadre d'un réseau structuré comme l'est celui du RAISIN.

F. Surveillance épidémiologique des infections acquises en réanimation

Intérêt

La surveillance des infections acquises en réanimation peut être utilisée pour la production d'un véritable indicateur de résultat en termes de sécurité ou de qualité des soins. En effet, un certain nombre d'infections acquises en réanimation sont accessibles à des actions de prévention (49). La réduction du taux observé d'IN représentera un objectif quantifié à atteindre.

Le réseau REA RAISIN propose aux établissements participant à cette surveillance de se comparer entre eux, pour la même région, grâce à la distribution des valeurs des taux d'IN par site infectieux de l'ensemble des services. La notion d'outlier est précisée dans le protocole : il s'agit d'un service dont le taux est différent de celui du groupe des services participants. Un seuil est calculé au-delà duquel la valeur observée pour un service et pour un type d'infection donnée est considérée comme « différente » de celle du groupe. Cette information calculée, une fois le recueil de données réalisé, est rendue aux services avec le rapport régional, de manière anonyme. Les coordonnateurs régionaux de la surveillance en informent l'antenne régionale de lutte contre les infections associées aux soins (ARLIN) ou l'équipe d'hygiène dont le service de réanimation dépend pour qu'une analyse plus détaillée du résultat soit réalisée et que des actions correctives soient menées. Grâce à ce retour vers les services participants, un réel benchmarking est possible.

La surveillance prospective des infections acquises en réanimation peut devenir un véritable outil de pilotage pour l'encadrement médical et paramédical d'un service de

réanimation. L'impact des actions décidées et mises en œuvre peut être détecté sur les résultats de la surveillance.

On peut se demander *in fine* si le simple fait de surveiller a déjà un effet propre. Cette réflexion a été menée par Bénet et coll (62) en 2012. Ils ont constaté que le taux de pneumopathies acquises sous ventilation mécanique augmentait de manière sensible lorsque l'on interrompt de manière prolongée la surveillance dédiée (Figure 4). Les auteurs insistent sur le fait que le décrochage est réversible et que cela pourrait être expliqué par l'effet de la surveillance. Ces résultats sont à confirmer sur une plus grande échelle par une étude multicentrique.

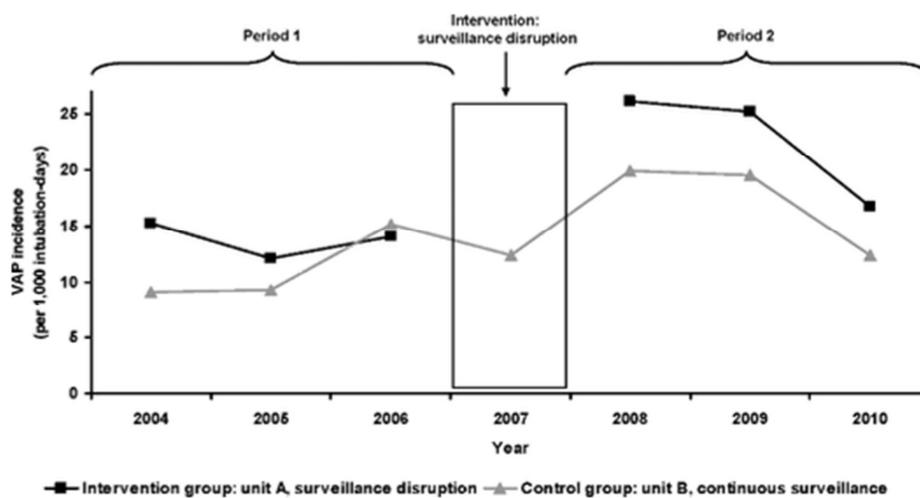


Figure 1 Trend of ventilator-associated pneumonia incidence in ICU, Edouard Herriot Hospital, Lyon (France), 2004-2010. NOTE: The intervention group was unit A with surveillance disruption in 2007, the control group was unit B with continuous surveillance. Period 1 (pre-test period) comprised patients hospitalized during 2004 to 2006, period 2 (post-test period) involved patients hospitalized during 2008 to 2010. During period 1, no difference in the VAP attack rate (number of VAPs per 100 intubated patients) was observed between units A and B ($P = 0.43$). During period 2, the VAP attack rate was higher in unit A compared to unit B ($P = 0.002$). In unit A, the VAP attack rate increased between periods 1 and 2 ($P < 0.001$). In unit B, the VAP attack rate did not change between periods 1 and 2 ($P = 0.17$).

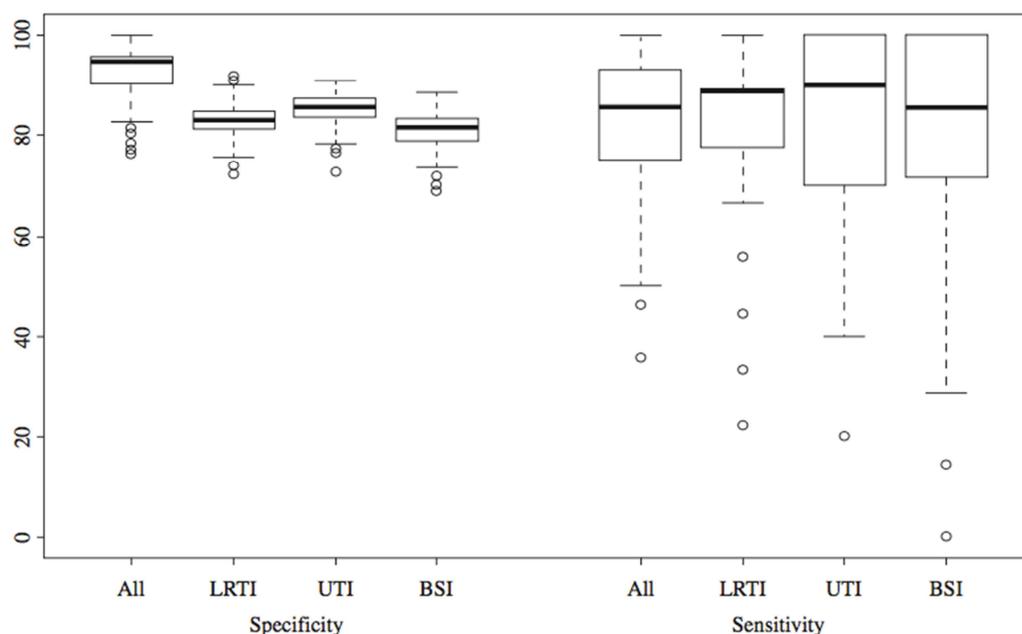
Figure 4 : Evolution du taux d'incidence des pneumopathies acquises sous ventilation mécanique de 2 services de réanimation, de 2004 à 2010, des Hospices Civils de Lyon (62)

Difficultés et limites

Les écueils de la surveillance prospective des infections acquises en réanimation sont nombreux :

- Non application constante de la définition utilisée dans le cadre de la surveillance en réseau. Cela peut se produire dans plusieurs cas de figure : la personne qui recueille

applique une définition qui lui est propre ou liée au service participant ; l'information recueillie est non validée ou approximative ; la personne assurant la collecte des données n'est pas formée ou ne maîtrise pas le protocole de surveillance. On ne sait pas ce que l'on surveille vraiment. Il y a un biais d'information qui va dépendre surtout de l'organisation pratique de la surveillance : qui recueille ? qui valide ? qui saisit ? qui fait le contrôle des données ? Ce problème peut être évité par la formation préalable des personnes en charge du recueil de données et la mise à disposition d'outils (affiches, mémento, check-list de critères). Il est intéressant de noter que dans certains pays (exemple de l'Allemagne (63)), les responsables de réseaux de surveillance assurent des contrôles de qualité externes pour vérifier la qualité des données enregistrées par chaque centre participant (64–66). Les facteurs indépendants favorisant l'exactitude des données (diagnostics exacts d'IN) en analyse multivariée sont : être médecin et être extérieur à l'unité de réanimation. Selon les auteurs, le seul critère de capacité diagnostique (sensibilité ou spécificité) pour la réalisation d'un diagnostic correct d'une IN en réanimation a été la sensibilité. Ils ont montré que



d'avoir une sensibilité à faire un diagnostic correct d'IN de plus de 50% était significativement lié au diagnostic correct d'infection urinaire et de bactériémie (Figure 5).

Légende :

- All : toutes les IN
- LRTI : infection des voies aériennes inférieures (pneumopathies nosocomiales)
- UTI : infections urinaires
- BSI : bactériémies

Figure 5 : Sensibilité et spécificité à faire le diagnostic correct d'IN de la part de 189 responsables locaux de surveillance des infections acquises en réanimation (Réseau KISS, Allemagne, 2015) (63)

- Non surveillance d'une partie du service : c'est une anomalie plus théorique que la précédente. Cela pourrait arriver en cas de service de réanimation avec plusieurs unités fonctionnelles et que les données d'une unité soient perdues avant la saisie ou non saisies par erreur. Ce problème peut être identifié par un contrôle qualité interne des données par comparaison notamment avec les données d'activités du service (nombre de séjours avec plus de 48h de présence issu du PMSI).
- Pas de recueil continu des données : des patients ne sont pas inclus parce qu'ils ont été admis ou sortis du service le week-end, la nuit ou les jours fériés. Par exemple, le marqueur d'inclusion d'un patient dans le réseau français de surveillance prospective des infections acquises en réanimation REA RAISIN est la sortie du patient. Si la sortie (retour à domicile, transfert ou décès) est réalisée le week-end, il pourrait échapper à la vigilance de la personne assurant le recueil des données. Cela peut être évité si le recueil des éléments constitutifs de la feuille de surveillance a débuté dès le troisième jour de présence du patient et avec un contrôle de qualité interne des données recueillies.
- Valeurs manquantes : Le recueil de données n'est pas complet pour tous les patients inclus. Cela peut poser d'importants problèmes pour le traitement et l'interprétation des données. En effet, les valeurs manquantes peuvent avoir un effet important sur l'analyse qu'il va falloir vérifier et corriger ou prendre en compte de manière adaptée (67,68). La mesure de prévention la plus simple est de mettre à disposition des personnes en charge du recueil, un protocole de surveillance extrêmement précis et clair sur les données à renseigner. Les définitions des événements à collecter doivent être expliquées et admises par les membres de l'équipe en charge de la surveillance. Il faut veiller à une bonne ergonomie pour le recueil de toutes les variables. Il est important d'organiser et d'assurer un contrôle qualité des données. De manière simple, il est impératif que, lors du traitement de données, on soit certain que la valeur enregistrée informatiquement soit conforme à la valeur notée sur le support de recueil et que cette dernière soit plausible c'est-à-dire conforme à la réalité. Cet objectif est difficile à atteindre pour une surveillance active en réseau et continue, si le nombre de centres participants est important. C'est le cas par exemple de la surveillance française

des infections acquises en réanimation. La qualité des données est présentée par la liste et la fréquence des valeurs manquantes par variable. Certains auteurs proposent des outils intéressants pour prendre en compte les valeurs manquantes pour la surveillance en réseau (69).

- Erreurs aléatoires : elles peuvent survenir à tout moment et sont souvent multifactorielles. Seul un contrôle qualité des données permet de les détecter. La technique de la double saisie permet de prévenir celles liées à la saisie des données, mais n'anticipera pas une erreur de remplissage de la grille d'enquête. Des contrôles de cohérence de données peuvent dépister certaines erreurs aléatoires : par exemple, un patient admis du domicile directement en réanimation ne devrait pas avoir une durée de séjour avant la réanimation différente de zéro.

Exploitations des données de la surveillance

Pour mesurer l'impact des infections acquises en réanimation, les données de la littérature (70–79) nous permettent d'identifier deux paramètres régulièrement utilisés :

1. la mortalité associée à la survenue d'une IN ;
2. la mesure d'un excès de la durée de séjour en réanimation pour les patients qui présentent une IN durant leurs séjours.

Les résultats sont contradictoires et cette question reste d'actualité.

L'hétérogénéité dans les résultats peut être due :

- à la variété des pathologies présentées par le patient (un motif d'admission en réanimation, des comorbidités associées ou les défaillances d'organes),
- à la prise en compte d'un micro-organisme particulier responsable de l'infection nosocomiale (entérobactérie, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, ...),
- à un marqueur de multi-résistance aux antibiotiques (SARM, ABRI, PARC, ERG, EPC),
- à un type particulier d'infection nosocomiale (PAVM, bactériémie, BLC, ...).

Ces paramètres peuvent être responsables d'un excès de mortalité ou de durée de séjour, car ils expriment un niveau de gravité de la pathologie qui provoque l'admission en réanimation, de la fragilité du patient ou de la densité des soins qu'il requiert.

La méthodologie choisie a également une part de responsabilité dans ces résultats contradictoires. Par exemple, une grande partie des travaux utilisent des modèles de régression logistique pour expliquer la mortalité, ou de régression linéaire pour expliquer la durée de séjour. Or ces deux modèles font l'hypothèse que l'événement « survenue d'une infection nosocomiale » a lieu au début du suivi, ce qui n'est pas le cas, car par définition les IN apparaissent après au moins 48h de suivi. De même, des études récentes (80–82) ont pointé une surestimation de l'impact des infections acquises en réanimation, sur la mortalité et la durée de séjour, liée à la non prise en compte de la variable « survenue d'une infection nosocomiale » comme une variable dépendante du temps.

En France, peu d'études récentes sont disponibles pour montrer l'effet réel de la survenue d'une infection nosocomiale sur la mortalité et la durée de séjour en réanimation. La plupart des études sont anciennes, sont spécialisées sur un type de patients ou d'infection nosocomiale et mériteraient d'être réactualisées (83–97). Des données françaises sont disponibles grâce au réseau REA-RAISIN ou à la base OUTCOMREA, notamment.

IV. Problématiques de recherche

La surveillance et surtout l'investissement que cela représente en ressources dans cette action de longue haleine (temps de collecte des données, temps de vérification, temps de saisie, temps d'exploitation, temps pour le rendu régulier des résultats, temps pour les actions correctives), ne se justifie que si les IN acquises en réanimation représentent un problème important pour les patients pris en charge dans ces services très spécialisés et que ce problème soit accessible à des actions de prévention.

Mesure d'impact des IN en réanimation

Comment mesurer un tel impact ? Les spécialistes en gestion des risques ont souvent recours à la notion de criticité qui est le produit de la fréquence de l'événement (variable à 5 classes habituellement) et de la gravité en termes de conséquences de l'événement (variable à 5 classes habituellement). Les conséquences des IN sont souvent approchées dans la littérature par la mortalité associée et la genèse d'un excès de durée de séjour lié à la survenue de cette infection. Ces données sont directement accessibles même lors d'une exploitation a posteriori, ce qui n'est pas le cas de la recherche de séquelles pulmonaires après une pneumopathie nosocomiale ou la recherche d'une atteinte de la qualité de vie des patients touchés. Il nous a donc paru légitime de nous intéresser et d'étudier ces deux dimensions d'impact. Le calcul de la criticité pour chacun des types d'infection par site infectieux permettrait d'ailleurs de les hiérarchiser et de faire des propositions en termes d'objectif de surveillance prospective. Faut-il surveiller toutes les IN acquises en réanimation ? Peut-on en cibler certaines ?

Un certain nombre d'auteurs dans la littérature signalent des biais méthodologiques importants dans les publications. Il nous faut les résoudre.

Difficultés pour la modélisation

Estimer l'impact de l'exposition aux infections acquises en réanimation sur la mortalité ou la durée de séjour est complexe, car, par définition, les IN ne sont ni présentes ni en incubation au début de la prise en charge du patient en réanimation. De même, il est nécessaire de prendre en compte comme des variables dépendantes du temps : la variable « exposition aux IN », la « durée de survie » ou la « durée de séjour ». Cela écarte d'emblée l'utilisation de modèles statistiques simples et pourtant largement utilisés dans les publications scientifiques : les régressions logistiques et linéaires (98). En effet, un simple ajustement, par exemple avec un modèle de régression, n'est pas suffisant, car dans ce cas les individus avec des temps de suivis très différents auront le même « poids » sur l'estimation du risque.

Van Walraven et coll. affirment qu'il est « commun » que des études s'exposent à ce biais lié à la non-prise en compte d'une variable comme étant dépendante du temps (81). Alors que cela conduit à une surestimation de l'estimation de l'augmentation de durée de séjour (82).

Les modèles de survie permettent d'étudier le temps écoulé jusqu'à la survenue de l'évènement (décès ou sortie de l'hôpital, par exemple). Dans ce type d'analyse, l'observation est dite censurée si le suivi prend fin et que l'évènement n'a pas été observé. Le temps de suivi est la durée entre l'inclusion du patient (en l'occurrence son admission en réanimation) et sa sortie de réanimation (censure de ce suivi à cette date si l'évènement n'est pas survenu) ou l'apparition de l'évènement d'intérêt (par exemple le décès). Le modèle à risque proportionnel (dit aussi modèle de Cox (99)) est classiquement l'un des plus utilisés pour modéliser la survie (100).

Le modèle de Cox prend en compte le temps au niveau de la variable à expliquer, mais aussi au niveau des variables d'ajustement qui peuvent être dépendantes du temps. Le modèle de Cox accepte des durées de suivi variables. Il a aussi ses inconvénients : il fait l'hypothèse que la censure à droite est non informative. Ceci n'est pas forcément toujours le cas, notamment si la censure dépend d'un changement d'état de santé de l'individu.

Par ailleurs, on constate, dans certains cas, qu'il existe une compétition entre plusieurs états ou évènements, l'un empêchant l'autre. C'est le cas entre le décès et la sortie vivante. La variable « décès » et la variable « sortie vivante » sont deux risques

compétitifs. En cas de décès, la censure à droite sera informative. Les modèles à risques compétitifs sont capables de prendre en compte l'information apportée par la censure.

Il nous reste à trouver l'estimateur le moins biaisé pour la mortalité et pour la durée de séjour.

Autre intérêt pour la surveillance ?

Les données de la surveillance doivent être utilisées. La surveillance doit avoir une finalité : le plus fréquemment il s'agit d'un véritable indicateur de qualité et de sécurité des soins. Cela pourrait être un outil de vigilance, mais cela implique de produire des données avec une fréquence assez courte pour pouvoir générer une alerte pertinente. C'est une application possible de la surveillance REA RAISIN si les informations sont saisies rapidement et au fil de l'eau, et qu'un point est fait de manière hebdomadaire par exemple. Malheureusement l'information sera toujours produite a posteriori car le marqueur d'inclusion dans le réseau pour un patient est sa sortie de réanimation.

En 2013, le réseau REA RAISIN a cessé d'enregistrer les bactériuries. Toutefois de nouvelles variables ont été introduites : la présence de BMR durant le séjour, avec une distinction pour les BMR importées ou de production in situ. Le réseau pourra produire des informations sur les BMR d'origines tant cliniques qu'épidémiologiques.

La surveillance du portage des BMR, notamment du SARM, est recommandée en réanimation sur décision du CLIN ou de la structure en charge de la gestion du risque infectieux. Un patient découvert porteur sera pris en charge avec des précautions complémentaires de type Contact. Cette stratégie « *Search and isolate* », combinée à une politique très affirmée de promotion des précautions standard, semble porter ses fruits vu que la prévalence de SARM parmi les souches de *S. aureus* diminue progressivement.

Nous nous sommes intéressés à l'exploitation des informations liées à cette surveillance microbiologique à visée épidémiologique. Les recommandations françaises (49)(48) précisent que si le dépistage du SARM est décidé : il devra être réalisé à l'admission et de manière hebdomadaire jusqu'au départ du patient. Cette surveillance microbiologique peut-elle servir d'outil de vigilance ? A l'inverse, elle peut nous servir à estimer la détectabilité des épisodes épidémiques ou des transmissions croisées grâce au typage des souches.

V. Approches expérimentales

A. Mesure d'impact des infections acquises en réanimation

En première intention, nous avons recueilli les données issues de la surveillance prospective des IAR du service de réanimation médicale de l'Hôpital de Hautepierre. Ce service a été choisi car c'est celui pour lequel nous disposons, au CHU de Strasbourg, du plus grand recul en termes d'adhésion au réseau Réa RAISIN (Protocole national de surveillance prospective des infections acquises en réanimation du Réseau national d'Alerte, d'Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales). Le protocole national de surveillance ayant évolué en 11 ans, il a fallu fusionner 3 tables de données sensiblement différentes et vérifier l'absence d'anomalies liées à cette fusion.

Dans cette base, il n'y a aucune variable recueillie portant sur la pathologie qu'a présentée le patient (motif d'admission, diagnostic réel et complications éventuelles) alors qu'il s'agit d'un paramètre important d'ajustement. Il nous a paru nécessaire d'incorporer des données issues de la base médico-économique du Programme de médicalisation des systèmes d'information (PMSI) du CHU de Strasbourg pour combler ce manque.

Après avoir obtenu les autorisations nécessaires, nous avons travaillé à la conciliation automatisée des 2 bases de données (PMSI et REA RAISIN) par correspondance approximative. L'utilisation des distances de Levensthein (101) a permis une vérification du résultat de la fusion des bases. La distance de Levensthein est une mesure de la similarité entre deux chaînes de caractères. Nous avons utilisé la fonction *adist* présente par défaut dans le logiciel R (102)(103). Elle a été calculée pour chacune des variables identifiées comme pouvant servir de clef de fusion dans les deux tables (PMSI et REA RAISIN). Une fois le contrôle qualité achevé, la base a été anonymisée.

Nous avons réalisé une analyse descriptive de la cohorte des patients inclus durant les 11 années de surveillance. Nous avons réalisé une analyse univariée puis multivariée pour

expliquer la survenue de la première IAR par séjour à l'aide d'un modèle de Cox avec variables dépendantes du temps.

Nous avons constaté un effet période entre les années 2004 à 2009 et les années 2010 à 2014 que nous avons étudié. Une nouvelle variable « période » a été introduite dans les analyses ultérieures.

Différentes approches multivariées classiques ont ensuite été appliquées : un modèle de Cox (104) avec variables explicatives dépendantes du temps et une régression logistique pour évaluer les résultats obtenus par de telles méthodes.

Nous avons ensuite utilisé des techniques innovantes. Différents modèles multi-états ont été testés avec 3 ou 4 ou 6 états, avec différents modes de transition et différentes méthodes d'estimation (Cox ou exponentiel). Pour visualiser ce que donnent les méthodes, nous avons développé une « application Web » qui permet de simuler selon différents paramètres que l'on peut faire varier à l'aide de boutons à déplacer (oui/non ou horizontalement selon l'intensité du facteur), les courbes de probabilité instantanée de transition vers les différents états.

L'excès de durée de séjour a été estimé à l'aide d'un modèle multi-état grâce au package *etm* (105). Les intervalles de confiance des excès de durée de séjour ont été calculés par bootstrap (package *boot* du logiciel R). Les modèles multi-états avec ajustement ont été construits avec le package *mstate* (106)(107). La figure 6 montre la modélisation utilisée en 4 états.

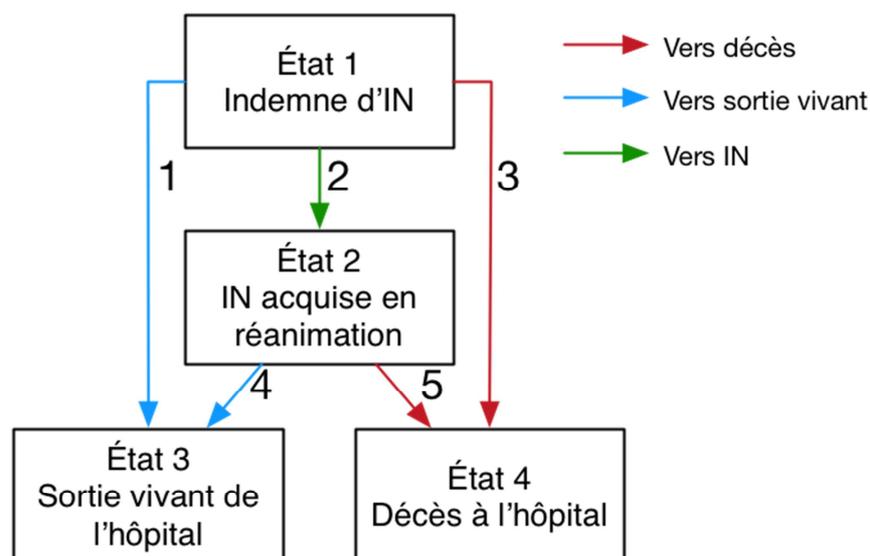


Figure 6 : Modèle en 4 états

Les analyses ont été réalisées selon deux périodes de suivi : le séjour de réanimation (admission en réanimation jusqu'à la sortie de réanimation) et le séjour complet (admission en réanimation jusqu'à la sortie de l'établissement).

Après avoir étudié l'impact de la première IAR survenue chez le patient, l'évaluation a porté sur les 4 principaux types d'IAR : infection urinaire, infection liée aux cathéters, bactériémie, pneumopathie nosocomiale.

B. Etude microbiologique des phénomènes épidémiques

Pour évaluer la stratégie de dépistage en vigueur au CHU de Strasbourg, nous avons choisi d'étudier celle liée à *Staphylococcus aureus* résistant à la méthiciline (SARM).

Pour en vérifier l'exhaustivité, une base de données a été constituée par la fusion d'une extraction de la base GLIMS du premier semestre 2012 de recherches épidémiologiques de SARM réalisées pour l'ensemble des services de réanimation adulte du CHU, avec une extraction du PMSI des patients hospitalisés durant la même période dans tous les services de réanimation adulte du CHU (5 services). La méthodologie utilisée pour la fusion des bases est la même que celle utilisée pour la partie épidémiologique de la thèse décrite précédemment (première partie).

Nous avons comparé le nombre de dépistages réalisés (positifs et négatifs) avec ceux attendus (1 à l'admission et 1/semaine de présence au service).

Pour exploiter les souches de *S. aureus* identifiées chez les patients, se pose la question du typage de souches le plus pertinent pour étudier la transmission. Il est connu que les méthodes de typage ne se recoupent pas parfaitement (108).

Nous avons relevé l'ensemble des souches de *S. aureus* identifiées durant une période de 3 mois consécutifs (15 février au 15 mai 2012) issues de tous les services de réanimation

adulte du CHU de Strasbourg : souches de dépistage d'admission et hebdomadaires par frottis nasal et les souches isolées de prélèvements cliniques (hémocultures, dispositifs intravasculaires, lavages broncho-alvéolaires, ...). L'ensemble des souches, présentant une résistance ou non à la méticilline, ont été incluses, soit 329 souches pour 192 patients.

Pour le typage des souches de *S. aureus*, nous avons utilisé plusieurs méthodes :

- recherche de toxines de *S. aureus* par des méthodes immuno-enzymatiques : leucocidine de Pantone-Valentine (LukF-PV et LukS-PV), entérotoxines (A, B, C, D, E, G, H, I, TSST-1), épidermolysine (ETA et ETB),
- recherche de facteurs de virulence membranaires par PCR : *elastin binding protein* (ebp), *lamin binding protein* (Lbp), *fibronectin binding protein* A et B (FnbA et FnbB), *clumping factor* A et B (clfA et clfB), *fibrinogen binding protein* (Fib),
- les profils des différentes souches obtenus par les deux techniques précédentes (toxines et facteurs membranaires) ont été analysés à l'aide d'une technique d'Analyse des Correspondances Multiples à l'aide de la fonction MCA du package *FactoMineR* du logiciel R,
- typage de toutes les souches par le système Diversilab® (amplification de séquences répétitives (rep-PCR), détection/séparation des fragments par électrophorèse réalisée dans un système microfluidique ADN LabChip, analyse des données).

Pour étudier la possibilité de diffusion épidémique des souches de *Staphylococcus aureus* dans les services de réanimation adulte, un tableau synoptique incluant tous les patients ayant bénéficié d'un dépistage ou d'un prélèvement clinique positif à *S. aureus* a été élaboré.

Plusieurs groupes de patients ont été déterminés :

1. patients indemnes de portage de *S. aureus* à l'admission, restant négatifs durant leur séjour et sans aucun prélèvement clinique positif. Il s'agit du groupe des patients exposés – indemnes,

2. patients indemnes de portage de *S. aureus* à l'admission, mais présentant un prélèvement épidémiologique ou clinique positif durant leur séjour. Il s'agit du groupe des patients exposés – contaminés,
3. patients porteurs d'une souche de *S. aureus* à l'admission, avec ou sans autre prélèvement épidémiologique ou une infection *S. aureus* associée. Il s'agit du groupe des patients porteurs,
4. patients au profil incomplet : absence de dépistage d'admission ou de dépistage hebdomadaire.

Les souches étudiées sont celles des patients du groupe 2 et des patients du groupe 3 ayant partagé la même équipe soignante que les patients du groupe 2.

Il a été vérifié si les 3 méthodes de typage des souches ont indiqué une identité clonale ou non.

Une mesure de l'exhaustivité du dépistage de SARM a été effectuée sur la période d'étude.

PREMIERE PARTIE :
EXPLOITATION DES DONNEES DE
SURVEILLANCE

I. Etude de l'impact des infections acquises en réanimation sur la mortalité et la durée de séjour

A. Introduction

a) Démarche scientifique

La première difficulté a été la construction de la base de données pour la réalisation de l'étude. En effet, il a fallu fusionner tout d'abord 3 bases différentes portant sur les données de la surveillance prospective des infections acquises en réanimation. Le protocole a évolué plusieurs fois sur les 11 années de l'étude provoquant des modifications de variables, de leur format ou codage. La nature des bases n'a pas été la même sur la période de temps : base Access puis base Excel. Tous les protocoles de la surveillance REA RAISIN sont encore accessibles.

Un travail d'homogénéisation et de vérification a dû être mené. Toutes les variables n'ont pas pu être conservées.

Pour compléter les données disponibles par la surveillance prospective des infections acquises en réanimation, nous avons demandé une extraction de la base du PMSI concernant des éléments chronologiques de vérification (dates d'entrée et de sortie, de transferts internes), sur le statut vital, le score de gravité IGSII et une information sur le diagnostic retenu lors du séjour du patient.

Nous n'avons pas pu, pour des raisons logistiques, avoir accès à l'ensemble des dossiers de la cohorte des patients hospitalisés durant les 11 années de l'étude. Pour avoir une information sur les raisons médicales de recours à la réanimation, nous nous sommes

tournés vers les informations contenues dans le PMSI. Dans cette base, nous avons eu accès au critère majeur de diagnostic (CMD) du groupe homogène de malades (GHM) pour l'ensemble de l'hospitalisation. Le séjour en réanimation est habituellement le plus lourd du point de vue « économique » pour l'hospitalisation ; nous avons fait l'approximation que le CMD retenu est celui lié au séjour en réanimation. Le CMD est une approche assez grossière malheureusement. Toutefois un intérêt majeur du recours au PMSI a été de nous donner accès au séjour du patient après la réanimation, avant sa sortie de l'établissement.

Il a fallu ensuite fusionner la base de surveillance des infections acquises en réanimation avec celle extraite du PMSI. Nous avons implémenté dans le logiciel R un algorithme de conciliation des données basé sur des techniques de mesure de la similarité entre deux chaînes de caractères (distance de Levensthein). Un score de distance pondéré a été calculé en utilisant les informations communes disponibles dans les deux bases de données. Un seuil a été fixé au-delà duquel les correspondances ont dû être validées manuellement. Cette méthode a permis de gérer de grandes matrices de comparaison malgré les contraintes techniques imposées par les postes informatiques disponibles.

Une étape importante de contrôle de la qualité des données a dû être menée par comparaison entre des champs similaires entre la base fusionnée et la base du PMSI qui nous a servi de référence. En cas de discordance, les données du PMSI ont été considérées comme étant les plus fiables. Toutes corrections ont été tracées.

Les patients mineurs ont été exclus de l'étude.

Nous avons été gênés par les données liées aux infections liées aux cathéters veineux centraux. La surveillance liée à cette IAS a été modifiée fondamentalement durant cette surveillance. Un module spécifique a été mis au point. Il nous a été très difficile d'homogénéiser cette surveillance sur la longue période de suivi, et nous avons constaté des anomalies dans les données recueillies. Le nombre d'événements est resté faible par année sur l'ensemble des onze années. Nous avons préféré exclure ce site infectieux du travail de cette thèse. Un travail plus précis devra y être consacré.

Une fois la base globale constituée, elle a été anonymisée pour pouvoir être utilisée sur du matériel informatique plus approprié.

b) Analyse statistique

Rapidement, nos lectures nous ont conduits à vouloir avoir recours à des modèles multi-états pour contourner les problèmes méthodologiques signalés.

Plusieurs problèmes se sont posés à ce sujet. Quel outil informatique allions-nous pouvoir utiliser ? Le choix du logiciel R s'est rapidement imposé pour pouvoir utiliser les packages dédiés utilisés par les spécialistes de la question. Il a fallu comprendre les packages pour savoir lequel serait utile à quel moment.

Une des contraintes liée à l'utilisation de modèles multi-états est le découpage d'un séjour d'un patient en plusieurs états et un remodelage du fichier de données. Un contrôle qualité de la base de données est indispensable. Chaque package a son outil intégré (*etm*, *mstate*, *survival*). Ensuite, s'est posée la question de la possibilité de faire des ajustements. Ce n'est pas possible avec le package *etm*, ça l'est avec le package *mstate*. Toutefois ce package ne permettra pas d'estimer le hazard ratio qui est l'estimateur qui nous intéresse. De la même manière, l'utilisation du package *etm* pour le calcul de l'excès de durée de séjour empêche la réalisation d'ajustements (*mstate* n'est pas utilisable pour ce calcul). Pour contourner cet obstacle, des analyses en sous-groupes ont été effectuées pour avoir une idée du poids de certains facteurs dans l'évolution des estimateurs. En l'absence de formule mathématique reconnue, le calcul des bornes des intervalles de confiance des excès de durée de séjours a été réalisé par une technique de simulation Bootstrap (109) (1000 itérations au minimum). Ces calculs ont été extrêmement coûteux en opérations pour un ordinateur standard ce qui pose le problème du temps qu'ils nécessitent et de l'instabilité machine qu'ils génèrent.

Pour assurer une traçabilité et une reproductibilité des analyses statistiques, des techniques d'analyse reproductible ont été utilisées. Elles permettent à partir de données source, non modifiées, de lancer une suite de scripts qui, en fin de chaîne, produisent des rapports d'analyse au format HTML sans intervention humaine. Chaque étape est tracée via le code écrit dans les scripts. Si une modification dans les données apparaît (suite à une nouvelle itération dans le data management par exemple), au prix de modifications retraçables dans les scripts, il est possible de produire des rapports d'analyse à jour avec de nouvelles données.

Nous avons été confrontés au biais du temps d'immortalité (110). Ce biais apparaît lorsque, par construction, l'événement étudié ne peut pas survenir. Dans notre travail à partir du protocole REA RAISIN, le suivi débute après la 48^{ème} heure de présence en réanimation. Par construction, l'IN ne peut survenir pendant ces deux premiers jours. Ce temps a été supprimé.

Nous nous sommes interrogés sur la pertinence de limiter le suivi au seul séjour de réanimation. Le fait d'inclure la période d'hospitalisation après la réanimation a permis de récolter plus d'évènements et finalement d'avoir une idée plus précise de l'impact des IN sur le devenir des patients touchés. C'est ce suivi complet que nous avons décidé de montrer dans le projet de publication.

B. Article (*Article en cours de préparation, non encore soumis*)

Title

Comparative impact of nosocomial infections acquired in intensive care on mortality and length of stay until discharge: a retrospective, 9-year study

Authors

Rank	Name	Affiliation
1	MULLER Joris	Service d'Hygiène hospitalière, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, France
2	SEVERAC François	Groupe Méthode en Recherche Clinique, Service de santé publique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, France
		ICube UMR 7357, University of Strasbourg
3	JEGU Jérémie	Laboratoire d'Épidémiologie et de Santé Publique, EA3430, FMTS, University of Strasbourg, Strasbourg, France
		Service de santé publique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
4	TRAN BA LOC Pierre	Département d'Information Médicale, Service de santé publique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, France
5	DEBOSCKER Stéphanie	Service d'Hygiène hospitalière, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, France
		ICube UMR 7357, University of Strasbourg
6	SCHAEFFER Mickael	Groupe Méthode en Recherche Clinique, Service de santé publique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, France
7	PREVOST Gilles	Université de Strasbourg, CHRU Strasbourg, Fédération de Médecine Translationnelle de Strasbourg, VBP EA 7290, 67000 Strasbourg, France

8	MEZIANI Ferhat	Medical Intensive Care Unit, NHC, CHRU de Strasbourg, France
9	SCHNEIDER Francis	Medical Intensive Care Unit, Hautepierre, CHRU de Strasbourg, France
10	LAVIGNE Thierry	Infection Control Unit, CHRU de Strasbourg, France
		Université de Strasbourg, CHRU Strasbourg, Fédération de Médecine Translationnelle de Strasbourg, VBP EA 7290, 67000 Strasbourg, France

Corresponding author: Thierry Lavigne

Keywords

En MESH Term

- Hospital-acquired infection
- Intensive care unit
- Cross infection (MeSH)

Abbreviation

BSI	Bloodstream infection
CNIL	French national data authority
HR	Hazard ratio
ICU	Intensive care unit
ICU-AI	ICU-acquired infection
LoS	Length of stay
NP	Nosocomial pneumonia
OR	Odds ratio
PAF	Population attributable fraction
SAPSII	Simplified acute physiology score II
UTI	Urinary tract infection

Introduction

Intensive care unit-acquired infections (ICU-AIs) are still a subject of concern. In France, almost a quarter of ICU patients acquire infections, compared to an average of 5% in other wards (21). The most prevalent ICU-AIs include nosocomial pneumonia (NP), urinary-tract infection (UTI), and bloodstream infection (BSI) (21).

The impact of ICU-AIs has already been widely studied (111–118). Besides their impact on a patient's condition, they represent a great burden not only on ICUs but on all other healthcare facilities. Most ICU patients are not discharged directly from the ICU but hospitalized for several more days in other wards. The impact of ICU-AIs on the whole hospital stay (from ICU admission to hospital discharge) has rarely been studied, however, and remains a subject of controversy, with the few existing studies varying in terms of design, type of infection, and follow-up time.

Conducting epidemiological analyses of deaths attributable to ICU-AIs proves challenging, requiring appropriate statistical models and careful interpretation (119). The two classical indicators for assessing the impact of ICU-AIs are extended length of stay (LoS) and mortality. Statistical modeling of these indicators could account for the contradictory results so far reported (119).

The challenge comes mainly from the time-dependent (120) nature of both the outcome we want to model (either death or hospital discharge) and the main explanatory variable (date of acquiring the ICU-AI). We have to take into account the follow-up time, exposure time, and competitive risk. The follow-up time could be assessed using a Cox model. ICU-AI is a time-dependent event, thus requiring modeling in order to avoid bias (121) and overestimation of the impact of NI. Two ways of assessing this requirement are the extended Cox model or multi-state models. Extended Cox models are capable of taking into account this time-dependence, yet not enough to avoid biased estimators due to competing events, such as death preventing observation of alive discharge events, and alive or dead discharge preventing observation of the acquisition of the ICU-AI. Multi-state models are thus a more appropriate framework for this (119,122,123). In order to understand the effect of these various factors, the following different metrics must be computed: at-risk time, time-dependent bias, and competing events (74,123).

Most studies focus on one particular type of ICU-AI (NP (74,124,125), BSI (126), UTI (127), bacteria (126,128) or population (129,130), thus rendering a comparison of the impact between the different types of ICU-AI challenging. Furthermore, most trials only

focus on patients' hospitalization in the ICU, yet acquiring an ICU-AI may also impact their time spent in other wards.

Estimations may not be accurate due to some statistical limits. Odds ratios (OR) or hazard ratios (HR) or population attributable fraction (PAF) vary significantly from one article to another, as do the methodologies used. This renders the results difficult to compare.

There is value in studying extended LoS alongside mortality, as these two parameters are calculated from the same variable (ICU discharge), though in different ways. The LoS excess is measured from alive discharges, while mortality is based directly on "deceased discharges". The two are not, however, direct opposites, especially in cases involving censored data, such as when a patient's follow-up ends with censure and not death or hospital discharge. It is thus necessary to have two different models.

Hypothesis / Objectives

Our study sought to assess the risk of mortality, alive discharge, and extended LoS during an entire hospitalization caused by different kinds of ICU-AIs, versus patients with no ICU-AIs. We hypothesized that patients with ICU-AIs would exhibit higher mortality and longer hospitalization, regardless of type of ICU-AI.

Methods

Design, patients, and setting

Our retrospective cohort was based on data collected continuously and prospectively in the 30-bed ICU of the Strasbourg University Hospital, France, for the national nosocomial infection surveillance network survey (23), over 9 years from 2004 to 2009. All included patients were aged at least 18 years old and hospitalized in this ICU for more than 2 days. We merged this database with the local DRG-based database (PMSI – *Programme de médicalisation des Systèmes d'Information*). This way, we obtained data pertaining to the whole hospitalization, including primary diagnosis, SAPSII, hospitalization length, and mortality. Patients without a reliable matching record in the two databases and with an age less than 18 years at the inclusion (n=16, 0.3%) were excluded from analysis.

Definition of follow-up and endpoint

Follow-up started 2 days following admission to the ICU, when patients are susceptible to ICU-AIs, continuing until the patient was discharged, either alive or dead. We censored the follow-up at 100 days. For the 149 patients (2.5%) discharged exactly 2 days after admission to the ICU, we defined the discharge time as midday then added 0.5 days to their follow-up time. When an ICU-AI manifested at the beginning of follow-up, we estimated it added 0.3 days. When an ICU-AI occurred exactly at the end of the follow-up, we estimated it to have occurred 0.3 days before the end of follow-up. This was necessary to be able to use the extended Cox models and multistate models, since these models cannot function with two events occurring simultaneously.

Two endpoints were assessed:

1. In-hospital death of all causes.
2. Hospital discharge, regardless of type of mode (to home, transfer to another center...).

Definition of the time-dependent exposure: ICU-AI

Exposure was defined according to the ICU-AI episode of interest: nosocomial pneumonia (NP), urinary tract infection (UTI), bloodstream infection (BSI), or the first of these to manifest (first ICU-AI). We used the clinical and microbiological criteria definitions of these ICU-AIs outlined by the French Survey Network for ICU-Acquired Infection protocol (REA-RAISIN - *Réseau d'Alerte, d'Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales*) (131), and the same definition as the European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) case definitions (132). Infections were defined as ICU-acquired if manifesting after the first 48 hours following ICU admission. For each type, we considered only the first ICU-AI (e.g., if a patient had two UTIs, only the first was taken into account). Furthermore, we created a "first ICU-AI" variable, for the first ICU-AI manifesting in a patient, regardless of type.

ICU-AIs were used as time-dependent covariables in the extended Cox model, and as a transition ("ICU-AI acquired", see Figure 1) in multi-state models. When acquired, we assumed the patient was exposed to this ICU-AI until the end of follow-up.

Definition of the time-fixed covariables

The other, non-time-dependent, covariables were age, gender, SAPSII score, group of condition, immune system condition on ICU admission, and antibiotic usage in the 48 hours surrounding ICU admission.

Extended Cox model and Logistic regression model

The hazard ratio (HR) of time from ICU admission until death was modeled using a time-dependent regression model assuming proportional hazard, also known as the extended Cox model. We designed various models according to the different types of ICU-AI as time-dependent covariables. We compared time-adjusted and fully-adjusted hazard ratios (HRs) to enable assessment of the amount of confounding factors in the time-adjusted estimates. We worked on the assumption that the effect of the infection time on the outcome (time to death or time to alive discharge) at time t depends on the value of this variable at the same time t , and not on the value at an earlier or later time.

The hazard ratio of time from ICU admission to alive discharge was included into similar models using “alive discharge” as an endpoint.

The odds ratio (OR) were computed with logistic regression using in hospital death as outcome, ICU-AI as binary covariables and the others time-fixed covariables described before.

Length of stay (LoS) excess estimation

In order to take into account the time-dependent nature of both infection exposure (time until ICU-AI) and the competing risk between outcomes (133), LoS excess until hospital discharge was estimated by a multistate model implemented with the *etm* package in R (134). The confidence intervals (CIs) were estimated using 1000 bootstrap resamples. We used a model with four states and five possible transitions (Figure 1). This time-adjusted estimate cannot be adjusted for other confounders (135). To assess their effect, we stratified LoS excess for each ICU-AI type and covariable sub-group. Numerical variables (SAPSII, age, etc.) were transformed into categorical variables using either quantiles or clinically relevant values.

Statistical analysis implementation

All analyses were performed using R software (107,136) Version 3.3.2. Where possible, all the analyses were carried out according to the reproducible data analysis principle.

Ethical standards

Our study was approved by the local ethics committee (ref. FC/2016-42). The database collections were declared to the French national data authority (CNIL, authorization 1881691) and processed following France's confidentiality laws.

Results

Overview

Of the 6,069 patients hospitalized in the ICU over 9 years, 718 (12%) developed at least one ICU-AI. The most common ICU-AI observed was pneumonia (n=457, 7.5%), followed by blood stream infection (n=246, 4.1%), and urinary tract infection (n=230, 3.8%). More than a quarter of patients with ICU-AIs (n=187, 26%) contracted two or more ICU-AI types during their stay.

The characteristics of all patients and comparisons of those with or without ICU-AI are shown in Table 1. Patients with ICU-AIs were predominantly male (gender ratio = 1.5 vs. 1.3), had higher SAPSII scores (55 vs. 49), and were often admitted to the ICU in an immunodepressed state (31% vs. 22%). They also underwent significantly more invasive procedures: intubation (94% vs. 64%), central venous catheter (85% vs. 58%), or urinary catheter (98% vs. 90%). Age and proportion of patients admitted with antibiotics were comparable. Patients with ICU-AIs were exposed to ICU-AI 55% of their time in the ICU (24 days of exposure during 44 days of ICU hospitalization).

Inpatient mortality

The crude proportion of in-hospital death was 1.5 times higher among patients with ICU-AIs (40% vs. 26%). This mortality was the highest for those with BSI (45%). Table 2 presents the hazard ratios of death produced by the extended Cox model. The HR of death up to hospital discharge for patients with any ICU-AI type was significant prior to adjustment (HR=1.37, 95% CI: 1.19-1.57), and remained so after full adjustment (HR=1.15, 95% CI: 1.00-1.33). The same was true for BSI (HR=1.34, 95% CI: 1.09-1.63, when the model was fully adjusted). However, for NP, the HR did not remain significant following full adjustment (HR=1.34, 95% CI: 1.14-1.56; versus following adjustment HR=1.10, 95% CI: 0.94-1.29). For UTI, the HR remained non-significant in both cases (HR=1.17, 95% CI: 0.92-1.48, with a fully adjusted model).

Length of stay

Table 2 presents LoS excess. The crude excess of LoS was 28 days. The most important difference observed for patients with UTIs (34 days), then those with NP (29 days), then those with BSIs (24 days).

Using a multi-state model, the estimates of extended LoS were lower, though not in the same order: NP (11 days), then UTI (10 days), and lastly BSI (7 days).

Figure 2 presents the extended LoS for patients with ICU-AIs according to the time since ICU admission. The curves represent the differences between the average LoS values for patients with or without ICU-AIs, depending on ICU-AI type. For example, the mean LoS until hospital discharge following 25 days of ICU was 50 days for patients without a first ICU-AI, versus 59 days for those with first ICU-AIs, resulting in an extended LoS of 9 days. The extended LoS decreased relatively constantly each day since admission.

Table 3 presents a sub-group analysis of crude values and estimates of extended LoS by means of multi-state models. On subgroup comparison, there was no significant difference (CI overlap) found among them, but only trends.

Discussion

As we hypothesized, ICU-AI prevalence increased both mortality and LoS. However, the impact varied according to ICU-AI type studied. NP had the most significant impact on LoS, though only moderately affected mortality. BSIs had the most significant impact on mortality, though only moderately impacted LoS. Finally, UTIs had no impact at all on mortality, yet increased LoS.

We opted to generate two indicators in order to investigate the impact of ICU-AIs on mortality. The first was odds ratios, providing the answer to the question of whether patients with ICU-AIs exhibited higher mortality than others. This indicator, however, did not take into account either LoS or length of ICU-AI exposure. It did offer the advantage, however, of being a well-known indicator that is both easy to interpret and robust.

The other mortality indicator used were hazard ratios (HR), providing an answer to whether patients with ICU-AIs had increased mortality risk every day. Given that we used a proportionate risk model with time-dependent explicative variable, we took into account both LoS and length of ICU-AI exposure.

The OR and HR indicators provided the same results, yet with different estimations. The OR values were superior to those of the HR. This is simply due to patients with ICU-AIs being hospitalized for a longer time. HR did take into account the time, not OR.

Extended LoS was, in basic terms, more significant for patients with UTIs. When calculated using multi-state models, however, it was found to be more significant in NP patients. In both cases, patients with BSIs were found to display the least significant LoS excess. This demonstrates the relevance of using appropriate methods in order to define an accurate indicator of this LoS excess, taking into account both duration of infection exposure and follow-up.

Using covariables in the Cox models in order to estimate probability of alive discharge had very little effect on the indicators.

The HRs for time until alive discharge were less than 1, meaning that contracting an ICU-AI was protective for being discharged alive, patients with ICU-AI stayed longer.

Similarly, the HRs for time to discharge either alive or dead were less than 1. When taking into account discharge type (alive or dead), the HRs demonstrate the same trend, yet to a lesser extent.

What is the value in studying the whole hospitalization (ICU and after ICU)? Firstly, it means we were able to collect more events, involving patients who died after ICU discharge (28% of mortality for the whole hospitalization vs. 21% of the ICU only). We will thus be able to assess whether ICU hospitalization has an effect on LoS after ICU discharge.

Two recent studies assessed UTIs using multi-state models (124,127), estimating LoS excess of 4 and 1.6 days, respectively. This LoS excess was thus much lower than what we found (10 days with MSM), and could be due to our focusing solely on patients who acquired ICU-AIs in the ICU, but not during the whole hospitalization. Our patients were, by definition, in more critical condition, meaning they should be more susceptible to the effects of UTI. More basically, patients admitted to the ICU will have a longer hospitalization.

For bloodstream infections and pneumonia, the excess of LoS was higher in our study but in the same magnitude as the European wide study of Lambert *et al* (135). Our estimates are higher because our follow-up was until hospital discharge, whereas it was until ICU discharge for Lambert's study. The authors also demonstrated that BSIs had a low impact on extended LoS, with comparable figures. They also found that BSI had an effect on

mortality. However, contrary to our findings, NP also had an effect on mortality, whichever model was used. This could be due to their choosing to target solely certain bacteria, whereas we included all types of NP.

Another study (137) conducted in 2010 used the same data acquisition protocol (REA-RAISIN), yet analyzed this data as a case-control study. The authors also reported that BSI appeared to exert the highest impact on mortality (OR=3.9, 95% CI: 1.7-8.7). Our findings on UTI, *i.e.*, its lack of impact on mortality, were also consistent with Januel's findings (population-attributable fraction of death = 0%, 95% CI:-0.4%-0.4%). Nevertheless, these authors found that NP had a significant impact on mortality, contrary to our findings with adjusted models. This could be explained by the difference between the respective study designs (case-control vs. retrospective cohort) and the different metrics (population-attributable fraction and relative odds of death instead of hazard ratio). Furthermore, neither the case-control matching criteria nor the conditional logistic regression model they used took into account the time-dependent nature of infection exposure, which could have led to study bias (138).

Multi-state models are still only scarcely used because they are difficult to manipulate and more complex to understand. There is little documentation on them, with little or no teaching on them in classical biostatistics courses. Moreover, their implementation remains complex because their availability in statistical softwares is relatively recent.

To our knowledge, this is the first study on this topic to take into account the whole hospitalization period, using appropriate statistical methods to estimate extended LoS and mortality risk, adjusting for the main confounders. We used a large monocentric cohort ensuring good statistical power, a multi-state model with enough states, taking into account confounding factors, the timing of infection, and the competitive risk between death, discharge, and ICU-AI acquisition.

Another innovative point to mention is the data link between an epidemiological survey database (REA-Raisin (23,139)) and the related DRG-based data (PMSI (140)). To our knowledge, it is the first study to use REA-RAISIN and PMSI to this end. These analyses could be easily replicated in other ICUs in France, given that most have REA-RAISIN and all have PMSI. Our linking methodology is also available to everyone, as we used open-source software freely-available on the internet.

In our study, we were only able to use the principal pathological families covered in the French PMSI system. There was no detailed differentiation in terms of the precise diagnosis that motivated admission to the ICU. It could be possible to do this after a

detailed analysis of the PMSI database. Our approach was exploratory in nature, at least for the first study where we proceeded by means of uniting both the REA RAISIN and PMSI databases. The patient-side approach was based on defining the main pathological classes, existence or absence of immunodepression, and SAPSII severity score, measured in the first 48 hours of ICU admission. A deeper analysis of the PMSI database should now be conducted to further this aspect.

For the same reasons, we did not use the microbiological services of the REA RAISIN database. This database covers all microorganisms identified in ICU-AI cases, recording even markers of multiresistance to antibiotics for some. By taking into account a certain number of pathogens, we would therefore be able to compare our results with published studies from other authors. The different species of bacteria thus revealed could lead to different results. For example, in a retrospective multicentric cohort by Stewardson (126), the impact on LoS and mortality depended on both the bacteria species and antimicrobial resistance.

Furthermore, we did not take into account exposure to different invasive procedures (time of urinary catheter or intubation tube). This could have been possible by integrating these parameters as covariables. However, we judged it more useful to find a way to analyze this separately, in order to take into account the time dependency. This undoubtedly added further burden on the multistate model, however.

In line with many other authors, we opted to not study the effect of multiple ICU-AIs for an individual patient. As you can see in Table 1, some carried multiple infections. Whether this influences the impact of ICU-AI seems likely, though requires further study.

Our study is monocentric in design, which could limit the generalization of our results. However, our ICU performed polyvalent medico-surgical services. Moreover, the monocentric design meant that our recruited population was probably more homogenous than that found in multicentric studies. This enabled us to avoid center effects, which can be difficult to account for from a methodological point of view (141). Finally, this enabled us to access external databases (PMSI), which would have been difficult with a multicentric approach.

Finally, it is difficult to conduct a multivariate analysis with multistate models to calculate extra LoS. Calculating this indicator is a complex procedure and just as difficult to interpret. It has only been described in one recent study, to the best of our knowledge (126). We have attempted to evaluate the impact of covariables by calculating extra LoS by subgroups. No significant difference could be proven between the different modalities of one given variable, perhaps due to a lack of power. Also, a comparison between adjusted and

non-adjusted HRs (Table 2) revealed no significant difference either, suggesting that the estimation error caused by non-adjustment is minimal.

Conclusion

This study's originality lies in its methodology, its focus on several types of ICU-AI, and combination of two large databases. Our results are in line with the literature. ICU-AIs increase both mortality and hospitalization length. NP has the most significant impact on hospitalization length, yet less so for mortality. BSIs had the most significant impact on mortality, yet moderate impact on LoS. Finally, UTIs had no impact on mortality yet did increase hospitalization length.

Our results pave the way towards new research possibilities, yet could also provide value for studies on costs associated with ICU-AI and their criticality index (142).

Références

(voir Bibliographie générale du document)

Footer

Acknowledgements

We gratefully acknowledge all individuals of the medical ICU involved with data extraction, the Public Health Department of our hospital and the French REA-RAISIN network.

Role of the funding source

The study was unfunded and was investigator-driven and thus independent of any pharmaceutical company. The corresponding author had full access to all the data in the study and had final responsibility for the decision to submit for publication.

Table 1: Patients' characteristics

	Overall	No ICU-AI	First ICU-AI	NP	BSI	UTI
	n = 6069, 100%	n = 5351, 88%	n = 718 12%	n = 457 7.5%	n = 246 4.1%	n = 230 3.8%
Baseline characteristics						
Age - year	65±17	65±17	65±16	66±15	63±17	66±16
Gender = man - no. (%)	3449 (57)	3016 (56)	433 (60)	286 (63)	148 (60)	120 (52)
SAPSII [†] - score	50±19	49±19	55±19	55±18	56±20	53±19
Antibiotics within 48h of ICU admission - no. (%)	4626 (76)	4056 (76)	570 (79)	378 (83)	194 (79)	168 (73)
ICU admission under immunodepression - no. (%)	1402 (23)	1181 (22)	221 (31)	159 (35)	92 (37)	55 (24)
Hospital stay						
Direct admission to ICU from home - no. (%)	2054 (34)	1825 (34)	229 (32)	139 (30)	74 (30)	79 (34)
ICU stay - days	14±24	10±16	44±47	48±52	42±37	55±54
Follow-up time* - days	25±25	22±22	49±30	52±29	48±30	58±32
Hospital stay - days	35±41	30±35	68±60	71±60	65±47	82±71
Mortality						
Death in ICU - no. (%)	1267 (21)	1036 (19)	231 (32)	154 (34)	96 (39)	60 (26)
Death during hospitalization - no. (%)	1696 (28)	1411 (26)	285 (40)	191 (42)	110 (45)	77 (33)
Main group of condition						
Respiratory system - no. (%)	1728 (28)	1517 (28)	211 (29)	144 (32)	65 (26)	68 (30)
Nervous system - no. (%)	947 (16)	826 (15)	121 (17)	77 (17)	35 (14)	50 (22)
Circulatory system - no. (%)	898 (15)	775 (14)	123 (17)	72 (16)	34 (14)	40 (17)
Other - no. (%)	2496 (41)	2233 (42)	263 (37)	164 (36)	112 (46)	72 (31)
Invasive procedure in ICU						
Urinary catheter - no. (%)	5523 (91)	4816 (90)	707 (98)	451 (99)	241 (98)	226 (98)
Intubation - no. (%)	4076 (67)	3401 (64)	675 (94)	447 (98)	227 (92)	209 (91)
Central venous catheter - no. (%)	3711 (61)	3098 (58)	613 (85)	399 (87)	226 (92)	179 (78)
Exposure to ICU-AI						
Days from ICU admission to beginning of ICU-AI			13±13	13±12	15±16	23±21
Exposure in ICU - days			24±22	26±23	23±21	23±21
Exposure to other ICU-AI[§]						
NP - no. (%)					100 (41)	90 (39)
BSI - no. (%)				100 (22)		53 (23)
UTI - no. (%)				90 (20)	53 (22)	

Plus-minus values are means ±SD

Abbreviations: ICU-AI: intensive care unit acquired infection; ICU: intensive care unit; NP: ICU-acquired nosocomial pneumonia; BSI: ICU-acquired blood stream infection; UTI: ICU-acquired urinary tract infection; [†] SAPSII = simplified acute physiology score version II: The higher the score, the more severe is the condition and risk of death;

* Follow-up start 48h after ICU admission until hospital discharge

[§] A patient may have more than one type of ICU-AI during hospitalization

Table 2: HR until death or discharge alive from hospital and extended length of stay in the hospital for each ICU-AI type

	First ICU-AI n = 718	NP n = 457	BSI n = 246	UTI n = 230
Odd ratio of death				
Unadjusted	1.84 (1.56-2.16)*	1.96 (1.61-2.38)*	2.16 (1.67-2.79)*	1.31 (0.99-1.73)
Adjusted	1.47 (1.23-1.76)*	1.51 (1.22-1.87)*	1.74 (1.30-2.32)*	1.15 (0.84-1.55)
Hazard ratio for time to in-hospital death (95% CI)				
Time-adjusted	1.37 (1.19-1.57)*	1.34 (1.14-1.56)*	1.65 (1.36-2.02)*	1.24 (0.98-1.57)
Fully adjusted	1.15 (1.00-1.33)*	1.10 (0.94-1.29)	1.34 (1.09-1.63)*	1.17 (0.92-1.48)
Mean extended LoS for patients with HAI				
Crude, days	28	29	24	34
Multistate estimate, days	11 (9-12)	11 (9-14)	7 (4-10)	10 (7-13)
Hazard ratio for time to discharge while alive (95% CI)				
Time-adjusted	0.39 (0.35-0.44)*	0.37 (0.32-0.43)*	0.45 (0.37-0.54)*	0.46 (0.37-0.56)*
Fully-adjusted	0.40 (0.36-0.45)*	0.40 (0.34-0.46)*	0.45 (0.37-0.55)*	0.43 (0.35-0.52)*
Hazard ratio for time to discharge alive or dead (95% CI)				
Time-adjusted	0.59 (0.54-0.64)*	0.58 (0.52-0.64)*	0.72 (0.63-0.83)*	0.63 (0.54-0.74)*
Fully-adjusted	0.57 (0.52-0.62)*	0.57 (0.51-0.63)*	0.70 (0.61-0.81)*	0.60 (0.51-0.70)*

Number in parenthesis are 95% CI

Reference or OR, HR and excess of LoS is group without ICU-AI

Odd ratio calculated using logistic regression

Hazard ratio computed using extended Cox model

Adjustment for: age, gender, SAPSII, condition group, immunodepression, antibiotics

*Significant

Abbreviations: ICU-AI : intensive care unit-acquired infection; ICU: intensive care unit; NP: ICU-acquired nosocomial pneumonia; BSI: ICU-acquired blood stream infection; UTI: ICU-acquired urinary tract infection; OR : Odd ratio; HR: Hazard ratio

Table 3: Subgroup analysis of crude and estimates from multi-state model of extended length of stay until hospital discharge

Subgroup	n	Attack rate (%)	First ICU-AI		NP		BSI		UTI	
			Crude	MSM	Crude	MSM	Crude	MSM	Crude	MSM
all	6069	11.8	28	11 (9-12)	29	11 (9-14)	24	7 (4-10)	34	10 (7-13)
Gender										
Female	2620	10.9	27	12 (9-15)	29	12 (8-16)	29	10 (5-15)	29	10 (5-14)
Male	3449	12.6	28	10 (7-12)	28	11 (8-14)	21	5 (1-8)	38	10 (6-15)
Age										
< 60	2004	11.9	30	11 (8-14)	31	13 (9-17)	25	7 (2-11)	38	8 (1-14)
60 - 74	1882	12.8	30	12 (9-16)	30	12 (9-16)	28	9 (3-14)	36	12 (6-17)
≥ 75	2183	10.9	23	8 (5-11)	24	9 (5-12)	20	4 (-1-9)	28	9 (4-14)
Admission to ICU										
Directly from home	2054	11.1	30	11 (8-14)	28	11 (7-15)	28	11 (6-17)	39	12 (6-18)
Transfer	4015	12.2	26	10 (8-13)	28	12 (9-14)	22	5 (2-9)	31	9 (5-13)
Condition group										
Respiratory system	1728	12.2	29	13 (10-16)	30	14 (10-18)	25	10 (5-15)	31	10 (4-15)
Nervous system	947	12.8	32	11 (7-16)	29	10 (4-15)	35	6 (-1-13)	38	10 (3-17)
Circulatory system	898	13.7	26	9 (5-14)	27	11 (5-16)	24	8 (-1-17)	33	9 (1-18)
Other	2496	10.5	26	9 (6-12)	28	11 (7-15)	20	2 (-2-7)	35	9 (4-15)
SAPSII										
<40	1955	7.9	30	12 (8-16)	30	13 (8-18)	29	11 (5-17)	36	10 (2-17)
40 - 55	2007	11.8	29	13 (9-16)	29	13 (9-17)	22	7 (2-12)	38	15 (9-20)
≥56	2107	15.5	25	8 (5-10)	27	8 (5-12)	23	5 (0-9)	29	5 (0-9)
Year of inclusion										
2004 - 2006	1894	10.6	28	10 (6-13)	30	12 (8-17)	17	4 (-2-9)	32	7 (1-12)
2007 - 2009	1884	10.0	27	9 (6-13)	29	11 (7-16)	24	6 (0-12)	34	10 (3-17)
2010 - 2012	2291	14.3	28	12 (9-14)	28	11 (8-14)	28	9 (5-13)	35	11 (6-16)
Admission to ICU under immunodepression										
Yes	1402	15.8	28	10 (7-14)	30	12 (8-16)	25	6 (1-11)	31	5 (-1-11)
No	4667	10.6	27	11 (8-13)	27	11 (8-14)	23	7 (3-10)	35	11 (7-15)
Antibiotics within 48h of ICU admission										
Yes	4626	12.3	28	11 (9-13)	28	11 (9-13)	25	7 (4-10)	37	11 (7-15)
No	1443	10.3	24	10 (6-14)	29	12 (7-18)	21	6 (-1-12)	26	9 (2-15)

Crude = Crude excess length of stay (LOS), expressed in days. MSM = Excess LOS calculated using multi-state models, expressed in days and 95% confidence intervals (CI)

ICU = intensive care unit; ICU-AI = intensive care unit-acquired infection; NP = nosocomial pneumonia; BSI = blood stream infection; UTI = urinary tract infection; OR = odd ratio; HR = hazard ratio

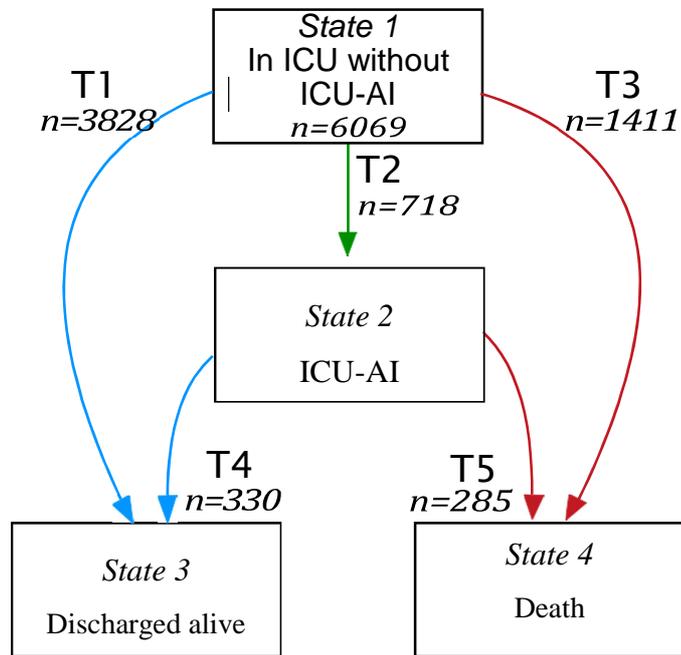


Figure 1 : Multistate model used to determine length of stay

Number (n=XXXX) represent the number of patients' transition from one state to another. In this case, the HAI is the first ICU-AI, and follow-up time is until hospital discharge. Abbreviations: ICU, Intensive care unit ; ICU-AI, ICU acquired infection ; n, number.

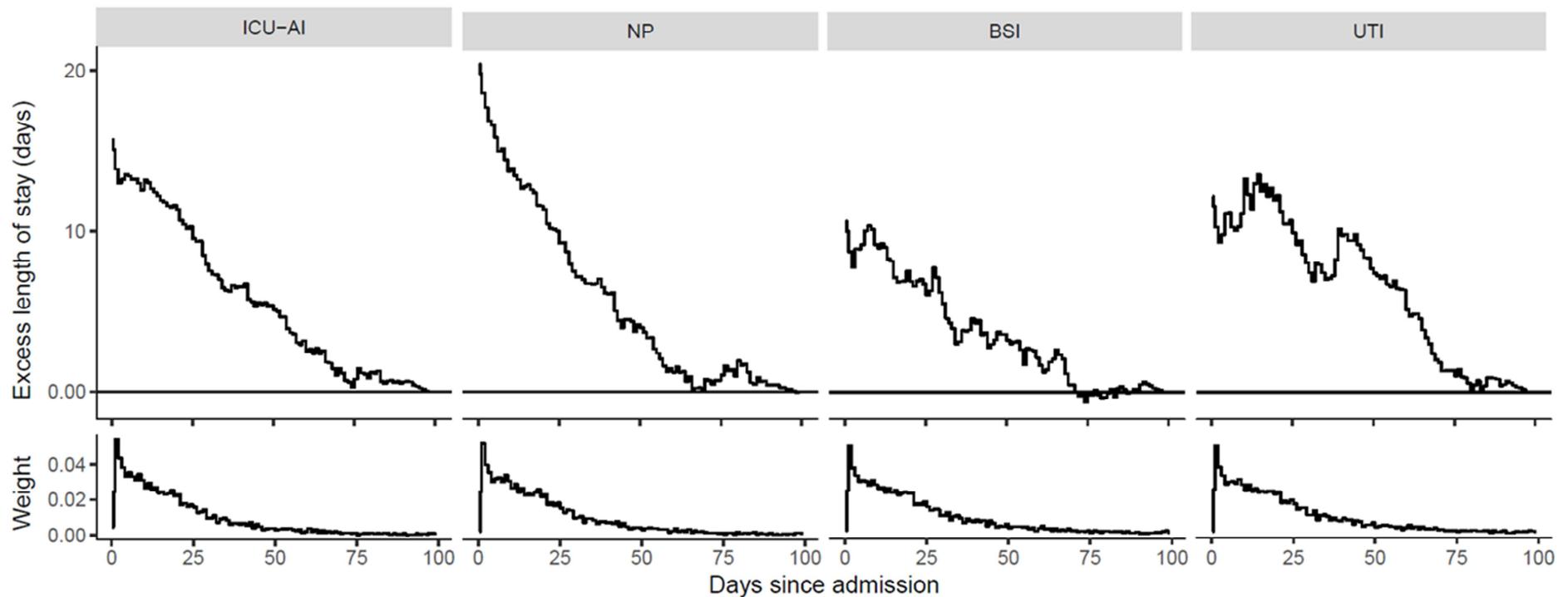


Figure 2. Excess length of stay in intensive-care units related to different type of HAI

pneumonia (NP), urinary tract infection (UTI), bloodstream infection (BSI) or the first HAI. ICU = Intensive care unit, HAI = Hospital acquired infection.

The lower half of each panel presents the weights used to compute the summary excess LOS, calculated using the observed relative frequency of the ICU-AI onset each day. Plot was truncated at 100 days in order to stay readable.

II. Epidémiologie des infections acquises en réanimation : étude sur 11 ans de suivi

A. Introduction

Ce projet d'article s'intéresse à l'évolution des résultats de la surveillance prospective des infections acquises en service de réanimation. Il s'agit d'une description monocentrique sur 11 ans.

Le problème à traiter pour cette étude a été la découverte d'un effet période qui semble plus particulièrement lié à l'évolution du taux de pneumopathies nosocomiales dans le temps.

B. Article (*Article en cours de préparation, non encore soumis*)

Titre :

Onze années de surveillance des infections acquises en réanimation

Auteurs :

Lavigne Th^{1,6}, Deboscker S¹, Muller J¹, Schenck M², Severac F³, Tran Ba Loc P⁴, Prévost G⁴, Meziani F⁵, Schneider F²

1. Equipe opérationnelle d'hygiène, Service d'hygiène hospitalière, Hôpitaux universitaires de Strasbourg
2. Service de réanimation médicale, Hautepierre, Hôpitaux universitaires de Strasbourg
3. Groupe méthode en recherche clinique (GMRC), Service de Santé publique, Hôpitaux universitaires de Strasbourg
4. Département d'information médicale (DIM), Service de Santé publique, Hôpitaux universitaires de Strasbourg
5. Service de réanimation médicale, NHC, Hôpitaux universitaires de Strasbourg
6. EA7290, Virulence bactérienne précoce, Fédération de médecine translationnelle de Strasbourg, Université de Strasbourg

Corresponding autor : Lavigne Th

INTRODUCTION

Se préoccuper des infections acquises en réanimation est indispensable car le risque d'infections nosocomiales (IN) en réanimation est bien supérieur à celui encouru par les patients en hospitalisation conventionnelle, médicale ou chirurgicale. Ce risque résulte de deux catégories de facteurs :

- des facteurs endogènes ou liés au patient (défaillances multiples d'organes, immunodépression acquise ou innée d'intensité et de durée variables, pathologies chroniques sous-jacentes, ...),
- des facteurs exogènes : mise en place de dispositifs invasifs multiples (abord respiratoire, cathéters vasculaires, monitoring hémodynamique invasif, cathéter vésical, drainages, ...), de dispositifs invasifs de suppléance (circulation extracorporelle), l'administration de thérapeutiques multiples dont des traitements anti-infectieux pouvant aboutir à des modifications du microbiote intestinal et une durée de séjour prolongée (143).

Ces deux familles de facteurs sont d'intensité variable. Les comportements médicaux ou paramédicaux (technique de pose, entretien, utilisation et surveillance des dispositifs invasifs) ne sont pas toujours identiques même si des recommandations nationales ou internationales existent, et les structures (personnel, architecture, formation du personnel) ne sont pas partout comparables. De la même façon, les méthodes de diagnostic des infections nosocomiales ne sont pas toujours homogènes entre les établissements de santé voire les équipes d'une même structure. Par exemple, selon la structure, ce ne sont pas les mêmes méthodes semi-quantitatives utilisées pour le diagnostic des infections pulmonaires acquises sous ventilation mécanique, ce qui conduit à devoir tenir compte de ce critère (lavage broncho-alvéolaire, aspirations trachéales non protégées, ...).

Surveiller les infections acquises en réanimation permet de suivre précisément ce phénomène : de le connaître, de le comprendre et de mesurer l'impact des mesures de prévention mises en place (61,144). La mesure de taux d'infections nosocomiales survenues en milieu de réanimation est réglementaire en France (*Circulaire du 27 août 2003*).

Le suivi et l'analyse de taux bruts (pourcentage de patients infectés) ou de taux d'incidence (nombre d'infections par 1000 jours d'exposition) ont un intérêt non négligeable localement : les taux produits sont des indicateurs de résultat pour les équipes médicales et soignantes en matière de qualité et de sécurité des soins. Le suivi de leur évolution dans le temps pour un service donné est très instructif. Il peut permettre de détecter un phénomène épidémique si la périodicité de l'analyse des données est assez courte.

La surveillance des infections acquises en réanimation permet d'aboutir à des actions de benchmarking pour un service donné s'il participe à une surveillance protocolisée en réseau (145). Une telle surveillance est proposée en France depuis 2004 par le Réseau d'Alerte, d'Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales (RAISIN) à tous les services de réanimation (22). Elle porte sur tous les patients hospitalisés plus de 48 heures et est continue sur l'année.

Mais les comparaisons entre les services sont difficiles, du fait de niveaux de risque parfois très différents et d'un recrutement de patients variable. Les taux doivent être interprétés en fonction de plusieurs facteurs de risque devant être pris en compte dans la surveillance. Ceux liés au patient (catégorie diagnostique, contexte de traumatisme, existence d'une immunodépression, provenance du patient, présence de traitements antibiotiques à l'admission, score de gravité (IGS II), durée de séjour) et ceux liés aux procédures et aux dispositifs invasifs ("device-related") : intubation, cathétérisme veineux central ou artériel, sondage urinaire.

La surveillance doit donc cibler les infections associées à un dispositif invasif pour lesquelles une démarche de prévention existe : les pneumopathies, les infections liées aux cathéters veineux centraux, les infections urinaires et les bactériémies.

L'objectif principal de cette étude est de décrire 11 années de surveillance prospective des infections acquises dans un service de réanimation médicale des Hôpitaux universitaires de Strasbourg.

Les objectifs secondaires sont de mettre en évidence des facteurs de risque et d'évaluer les tendances évolutives des taux d'incidence de ces infections sur les 11 ans de suivi.

PATIENTS ET METHODES

Il s'agit d'une étude monocentrique. La méthodologie de la surveillance prospective est celle du réseau national français REA RAISIN (146). Un accord CNIL a été obtenu (accord CNIL N°1881691v0) ainsi qu'un avis favorable du comité d'éthique des HUS (avis favorable le 18/07/2016).

Critères d'inclusion

L'ensemble des patients âgés de plus de 18 ans admis au service de réanimation médicale de l'Hôpital de Hautepierre et sortis du service entre le 1^{er} janvier 2004 et le 31 décembre 2014 ont été inclus.

Recueil des données

Nous avons extrait les données de la surveillance REA-RAISIN du 1^{er} janvier 2004 au 31 décembre 2014. La date d'inclusion dans cette base est le jour de la sortie du patient de réanimation. L'ensemble des variables a été conservé. Les infections urinaires ne sont plus surveillées à partir de l'année 2013, mais le dépistage des BMR y est inclus. Afin

d'obtenir d'autres variables utiles à notre étude, nous avons également extrait des données de la base de données PMSI des patients hospitalisés en réanimation médicale sur la même période. Les variables recueillies sont les dates d'admission et de sortie du patient de réanimation et de l'établissement, les modes d'entrée et de sortie en réanimation, le score de gravité IGSII et les diagnostics principaux codés en réanimation. Grâce aux données d'identité du patient, nous avons pu fusionner les données des deux bases pour chaque séjour pour créer notre base de travail. La base a été anonymisée après le contrôle qualité des données.

Un patient a pu avoir plusieurs séjours en réanimation. Dans ce cas, il apparaît autant de fois qu'il a de séjour en réanimation. De plus, quand c'est l'IN de manière générale qui est évoquée (sans préciser le site), c'est la première IN apparue qui est prise en compte (la variable « IN » correspond donc à « au moins 1 IN »). De même, pour une même IN, seule la première a été conservée pour chacun des types d'infection surveillée.

Données patient

Les données patients correspondent à l'ensemble des variables recueillies par le protocole national de surveillance REA-RAISIN (facteurs de risque liés au patient, facteurs d'exposition au matériel invasif, description des infections survenues durant le séjour en réanimation, devenir du patient, type de micro-organisme, etc.) et celles du PMSI citées précédemment.

Les durées d'exposition à un matériel invasif (cathéter veineux central, sonde urinaire, sonde d'intubation ou de trachéotomie) sont calculées par différence entre la date de retrait du dernier matériel et la pose du premier. Lorsque le patient quitte le service avec le matériel laissé en place, c'est la date de sortie du service de réanimation qui est utilisée comme date de retrait du matériel. Lorsque le patient arrive avec le matériel déjà en place,

c'est la date d'entrée dans le service de réanimation qui est utilisée comme date de pose du matériel.

Les diagnostics principaux codés par le service de réanimation et récupérés dans la base PMSI ont été regroupés en 11 catégories choisies par rapport aux différents chapitres de la CIM-10 et à des codages retrouvés fréquemment (intoxication par exemple).

Critères de recueil des infections acquises en réanimation

Les définitions et la méthodologie de recueil des données de surveillance sont celles du protocole national de surveillance REA-RAISIN (26).

Statistiques

Les variables quantitatives sont décrites à l'aide de leurs moyennes et de leurs écarts-types. Les modalités de chaque variable qualitative sont décrites par leur proportion et leurs effectifs. Le taux d'incidence des IN est calculé comme le nombre de cas d'infections acquises en réanimation pour 1000 jours d'hospitalisation en réanimation. Le taux d'incidence d'une IN spécifique liée à un matériel invasif (comme par exemple les pneumopathies en rapport avec une intubation) est calculé comme le nombre de cas de cette IN pour 1000 jours d'exposition cumulée à ce matériel invasif.

Une analyse de survie a été réalisée en considérant le délai jusqu'à l'apparition de l'évènement (IN). Les sujets n'ayant pas présenté l'évènement étaient censurés à la date des dernières nouvelles (sortie de réanimation). Dès lors, une courbe de Kaplan-Meier a permis d'étudier l'évolution du taux de survie en fonction du temps dans son intervalle de confiance associé (la survie étant le fait de ne pas avoir une IN). Une comparaison entre plusieurs groupes de l'évolution de la survie a été réalisée en utilisant le test du Log-Rank associé aux courbes de Kaplan-Meier.

Pour expliquer la survenue d'une IN chez les patients hospitalisés en réanimation, un modèle multivarié à risques proportionnels de Cox a été élaboré. Les *hazard ratio* ajustés sont présentés avec leurs intervalles de confiance à 95%.

Les résultats sont interprétés avec un niveau de significativité de 0.05. Tous les tests sont bilatéraux.

RESULTATS

Description de la population

Nous avons inclus 7436 séjours (Figure 1), représentant 6424 patients. 12% des patients ont été hospitalisés en réanimation au moins deux fois durant la période (avec un maximum de 23 hospitalisations successives pour un patient). Cela représente 106 620 journées d'hospitalisation en réanimation.

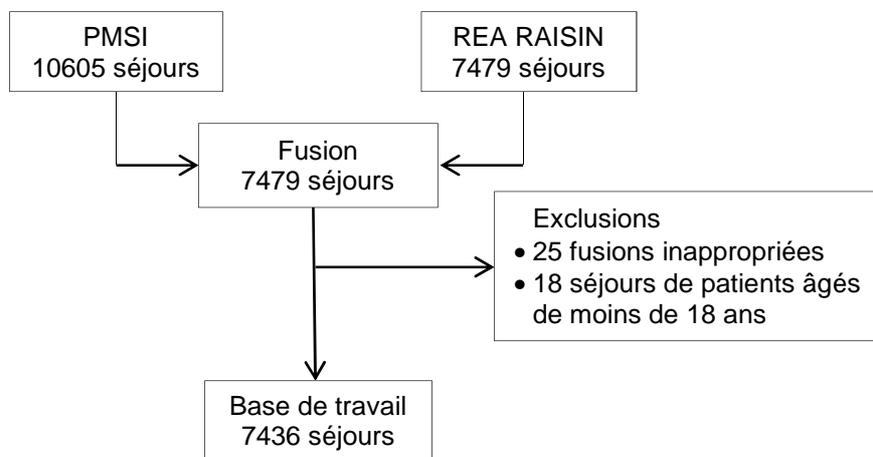


Figure 1 : Construction de la base de données de l'étude

L'âge moyen des patients est de 65 ans. Avant d'être admis en réanimation, les patients qui développeront une IN en réanimation étaient hospitalisés pendant 7 jours aux HUS en moyenne avant d'être admis en réanimation (versus 5 jours pour ceux qui ne développeront pas d'IN). La durée moyenne de séjour en réanimation est en moyenne de 43 jours pour les patients avec une IN (versus 10 jours), avec un extrême à 662 jours. L'IGSII est en moyenne de 54 chez les patients avec une IN et de 50 pour les patients sans IN (Tableau 1).

Tableau 1 : Description des séjours en réanimation (variables quantitatives)

Paramètres [moyenne (ET)]	Total (n=7436)	Pas IN (n=6454)	IN (n=982)
Age (en années)	65,3 (16,6)	65,4 (16,7)	64,3 (16,0)
Nombre de jours d'hospitalisation aux HUS avant la réanimation	5,2 (15,0)	5,0 (14,8)	7,1 (16,0)
Nombre de jours d'hospitalisation en réanimation	14,3 (24,1)	10,0 (12,5)	43,1 (49,3)
IGSII à l'admission	50,0 (18,3)	49,4 (18,3)	54,3 (18,1)

IN = infection nosocomiale

ET = écart-type

IGSII = indice de gravité simplifié II

Le sexe ratio homme/femme est de 1,3. 75% des patients ont une antibiothérapie à l'admission, ce chiffre étant un peu plus élevé chez les patients avec IN (79%). Les 4 catégories de diagnostics les plus fréquentes sont celles relatives à l'appareil respiratoire (36%), circulatoire (16%), nerveux (15%) et les maladies infectieuses (10%). La mortalité brute en réanimation est de 20% pour les patients sans IN et de 34% pour les patients avec IN (Tableau 2).

Tableau 2 : Description des séjours en réanimation (variables qualitatives)

Paramètres [n (%)]		Total (n=7436)	Pas IN (n=6454)	IN (n=982)
Sexe	Homme	4262 (57,3)	3647 (56,5)	615 (62,6)
Antibiotiques à l'admission		5595 (75,2)	4824 (74,7)	771 (78,5)
Traumatisme à l'admission		371 (5,0)	326 (5,1)	45 (4,6%)
Immunodépression à l'admission		1693 (22,8)	1404 (21,8)	289 (29,4)
Diagnostic principal*	Maladies de l'appareil respiratoire	2688 (36,1)	2332 (36,1)	356 (36,3)
	Maladies de l'appareil circulatoire	1152 (15,5)	971 (15,0)	181 (18,4)
	Maladies du système nerveux	1108 (14,9)	963 (14,9)	145 (14,8)
	Maladies infectieuses	746 (10,0)	635 (9,8)	111 (11,3)
	Maladies de l'appareil digestif	486 (6,5)	409 (6,3)	77 (7,8)
	Maladies de l'appareil urinaire	424 (5,7)	382 (5,9)	42 (4,3)
	Métabolique, sang et tumeur	302 (4,1)	272 (4,2)	30 (3,1)
	Autres	216 (2,9)	198 (3,1)	18 (1,8)
	Intoxications	206 (2,8)	194 (3,0)	12 (1,2)
	Traumatologie ou atteinte de la peau	108 (1,5)	98 (1,5)	10 (1,0)
Mode de sortie	Décès	1588 (21,4)	1258 (19,5)	330 (33,6)
	Domicile	211 (2,8)	192 (3,0)	19 (1,9)
	Mutation	4883 (65,7)	4347 (67,4)	536 (54,6)
	Transfert	754 (10,1)	657 (10,2)	97 (9,9)

* diagnostic codé pour le séjour en réanimation (donnée issue du PMSI)

Description des infections acquises en réanimation

Sur les 7436 séjours, 982 (13%) ont été concernés par au moins une IN, soit une incidence de 9,2 IN/1000 jours d'hospitalisation en réanimation. L'évolution de l'incidence des infections acquises en réanimation n'est pas stable de 2004 à 2014 (Figure 2). Deux périodes se distinguent : 2004-2009, avec une légère diminution de l'incidence des IN passant de 9,2 à 7,0 IN/1000 jours de réanimation, suivie d'une forte augmentation en 2010 (11,0 IN/1000 jours de réanimation) avant un léger plateau pour la période de 2010-2014. Il y a un effet période.

Les pneumopathies acquises en réanimation (PN) représentent l'IN la plus fréquente (587 PN, 8% des séjours) représentant un taux de 5,5 PN/1000 jours d'hospitalisation en réanimation. Au moins une bactériémie est retrouvée dans 335 séjours (5%), soit 3,1 bactériémies/1000 jours d'hospitalisation en réanimation. Les infections urinaires (IU) n'ont été recueillies que jusqu'en 2012. Leur nombre est de 243, soit 2,8 IU/1000 jours d'hospitalisation en réanimation. Les infections les moins fréquentes sont celles liées aux cathéters veineux centraux (CVC) sans bactériémie. Elles sont présentes dans 2% des séjours (122 infections sur CVC sans bactériémie), soit 1,1 infections de CVC sans bactériémie/1000 jours d'hospitalisation en réanimation. Leur incidence semble remonter les 2 dernières années contrairement aux PN et aux bactériémies (Figure 2).

Lors d'un séjour, un patient a pu présenter plusieurs types d'IN. En effet sur notre cohorte, 2 patients ont eu 4 IN différentes sur un séjour. Dans 21% des séjours (207 séjours), des patients ont présenté 2 types d'IN et dans 5% des séjours (46 séjours), des patients ont présenté 3 types d'IN. Au final, dans 74% des séjours (727 séjours), les patients ont présenté 1 seule IN. Le plus souvent, cette infection était une PN (383 fois, soit 53% des cas).

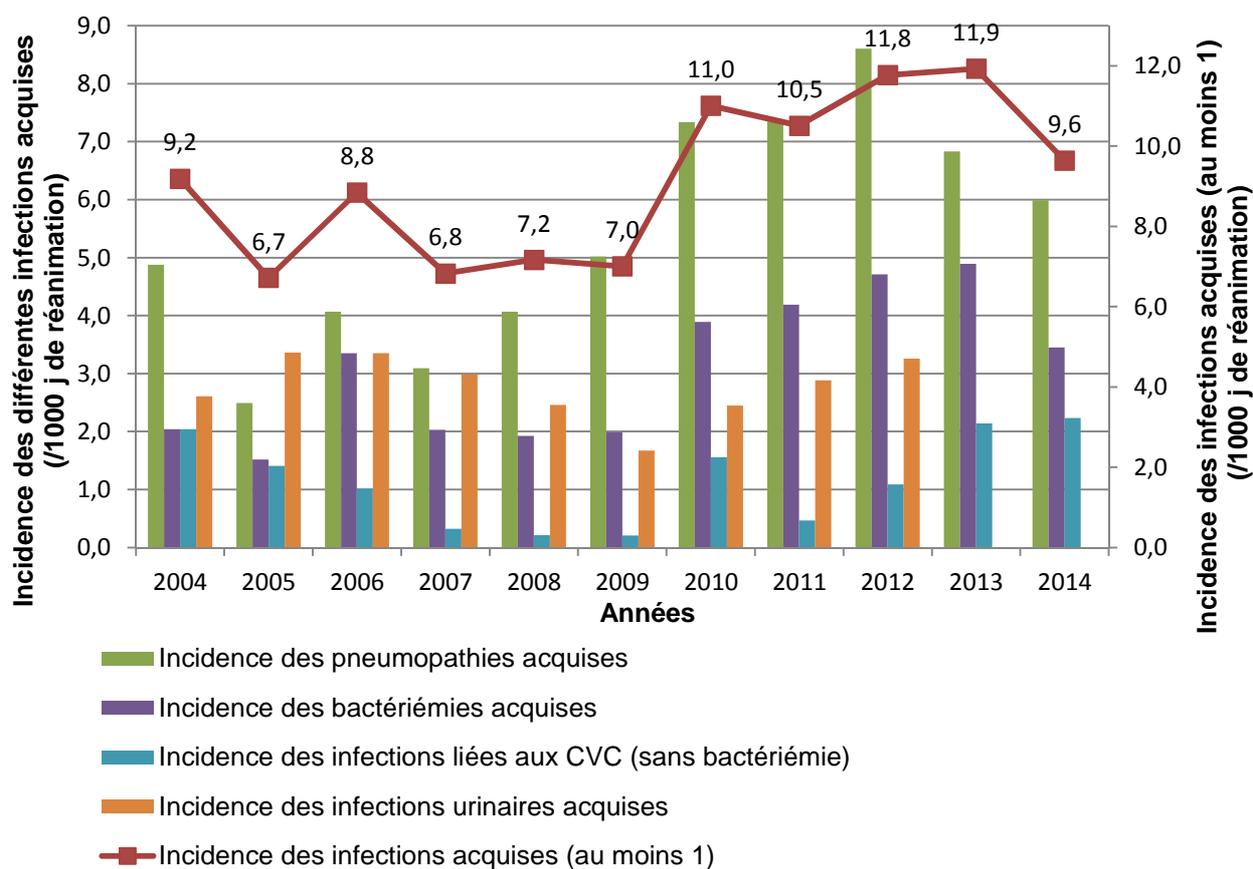


Figure 2 : Incidence des infections acquises en réanimation de 2004 à 2014 (pour 1000 journées d'hospitalisation en réanimation)

Focus sur les pneumopathies acquises en réanimation (PN)

Les PN ont concerné 587 séjours (8% des séjours). Le délai entre l'admission en réanimation et la PN était en moyenne de 17 jours. L'incidence globale était de 5,5 PN/1000 jours d'hospitalisation en réanimation avec une augmentation jusqu'en 2012, atteignant 8,6 PN/1000 jours en réanimation. Comme pour les IN de manière générale, 2 périodes paraissent se distinguer : 2004-2009 et 2010-2014 (Figure 2). En rapportant le nombre de PN par rapport au nombre de jours d'intubation, l'incidence était de 8,7 PN/1000 jours d'intubation avec là aussi une augmentation entre 2004 et 2014 (Figure 4). La durée d'intubation était de 36 jours chez les patients ayant présenté une PN (versus 10 jours). Le nombre de journées passées en réanimation était plus élevé pour ces patients (48 jours vs. 11 jours) (Tableau 3).

Le diagnostic a été donné dans 39% des cas sur un prélèvement distal protégé semi-quantitatif (Figure 3). Dans 15% des cas, un *Staphylococcus aureus* était identifié (86/587) et 44 souches étaient résistantes à la méticilline, soit 51% de résistance.

Tableau 3 : Comparaison des patients avec et sans pneumopathies acquises en réanimation

	Pas de PN (n=6859)	PN (n=587)
Paramètres [moyenne (ET)]		
Nombre de jours d'hospitalisation en réanimation	11.4 (17.5)	48.0 (51.0)
Durée de l'intubation (en jours)	10.3 (18.2)	36.4 (44.1)
Délai entre l'admission en réanimation et la PN (en jours)	-	17.3 (18.8)
Paramètres [N (%)]		
Intubation	4503 (65.7)	576 (98.1)

PN = pneumopathie nosocomiale

ET = écart-type (en jours)

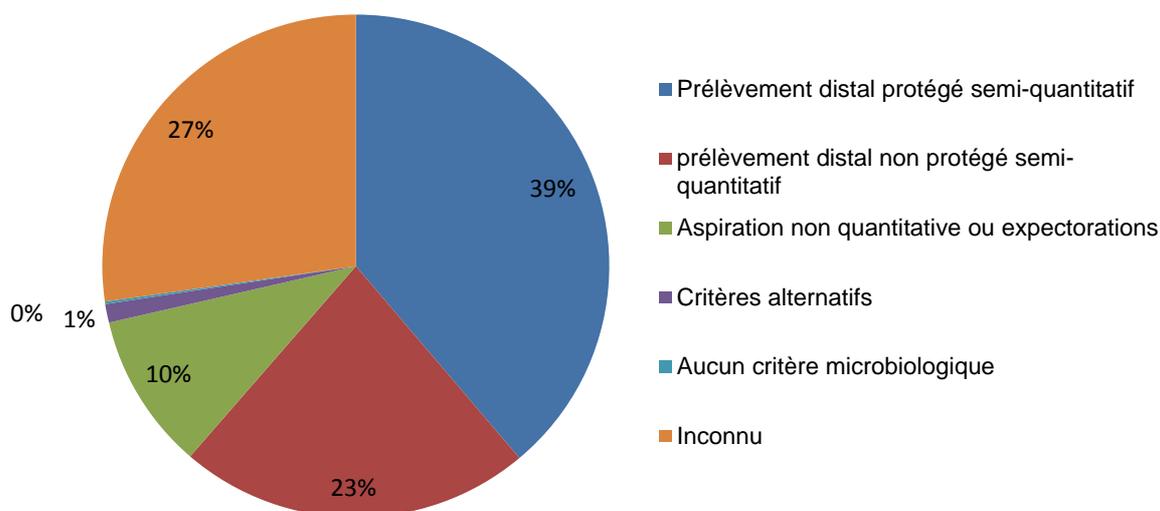


Figure 3 : Critères diagnostique des pneumopathies acquises en réanimation

Focus sur les infections urinaires en réanimation (IU)

Les IU ont été recueillies de 2004 à 2012 soit sur 6069 séjours. Elles ont concerné 243 séjours (4%). Quatre infections à *Staphylococcus aureus* ont été retrouvées (1,6%) dont 2

résistantes à la méticilline. L'incidence globale était de 2,8 IU/1000 jours d'hospitalisation avec un creux en 2009 (Figure 2). En rapportant le nombre d'IU par rapport au nombre de jours de sondage, l'incidence est de 3,3 IU/1000 jours de sondage avec un creux en 2009 (Figure 4).

Dans 98% des cas, les IU sont survenues chez des patients sondés. Par ailleurs, 91% des patients sans IU étaient également sondés. La durée moyenne de sondage est de 59 jours chez les patients ayant présenté une IU (versus 12 jours) (Tableau 4).

Tableau 4 : Comparaison des patients avec et sans infections urinaires acquises en réanimation

	Pas d'UI (n=7193)	UI (n=243)
Paramètres [moyenne (ET)]		
Nombre de jours d'hospitalisation en réanimation	12.2 (16.8)	64.6 (73.7)
Durée du sondage urinaire (en jours)	11.5 (16.2)	58.5 (72.3)
Paramètres [N (%)]		
Sondage urinaire	5284 (90.7)	239 (98.4)

Focus sur les bactériémies liées à un cathéter veineux central (BLC)

Sur les 335 séjours concernés par au moins une bactériémie nosocomiale (5% des séjours en réanimation), les BLC représentent 14% des bactériémies (46 BLC, soit 0,6% des séjours en réanimation). L'incidence globale est de 0,4 BLC/1000 jours d'hospitalisation avec un pic en 2007 à 1,1 BLC/1000 jours d'hospitalisation.

En rapportant le nombre de BLC par rapport au nombre de jours de cathétérisme, l'incidence est de 1,0 BLC/1000 jours de CVC. Un pic est également mis en évidence en 2007 avec 3,6 BLC/1000 jours de CVC (Figure 4).

Dans 20% des cas, un *Staphylococcus aureus* était identifié (soit 9 souches). Quatre souches étaient résistantes à la méticilline (44%).

Le délai entre l'admission en réanimation et la BLC était en moyenne de 17 jours. La durée de cathétérisme était de 14 jours chez les patients ayant présenté (versus 10 jours) (Tableau 5).

Tableau 5 : Comparaison des patients avec et sans BLC acquises en réanimation

Paramètres [moyenne (ET)]	Pas de BLC (n=7390)	BLC (n=46)
Nombre de jours d'hospitalisation en réanimation	14.2 (24.0)	39.6 (32.8)
Durée de présence du CVC (en jours)	9.6 (14.0)	14.1 (13.7)
Délai entre l'admission en réanimation et la BLC (en jours)	-	17.4 (14.3)

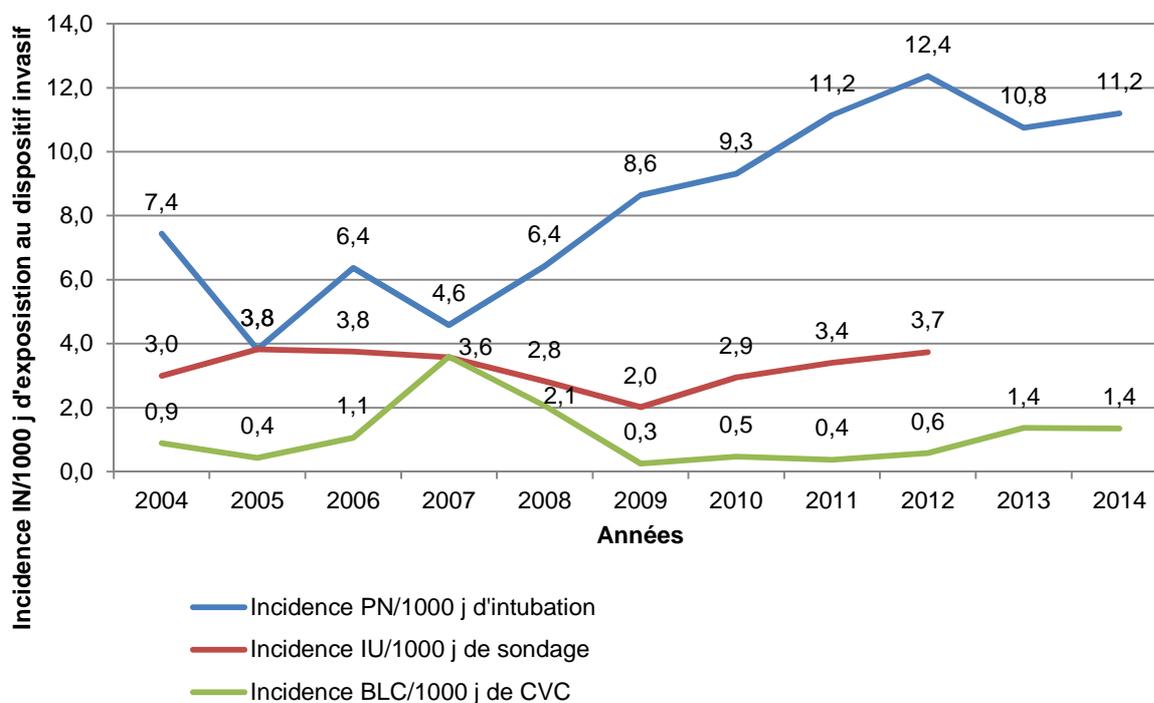


Figure 4 : Incidence de différentes infections acquises en réanimation de 2004 à 2014 par rapport au nombre de jours d'exposition au dispositif invasif concerné

Facteurs de risque de survenue d'une IN en réanimation

Dans la mesure où la variable à expliquer est dépendante du temps, la méthode requise est une analyse de survie. Une analyse univariée (Tableau 6) puis multivariée (Tableau 7) à l'aide d'un modèle de Cox a été conduite.

L'analyse multivariée a objectivé six facteurs de risque indépendants :

- un facteur protecteur, la présence d'une antibiothérapie les 48 heures encadrant l'admission en réanimation,
- 5 facteurs aggravant :
 - Être ré-intubé,
 - Être équipé d'un cathéter veineux central,
 - Être équipé d'une sonde vésicale,
 - Avoir une durée de séjour en réanimation de plus de 7 jours,
 - Appartenir à la période 2010-2014.

Tableau 6 : Analyse de survie (analyse univariée)

Paramètres		Médiane de « survie » (délai en jours)	IC95%	p
Sexe	Femme	43	[35-50]	0,326
	Homme	41	[39-45]	
Age	Moins de 65 ans	43	[35-47]	0,083
	65 ans et plus	41	[39-45]	
Hospitalisation dans l'établissement avant la réanimation	Non	46	[40-59]	0,040
	Oui	39	[34-43]	
Antibiotiques à l'admission	Non	33	[27-54]	<0,001
	Oui	42	[40-46]	
Traumatisme à l'admission	Non	41	[39-44]	0,828
	Oui	NA	NA	
Immunodépression (ID) à l'admission	<500 PNN	43	[21-NA]	0,110
	Autre type d'ID	37	[32-44]	
	Pas d'ID	42	[40-50]	
IGSII	≤ 45	40	[35-45]	0,179
	> 45	42	[39-47]	
Diagnostic principal	Maladies de l'appareil respiratoire	39	[34-45]	0,797
	Maladies de l'appareil circulatoire	46	[40-80]	
	Maladies du système nerveux	41	[33-59]	
	Maladies infectieuses	43	[33-NA]	
	Maladies de l'appareil digestif	40	[38-80]	
	Maladies de l'appareil urinaire	37	[26-NA]	
	Métabolique, sang et tumeur	51	[38-NA]	
	Autres	50	[27-NA]	
	Intoxications	31	[20-NA]	
	Traumatologie ou atteinte de la peau	34	[24-NA]	

PNN : polynucléaire neutrophile

ID : immunodépression

IGSII : indice de gravité simplifié II

IC : intervalle de confiance

NA : non calculable

Tableau 6 : Analyse de survie (suite)

Paramètres		Médiane de « survie » (délai en jours)	IC95%	p
Intubation	Non	80	[38-NA]	<0,001
	Oui	40	[38-43]	
Ré-intubation	Non	46	[41-50]	<0,001
	Oui	31	[28-35]	
Cathéter veineux central (CVC)	Non	73	[46-158]	<0,001
	Oui	40	[37-43]	
Sondage urinaire (SU)	Non	43	[38-NA]	<0,001
	Oui	41	[39-45]	
Durée d'hospitalisation en réanimation	≤ 7 jours	NA	NA	<0,001
	> 7 jours	41	[39-44]	
Décès lors du séjour	Non	43	[40-50]	<0,001
	Oui	37	[32-43]	
Mode de sortie	Décès	37	[32-43]	<0,001
	Domicile	104	[38-NA]	
	Mutation	44	[40-51]	
	Transfert	36	[29-59]	
Période	2004-2009	46	[41-63]	<0,001
	2010-2014	38	[33-42]	

Tableau 7 : Modèle multivarié à risques proportionnels de Cox

Paramètres	Hazard ratio	IC95%	p
Hospitalisation avant la réanimation (oui)	1,05	[0,93-1,20]	0,424
Antibiotiques à l'admission (oui)	0,72	[0,61-0,84]	<0,001
IGSII (>45)	0,99	[0,86-1,13]	0,838
Intubation (oui)	1,32	[0,83-2,09]	0,245
Ré-intubation (oui)	1,44	[1,25-1,66]	<0,001
Cathéter veineux central (oui)	1,47	[1,19-1,82]	<0,001
Sondage urinaire (oui)	2,36	[1,17-4,76]	0,017
Durée d'hospitalisation en réanimation (>7j)	2,77	[1,88-4,09]	<0,001
Période (2010-2014)	1,39	[1,21-1,59]	<0,001

Tendances évolutives des taux d'incidence des infections sur les 11 ans

Nous avons cherché à expliquer l'évolution du nombre de séjours concernés par une infection acquise en réanimation au cours du temps. Pour cela, nous avons modélisé l'évolution du taux d'infections (l'incidence) comme une série chronologique. Dans un premier temps, nous avons lissé l'effet du temps puis nous avons comparé les modèles selon leur AIC (score d'Akaike). On part d'un modèle régressif dit additif (modèle linéaire généralisé permettant de tenir compte d'effets non linéaires).

Plus spécifiquement, si, au mois i , O_i infections sont observées (pour N_i journées produites), mois au cours duquel les variables explicatives ont pris les valeurs X_i , on suppose à O_i une distribution de Poisson (avec N_i en offset) et le modèle va s'écrire :

$$\log(O_i) = N_i + s(i) + \sum X_i \beta_i$$

Le terme $s(i)$ représente le lissage sur le temps, en l'occurrence une spline cubique et les différents β_i sont les paramètres permettant de savoir quelles variables sont explicatives.

Le résumé du modèle est le suivant :

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
(Intercept)	0.72	1.54	0.469	0.639
Age (an)	0.00	0.02	0.044	0.965
Homme (%)	0.08	0.63	0.132	0.895
Maladies du système nerveux (%)	0.76	0.79	0.960	0.337
Maladies infectieuses (%)	0.08	0.58	0.130	0.896
Maladies de l'appareil circulatoire (%)	-0.08	0.94	-0.084	0.933

	edf	Ref.df	Chi.sq	p-value
s(id)	7.587	8.514	30.21	0.000251

Deviance explained = 39.9%

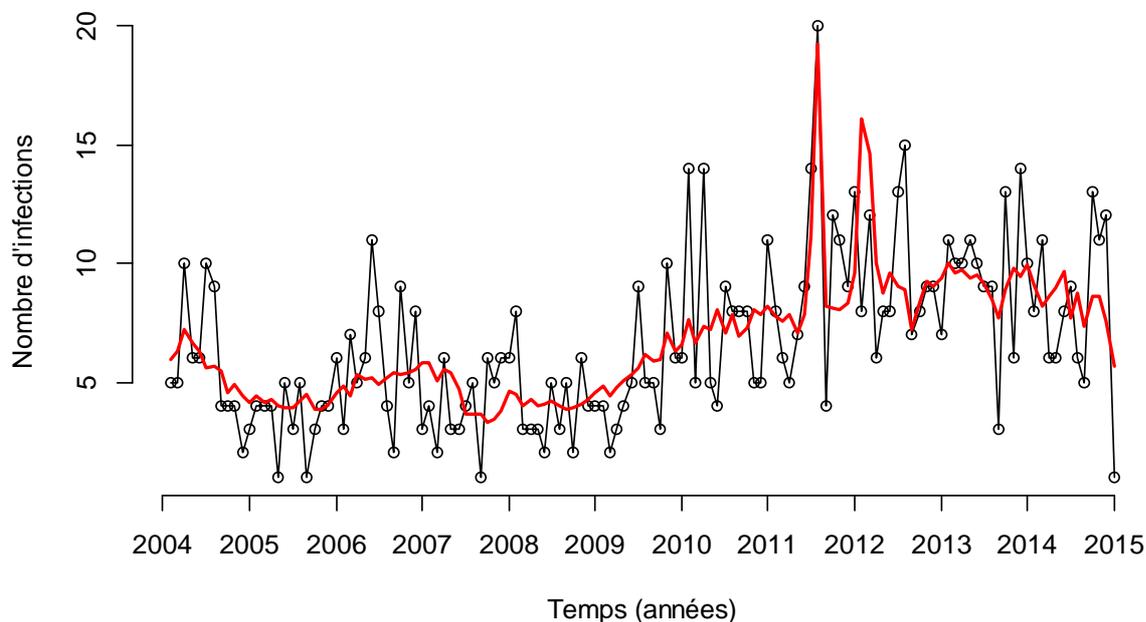
Aucune des variables explicatives fixes n'est significative. Elles ne participent donc pas à l'évolution temporelle du taux d'infections. Le lissage du temps « s(id) » est significatif ($p=0,000251$). La déviance expliquée est faible, à 40%, mais pourrait être considérée

comme atteignant une valeur intéressante. L'AIC du modèle vaut 629,9. Sur la figure 5, on a représenté les nombres d'infections observées (en noir) et les nombres prédits par le modèle (en rouge). Si on voit que la prédiction point par point n'est pas bonne, on voit que la structure temporelle est correcte.

L'effet estimé du temps pourrait montrer trois grandes périodes : une entre 2004 et mi-2008, une entre mi-2008 et mi-2010 de fort accroissement puis une après mi-2010 de stabilisation. On pourrait ajuster trois segments de droite se rejoignant environ mi-2008 et mi-2010. En ajoutant ces trois segments de droite au modèle, on voit qu'ils sont significatifs (1^e segment, $p=0.0382$, 2^e segment, $p=0.0005$, 3^e segment, $p=0.0020$).

Nous avons effectué ce modèle pour les PN et les bactériémies ; l'effet temporel pour les PN est semblable au précédent. Par contre, pour les bactériémies, il ne semble pas y avoir de tendance temporelle, ni de variable significative.

Figure 5 : Nombres d'infections observées (en noir) et nombres prédits par le modèle (en rouge)



Légende :

Courbe noire : observations

Courbe rouge : valeur prédite par le modèle

DISCUSSION

La surveillance prospective en réseau des infections acquises en réanimation est bien rodée dans le réseau REA RAISIN. Le rapport national 2014 couvre la même période de surveillance que notre étude (Figure 6).

Sur cette même période, les taux d'incidence des pneumopathies dans le service de réanimation strasbourgeois restent inférieurs aux taux nationaux, et cela malgré la hausse progressive de cet indicateur depuis 2007 (11,2 PN/1000j.intubation à Strasbourg versus 14,3 PN/1000j.intubation au niveau national en 2014).

Par contre, la situation est bien moins favorable au regard des bactériémies liées aux cathéters veineux centraux (1,4BLC/1000j.CVC à Strasbourg versus 0,51 BLC/1000j.CVC au niveau national en 2014). Le taux d'incidence local est quasiment au triple de l'indicateur national et au double de l'objectif national fixé au plan national de lutte contre

les IN précédent (PROPIN 2009-2013). Les tendances restent d'ailleurs inverses depuis 2009 (augmentation progressive et régulière dans le service strasbourgeois, baisse régulière au niveau national).

Pour ce qui est du taux d'incidence des infections urinaires, la situation strasbourgeoise de ce service de réanimation médicale est superposable (3,7 IU/1000j. sondage urinaire à Strasbourg versus 3,85 IU/1000j. sondage urinaire au niveau national en 2012).

Notre étude est monocentrique rétrospective, même si notre recueil de données s'est fait en prospectif. Mais elle s'appuie sur des outils bien validés au niveau national (protocole REA RAISIN et base du PMSI) et on peut penser qu'il devrait résulter de la dimension monocentrique une certaine homogénéité dans le recrutement en termes de patients. L'effet période que nous avons constaté semble contredire cette affirmation. Il est vrai que le CHU de Strasbourg a connu une très importante réorganisation interne en 2008-2009 avec l'ouverture d'un nouvel hôpital sur un autre site et le départ du site où se trouve le service étudié des services de pneumologie et de cardiologie, et l'arrivée du service de neurologie. Nous avons eu recours à une analyse en série temporelle pour vérifier qu'il y avait bien un effet période. Cet effet existe bien, mais l'ajustement sur des grandes classes de diagnostic issues du PMSI n'a pas permis d'illustrer cette hypothèse. Les grandes catégories de diagnostic ne sont peut-être pas assez fines ou sensibles. Nous avons bien-sûr évoqué des problèmes de qualité de données, avec des changements dans le protocole mais aussi dans l'organisation locale pour assurer la collecte des données. La cinétique d'évolution des taux bruts par jours d'hospitalisation pouvait laisser penser à un changement brutal et donc à l'introduction d'un biais (ou sa correction), mais l'évolution des taux d'incidence par 1000 jours d'exposition est beaucoup plus douce et progressive, ce qui plaide plutôt pour une modification du phénomène mesuré.

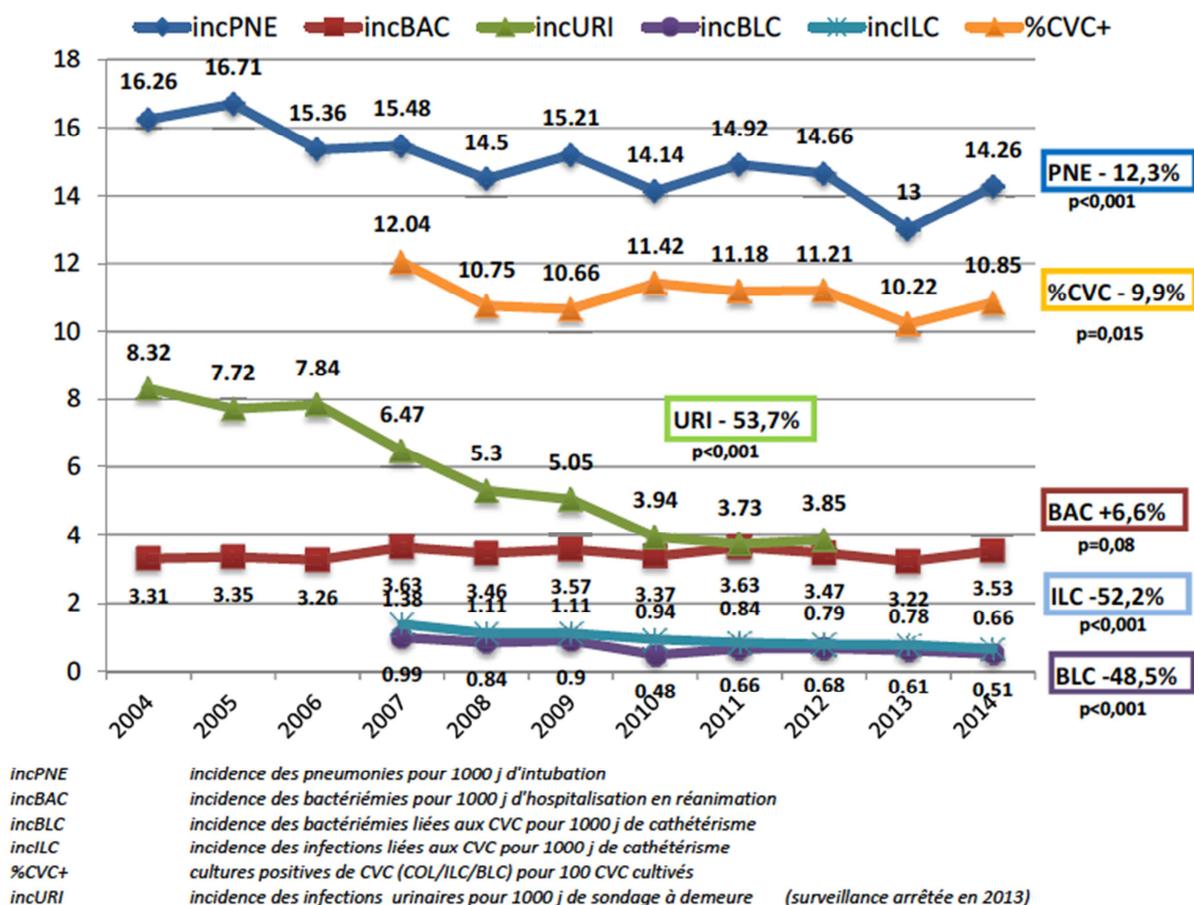


Figure 6 : Evolution des taux d'incidence de 2004 à 2014 sur l'ensemble du réseau national REA RAISIN (26)

L'analyse en séries temporelles n'a pas été choisie en première intention pour réaliser l'analyse de nos données. Cela aurait été peut-être plus judicieux, mais nous n'avons pas d'enregistrement de nos évènements et de nos facteurs d'exposition sur une échelle plus fine qu'annuelle. Cela a imposé une reprise de notre base de données.

Malgré tout, peut-on affirmer que les pratiques d'une même équipe médicale et soignante sont homogènes sur une telle période de temps ? Il y a eu très certainement des évolutions technologiques dans les conduites à tenir ou dans les procédures de soins.

Deux éléments importants sont intervenus durant cette période de temps. Il y a eu la définition de la notion de limitation active des thérapeutiques actives pour certains patients

(loi du 22 avril 2005 relative aux droits des malades et à la fin de vie, dite loi Leonetti) qui a été appliquée progressivement au service, mais dont l'impact sur le problème des IN ne doit pas être très fort, hormis dans la diminution des séjours très longs. Il y a eu également des modifications dans les pratiques de codage du PMSI avec la possibilité de valoriser financièrement la prise en charge supplémentaire de certains patients présentant des pathologies infectieuses relevant de mise en place de précautions complémentaires d'hygiène. Cela a-t-il pu sensibiliser les équipes médicales qui auront eu tendance à déclarer plus ? L'hypothèse n'est pas vérifiable autrement que dans le PMSI lui-même.

L'évolution dans le temps des pratiques de soins comme le soin de bouche ou des aspirations trachéales ou des bundles de prévention des pneumopathies acquises sous ventilation mécanique n'est malheureusement pas possible autrement qu'avec une étude prospective dédiée. Ce qui n'a pas été le cas dans notre établissement durant cette période.

Comme beaucoup d'autres établissements, nous enregistrons une évolution de nos taux de portage ou d'infections à BMR : diminution progressive du nombre de patients porteurs de SARM et augmentation du nombre de patients porteurs d'entérobactéries productrices de β -lactamases de spectre élargi. La pression de transmission augmente, le risque épidémique également. Mais cela ne peut pas expliquer une hausse régulière essentiellement sur les PN.

Bénet et col. ont montré que de surveiller les IN avait un impact sur les IN (62). Cela n'est manifestement pas perceptible dans la structure étudiée. Probablement qu'il faut évaluer si la « surveillance » est déployée dans toutes ses dimensions. C'est-à-dire avec un feedback régulier et commenté des taux constatés. Des actions correctives sont décidées

au fil de l'eau en fonction de l'évolution des taux. Cela sous-entend une plus grande collaboration entre le service de réanimation et l'équipe d'hygiène hospitalière. Les résultats de la surveillance BMR RAISIN complètent efficacement la surveillance REA RAISIN.

Cette étude descriptive est originale de par la mise en relation de deux bases de données dont la finalité initiale est différente : le PMSI et la surveillance REA RAISIN. La fusion des bases donne accès à l'ensemble du séjour (avant et après le passage en réanimation). L'accès aux données liées aux diagnostics saisis dans le PMSI pourrait permettre un ajustement des données de la surveillance à des éléments médicaux, tout en limitant la charge de travail pour les équipes médicales de réanimation. Cela permettrait d'affiner la connaissance des caractéristiques des infections acquises en réanimation et de cibler encore mieux la surveillance la plus efficiente à mener pour une consommation en ressources la plus faible possible. Mais la surveillance doit être accompagnée. Les équipes de réanimation doivent être soutenues par les équipes d'hygiène pour donner tout l'impact attendu à la surveillance.

Références

(Voir Bibliographie générale du document)

DEUXIEME PARTIE :
DETECTION D'UNE EPIDEMIE PAR LA
SURVEILLANCE EPIDEMIOLOGIQUE DES
BACTERIES MULTI-RESISTANTES EN
REANIMATION

Surveillance épidémiologique de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline en réanimation adulte : étude de la détectabilité des épidémies.

La situation française du portage de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) parmi les souches de *S. aureus* est globalement en voie d'amélioration, comme l'attestent les résultats de la surveillance BMR RAISIN (Figure 7).

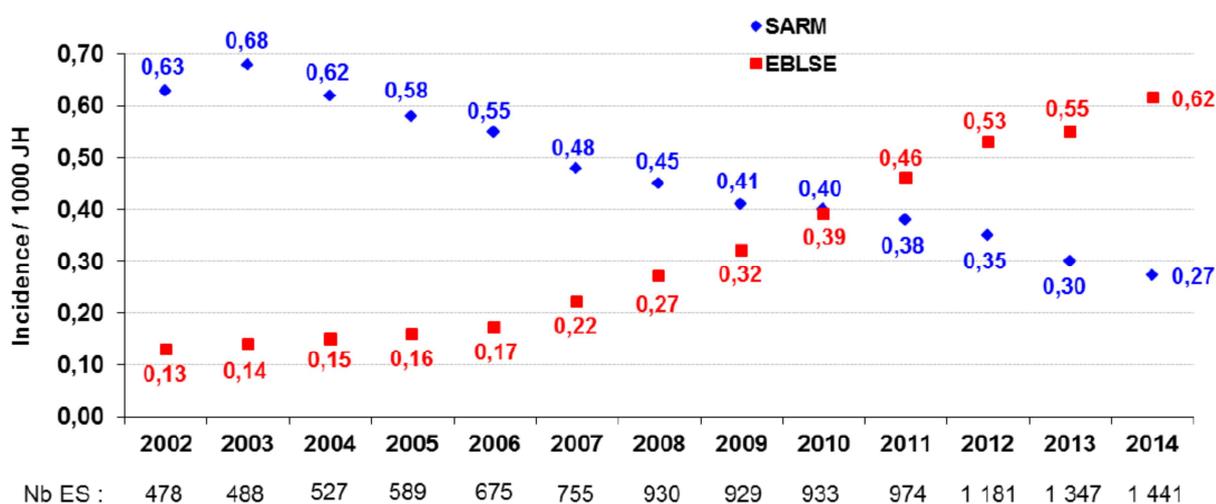


Figure 7 : Evolution des densités d'incidence des SARM et EBLSE pour 1000 journées d'hospitalisation en France. Réseau BMR RAISIN (147)

Les controverses au sujet du dépistage des bactéries multi-résistantes aux antibiotiques (BMR) en réanimation sont nombreuses (156). Il a été rappelé que dans les situations endémiques le dépistage n'est d'une utilité collective que si des ressources sont disponibles (chambre individuelle) et si l'observance des précautions standard et complémentaires contact est élevée.

Les recommandations de dépistage ne portent de manière routinière que sur les réanimations. Les stratégies sont à adapter à la situation épidémiologique locale (157). Certains pays (exemple des Pays-Bas (158)) appliquent une stratégie plus agressive que

la France : celle du « *Search and Destroy* ». Mais se pose le problème de l'efficacité de la décolonisation. L'intérêt de la décolonisation des porteurs de SARM reste toujours discuté.

Objectif principal de l'étude

Mesurer les capacités de la surveillance épidémiologique des SARM en réanimation adulte à détecter une épidémie.

Objectifs secondaires

- Evaluer l'exhaustivité du dépistage de SARM dans le cadre de la surveillance épidémiologique des services de réanimation adulte.
- Evaluer l'intérêt d'utiliser la recherche de facteurs de virulence de *S. aureus* pour la confirmation de phénomènes épidémiques.

Matériel et méthodes

Caractéristiques de l'étude

Il s'agit d'une étude prospective portant sur l'ensemble des échantillons microbiologiques où un *Staphylococcus aureus* a pu être identifié et provenant d'un des 5 services de réanimation adulte du CHU de Strasbourg entre le 15 février et le 15 mai 2012.

Les 5 services de réanimation adulte (2 réanimations médicales, 3 réanimations chirurgicales -2 polyvalentes et 1 à orientation cardiaque-) du CHU ont accepté de participer à l'étude. Le travail de recherche a fait l'objet d'une déclaration à la CNIL (Référence 1974816v0).

Analyses microbiologiques

Les consignes de dépistage des SARM sont identiques dans tous les services de réanimation adulte de l'établissement : un dépistage par frottis nasal (écouvillon E-swab, Copan, Brescia, Italie) à l'admission, associé à un dépistage hebdomadaire jusqu'à la sortie du service de réanimation.

Les prélèvements cliniques ont été analysés selon le processus de traitement des échantillons en vigueur au sein du Plateau technique de microbiologie du CHU de Strasbourg. L'ensemble des souches cliniques de *S. aureus* a été collecté quotidiennement au niveau du laboratoire de bactériologie. Pour chacune des souches isolées, le résultat de l'antibiogramme a été enregistré.

Pour les souches issues du dépistage du SARM (souches épidémiologiques), il a fallu mettre en place une recherche de SARM qui n'est pas réalisée en routine sur ce type de prélèvement. Outre l'ensemencement d'un milieu spécifique (ChromoID® MRSA, Biomérieux, Marcy l'Etoile, France) pour la recherche de SARM, les frottis nasaux de la surveillance épidémiologique ont été utilisés pour permettre de mettre en évidence le SARM par l'ensemencement d'un milieu Chapman (gélose Chapman, Oxoid Deutschland GmbH, Wesel, Allemagne). Lorsque la recherche de SARM était négative, la souche de *S. aureus* isolée sur milieu Chapman a été considérée comme sensible à la méticilline.

L'identification des souches, épidémiologiques et cliniques, a été vérifiée systématiquement par spectrométrie de masse de type Maldi-TOF (*Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry* (MALDI Biotyper Microflex LT®, Brücker Daltonics, Billerica, Etats-Unis)).

Les souches ont été stockées en tubes avec des cryoperles de conservation, à -80°C, dans l'attente des différentes analyses.

Tableau synoptique

Le tableau synoptique a été construit grâce au logiciel Excel et le recours à une méthode élaborée spécifiquement dans cette indication. Le tableau synoptique représente sur une échelle de temps la présence journalière de l'ensemble des patients porteurs de *S. aureus* au CHU de Strasbourg dans les différents services où ils ont séjourné.

Démarche

L'exhaustivité du dépistage d'admission et hebdomadaire est vérifiée grâce à la vérification de la réalisation effective d'un dépistage dans les 48 heures après l'admission d'un patient et la réalisation effective d'un dépistage le jour de réalisation de la campagne de dépistage hebdomadaire de l'unité de réanimation concernée (jours fixes dans la semaine).

Les patients qui ont bénéficié d'un dépistage de SARM et de SASM négatif à l'admission, et qui n'ont pas présenté de souche clinique de SARM ou SASM dans les 48 heures qui ont suivi l'admission, ont été considérés comme étant non porteurs de *S. aureus* à l'admission.

Les patients régulièrement dépistés et pour lesquels un portage de *S. aureus* est apparu au cours du séjour en réanimation, ont été identifiés : ils ont été considérés comme ayant acquis un *S. aureus* dans un service de réanimation du CHU. Le tableau synoptique permet de visualiser les transmissions croisées possibles entre les patients porteurs de *S. aureus* ayant partagé la même équipe soignante que les patients ayant acquis le micro-organisme durant leur séjour en réanimation.

Recherche de toxines

- La recherche de 8 entérotoxines sécrétées (SEA, SEB, SEC1, SED, SEE, SEG, SEH et SEI) et de la Toxic shock syndrom toxin – 1 (TSST-1) a été effectuée par la méthode xMAP Luminex (Bio-Plex, BioRad, Hercules, Etats-Unis) (148–150) et la détection de la Leucocidine de Pantou-Valentine et des épidermolysines A et B a été réalisée par immunoprécipitation (150).

Mode opératoire : Détection des 8 entérotoxines (SEA, SEB, SEC1, SED, SEE, SEG, SEH et SEI) et de TSST-1 par la méthode xMAP Luminex (Bio-Plex)

1. Culture de *S. aureus* dans 3mL du milieu BHI (tube de 16), incubé durant une nuit à 37°C sous agitation. Centrifuger 2 min à 10 000g et garder le surnageant. Témoin de culture :

- P2 (Fri361) : Sec, Sed, Seg, Sei
 - P4 (Fri137) : Sec, Seg, Seh, Sei
 - A79 : Sea, Seb
 - A67 : See
 - P57 : Tsst-1
2. Neutralisation de la protéine A de *S. aureus* pour les essais et le blanc BHI :
 - 30 µL de tampon INH (TBS x2 (80mM Tris HCL ; 280mM NaCl ; pH=7,5)), Tween 20 à 0,1%, BSA 2%, IgG aspécifique à 200µg/mL)
 - 30 µL surnageant issus de culture bactérienne en milieu BHI
 3. Préparer une solution fille contenant les 9 billes sensibilisées à 10⁵/mL dans du TBS x1/Tween 0,05% à partir d'une solution mère à 10⁶/mL :
 - Déposer 50 µL par puits (5 000 Bll x 9)
 - 1X (aspiration – Lavage 100 µL TBS x1 + Tween 20 à 0,05% par puits)
 4. Déposer 50 µL d'antigènes/puits selon le plan de plaque :
 - Standards (duplicate) : S1 (1 000 pg/mL) et S2 (100 pg/mL) dans TpBlc : TBSx1, Tween20 à 0,05%, BSA 1%, IgG aspécifiques 10µg/mL.
 - Blancs (duplicate) : TpBlc et BHI (1/2 dans TpINH)
 - Essais
 - Agiter 750 rpm – 1H30 à température ambiante – sous aluminium
 - 3X (aspiration – Lavage 100µL TBS-T)
 5. Préparer la solution d'anticorps biotinylés (purifiés par affinité) à 0,5 µg/mL (SEA), 0,25µg/mL (SEB, C, D, E), 1µg/mL (SEG, H, I et TSST) dans une solution de TBS x1, Tween 0,05%, BSA 1%.
 - Déposer 50 µL/puits
 - Agiter 750 rpm – au moins 1H température ambiante (TA) – à l'abri de la lumière (sous aluminium)
 - 3X (Aspiration – Lavage 100µL TBS)
 6. Préparer la solution de SAPE (Streptavidine-Phycoérythrine) à 1 µg/mL dans TBS-T + BSA 1%.
 - Déposer 50 µL/puits.
 - Agiter 750 rpm – au moins 15min à température ambiante (TA) – sous aluminium
 - 3X (Aspiration – Lavage 100µL TBS-T)
 - Reprendre dans 125µL/puits de TBS-T
 - Agiter 750 rpm – au moins 2min TA – sous aluminium
 7. Lecture sur l'appareil Bio-Plex (Biorad/Luminex)

Pour le seuil limite : S2 =100pg/mL

Rem : le signal (FI) est linéaire entre 100 et 1000pg/mL.

Mode opératoire : Immunoprécipitation pour la détection de la Leucocidine de Panton Valentine et des Epidermolysines A et B

1. Culture des souches de *S. aureus* 18h dans du milieu YCP à 37°C dans une atmosphère complétée à 5% de CO₂ sous agitation. Centrifuger 2 min à 10 000g et garder le surnageant.

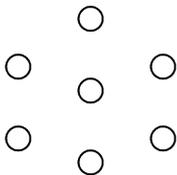
Rem : témoin de culture

V8 : PVL (F et S)

Riss : Eta

TC142 : Etb

2. Préparer et couler la solution (agarose 0,6% dans du PBS x1) dans des boîtes de Pétri. Laisser gélifier.
3. Creuser le nombre de rosaces nécessaires à l'aide d'un emporte-pièce de 4mm de diamètre en utilisant un modèle 0,7mm centre puits à centre puits.



4. Remplir les puits sachant que les positions 6h et 12h sont occupées par les témoins Ag et la position centrale contient l'anticorps :
 - a. Ag Luk F PV à 130 µg/mL
 - b. Ag Luk S PV à 130 µg/mL
 - c. Ag ETA à 200 µg/mL
 - d. Ag ETB à 200 µg/mL
 - e. Ac à 2,25 mg/mL purifiés par affinité
 - f. Essais : surnageant de culture bactérienne dans milieu YCP

5. Incuber 24H à +4°C

6. Lecture par rapport aux témoins Ag :
 - a. raccord parfait (identité Ag) = souche positive
 - b. éperon (non-identité Ag) = souche négative
 - c. pas d'arc = souche négative

Limite sensibilité de l'IP : 10 à 20 µg/mL d'Ag.

Recherche de facteurs de virulence membranaires

La recherche des facteurs de virulence membranaires a été effectuée par PCR. Les gènes recherchés codent pour des facteurs d'adhésion suivants : la protéine liant la laminine (Lbp), la protéine de liaison à la fibronectine (FnbA et FnbB), la protéine de liaison au fibrinogène (Fib), la protéine de liaison à l'élastine (Ebp), et le facteur d'agglomération B (Clf).

Les amorces utilisées sont listées dans le tableau 5. Les cycles de PCR ont suivi les étapes suivantes : dénaturation initiale à 95°C pendant 30 secondes, suivie de 30 cycles d'amplification comprenant chacun : dénaturation (30 secondes à 95°C), hybridation (30 secondes à 48°C), puis élongation (1 minute à 68°C) . La réaction se termine par une étape d'extension finale pendant 5 minutes à 68°C. L'enzyme utilisée est la Taq DNA polymerase (New England Biolabs, New England). La PCR a été réalisée dans le thermocycler TC 3000 (Bibby Scientific Ltd, United kingdom).

Le mélange réactionnel de 25µL comprend 0,125 µL de Taq DNA polymerase (New England Biolabs), 10X de tampon PCR, 10 µM de chaque amorce, 10 mM de chacun des dNTPs et 1 µL d'ADN matriciel.

Tableau 5 : Liste des amorces utilisées pour la PCR à la recherche de gènes de facteurs de virulence membranaires

Gène	Séquence d'oligonucléotides	Taille (pb)
<i>Lbp-1</i> :	5'-TGGTGTATATGACTACAGTAAGTT-3'	410
<i>Lbp-2</i> :	5'-CGTTTGTAGCAACAGCAATATCAGC-3'	
<i>FnbA-1</i> :	5'-TTAACTTGGGATAATGGTTTAGTTT-3'	273
<i>FnbA-2</i> :	5'-GCTGATGAATCCGTTTCTTCTATTG-3'	
<i>FnbB-1</i> :	5'-TGGAAGAACTAAAGCGACAGGTAC-3'	273
<i>FnbB-2</i> :	5'-TTCTTTAAACGTATATCTAACTTTTC-3'	
<i>Fib-1</i> :	5'-AGCGGCAATAGGTATTACTACAAC-3'	220
<i>Fib-2</i> :	5'-CGAATGTACCATCGTTAAATTCAT-3'	
<i>Ebp-1</i> :	5'-AGACCAATCAGAATTAGAACATCA-3'	378
<i>Ebp-2</i> :	5'-TCAGAACTGTTGAATGCTCAGTGT-3'	
<i>Clf-1</i> :	5'-ATTAGTGCAAACACAAACAGTGCG-3'	305
<i>Clf-2</i> :	5'-AGTTCCTTGCGCATTGGAAATCGT-3'	

1 : sens 2 : anti sens

Nous avons exprimé les résultats des PCR par présence ou absence du gène recherché.

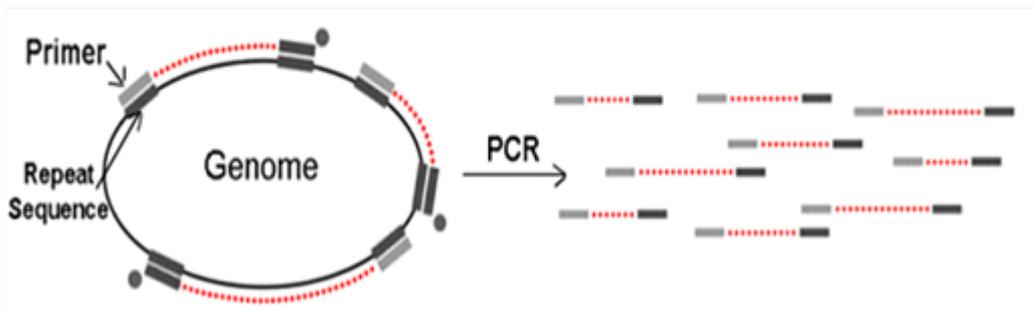
Les profils des différentes souches obtenus par les deux techniques précédentes (toxines et facteurs membranaires) ont été analysés à l'aide d'une technique d'Analyse des Correspondances Multiples (ACM) à l'aide de la fonction MCA du package *FactoMineR* du logiciel R. Cette technique permet d'analyser des ressemblances entre individus à partir de tableaux de données qui sont des variables qualitatives. La technique de l'ACM s'applique donc, et pourrait servir de technique de clusterisation (151).

Typage des souches avec le système Diversilab®

Généralités

Le typage des souches a été réalisé avec le système Diversilab® (BioMérieux S.A., Marcy l'Etoile, France) (152,153). Cette technique de biologie moléculaire semi-automatisée permet le typage et la classification de différentes souches bactériennes, dont *S. aureus*, dans un but épidémiologique (154,155). Elle est basée sur le principe de la « Repetitive sequence based PCR » ou « Rep PCR » (*Repetitive Extragenic Palindrome – Polymerase Chain Reaction*). Il s'agit de l'amplification par PCR à l'aide d'une Taq Polymerase de petits fragments d'ADN ciblés compris entre des séquences courtes répétées non codantes, dispersées sur le génome et spécifiques d'un genre bactérien (Figure 8). Les fragments d'ADN ainsi amplifiés sont ensuite séparés par micro-électrophorèse et détectés par l'Agilent 2100 Bioanalyser (Agilent Technologies, Les Ulis, France). Les résultats sont transmis au logiciel Diversilab® qui permet d'effectuer un suivi de tout le processus, de l'extraction à l'analyse des résultats.

Step 1 rep-PCR primers bind to many specific repetitive sequences interspersed throughout the genome. Multiple Fragments of various lengths are amplified.



Step 2 Fragments can be separated by size and charge. A unique rep-PCR fingerprint profile is created containing multiple bands of varying sizes and intensities.



Figure 8 : Principes de la technique de typage Diversilab® (notice d'utilisation)

Typage des souches

Plusieurs étapes sont nécessaires pour réaliser le typage de souches avec le système Diversilab®.

Chaque souche a tout d'abord été mise en culture sur gélose au sang (Oxoid, Wesel, Allemagne) et incubée 24 heures à 37°C.

L'ADN de chaque souche a ensuite été extrait à l'aide de l'*UltraClean™ Microbial DNA Kit* (Mo Bio Laboratories, Carlsbad, Etats-Unis), selon les préconisations du fournisseur. L'ADN ainsi extrait a ensuite été quantifié à l'aide du NanoDrop (ThermoFischer Scientific), et reporté à une concentration comprise entre 25 et 50 ng/µL.

L'étape de Rep PCR a été réalisée avec le *DL Staphylococcus Kit* (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) contenant les amorces spécifiques des séquences répétées de Staphylocoques, des acides nucléiques en excès, des contrôles positifs et négatifs, une Ampli Taq DNA Polymerase (Applied Biosystems), et le thermocycler GeneAmp PCR System 9700 (ThermoFischer Scientific).

Les produits amplifiés sont déposés dans les puits d'une micropuce (LabChip Kit, bioMérieux, Marcy l'Etoile, France). Un gel contenant un marqueur fluorescent et des marqueurs de poids moléculaires sont également ajoutés. La puce ainsi préparée est transférée dans l'Agilent 2100 Bioanalyser qui permet de réaliser la micro-électrophorèse, la détection des fragments et la transmission au logiciel Diversilab® du profil électrophorétique brut obtenu.

L'analyse des résultats a été réalisée avec le logiciel Diversilab® (version 3.4). Il s'agit d'une application web sécurisée qui stocke les profils électrophorétiques obtenus, normalise les données et analyse la similarité entre les profils. La standardisation de cette technique (quantification de l'ADN extrait, habilitation du personnel, validation du thermocycler, ajout de marqueurs de poids moléculaires) permet de comparer des profils obtenus dans des séries différentes (Figure 7). Plusieurs outils sont disponibles pour faciliter l'interprétation des données : le dendrogramme qui est une représentation hiérarchisée et ordonnée des similarités entre plusieurs profils ; la matrice de similarité qui fournit les pourcentages de similarité de toutes les souches entre elles ; les nuages de points, qui offrent une vision plus large de la répartition des profils. Chaque profil est visible sous forme de graphique représentant les données réellement obtenues ou sous forme d'image en gel virtuel, image qui a été recréée par le logiciel pour représenter le graphique comme s'il avait été réalisé en gel d'agarose. La fonction « *Analysis Tool* » du logiciel permet de superposer entre 2 et 10 graphiques ce qui permet une analyse plus fine. Trois options sont disponibles dans le logiciel pour calculer le pourcentage de

similarité entre les échantillons : la corrélation de Pierson, la méthode Kullback-Leibler (KL) modifiée et la méthode Extended Jaccard. Ces trois méthodes insistent différemment sur la présence et l'intensité des pics. Pour la comparaison des souches de staphylocoques, la méthode Kullback-Leibler modifiée a été utilisée. Cette méthode est adaptée aux profils présentant peu de bandes de forte intensité. Elle insiste principalement sur la présence et l'absence de pics plutôt que sur leur intensité (*Manuel d'utilisation Diversilab*).

Interprétation

On examine tout d'abord la matrice de similarité qui permet de faire une analyse globale (Figure 9).

Puis pour des souches qui semblent proches, une analyse plus fine est nécessaire. Pour cela on utilise l'outil *Analysis tools* qui permet de superposer les graphiques (Figure 10) et de vérifier l'intensité des marqueurs de poids moléculaires.

On évalue ensuite le nombre de différences de pics.

Les règles d'interprétation (*Manuel d'utilisation p134*), sont :

- Aucun pic différent, les souches sont non différenciables (Figure 11).
- Un pic différent, il s'agit de souches similaires. Elles n'appartiennent pas au même pattern mais seront dans le même groupe (Figure 12).
- Au moins deux pics différents : il s'agit de souches différentes (Figure 13).

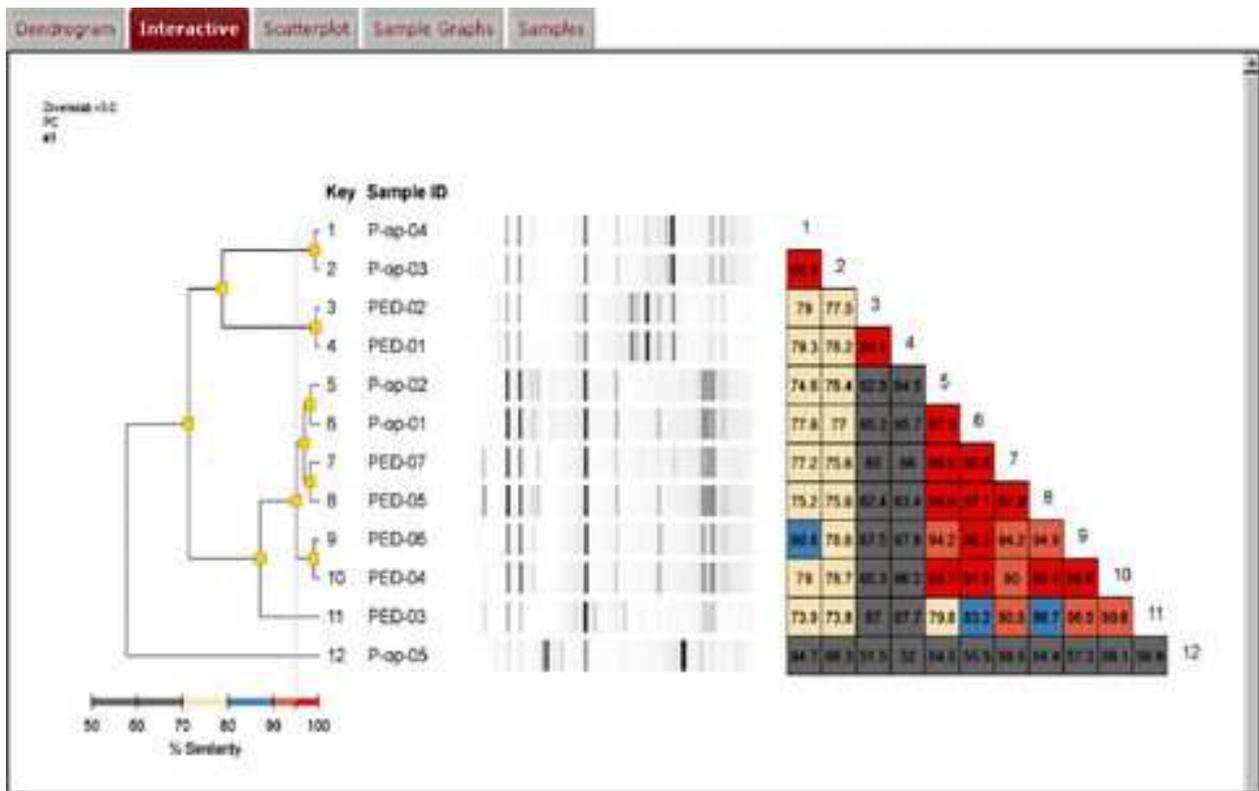


Figure 9 : Exemple d'analyse de similarité de plusieurs souches : à gauche le dendrogramme, au milieu un pseudogel, à droite la matrice de similarité

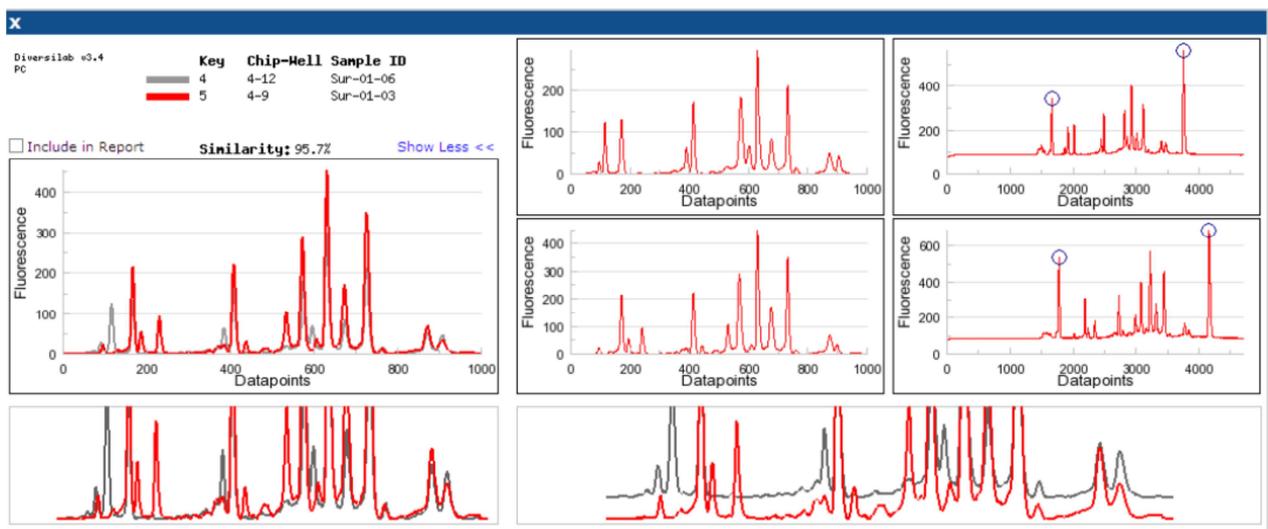


Figure 10 : Exemple de superposition de graphiques

Diversilab v3.6
KL
Report #87

	Key	Chip-Well	Sample ID
—	37	72-8	souche 195
—	38	72-7	souche 172

Similarity: 99.6%

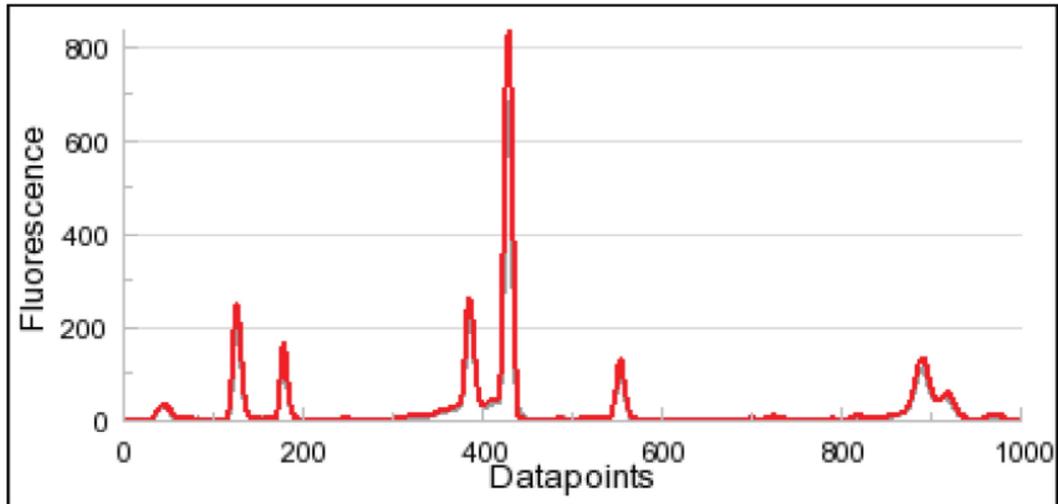


Figure 11 : Exemple de superposition parfaite de deux graphique (similarité 99,6%) : souches non différenciables

Diversilab v3.6
KL
Report #87

	Key	Chip-Well	Sample ID
—	26	50-4	souche 265
—	38	72-7	souche 172

Similarity: 96.9%

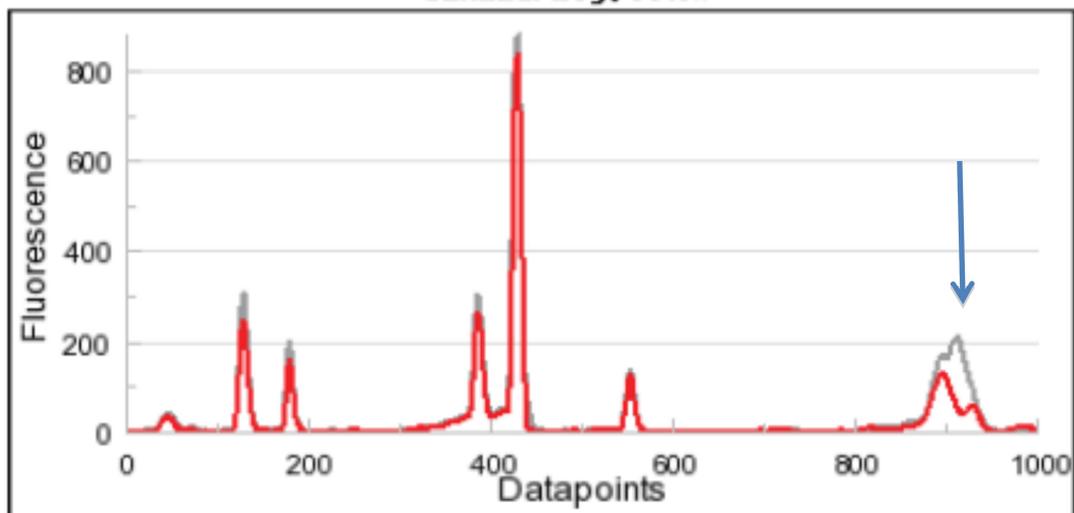


Figure 12 : Exemple de superposition de deux graphiques avec seulement une différence (similarité 96,9%) : souches similaires

Key	Chip-Well	Sample ID
3	56-8	souche 233
12	72-5	souche 73

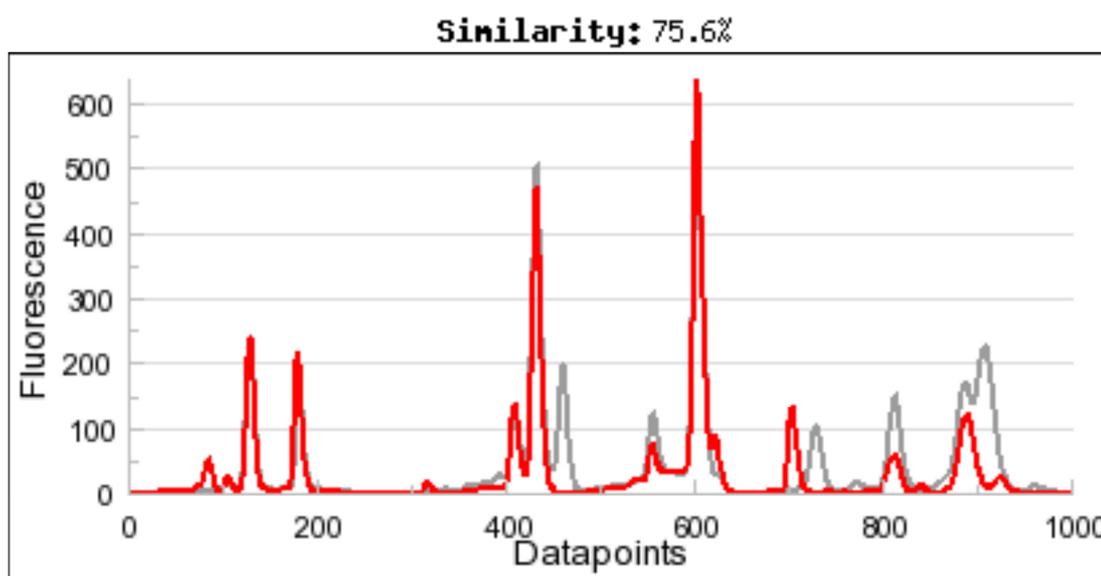


Figure 13 : Exemple de superposition de deux graphiques avec plusieurs pics de différence (similarité : 75,6%) : souches différentes

Résultats

192 patients ont été dépistés positifs à *S. aureus* sur la période du 15 février au 15 mai 2012. 329 souches de *S. aureus* ont été isolées : 28% d'entre elles étaient résistantes à la méticilline.

Parmi ces patients, 11 ont été déclarés comme étant des infections ou un portage acquis en réanimation, soit 11 cas nosocomiaux. Notre réflexion débute à partir de ces 11 cas.

Parmi ces 11 patients, 6 proviennent de réanimation médicale site n°1 (service A) et 5 proviennent de réanimation chirurgicale site n°1 (service B). Aucun cas nosocomial n'a été identifié sur les 3 autres services de réanimation inclus dans l'étude (site n°2).

Nous avons établi une liste de patients autour de ces cas nosocomiaux en prenant en compte 2 critères : un séjour commun (même équipe soignante) et un prélèvement positif à *S .aureus*.

En réanimation médicale (service A) : 45 patients répondent à ces critères ; en réanimation chirurgicale (service B) : 20 patients.

Nous avons donc, au total, pris en compte 76 patients dans le cadre d'une comparaison de souches pendant une épidémie.

Exhaustivité du dépistage

Le dépistage d'admission a été réalisé pour 163 patients sur 192 (85%).

Le dépistage hebdomadaire a été effectué 259 fois sur 294 (88%).

Recherche de facteurs de virulence

300 souches de *S. aureus* ont pu être screenées tant pour la recherche de toxines que pour la recherche de gènes de virulence membranaires. 29 souches supplémentaires n'ont pu être screenées que pour la recherche de toxines.

L'exploitation des données liées à la recherche de facteurs de virulence sécrétés ou membranaires nous permet de déterminer des groupes de souches qui semblent similaires.

Un regroupement des souches uniquement sur la recherche de gènes de virulence membranaires (Tableau 6) nous permet de proposer un regroupement en profils similaires. Toutefois le groupe 1 est très fortement majoritaire (profil FnbA+, ebp+ et Clf+) et comprend 75% des souches. Il n'est pas discriminant. La recherche du gène FnbA a montré qu'il était présent chez toutes nos souches. Il n'est pas discriminant.

Le regroupement des recherches de toxines et de gènes de virulence membranaire a donné lieu à une base de données qui a été exploitée par une analyse en correspondances multiples. Un regroupement différent des souches a été produit : 7 clusters ont ainsi été identifiés.

Les Figures 14 et 15 montrent la répartition des clusters identifiés. Les 7 clusters identifiés semblent difficiles à distinguer (Figure 15).

Tableau 6 : Répartition de la présence de gènes de virulence membranaires de *S. aureus*

Nb souches	Génotypes	Lbp	FnbA	FnbB	Fib	ebp	Cif
225	Groupe 1	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)
2	Groupe 2	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)
4	Groupe 3	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
27	Groupe 4	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
19	Groupe 5	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
13	Groupe 6	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)
1	Groupe 7	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
6	Groupe 8	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
2	Groupe 9	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)

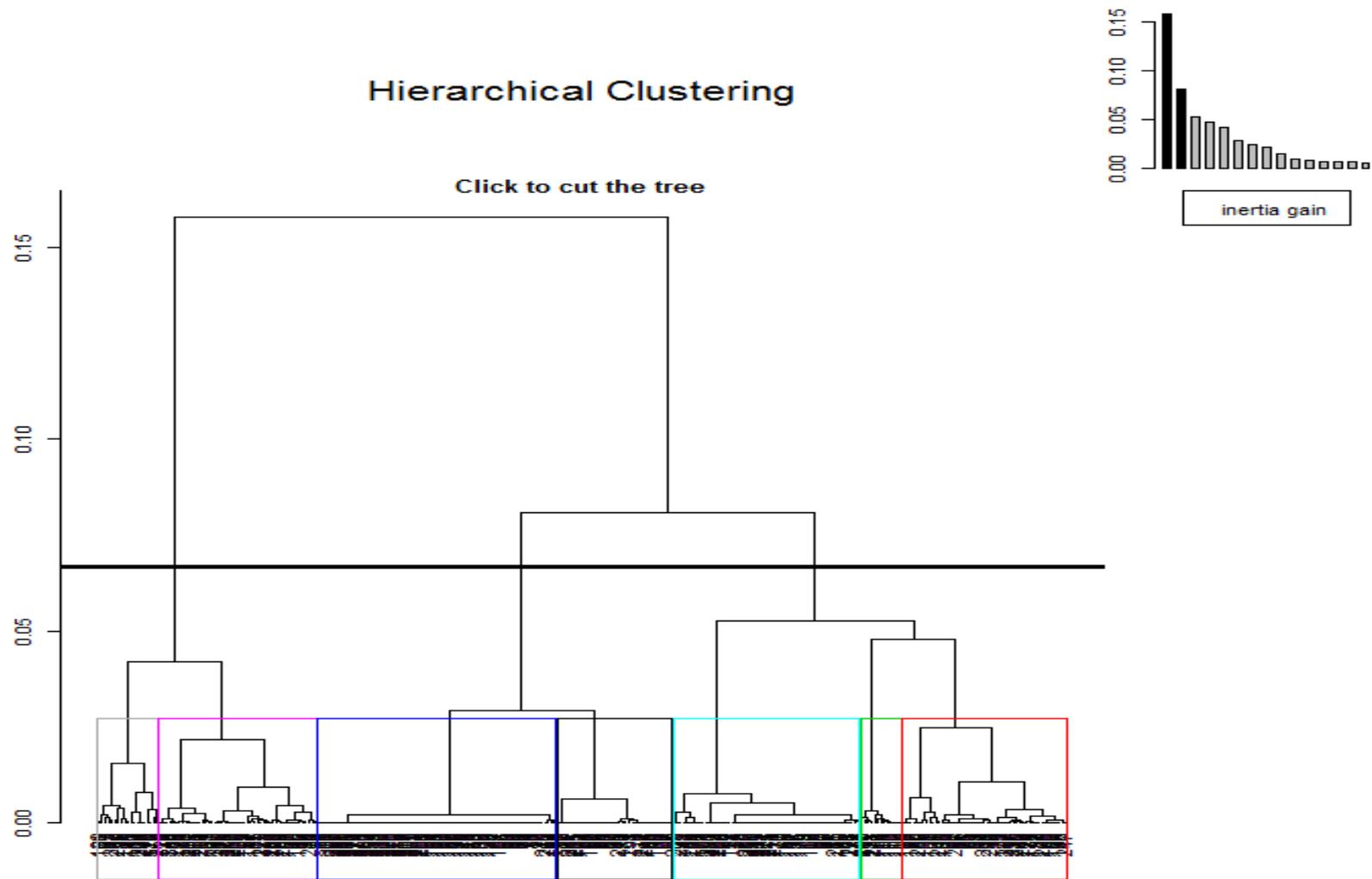


Figure 14 : Dendrogramme de hiérarchisation des souches de *S. aureus* selon la présence de toxines ou de gènes de virulence membranaires (analyse en correspondances multiples). 7 clusters sont identifiés

Hierarchical clustering on the factor map

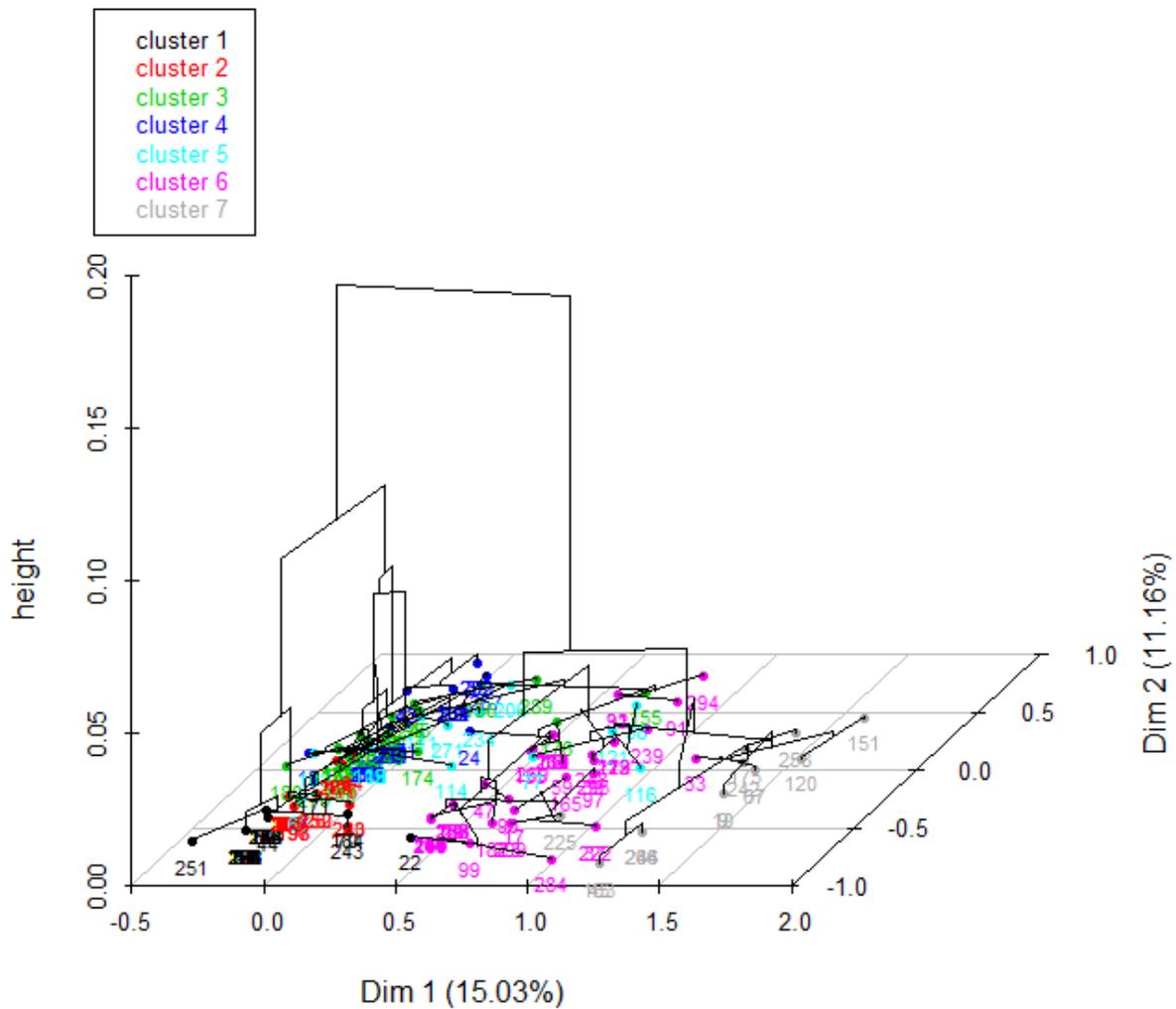


Figure 15 : Représentation en trois dimensions du dendrogramme de hiérarchisation des souches de *S. aureus* selon la présence de toxines ou de gènes de virulence membranaires (analyse en correspondance multiple)

Recherche a posteriori d'épisodes épidémiques

11 patients ont présenté un dépistage négatif à l'admission, mais ont développé par la suite soit un portage à *S. aureus* dans le nez, soit une infection à *S. aureus*, soit les deux. Ces patients sont issus de deux services de réanimation uniquement : le service A est composé de 3 sous-unités A1, A2 et A3 avec une capacité totale de 30 lits ; le service B de 18 lits. Les patients sont répartis : 2 pour chacune des unités du service A et 5 pour le service B.

Tous les patients contacts, c'est à dire qui ont partagé la même équipe soignante et qui ont au moins un prélèvement positif à *S. aureus*, ont été identifiés. Les souches de *S. aureus* de ces patients ont été comparées aux souches portées par les 11 patients ayant présenté une acquisition de *S. aureus*.

Pour chaque patient porteur de *S. aureus*, il a été vérifié si toutes les souches sont bien clonales. Si c'est le cas, seulement une souche a été introduite pour construire le dendrogramme général. En cas de discordance, une souche de chaque pattern est utilisée.

63 souches de *S. aureus* sont utilisées pour construire le dendrogramme : la matrice de corrélation est calculée et permet de classer les souches selon leur degré de similarité (Tableau 7, Figures 16 et 17). 12 patterns comprenant au moins 2 souches ont été dénombrés. 2 groupes de souches similaires ont été mis en évidence :

- Groupe 1 : comprend 3 patterns et 2 souches isolées, représentant 16 patients (11 porteurs de SARM du service A, 4 porteurs de SASM et 1 SARM du service B).

Dans ce groupe, un patient est passé du statut d'indemne à l'admission au statut de porteur de SASM durant une semaine (semaine 1), puis porteur de SARM (semaine 2) et a développé in fine une bactériémie à SARM compliquée d'une arthrite à SARM (semaine 4).

- Groupe 2 : on dénombre 4 patterns pour 15 patients, dont 14 porteurs de SASM et 1 de SARM.

Group	Pattern	Key	Sample ID	Alternate ID	Comments	Location	
1	1	1	souche 250	PAT 29 FN ADM	SASM	A3	
		2	souche 04	PAT 130 CLIN1	SASM	B	
		3	souche 233	PAT 176 FN ADM	SASM	A3	
		4	souche 286	PAT 134 FN S3	SASM	A1	
		5	souche 40	PAT 137 FN ADM	SASM	B	
		6	souche 252	PAT 134 FN S1	SASM	A1	
		7	souche 257	PAT 139 FN S5	SASM	A3	
		8	souche 204	PAT 94 FN ADM	SASM	A1	
		9	souche 290	PAT 105 FN ADM	SASM	A2	
	2	10	10	souche 44	PAT 156 FN ADM	SASM	A2
			11	souche 140	PAT 108 FN ADM	SASM	A3
			12	souche 73	PAT 112 FN S3	SASM	A1
			13	souche 206	PAT 50 FN ADM	SASM	A1
			14	souche 289	PAT 71 FN ADM	SASM	A3
	3	15	15	souche 173	PAT 186 FN ADM	SASM	A1
			16	souche 328	PAT 55 FN ADM	SASM	A3
			17	souche 07	PAT 130 CLIN2	SASM	B
	4	18	souche 196	PAT 152 FN ADM	SASM	A2	
	5	19	souche 219	PAT 01 FN ADM	SASM	A1	
	6	20	20	souche 269	PAT 113 FN S3	SARM	A1
			21	souche 276	PAT 104 FN S1	SARM	A2
	7	22	souche 177	PAT 33 CLIN1	SARM	A3	
	8	23	souche 251	PAT 45 FN ADM	SASM	A3	
1	9	24	souche 248	PAT 02 FN ADM	SARM	A3	
		25	souche 260	PAT 03 FN ADM	SARM	A2	
		29	souche 148	PAT 155 CLIN1	SARM	A3	
		34	souche 284	PAT 176 FN S2	SARM	A2	
		35	souche 285	PAT 163 FN S1	SARM	A1	
	10	26	26	souche 265	PAT 138 FN S2	SARM	A3
			27	souche 54	PAT 075 FN S1	SARM	A2
			28	souche 22	PAT 116 CLIN1	SARM	A1
			30	souche 271	PAT 06 FN ADM	SASM	B
			31	souche 197	PAT 169 FN ADM	SARM	A2
			33	souche 94	PAT 106 FN S1	SARM	A3
			36	souche 295	PAT 123 FN S1	SASM	B
	11	32	souche 253	PAT 94 FN S3	SARM	A1	
	12	37	37	souche 195	PAT 41 FN S2	SARM	
			38	souche 172	PAT 41 FN S1	SASM	B
	13	39	souche 35	PAT 10 FN ADM	SASM	B	
	14	40	souche 263	PAT 34 FN ADM	SASM	B	
	15	41	41	souche 321	PAT 21 FN ADM	SASM	B
			42	souche 02	PAT 181 FN ADM	SASM	B
			43	souche 77	PAT 165 FN ADM	SASM	B
44			souche 39	PAT 72 FN ADM	SASM	A1	
45			souche 152	PAT 150 FN ADM	SASM	A3	
2	17	48	souche 76	PAT 52 FN ADM	SASM	B	
		46	souche 223	PAT 127 FN ADM	SASM	A1	
16	47	47	souche 12	PAT 162 FN S2	SASM	B	
		50	souche 72	PAT 39 FN ADM	SASM	A2	
		51	souche 277	PAT 28 FN ADM	SARM	A3	
		52	souche 48	PAT 31 FN ADM	SASM	B	
	19	53	53	souche 232	PAT 15 FN ADM	SASM	A3
			54	souche 242	PAT 171 FN ADM	SASM	A1
	20	55	55	souche 34	PAT 043 FN S1	SASM	B
			56	souche 05	PAT 110 CLIN1	SASM	B
			57	souche 273	PAT 09 FN S1	SASM	A1
			58	souche 288	PAT 60 CLIN1	SASM	B
			59	souche 192	PAT 40 FN S14	SARM	B
	21	60	souche 279	PAT 124 FN ADM	SASM	A2	
22	61	souche 294	PAT 125 CLIN1	SASM	B		
23	62	souche 160	PAT 128 FN ADM	SASM	A1		
24	63	souche 01	PAT 122 FN SX	SASM	A1		

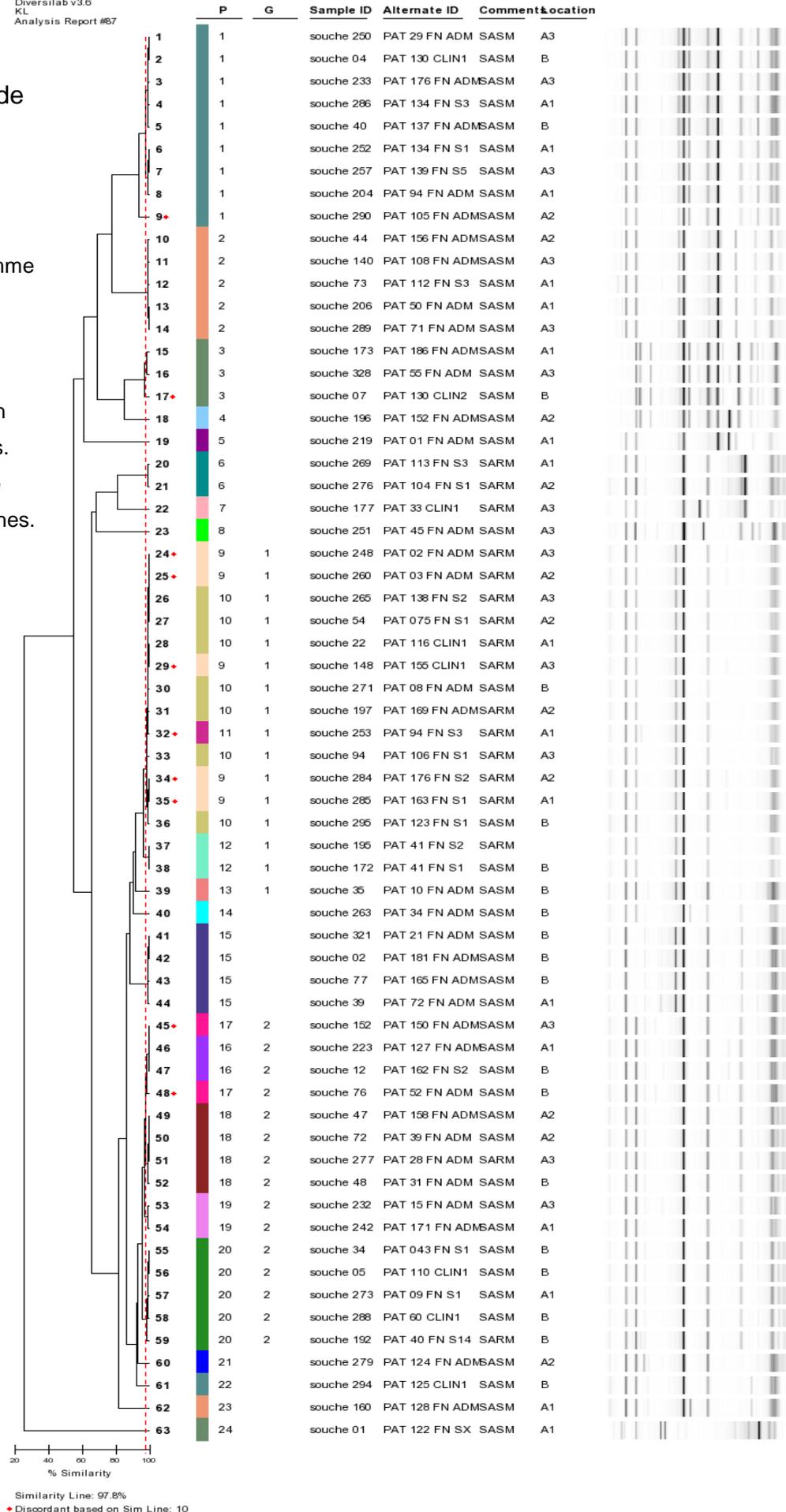
Tableau 7 : Hiérarchisation des souches de *S. aureus* selon leur similarité (procédé Diversilab®). A droite du tableau, équivalent de pseudogel. A gauche du tableau, les regroupements de pattern en grand groupe de souches génétiquement très proches

Figure 16 :
 Rapport d'analyse de
 la plateforme
 Diversilab®

A gauche : dendrogramme
 de hiérarchisation des
 souches selon leur
 similarité.

Au milieu : identification
 des souches analysées.

A droite : pseudogel de
 comparaison des souches.



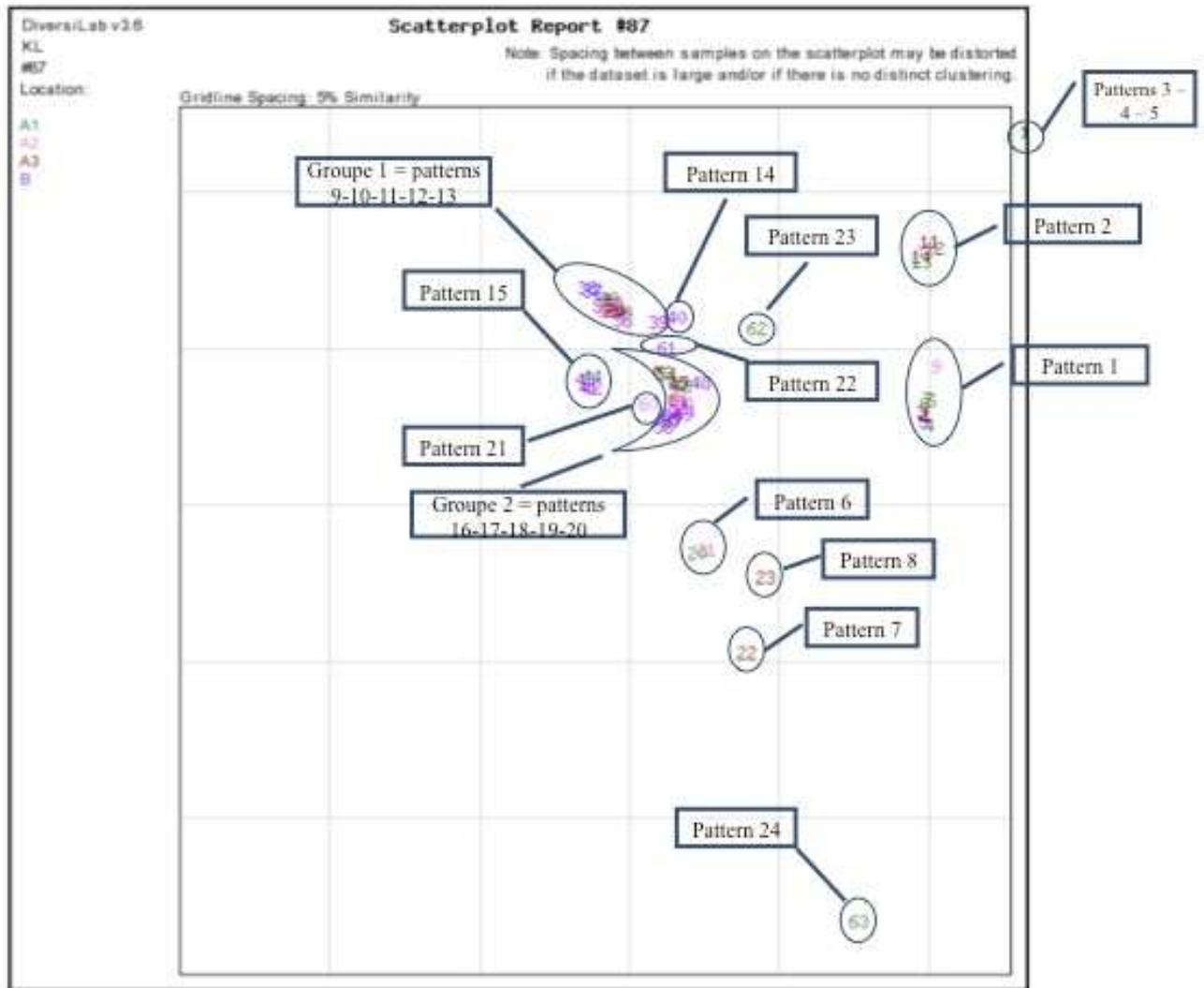


Figure 17 : Représentation graphique des différents patterns obtenus par la méthode Diversilab®

Pour chaque pattern, les patients correspondants ont été sélectionnés dans le tableau synoptique. Des situations de transmission croisée ont été recherchées : patients présents en même temps (Tableau 8).

Tableau 8 : Situations de transmissions croisées identifiées à l'aide de l'analyse Diversilab®

Pattern	Nombre de patients concernés	Nombre de SARM	Nombre de SASM	Situations de transmissions croisées identifiées
P1	8	0	8	A1 → A3 A3 → A3
P2	5	0	5	0
P3	3	0	3	0
P4	1	0	1	NA
P5	1	0	1	NA
P6	2	2	0	A1 → A3
P7	1	1	0	NA
P8	1	0	1	NA
P9	5	5	0	A3 → A3
P10	7	0	2	B → B
		2	0	A1 → A2
		2	0	A3 → A2
P11	1	1	0	NA
P12	1	1	0	NA
P13	1	0	1	NA
P14	1	0	1	NA
P15	4	0	4	0
P16	2	0	2	0
P17	2	0	2	0
P18	4	1	3	A2 → A2
P19	2	0	2	A3 → A1
P20	5	1	4	B → B → B
P21	1	0	1	NA
P22	1	0	1	NA
P23	1	0	1	NA
P24	1	0	1	NA

NA : non applicable

Nous avons vérifié s'il y avait des similitudes entre les clusters produits par le procédé Diversilab® et la clustérisation faite par l'ACM à partir des recherches de toxines et les PCR à la recherche des facteurs de virulence membranaires. Les clusters établis par les deux procédés pour les 63 souches analysées ne correspondent pas.

Discussion

Cette étude a porté sur une courte période de temps de 3 mois. Nous n'avons donc qu'une vision partielle de ce qui se passe dans les réanimations du CHU de Strasbourg. Les 5 services de réanimation adulte ont participé mais une exploitation plus fine n'a été réalisée que pour 2 d'entre eux car les 11 patients correspondant aux critères d'acquisition nosocomiale de *S. aureus* ne se trouvaient que chez eux. Ceci ne présage pas de ce qui se passe le reste du temps.

L'exhaustivité du dépistage du SARM est perfectible globalement. Une analyse plus détaillée, service par service, est nécessaire pour vérifier le respect des consignes institutionnelles. Ces consignes n'ont pas évolué depuis de nombreuses années dans notre établissement pour ce qui est du SARM, alors que les débats sont riches sur le sujet, surtout en situation économique difficile.

Outre l'intérêt du dépistage en tant que tel, notre étude a porté sur l'exploitabilité des résultats de cette surveillance microbiologique en termes de détection d'épidémies.

Une épidémie se caractérise dans ce contexte par un nombre de cas observés significativement plus important que le nombre de cas attendus ou prévisibles. Pour que cette définition puisse s'appliquer, il faut que les services ou l'établissement disposent d'un outil de vigilance permettant de se rendre compte suffisamment tôt d'une telle élévation. Malheureusement les outils de surveillance en réseau sur les BMR ne recueillent les informations que 3 mois par an, avec une publication décalée dans le temps des résultats. Une utilisation comme outil de vigilance n'est donc pas possible. L'alerte ne peut provenir que du ou à partir du laboratoire de microbiologie de l'établissement. Par ailleurs les réseaux de surveillance (RAISIN, EARS Net, ...) s'intéressent plutôt à la production des souches cliniques qui sont moins biaisées, qu'à la production des souches épidémiologiques parce qu'elle va dépendre d'un certain nombre de facteurs locaux (stratégie d'établissement, financement consenti dans cette stratégie, capacité du laboratoire, hiérarchisation par rapport à d'autres BMR).

Pour réaliser le typage de nos souches de *S. aureus*, nous nous sommes intéressés à deux techniques très différentes : la technique Diversilab® et l'exploitation des recherches de facteurs de virulence de *S. aureus*.

Nous avons été surpris de n'avoir qu'un site de notre établissement qui objective des cas de transmissions croisées. Par contre, les échanges de souches à l'intérieur des trois unités du service A ne sont pas surprenant car il y a du personnel partagé entre les 3 unités : un infirmier volant et l'équipe médicale de garde comprenant un médecin réanimateur senior, un interne et un étudiant hospitalier, ainsi que du matériel itinérant comme les machines réalisant l'hémodialyse ou l'échographe. Le respect des précautions standard est probablement perfectible, tant sur le versant hygiène des mains que le traitement du matériel partagé. Par contre dans certains pattern se retrouvent certaines souches de l'autre service de réanimation qui est situé dans une autre partie du site. Il y a parfois du partage de matériel comme le prêt d'un hémodialyseur en dépannage et les deux services sont approvisionnés en dispositifs de traitement à pression négative de certains pansements complexes. Mais les situations d'échange direct sont peu fréquentes. A noter que les patients ont accès au même plateau technique d'imagerie et qu'un certain nombre de patients des deux services arrivent par le service des urgences. Cette grande similarité entre les souches des deux services distincts dans certains pattern ne pas être expliquée sur les éléments dont nous disposons.

D'autres éléments sont à prendre en compte.

Lorsqu'un patient est identifié porteur de *S. aureus*, il est certainement colonisé par plusieurs clones de *S. aureus* (163). Lorsque l'on exploite un frottis nasal et que des colonies de staphylocoque doré sont identifiées, il faut en prélever plusieurs colonies pour espérer en avoir un panel représentatif de la niche écologique. Et dans le cas particulier du SASM, un frottis nasal négatif n'implique pas que le patient soit non porteur.

Dans cette étude, un certain nombre de situations de transmissions croisées ne sont pas explicables. Cela suggère que nous n'avons pas une vision complète et réelle des transmissions qui peuvent s'opérer. Selon la technique de typage des souches bactériennes, nous pouvons parfois aboutir à des conclusions sensiblement différentes. Le recours de plus en plus fréquent au séquençage du génome bactérien en entier offre d'ailleurs de nouvelles perspectives dans le typage des micro-organismes. Price et coll. (164,165) ont appliqué cette technique dans le cadre d'épidémies à *S. aureus* pourtant étayées par des techniques conventionnelles (typage du gène *spa* montrant une très forte

similarité et une présence concomitante dans l'unité) et ont démontré que toutes les transmissions n'étaient pas vérifiées. Ces auteurs font la promotion de cette technique innovante qui n'est pas encore vraiment démocratisée (Tableau 9).

Comparison of the *Staphylococcus aureus* typing techniques

Technique	Set-up cost	Cost per isolate	Current availability	Time to results	Data analysis	Data transferability	Common nomenclature	Level of resolution
PFGE	Low	£4–7	Local and reference laboratories	2–3 days	Minimal	Limited	USA type (USA-)	Lineage
MLVA	Low	£3–5	Research and reference laboratories	24 h	Minimal	Limited	MLVA complex (Sa-)	Lineage
MLST	High	£20	Research and reference laboratories	Days	Moderate	Yes – widely	Sequence type (ST-)	Lineage
spa	High	£3–5	Local and reference laboratories	24 h	Moderate	Yes – widely	Spa-type (t-)	Lineage
WGS	High	~£100	Research laboratories	Real time ^a	High	Being addressed	To be determined	Base pair

PFGE, pulsed-field gel electrophoresis; MLVA, multi-locus variable-number tandem-repeat analysis; MLST, multi-locus sequence typing; spa, spa-typing; WGS, whole genome sequencing.

^a Third generation sequencing platforms.

Table 9 : Comparaison des différentes techniques de typage de *S. aureus* (166)

L'exploitation de la recherche de facteurs de virulence chez les souches de *S. aureus* n'a rien apporté dans ce travail. Le recours de l'analyse en correspondances multiples devait apporter une clustérisation neutre, non biaisée. Nous ne pouvons pas conclure à son éventuel intérêt sans comparaison à une technique de référence.

Conclusions et perspectives

Les SARM et EBLSE sont endémiques en France. Ces bactéries représentent un risque pour les patients de réanimation dont l'état de santé et les défenses sont altérées. Le dépistage des BMR est donc recommandé pour ces secteurs en vue d'éviter les événements indésirables liés à ces bactéries.

La surveillance limitée au portage de SARM ne se prête pas à la détection d'épidémie vue la réduction de la prévalence du SARM alors que celle de SASM augmente et qu'il ne pose pas moins de problèmes dans la pratique médicale.

CONCLUSIONS

I. Conclusion

La surveillance clinico-biologique des IN en réanimation permet leur étude et en particulier l'identification de leur impact global pour le patient. Elle peut s'ajouter (mais non se restreindre) à la surveillance microbiologique des bactéries d'intérêt épidémiologique particulier, telles que les BMR. Nos travaux ont montré que des modèles mathématiques adaptés sont utilisables et c'est la combinaison de ces modèles qui permet de répondre à l'ensemble des questions.

Comme nous l'avions supposé, les IN ont un impact sur la mortalité et la durée de séjour des patients touchés. Les pneumopathies nosocomiales ont l'impact le plus important sur la durée de séjour mais un impact modéré sur la mortalité. Les bactériémies liées aux cathéters ont l'impact le plus important sur la mortalité, mais modéré sur la durée de séjour. Enfin, les infections urinaires n'ont aucun impact sur la mortalité, mais accroissent légèrement la durée de séjour.

La surveillance par les dépistages microbiologiques pourtant protocolisés, souffre d'un manque d'exhaustivité et ne permet pas d'en faire un véritable outil de vigilance. La détection des épidémies n'est pas aisée si la surveillance se restreint au SARM, sans inclure les SASM.

II. Perspectives

Ce travail de thèse pointe plusieurs questions ou problèmes que des travaux ultérieurs vont devoir résoudre.

1. Les analyses de données de surveillance longitudinale sont mieux abordées par des analyses statistiques de type séries chronologiques. L'application de ces méthodes pourrait peut-être apporter une réponse au problème d'effet période constaté dans notre série de données. L'apprentissage et l'acquisition d'un logiciel dédié sont nécessaires pour la poursuite de cet axe de travail.

2. La modélisation par des modèles multi-états s'impose pour la description et l'analyse d'un certain nombre de phénomènes de santé comme l'infectiologie, communautaire ou nosocomiale. Toutefois les possibilités sont multiples : nombre d'états à prévoir, modélisation des transitions entre les états, ... L'interprétation des résultats doit être prudente. Les différents logiciels ou packages pour R ne permettent pas de tout faire et il faut savoir choisir le bon outil. Un réflexe sur la question posée et sur la nature des données dont on a réellement besoin est à mener avant de se lancer dans ce type d'exercice.
3. La comparaison des résultats des techniques de typage des souches doit se faire avec des techniques statistiques plus spécialisées pour être plus pertinente, sans toutefois perdre de vue les données patients. La mise en place d'outils de production de tableaux synoptiques automatisés sera d'une grande aide pour cibler les patients éligibles à une transmission croisée qu'il faudra vérifier. Le choix de techniques rapides et peu coûteuses sera privilégié.
4. En termes de typage de souches bactériennes, l'avenir semble résider dans le séquençage du génome entier bactérien. L'intérêt semble réel notamment pour l'étude de *Staphylococcus aureus* : l'accès n'y est pas encore facilité, mais l'avenir semble prometteur.

Bibliographie

1. Dunn PM. Dr Alexander Gordon (1752–99) and contagious puerperal fever. *Arch Dis Child-Fetal Neonatal Ed.* 1998;78(3):F232–F233.
2. Stewardson A, Pittet D. Ignác Semmelweis—celebrating a flawed pioneer of patient safety. *The Lancet.* 2011;378(9785):22–23.
3. Encyclopédie d'hygiène et de médecine publique. Tome cinquième / directeur Dr Jules Rochard [Internet]. 1893 [cité 25 sept 2016]. Disponible sur: [http://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k6381008r](http://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k6381008r_beh_46_1988.pdf)
4. beh_46_1988.pdf [Internet]. [cité 27 sept 2016]. Disponible sur: http://invs.santepubliquefrance.fr/beh/1988/46/beh_46_1988.pdf
5. Conseil d'Etat. Décret n°99-1034 du 6 décembre 1999 relatif à l'organisation de la lutte contre les infections nosocomiales dans les établissements de santé et modifiant le chapitre Ier du titre Ier du livre VII du code de la santé publique (deuxième partie : Décrets en Conseil d'Etat) | Legifrance [Internet]. Code de la Santé publique, MESH9923097D juin 12, 1999. Disponible sur: <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=LEGITEXT000005628783&dateTexte=20050725>
6. CTINILS. Définition des infections associées aux soins. [Internet]. Paris; 2007 Mai [cité 29 oct 2016]. Disponible sur: http://nosobase.chu-lyon.fr/recommandations/Ministere_Sante/2007_defIN_vcourte.pdf
7. Comité technique des infections nosocomiales et des infections liées aux soins. Actualisation de la définition des infections nosocomiales. [Internet]. Paris: Ministère de la santé, de la jeunesse et des sports; 2007 Mai [cité 23 nov 2016] p. 1-43. Disponible sur: http://nosobase.chu-lyon.fr/recommandations/Ministere_Sante/2006_defIN_complet.pdf
8. Cooke NM, Smith SG, Kelleher M, Rogers TR. Major Differences Exist in Frequencies of Virulence Factors and Multidrug Resistance between Community and Nosocomial *Escherichia coli* Bloodstream Isolates. *J Clin Microbiol.* avr 2010;48(4):1099-104.
9. Skjøt-Rasmussen L, Ejrnæs K, Lundgren B, Hammerum AM, Frimodt-Møller N. Virulence factors and phylogenetic grouping of *Escherichia coli* isolates from patients with bacteraemia of urinary tract origin relate to sex and hospital- vs. community-acquired origin. *Int J Med Microbiol.* juill 2012;302(3):129-34.
10. Kampf G. Acquired resistance to chlorhexidine – is it time to establish an ‘antiseptic stewardship’ initiative? *J Hosp Infect.* nov 2016;94(3):213-27.

11. Hardy KJ, Oppenheim BA, Gossain S, Gao F, Hawkey PM. A study of the relationship between environmental contamination with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and patients' acquisition of MRSA. *Infect Control Hosp Epidemiol.* févr 2006;27(2):127-32.
12. Charles MP, Kali A, Easow JM, Joseph NM, Ravishankar M, Srinivasan S, et al. Ventilator-associated pneumonia. *Australas Med J.* 31 août 2014;7(8):334-44.
13. Temiz E, Piskin N, Aydemir H, Oztoprak N, Akduman D, Celebi G, et al. Factors associated with catheter-associated urinary tract infections and the effects of other concomitant nosocomial infections in intensive care units. *Scand J Infect Dis.* mai 2012;44(5):344-9.
14. Moro ML, Carrieri MP, Tozzi AE, Lana S, Greco D. Risk factors for surgical wound infections in clean surgery: a multicenter study. Italian PRINOS Study Group. *Ann Ital Chir.* févr 1996;67(1):13-9.
15. Kong L, Cao J, Zhang Y, Ding W, Shen Y. Risk factors for periprosthetic joint infection following primary total hip or knee arthroplasty: a meta-analysis. *Int Wound J* [Internet]. 1 juill 2016 [cité 21 nov 2016]; Disponible sur: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/iwj.12640/abstract>
16. Fukuda H. Patient-related risk factors for surgical site infection following eight types of gastrointestinal surgery. *J Hosp Infect.* 1 août 2016;93(4):347-54.
17. Lata C, Girard L, Parkins M, James MT. Catheter-related bloodstream infection in end-stage kidney disease: a Canadian narrative review. *Can J Kidney Health Dis* [Internet]. 2016 [cité 21 nov 2016];3. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4857243/>
18. Hajjej Z, Nasri M, Sellami W, Gharsallah H, Labben I, Ferjani M. Incidence, risk factors and microbiology of central vascular catheter-related bloodstream infection in an intensive care unit. *J Infect Chemother.* 1 mars 2014;20(3):163-8.
19. Wylie MC, Graham DA, Potter-Bynoe G, Kleinman ME, Randolph AG, Costello JM, et al. Risk Factors for Central Line–Associated Bloodstream Infection in Pediatric Intensive Care Units [Internet]. *Infection Control & Hospital Epidemiology.* 2010 [cité 21 nov 2016]. Disponible sur: [/core/journals/infection-control-and-hospital-epidemiology/article/risk-factors-for-central-line-associated-bloodstream-infection-in-pediatric-intensive-care-units/5E0D8A6F82D58B2CAA216DBB3CA8EE1F](http://journals.cambridge.org/core/journals/infection-control-and-hospital-epidemiology/article/risk-factors-for-central-line-associated-bloodstream-infection-in-pediatric-intensive-care-units/5E0D8A6F82D58B2CAA216DBB3CA8EE1F)
20. Borg MA, Hulscher M, Scicluna EA, Richards J, Azanowsky J-M, Xuereb D, et al. Prevention of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bloodstream infections in European hospitals: moving beyond policies. *J Hosp Infect.* août 2014;87(4):203-11.

21. Réseau d'alerte, d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales (Raisin). Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, France, mai-juin 2012. Résultats. [Internet]. Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire; 2013 [cité 13 nov 2016] p. 181. (Maladies infectieuses). Disponible sur: http://invs.santepubliquefrance.fr/content/download/66428/256842/version/1/file/rapport_enp_2012.pdf
22. Saura C, Desenclos J-C. La description des systèmes de surveillance des maladies infectieuses en France. In: Surveillance nationale des maladies infectieuses, 2001-2003 [Internet]. Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire; 2005 [cité 13 nov 2016]. Disponible sur: http://invs.santepubliquefrance.fr/publications/2005/snmi/pdf/systemes_surveillance.pdf#page=6&zoom=auto,-181,297
23. Desenclos J-C, RAISIN Working Group. RAISIN - a national programme for early warning, investigation and surveillance of healthcare-associated infection in France. Euro Surveill Bull Eur Sur Mal Transm Eur Commun Dis Bull. 2009;14(46).
24. Réseau REA-Raisin. Surveillances des Infections Nosocomiales en Réanimation Adulte. Protocole 2005 [Internet]. InVS; 2005. Disponible sur: <http://www.cclinparisnord.org/REACAT/REA.htm>
25. InVS, CCLIN. Réseau REA-Raisin. Surveillances des Infections Nosocomiales en Réanimation Adulte. Protocole 2014 [Internet]. 2014 [cité 1 juill 2015]. Disponible sur: <http://www.cclinparisnord.org/REACAT/REA.php>
26. Réseau REA RAISIN. Surveillance des infections nosocomiales en réanimation adulte. Résultats 2014. [Internet]. Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire; 2016 [cité 27 nov 2016] p. 48p. (Maladies infectieuses). Disponible sur: <http://invs.santepubliquefrance.fr/Publications-et-outils/Rapports-et-syntheses/Maladies-infectieuses/2016/Surveillance-des-infections-nosocomiales-en-reanimation-adulte>
27. Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie., European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Recommandations 2015 du Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. [Internet]. Paris: Société Française de Microbiologie.; 2015 janv [cité 27 nov 2016] p. 116p. Disponible sur: http://www.sfm-microbiologie.org/UserFiles/files/casfm/CASFM_EUCAST_V1_2015.pdf
28. Schmitz F-J, Perdikouli M, Beeck A, Verhoef J, Fluit AC, Participants for the ES. Resistance to trimethoprim-sulfamethoxazole and modifications in genes coding for dihydrofolate reductase and dihydropteroate synthase in European Streptococcus pneumoniae isolates. J Antimicrob Chemother. 1 déc 2001;48(6):935-6.

29. Institute of Medicine (US) Forum on Microbial Threats. Antibiotic Resistance: Implications for Global Health and Novel Intervention Strategies: Workshop Summary [Internet]. Washington (DC): National Academies Press (US); 2010 [cité 27 nov 2016]. (The National Academies Collection: Reports funded by National Institutes of Health). Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK54255/>
30. Walsh C. Antibiotics: Actions, Origins, Resistance. ASM Press; 2003. 350 p.
31. Falagas ME, Koletsi PK, Bliziotis IA. The diversity of definitions of multidrug-resistant (MDR) and pandrug-resistant (PDR) *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. *J Med Microbiol*. 1 déc 2006;55(12):1619-29.
32. 100 recommandations pour la surveillance et la prévention des infections nosocomiales [Internet]. [cité 27 sept 2016]. Disponible sur: <http://www.ladocumentationfrancaise.fr/var/storage/rapports-publics/014000029.pdf>
33. HCSP. Surveiller et prévenir les infections associées aux soins [Internet]. Paris: Haut Conseil de la Santé Publique; 2010 mai [cité 12 juin 2016]. Disponible sur: <http://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=167>
34. Magiorakos A-P, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*. mars 2012;18(3):268-81.
35. Casadevall A, Pirofski L. Host-pathogen interactions: redefining the basic concepts of virulence and pathogenicity. *Infect Immun*. 1999;67(8):3703-3713.
36. Zychlinsky A, Prevost MC, Sansonetti PJ. *Shigella flexneri* induces apoptosis in infected macrophages. *Nature*. 9 juill 1992;358(6382):167-9.
37. Tuomanen E, Schwartz J, Sande S. The vir Locus Affects the Response of *Bordetella pertussis* to Antibiotics: Phenotypic Tolerance and Control of Autolysis. *J Infect Dis*. 1 août 1990;162(2):560-3.
38. Lacroix FJ, Cloeckaert A, Grépinet O, Pinault C, Popoff MY, Waxin H, et al. *Salmonella typhimurium* *acrB*-like gene: identification and role in resistance to biliary salts and detergents and in murine infection. *FEMS Microbiol Lett*. 1996;135(2-3):161-167.
39. Kupferwasser LI, Skurray RA, Brown MH, Firth N, Yeaman MR, Bayer AS. Plasmid-Mediated Resistance to Thrombin-Induced Platelet Microbicidal Protein in *Staphylococci*: Role of the *qacA* Locus. *Antimicrob Agents Chemother*. oct 1999;43(10):2395-9.
40. Andersson JO, Andersson SG. Insights into the evolutionary process of genome degradation. *Curr Opin Genet Dev*. décembre 1999;9(6):664-71.

41. Björkman J, Hughes D, Andersson DI. Virulence of antibiotic-resistant *Salmonella typhimurium*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 31 mars 1998;95(7):3949-53.
42. Knöppel A, Näsvall J, Andersson DI. Compensating the Fitness Costs of Synonymous Mutations. *Mol Biol Evol*. juin 2016;33(6):1461-77.
43. Freihofe P, Akbergenov R, Teo Y, Juskeviciene R, Andersson DI, Böttger EC. Nonmutational compensation of the fitness cost of antibiotic resistance in mycobacteria by overexpression of tlyA rRNA methylase. *RNA N Y N*. déc 2016;22(12):1836-43.
44. Alexopoulou A, Vasilieva L, Agiasotelli D, Siranidi K, Pouriki S, Tsiriga A, et al. Extensively drug-resistant bacteria are an independent predictive factor of mortality in 130 patients with spontaneous bacterial peritonitis or spontaneous bacteremia. *World J Gastroenterol*. 21 avr 2016;22(15):4049-56.
45. Morata L, Cobos-Trigueros N, Martínez JA, Soriano Á, Almela M, Marco F, et al. Influence of Multidrug Resistance and Appropriate Empirical Therapy on the 30-Day Mortality Rate of *Pseudomonas aeruginosa* Bacteremia. *Antimicrob Agents Chemother*. sept 2012;56(9):4833-7.
46. Kaminski C, Timsit J-F, Dubois Y, Zahar J-R, Garrouste-Orgeas M, Vesin A, et al. Impact of ureido/carboxypenicillin resistance on the prognosis of ventilator-associated pneumonia due to *Pseudomonas aeruginosa*. *Crit Care*. 2011;15(2):R112.
47. Oliveira JFP, Silva CA, Barbieri CD, Oliveira GM, Zanetta DMT, Burdmann EA. Prevalence and Risk Factors for Aminoglycoside Nephrotoxicity in Intensive Care Units. *Antimicrob Agents Chemother*. juill 2009;53(7):2887-91.
48. Société Française d'Hygiène Hospitalière (SFHH). Recommandations nationales - Prévention de la transmission croisée : précautions complémentaires contact. *Hygiènes*. 2009;XVII(2).
49. Société Française d'Hygiène Hospitalière (SFHH). Surveiller et prévenir les infections associées aux soins. *Hygiènes*. 2010;XVIII(4).
50. Santos RP, Mayo TW, Siegel JD. Healthcare epidemiology: active surveillance cultures and contact precautions for control of multidrug-resistant organisms: ethical considerations. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 1 juill 2008;47(1):110-6.
51. Morgan DJ, Diekema DJ, Sepkowitz K, Perencevich EN. Adverse outcomes associated with contact precautions: A review of the literature. *Am J Infect Control*. mars 2009;37(2):85-93.
52. Stelfox H, Bates DW, Redelmeier DA. SAfety of patients isolated for infection control. *JAMA*. 8 oct 2003;290(14):1899-905.

53. Cohen CC, Cohen B, Shang J. Effectiveness of contact precautions against multidrug-resistant organism transmission in acute care: a systematic review of the literature. *J Hosp Infect.* août 2015;90(4):275-84.
54. Birgand G, Moore LSP, Bourigault C, Vella V, Lepelletier D, Holmes AH, et al. Measures to eradicate multidrug-resistant organism outbreaks: how much do they cost? *Clin Microbiol Infect.* 1 févr 2016;22(2):162.e1-162.e9.
55. Zahar J-R, Timsit J-F. Epidémiologie et conséquences des infections nosocomiales en réanimation : Impact et conséquences de la résistance bactérienne en réanimation [Internet] [phdthesis]. Université de Grenoble; 2012 [cité 5 août 2015]. Disponible sur: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00684259/document>
56. Lepper PM, Grusa E, Reichl H, Högel J, Trautmann M. Consumption of Imipenem Correlates with β -Lactam Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* sept 2002;46(9):2920-5.
57. Bourdillon F, Martin D. Consommation d'antibiotiques et résistance aux antibiotiques en France: nécessité d'une mobilisation déterminée et durable. 2014 [cité 21 déc 2014]; Disponible sur: https://omedit.sante-lorraine.fr/portail/gallery_files/site/136/740/1232.pdf
58. Haut Conseil de la Santé Publique (HCSP). Recommandations pour la prévention de la transmission croisée des « Bactéries Hautement Résistantes aux antibiotiques émergentes » (BHRe). 2013.
59. Langmuir AD. The Surveillance of Communicable Diseases of National Importance. *N Engl J Med.* 24 janv 1963;268(4):182-92.
60. Astagneau P, Ancelle T, éditeurs. Surveillance épidémiologique: principes, méthodes et applications en santé publique. Paris, France: Médecine sciences publications, Lavoisier; 2011. xxiv+360.
61. Société française d'anesthésie et de réanimation (SFAR), Société de réanimation de langue française (SRLF). 5ème Conférence de consensus: Prévention des infections nosocomiales en réanimation (transmission croisée et nouveau-né exclus. *Réanimation.* 1 juin 2010;(19):4-14.
62. Bénet T, Allaouchiche B, Argaud L, Vanhems P. Impact of surveillance of hospital-acquired infections on the incidence of ventilator-associated pneumonia in intensive care units: a quasi-experimental study. *Crit Care.* 2012;16(4):1.
63. Schröder C, Behnke M, Gastmeier P, Schwab F, Geffers C. Case vignettes to evaluate the accuracy of identifying healthcare-associated infections by surveillance persons. *J Hosp Infect.* août 2015;90(4):322-6.

64. Birgand G, Lepelletier D, Baron G, Barrett S, Breier A-C, Buke C, et al. Agreement among Healthcare Professionals in Ten European Countries in Diagnosing Case-Vignettes of Surgical-Site Infections. *PLoS ONE* [Internet]. 9 juill 2013 [cité 28 nov 2016];8(7). Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3706413/>
65. Lepelletier D, Ravaud P, Baron G, Lucet J-C. Agreement among Health Care Professionals in Diagnosing Case Vignette-Based Surgical Site Infections. *PLoS ONE* [Internet]. 17 avr 2012 [cité 28 nov 2016];7(4). Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3328479/>
66. Horan TC, Andrus M, Dudeck MA. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control*. 1 juin 2008;36(5):309-32.
67. Basques BA, McLynn RP, Fice MP, Samuel AM, Lukasiewicz AM, Bohl DD, et al. Results of Database Studies in Spine Surgery Can Be Influenced by Missing Data. *Clin Orthop*. 28 nov 2016;
68. Eekhout I, de Boer RM, Twisk JWR, de Vet HCW, Heymans MW. Missing Data: A Systematic Review of How They Are Reported and Handled. *Epidemiology*. sept 2012;23(5):729-32.
69. Folch-Fortuny A, Villaverde AF, Ferrer A, Banga JR. Enabling network inference methods to handle missing data and outliers. *BMC Bioinformatics* [Internet]. 3 sept 2015 [cité 30 nov 2016];16. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4559359/>
70. Burgmann H, Hiesmayr JM, Savey A, Bauer P, Metnitz B, Metnitz PGH. Impact of nosocomial infections on clinical outcome and resource consumption in critically ill patients. *Intensive Care Med*. 8 juill 2010;36(9):1597-601.
71. Madani N, Rosenthal VD, Dendane T, Abidi K, Zeggwagh AA, Abouqal R. Health-care associated infections rates, length of stay, and bacterial resistance in an intensive care unit of Morocco: Findings of the International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC). *Int Arch Med*. 7 oct 2009;2:29.
72. Ding J-G, Sun Q-F, Li K-C, Zheng M-H, Miao X-H, Ni W, et al. Retrospective analysis of nosocomial infections in the intensive care unit of a tertiary hospital in China during 2003 and 2007. *BMC Infect Dis*. 25 juill 2009;9:115.
73. Chen Y-Y, Wang F-D, Liu C-Y, Chou P. Incidence rate and variable cost of nosocomial infections in different types of intensive care units. *Infect Control Hosp Epidemiol*. janv 2009;30(1):39-46.

74. Wolkewitz M, Vonberg RP, Grundmann H, Beyersmann J, Gastmeier P, Bärwolff S, et al. Risk factors for the development of nosocomial pneumonia and mortality on intensive care units: application of competing risks models. *Crit Care*. 2 avr 2008;12(2):R44.
75. Gastmeier P, Sohr D, Geffers C, Behnke M, Rüden H. Risk factors for death due to nosocomial infection in intensive care unit patients: findings from the Krankenhaus Infektions Surveillance System. *Infect Control Hosp Epidemiol*. avr 2007;28(4):466-72.
76. Vincent J-L. Nosocomial infections in adult intensive-care units. *The Lancet*. juin 2003;361(9374):2068-77.
77. Cevik MA, Yilmaz GR, Erdinc FS, Ucler S, Tulek NE. Relationship between nosocomial infection and mortality in a neurology intensive care unit in Turkey. *J Hosp Infect*. avril 2005;59(4):324-30.
78. Chen Y-Y, Chou Y-C, Chou P. Impact of nosocomial infection on cost of illness and length of stay in intensive care units. *Infect Control Hosp Epidemiol*. mars 2005;26(3):281-7.
79. Cağatay AA, Ozcan PE, Gulec L, Ince N, Tugrul S, Ozsut H, et al. Risk factors for mortality of nosocomial bacteraemia in intensive care units. *Med Princ Pract Int J Kuwait Univ Health Sci Cent*. 2007;16(3):187-92.
80. Beyersmann J, Gastmeier P, Grundmann H, Bärwolff S, Geffers C, Behnke M, et al. Use of multistate models to assess prolongation of intensive care unit stay due to nosocomial infection. *Infect Control Hosp Epidemiol*. mai 2006;27(5):493-9.
81. van Walraven C, Davis D, Forster AJ, Wells GA. Time-dependent bias was common in survival analyses published in leading clinical journals. *J Clin Epidemiol*. juillet 2004;57(7):672-82.
82. Nelson RE, Nelson SD, Khader K, Perencevich EL, Schweizer ML, Rubin MA, et al. The Magnitude of Time-Dependent Bias in the Estimation of Excess Length of Stay Attributable to Healthcare-Associated Infections. *Infect Control Hosp Epidemiol*. sept 2015; 36(9):1089-1094.
83. Liqueur B, Timsit J-F, Rondeau V. Investigating hospital heterogeneity with a multi-state frailty model: application to nosocomial pneumonia disease in intensive care units. *BMC Med Res Methodol*. 15 juin 2012;12:79.
84. Maillet J-M, Guérot E, Novara A, Le Guen J, Lahjibi-Paulet H, Kac G, et al. Comparison of intensive-care-unit-acquired infections and their outcomes among patients over and under 80 years of age. *J Hosp Infect*. 2014;87(3):152-8.

85. Tacconelli E, Smith G, Hieke K, Lafuma A, Bastide P. Epidemiology, medical outcomes and costs of catheter-related bloodstream infections in intensive care units of four European countries: literature- and registry-based estimates. *J Hosp Infect.* juin 2009;72(2):97-103.
86. Larue A, Loos-Ayav C, Jay N, Commun N, Rabaud C, Bollaert P-É. Effets sur la morbidité et les coûts des pneumopathies nosocomiales à *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline en réanimation. *Presse Médicale.* janv 2009;38(1):25-33.
87. Clec'h C, Schwebel C, Français A, Toledano D, Fosse J-P, Garrouste-Orgeas M, et al. Does catheter-associated urinary tract infection increase mortality in critically ill patients? *Infect Control Hosp Epidemiol.* déc 2007;28(12):1367-73.
88. Nseir S, Di Pompeo C, Brisson H, Dewavrin F, Tissier S, Diarra M, et al. Intensive care unit-acquired *Stenotrophomonas maltophilia*: incidence, risk factors, and outcome. *Crit Care.* 2006;10(5):R143.
89. Kaoutar B, Joly C, L'Hériteau F, Barbut F, Robert J, Denis M, et al. Nosocomial infections and hospital mortality: a multicentre epidemiological study¹. *J Hosp Infect.* décembre 2004;58(4):268-75.
90. Leleu G, Aegerter P, Guidet B. Systemic candidiasis in intensive care units: A multicenter, matched-cohort study. *J Crit Care.* sept 2002;17(3):168-75.
91. Branger B, Durand C, Jarno P, Chaperon J, Delattre-Maillot I. Mortalité hospitalière imputable aux infections nosocomiales. *Médecine Mal Infect.* 2002;32(2):98-106.
92. Carlet J. Dying from or with a nosocomial pneumonia in the intensive care unit? *Crit Care Med.* déc 2001;29(12):2392-4.
93. Bercault N, Boulain T. Mortality rate attributable to ventilator-associated nosocomial pneumonia in an adult intensive care unit: a prospective case-control study. *Crit Care Med.* déc 2001;29(12):2303-9.
94. Vanhems P, Lepape A, Savey A, Jambou P, Fabry J. Nosocomial pulmonary infection by antimicrobial-resistant bacteria of patients hospitalized in intensive care units: risk factors and survival. *J Hosp Infect.* juin 2000;45(2):98-106.
95. Soufir L, Timsit JF, Mahe C, Carlet J, Regnier B, Chevret S. Attributable morbidity and mortality of catheter-related septicemia in critically ill patients: a matched, risk-adjusted, cohort study. *Infect Control Hosp Epidemiol.* juin 1999;20(6):396-401.
96. Legras A, Malvy D, Quinioux AI, Villers D, Bouachour G, Robert R, et al. Nosocomial infections: prospective survey of incidence in five French intensive care units. *Intensive Care Med.* oct 1998;24(10):1040-6.

97. Fagon JY, Chastre J, Vuagnat A, Trouillet JL, Novara A, Gibert C. Nosocomial pneumonia and mortality among patients in intensive care units. *JAMA*. 20 mars 1996;275(11):866-9.
98. Beyersmann J, Gastmeier P, Wolkewitz M, Schumacher M. An easy mathematical proof showed that time-dependent bias inevitably leads to biased effect estimation. *J Clin Epidemiol*. déc 2008;61(12):1216-21.
99. Cox DR. Regression Models and Life-Tables. *J R Stat Soc Ser B Methodol*. 1 janv 1972;34(2):187-220.
100. Van Noorden R, Maher B, Nuzzo R. The top 100 papers. *Nature*. 29 oct 2014; 514(7524):550-3.
101. Levenshtein V. Binary Codes Capable of Correcting Deletions, Insertions and Reversals. *Sov Phys Dokl*. janv 1966;10.
102. The R Foundation for Statistical Computing, Institute for Statistics and Mathematics. R: The R Project for Statistical Computing [Internet]. The R Project for Statistical Computing. [cité 16 nov 2016]. Disponible sur: <https://www.r-project.org/>
103. The R Foundation for Statistical Computing, Institute for Statistics and Mathematics. R: Regulatory Compliance and Validation Issues. A Guidance Document for the Use of R in Regulated Clinical Trial Environments. [Internet]. The R Project for Statistical Computing. 2014 [cité 16 nov 2016]. Disponible sur: <https://www.r-project.org/doc/R-FDA.pdf>
104. Timsit JF. Le modèle de Cox. *Rev Mal Respir*. déc 2005;22(6):1058-64.
105. Jackson C. Multi-state Markov modelling with R [Internet]. *useR* 2004; 2004 avr 15 [cité 7 août 2015]. Disponible sur: <https://www.r-project.org/conferences/useR-2004/abstracts/Jackson.pdf>
106. Putter H, Wreede L de, Fiocco M. mstate: Data preparation, estimation and prediction in multi-state models [Internet]. 2014 [cité 4 sept 2015]. Disponible sur: <https://cran.r-project.org/web/packages/mstate/index.html>
107. de Wreede LC, Fiocco M, Putter H. mstate: An R Package for the Analysis of Competing Risks and Multi-State Models. *J Stat Softw* [Internet]. 4 janv 2011;38(7). Disponible sur: <http://www.jstatsoft.org/article/view/v038i07>
108. Van Belkum A, Van Leeuwen W, Kaufmann ME, Cookson B, Forey F, Etienne J, et al. Assessment of resolution and intercenter reproducibility of results of genotyping *Staphylococcus aureus* by pulsed-field gel electrophoresis of SmaI macrorestriction fragments: a multicenter study. *J Clin Microbiol*. 1998;36(6):1653-1659.
109. Efron B, Halloran E, Holmes S. Bootstrap confidence levels for phylogenetic trees. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 12 nov 1996;93(23):13429.

110. Immortal time bias in observational studies of time-to-event outcomes - Journal of Critical Care [Internet]. [cité 30 nov 2016]. Disponible sur: [http://www.jccjournal.org/article/S0883-9441\(16\)30254-4/abstract](http://www.jccjournal.org/article/S0883-9441(16)30254-4/abstract)
111. Arefian H, Hagel S, Heublein S, Rissner F, Scherag A, Brunkhorst FM, et al. Extra length of stay and costs because of health care–associated infections at a German university hospital. *Am J Infect Control*. févr 2016;44(2):160-6.
112. Zimlichman E, Henderson D, Tamir O, Franz C, Song P, Yamin CK, et al. Health Care–Associated Infections: A Meta-analysis of Costs and Financial Impact on the US Health Care System. *JAMA Intern Med*. 9 déc 2013;173(22):2039-46.
113. Al-Tawfiq JA, Tambyah PA. Healthcare associated infections (HAI) perspectives. *J Infect Public Health*. 1 juill 2014;7(4):339-44.
114. Vught LA van, Klouwenberg PMCK, Spitoni C, Scicluna BP, Wiewel MA, Horn J, et al. Incidence, Risk Factors, and Attributable Mortality of Secondary Infections in the Intensive Care Unit After Admission for Sepsis. *JAMA*. 12 avr 2016;315(14):1469-79.
115. Richards MJ, Edwards JR, Culver DH, Gaynes RP. Nosocomial infections in medical intensive care units in the United States. National Nosocomial Infections Surveillance System. *Crit Care Med*. mai 1999;27(5):887-92.
116. Geffers C, Zuschneid I, Sohr D, Rüden H, Gastmeier P. Erreger nosokomialer Infektionen auf Intensivstationen: Daten des Krankenhaus-Infektions-Surveillance-Systems (KISS) aus 274 Intensivstationen. *AINS - Anästhesiol · Intensivmed · Notfallmedizin · Schmerzther*. janv 2004;40(1):15-9.
117. Osmon S, Warren D, Seiler SM, Shannon W, Fraser VJ, Kollef MH. The influence of infection on hospital mortality for patients requiring > 48 h of intensive care. *Chest*. sept 2003;124(3):1021-9.
118. Osman MF, Askari R. Infection Control in the Intensive Care Unit. *Surg Clin North Am*. décembre 2014;94(6):1175-94.
119. Schumacher M, Allignol A, Beyersmann J, Binder N, Wolkewitz M. Hospital-acquired infections--appropriate statistical treatment is urgently needed! *Int J Epidemiol* [Internet]. 1 oct 2013 [cité 4 août 2016];42(5):1502-8. Disponible sur: <http://www.ije.oxfordjournals.org/cgi/doi/10.1093/ije/dyt111>
120. Wolkewitz M, Allignol A, Harbarth S, de Angelis G, Schumacher M, Beyersmann J. Time-dependent study entries and exposures in cohort studies can easily be sources of different and avoidable types of bias. *J Clin Epidemiol*. nov 2012;65(11):1171-80.

121. Beyersmann J, Kneib T, Schumacher M, Gastmeier P. Nosocomial Infection, Length of Stay, and Time-Dependent Bias [Internet]. *Infection Control & Hospital Epidemiology*. 2009 [cité 19 nov 2016]. Disponible sur: [/core/journals/infection-control-and-hospital-epidemiology/article/nosocomial-infection-length-of-stay-and-time-dependent-bias/0D3604E4CEFAD1F4C7DD2F59BFD2D895](#)
122. Wolkewitz M, Cooper BS, Bonten MJM, Barnett AG, Schumacher M. Interpreting and comparing risks in the presence of competing events. *The BMJ*. 21 août 2014;349:g5060.
123. Wolkewitz M. Accounting for Competing Events in Multivariate Analyses of Hospital-Acquired Infection Risk Factors [Internet]. *Infection Control & Hospital Epidemiology*. 2016 [cité 19 nov 2016]. Disponible sur: [/core/journals/infection-control-and-hospital-epidemiology/article/accounting-for-competing-events-in-multivariate-analyses-of-hospital-acquired-infection-risk-factors/F265CCD01CD78AE28E5721FA37B3AD2E](#)
124. Rosenthal VD, Dwivedy A, Rodríguez Calderón ME, Esen S, Hernández HT, Abouqal R, et al. Time-dependent analysis of length of stay and mortality due to urinary tract infections in ten developing countries: INICC findings. *J Infect*. février 2011;62(2):136-41.
125. Heredia-Rodríguez M, Peláez MT, Fierro I, Gómez-Sánchez E, Gómez-Pesquera E, Lorenzo M, et al. Impact of ventilator-associated pneumonia on mortality and epidemiological features of patients with secondary peritonitis. *Ann Intensive Care* [Internet]. 2016 [cité 19 nov 2016];6. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4835417/>
126. Stewardson AJ, Allignol A, Beyersmann J, Graves N, Schumacher M, Meyer R, et al. The health and economic burden of bloodstream infections caused by antimicrobial-susceptible and non-susceptible Enterobacteriaceae and Staphylococcus aureus in European hospitals, 2010 and 2011: a multicentre retrospective cohort study. *Euro Surveill Bull Eur Sur Mal Transm Eur Commun Dis Bull*. 18 août 2016;21(33).
127. Mitchell BG, Ferguson JK, Anderson M, Sear J, Barnett A. Length of stay and mortality associated with healthcare-associated urinary tract infections: a multi-state model. *J Hosp Infect*. 2016;93(1):92-9.
128. Micek ST, Wunderink RG, Kollef MH, Chen C, Rello J, Chastre J, et al. An international multicenter retrospective study of Pseudomonas aeruginosa nosocomial pneumonia: impact of multidrug resistance. *Crit Care* [Internet]. 2015 [cité 19 nov 2016];19(1). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4446947/>
129. Blot S, Cankurtaran M, Petrovic M, Vandijck D, Lizy C, Decruyenaere J, et al. Epidemiology and outcome of nosocomial bloodstream infection in elderly critically ill patients: a comparison between middle-aged, old, and very old patients. *Crit Care Med*. mai 2009;37(5):1634-41.

130. Green N, Johnson AP, Henderson KL, Muller-Pebody B, Thelwall S, Robotham JV, et al. Quantifying the Burden of Hospital-Acquired Bloodstream Infection in Children in England by Estimating Excess Length of Hospital Stay and Mortality Using a Multistate Analysis of Linked, Routinely Collected Data. *J Pediatr Infect Dis Soc.* déc 2015;4(4):305-12.
131. Réseau d'Alerte, d'Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales (Raisin), CCLin Est, CCLin Ouest, CCLin Paris-Nord, CCLin Sud-Est, InVS. Réseau REA-Raisin. Surveillances des Infections Nosocomiales en Réanimation Adulte. Protocole national 2012 [Internet]. InVS; 2011 nov [cité 14 août 2015]. Disponible sur: <http://www.cclinparisnord.org/REACAT/REA.htm>
132. Zarb P, Coignard B, Griskeviciene J, Muller A, Vankerhoven V, Welst K, et al. The European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) pilot point prevalence survey of healthcare-associated infections and antimicrobial use. *Eurosurveillance* [Internet]. 15 nov 2012 [cité 20 nov 2016];17(46). Disponible sur: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20316>
133. Schumacher M, Allignol A, Beyersmann J, Binder N, Wolkewitz M. Hospital-acquired infections—appropriate statistical treatment is urgently needed! *Int J Epidemiol* [Internet]. 1 oct 2013 [cité 19 oct 2015];42(5):1502-8. Disponible sur: <http://ije.oxfordjournals.org/content/42/5/1502>
134. Allignol A, Schumacher M, Beyersmann J, others. Empirical transition matrix of multi-state models: the etm package. *J Stat Softw.* 2011;38(4):1–15.
135. Lambert M-L, Suetens C, Savey A, Palomar M, Hiesmayr M, Morales I, et al. Clinical outcomes of health-care-associated infections and antimicrobial resistance in patients admitted to European intensive-care units: a cohort study. *Lancet Infect Dis.* janv 2011;11(1):30-8.
136. R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing [Internet]. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2015. Disponible sur: <http://www.R-project.org/>
137. Jean-Marie Januel M RN, Stephan Harbarth M MS, Robert Allard M MSc, Nicolas Voirin Ms, Alain Lepape M, Bernard Allaouchiche M PhD, et al. Estimating Attributable Mortality Due to Nosocomial Infections Acquired in Intensive Care Units. *Infect Control Hosp Epidemiol.* avril 2010;31(4):388-94.
138. Schumacher M, Allignol A, Beyersmann J, Binder N, Wolkewitz M. Hospital-acquired infections—appropriate statistical treatment is urgently needed! *Int J Epidemiol.* 1 oct 2013;42(5):1502-8.

139. RAISIN group. Surveillance des infections nosocomiales en réanimation adulte. Réseau REA-Raisin, France, Résultats 2014 [Internet]. Santé publique France. 2016 [cité 12 juin 2016]. Disponible sur: <http://www.invs.sante.fr/Publications-et-outils/Rapports-et-syntheses/Maladies-infectieuses/2016/Surveillance-des-infections-nosocomiales-en-reanimation-adulte>
140. Roussot A, Cottenet J, Gadreau M, Giroud M, Béjot Y, Quantin C. The use of national administrative data to describe the spatial distribution of in-hospital mortality following stroke in France, 2008–2011. *Int J Health Geogr* [Internet]. 11 janv 2016 [cité 20 nov 2016];15. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4710001/>
141. Wolkewitz M, Cooper BS, Palomar-Martinez M, Alvarez-Lerma F, Olaechea-Astigarraga P, Barnett AG, et al. Multilevel competing risk models to evaluate the risk of nosocomial infection. *Crit Care*. 2014;18:R64.
142. Ofek F, Magnezi R, Kurzweil Y, Gazit I, Berkovitch S, Tal O. Introducing a change in hospital policy using FMEA methodology as a tool to reduce patient hazards. *Isr J Health Policy Res* [Internet]. 1 nov 2016 [cité 21 nov 2016];5. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5088650/>
143. Bénét T, Haesebaert J, Hernu R, Piriou V, Guérin C, Aubrun F, et al. Characterization of patients exposed to multiple devices but free of hospital-acquired infection at intensive care unit discharge. *Am J Infect Control*. févr 2015;43(2):171-3.
144. Brunbuisson C. Risques et maîtrise des infections nosocomiales en réanimation : texte d'orientation SRLF/SFAR. *Réanimation*. oct 2005;14(6):463-71.
145. Schröder C, Schwab F, Behnke M, Breier A-C, Maechler F, Piening B, et al. Epidemiology of healthcare associated infections in Germany: Nearly 20 years of surveillance. *Int J Med Microbiol*. oct 2015;305(7):799-806.
146. Suetens C, Savey A, Lepape A, Morales I, Carlet J, Fabry J. Surveillance des infections nosocomiales en réanimation : vers une approche consensuelle en Europe Surveillance of nosocomial infections in intensive care units: towards a consensual approach in Europe. *Réanimation*. mai 2003;12(3):205-13.
147. Jarlier V, Arnaud I. Surveillance des bactéries multiresistantes dans les établissements de santé en France. Résultats 2014. [Internet]. Saint-Maurice: Santé Publique France; 2016 [cité 1 déc 2016] p. 107p. Disponible sur: <http://invs.santepubliquefrance.fr/Publications-et-outils/Rapports-et-syntheses/Maladies-infectieuses/2016/Surveillance-des-bacteries-multiresistantes-dans-les-etablissements-de-sante-en-France>
148. Houser B. Bio-Rad's Bio-Plex® suspension array system, xMAP technology overview. *Arch Physiol Biochem*. oct 2012;118(4):192-6.

149. Baker HN, Murphy R, Lopez E, Garcia C. Conversion of a Capture ELISA to a Luminex xMAP Assay using a Multiplex Antibody Screening Method. *J Vis Exp* [Internet]. 6 juill 2012 [cité 26 nov 2016];(65). Disponible sur: <http://www.jove.com/video/4084/>
150. Moussaoui L. Applications de la spectrométrie de masse type MALDI-TOF à la bactériologie et à la distinction de variants génétiques [Internet]. Strasbourg; 2012 [cité 26 nov 2016]. Disponible sur: <http://www.theses.fr/2012STRAJ124>
151. Choi JHD and D-K. Clustering Approaches to Identifying Gene Expression Patterns from DNA Microarray Data. *Mol Cells*. 25(2):279-88.
152. Healy M, Huang J, Bittner T, Lising M, Frye S, Raza S, et al. Microbial DNA Typing by Automated Repetitive-Sequence-Based PCR. *J Clin Microbiol*. janv 2005;43(1):199-207.
153. Grisold AJ, Zarfel G, Hoenigl M, Krziwanek K, Feierl G, Masoud L, et al. Occurrence and genotyping using automated repetitive-sequence-based PCR of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in Southeast Austria. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1 févr 2010;66(2):217-21.
154. Church DL, Chow BL, Lloyd T, Gregson DB. Comparison of automated repetitive-sequence-based polymerase chain reaction and spa typing versus pulsed-field gel electrophoresis for molecular typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1 janv 2011;69(1):30-7.
155. Rodriguez M, Hogan PG, Satola SW, Crispell E, Wylie T, Gao H, et al. Discriminatory Indices of Typing Methods for Epidemiologic Analysis of Contemporary *Staphylococcus aureus* Strains. *Medicine (Baltimore)* [Internet]. 18 sept 2015 [cité 24 nov 2016];94(37). Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4635816/>
156. Brun-Buisson C. Le dépistage des porteurs de bactéries multirésistantes : chez quels patients ? *Réanimation*. 1 janv 2015;24(2):304-14.
157. Birgand G, Lucet J-C. Dépistage-des-BMR-RFL-mai-2013.pdf. *Rev Fr Lab*. Juin 2013;(453):29-39.
158. Lepelletier D, Richet H. Surveillance and control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in French hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol*. nov 2001; 22(11):677-82.
159. Muenks CE, Hogan PG, Wang JW, Eisenstein KA, Burnham C-AD, Fritz SA. Diversity of *Staphylococcus aureus* strains colonizing various niches of the human body. *J Infect*. 1 juin 2016;72(6):698-705.

ANNEXE

Annexe 1 : Définitions des IAS par site anatomique

Il s'agit d'un extrait de la publication des définitions par le CTINILS (6).

Infection du site opératoire

Infection superficielle de l'incision

Infection survenant dans les 30 jours suivant l'intervention, et affectant la peau (ou les muqueuses), les tissus sous-cutanés ou les tissus situés au dessus de l'aponévrose de revêtement, diagnostiquée par :

- **Cas 1**

Ecoulement purulent de l'incision.

- **Cas 2**

Micro-organisme associé à des polynucléaires neutrophiles à l'examen direct, isolé par culture obtenue de façon aseptique du liquide produit par une incision superficielle ou d'un prélèvement tissulaire.

- **Cas 3**

Ouverture de l'incision par le chirurgien.

Et présence de l'un des signes suivants : douleur ou sensibilité à la palpation, tuméfaction localisée, rougeur, chaleur,

Et micro-organisme isolé par culture OU culture non faite (une culture négative, en l'absence de traitement antibiotique, exclut le cas).

Infection profonde (de l'incision ou de l'organe-espace)

Infection survenant dans les 30 jours suivant l'intervention, ou dans l'année s'il y a eu mise en place d'un implant, d'une prothèse ou d'un matériel prothétique, affectant les tissus ou organes ou espaces situés au niveau ou au dessous de l'aponévrose de revêtement, ou encore ouverts ou manipulés durant l'intervention, diagnostiquée par :

- **Cas 1**

Ecoulement purulent provenant d'un drain sous-aponévrotique ou placé dans l'organe ou le site ou l'espace.

- **Cas 2**

Déhiscence spontanée de l'incision ou ouverture par le chirurgien **et** au moins un des signes suivants : fièvre > 38°C, douleur localisée, ou sensibilité à la palpation,

Et micro-organisme isolé par culture, obtenue de façon aseptique, d'un prélèvement de l'organe ou du site ou de l'espace OU culture non faite (une culture négative, en l'absence de traitement antibiotique, exclut le cas).

- **Cas 3**

Abcès ou autres signes d'infection observés lors d'une réintervention chirurgicale, d'un examen histopathologique, d'un examen d'imagerie ou d'un acte de radiologie interventionnelle.

Bactériuries

Infection urinaire

Au moins un des signes suivants : fièvre (> 38°C), impériosité mictionnelle, pollakiurie, brûlure mictionnelle, ou douleur sus-pubienne, en l'absence d'autre cause, infectieuse ou non.

Et :

- Sans sondage vésical ni autre abord de l'arbre urinaire : leucocyturie ($\geq 10^4$ leucocytes/ml) et uroculture positive ($\geq 10^3$ micro-organismes/ml) et au plus 2 micro-organismes différents.
- Avec sondage vésical ou autre abord de l'arbre urinaire, en cours ou dans les 7 jours précédents : uroculture positive ($\geq 10^5$ micro-organismes/ml) et au plus 2 micro-organismes différents.

Bactériémie – fongémie

Au moins une hémoculture positive (justifiée par des signes cliniques), sauf pour les micro-organismes suivants :

- staphylocoques à coagulase négative
- *Bacillus spp.* (sauf *B. anthracis*)
- *Corynebacterium spp.*
- *Propionibacterium spp.*
- *Micrococcus spp.*
- ou autres micro-organismes saprophytes ou commensaux à potentiel pathogène comparable, pour lesquels deux hémocultures positives au même micro-organisme, prélevées lors de ponctions différentes, à des moments différents, et dans un intervalle rapproché (un délai maximal de 48h est habituellement utilisé), sont exigées.

Infections liées aux cathéters (ILC)

La simple présence d'hémocultures positives chez un malade porteur de cathéter, sans porte d'entrée évidente, sera identifiée comme bactériémie primaire et non rattachée à la présence du cathéter.

La bactériémie/fongémie liée au CVC est définie par :

- l'association d'une bactériémie/fongémie survenant dans les 48 heures encadrant le retrait du CVC (ou la suspicion diagnostique d'infection de cathéter si celui-ci n'est pas retiré d'emblée)

Et :

- SOIT une culture positive avec le même micro-organisme sur l'un des prélèvements suivants : culture du site d'insertion ou culture du CVC $\geq 10^3$ UFC/ml,
- SOIT des hémocultures périphérique et centrale positives au même micro-organisme avec un rapport hémoculture quantitative centrale/hémoculture périphérique > 5 ou un délai différentiel de positivité des hémocultures centrale/périphérique > 2 h, avec une positivité plus rapide pour l'hémoculture centrale.

En l'absence de bactériémie, le diagnostic d'ILC repose sur :

• ILC locale :

- culture de CVC $\geq 10^3$ UFC/ml
- et la purulence de l'orifice d'entrée du cathéter ou une tunnelite,

• ILC générale :

- culture de CVC $\geq 10^3$ UFC/ml
- et une régression totale ou partielle des signes infectieux généraux dans les 48 h suivant l'ablation du cathéter.

Pneumopathie nosocomiale

Signes radiologiques :

- deux clichés radiologiques ou plus avec une image évocatrice de pneumonie,
- en l'absence d'antécédents de cardiopathie ou de maladie pulmonaire sous-jacentes, une seule radiographie ou un seul examen scannographique suffit.

Et au moins un des signes suivants :

- hyperthermie $> 38^{\circ}\text{C}$ sans autre cause,
- leucopénie (< 4000 leucocytes/ mm^3) ou hyperleucocytose (> 12000 leucocytes/ mm^3)

Et au moins un des signes suivants :

- apparition de sécrétions purulentes ou modifications des caractéristiques (couleur, odeur, quantité, consistance)
- toux ou dyspnée ou tachypnée
- auscultation évocatrice
- aggravation des gaz du sang (désaturation) ou besoins accrus en oxygène ou en assistance respiratoire

Et selon le moyen diagnostique utilisé :

Une documentation microbiologique est fortement recommandée (cas 1, 2 ou 3)

Cas 1

Diagnostic bactériologique effectué par examen bactériologique protégé avec numération de micro-organismes :

- lavage broncho-alvéolaire (LBA) avec seuil $> 10^4$ UFC/ml, ou ≥ 2 % cellules obtenues par LBA avec des inclusions bactériennes au Gram à l'examen direct (classé dans la catégorie diagnostique LBA), ou
- brosse de Wimberley avec seuil $> 10^3$ UFC/ml, ou
- prélèvement distal protégé (PDP) avec seuil $> 10^3$ UFC/ml.

Cas 2

Diagnostic bactériologique effectué par examen bactériologique non protégé avec numération de micro-organismes :

- bactériologie quantitative des sécrétions bronchiques avec seuil $> 10^6$ UFC/ml (ces seuils ont été validés en l'absence d'antibiothérapie antérieure).

Cas 3

Méthodes microbiologiques alternatives :

- hémocultures positives (en l'absence d'autre source infectieuse)
- culture positive du liquide pleural
- abcès pleural ou pulmonaire avec culture positive
- examen histologique du poumon évocateur de pneumonie
- méthodes microbiologiques alternatives modernes de diagnostic (antigénémies, antigénuries, sérologies, techniques de biologie moléculaire) validées par des études de niveau de preuve élevé.

Cas 4

Bactériologie des expectorations ou examen non quantitatif des sécrétions bronchiques.

Cas 5

Aucun critère microbiologique.

Les cas 1, 2 et 3 correspondent aux pneumopathies certaines ou probables. Les cas 4 et 5 correspondent aux pneumonies possibles, ou même cliniques en l'absence de radiographie pulmonaire.

Thierry LAVIGNE



Surveillance des infections nosocomiales en réanimation : intérêt d'une approche multimodale clinico-biologique et étude d'impact



École Doctorale
des Sciences de la Vie
et de la Santé
STRASBOURG

Résumé

La surveillance des infections acquises en réanimation (IAR) représente un outil majeur dans la stratégie de lutte contre les infections nosocomiales. Nous avons enrichi la base de données REA-RAISIN avec des données médico-administratives du PMSI afin de disposer d'information sur l'hospitalisation complète et d'analyser des facteurs de risques supplémentaires.

L'estimation de l'impact de ces IAR sur la mortalité et la durée de séjour nécessite des techniques statistiques multiples afin de prendre en compte les différents biais dont la durée d'apparition de l'IAR et le risque compétitif. Cet impact dépend du type d'IAR. La mortalité est fortement impactée par les bactériémies, modérément par les pneumopathies et pas par les infections urinaires. L'augmentation de la durée de séjour est la plus importante pour les pneumopathies, suivie des infections urinaires et reste modérée pour les bactériémies.

Enfin, l'étude de la surveillance du portage de *S. aureus* résistant à la méticilline est parue insuffisante pour détecter des épidémies et ne mesure pas le risque associé au portage du *S. aureus* sensible à la méticilline.

Mots clés :

Infection nosocomiale – Modélisation – Modèles multi-états – Risques compétitifs – Staphylococcus aureus – Epidémie

Summary

Monitoring the infection acquired in intensive care units (ICU-AI) is a strategic tool for the control of hospital-associated infections. We enhanced the national surveillance database REA-RAISIN with the local diagnosis-related group database. This allows us to have data on the whole hospitalization and assess additional risk factors.

The assessment of the impact of these ICU-AI on mortality and length of stay needs appropriate and multiple statistical analysis to take in account various potential bias, including time-dependent bias and competitive risk. This impact is a function of the kind of IAR. Mortality is most affected by bacteremia, more lightly by pneumonia and stay equivalent for patients with or without urinary tract infections. On the other hand, excess of length of stay was the most important for patients with pneumonia and urinary tract infections but moderate for those with bacteremia.

Finally, studying the carriage of methicillin-resistant *S. aureus* appeared insufficient to detect outbreaks and does not measure the risk associated with SASM carriage.

Keywords :

Intensive care unit – Competitive risk – Multistate model – Staphylococcus aureus – Outbreak – Nosocomial infection