

Année 2017/2018

N°

Thèse

Pour le
DOCTORAT EN MÉDECINE
Diplôme d'État
Par

Maxime BOUTROT

Né le 22 novembre 1989 à Nîmes (30)

**« Impact des antibiotiques à activité anti-anaérobie sur
l'acquisition d'un portage digestif de bacilles à Gram négatif
résistants à la ceftriaxone chez les patients de réanimation :
étude rétrospective monocentrique »**

Présentée et soutenue publiquement le **23 octobre 2018** devant un jury composé de :

Président du Jury : Professeur Francis REMERAND, Anesthésie-Réanimation, Faculté de Médecine - Tours

Membres du Jury :

Professeur Marc LAFFON, Anesthésie-Réanimation, Faculté de Médecine - Tours

Professeur Laurent MEREGHETTI, Microbiologie, Faculté de Médecine - Tours

Docteur Jérôme GUINARD, Microbiologie, CHR Orléans

Docteur Khalid AZOUGAGH, Anesthésie-Réanimation, CHR Orléans

Directeur de thèse : *Docteur François BARBIER, Médecine Intensive & Réanimation, CHR Orléans*

UNIVERSITE DE TOURS
FACULTE DE MEDECINE DE TOURS

DOYEN

Pr Patrice DIOT

VICE-DOYEN

Pr Henri MARRET

ASSESSEURS

Pr Denis ANGOULVANT, Pédagogie
Pr Mathias BUCHLER, Relations internationales
Pr Hubert LARDY, Moyens – relations avec l'Université
Pr Anne-Marie LEHR-DRYLEWICZ, Médecine générale
Pr François MAILLOT, Formation Médicale Continue
Pr Patrick VOURC'H, Recherche

RESPONSABLE ADMINISTRATIVE

Mme Fanny BOBLETER

DOYENS HONORAIRES

Pr Emile ARON (†) – 1962-1966
Directeur de l'Ecole de Médecine - 1947-1962
Pr Georges DESBUQUOIS (†) - 1966-1972
Pr André GOUAZE - 1972-1994
Pr Jean-Claude ROLLAND – 1994-2004
Pr Dominique PERROTIN – 2004-2014

PROFESSEURS EMERITES

Pr Daniel ALISON
Pr Philippe ARBEILLE
Pr Catherine BARTHELEMY
Pr Christian BONNARD
Pr Philippe BOUGNOUX
Pr Alain CHANTEPIE
Pr Pierre COSNAY
Pr Etienne DANQUECHIN-DORVAL
Pr Loïc DE LA LANDE DE CALAN
Pr Alain GOUDEAU
Pr Noël HUTEN
Pr Olivier LE FLOCH
Pr Yvon LEBRANCHU
Pr Elisabeth LECA
Pr Anne-Marie LEHR-DRYLEWICZ
Pr Gérard LORETTE
Pr Roland QUENTIN
Pr Alain ROBIER
Pr Elie SALIBA

PROFESSEURS HONORAIRES

P. ANTHONIOZ – A. AUDURIER – A. AUTRET – P. BAGROS – P. BARDOS – J.L. BAULIEU – C. BERGER – JC. BESNARD – P. BEUTTER – P. BONNET – M. BROCHIER – P. BURDIN – L. CASTELLANI – B. CHARBONNIER – P. CHOUTET – T. CONSTANS – C. COUET – J.P. FAUCHIER – F. FETISSOF – J. FUSCIARDI – P. GAILLARD – G. GINIES – A. GOUAZE – J.L. GUILMOT – M. JAN – J.P. LAMAGNERE – F. LAMISSE – Y. LANSON – J. LAUGIER – P. LECOMTE – E. LEMARIE – G. LEROY – Y. LHUINTE – M. MARCHAND – C. MAURAGE – C. MERCIER – J. MOLINE – C. MORAIN – J.P. MUH – J. MURAT – H. NIVET – L. POURCELOT – P. RAYNAUD – D. RICHARD – LENOBLE – J.C. ROLLAND – D. ROYERE – A. SAINDELLE – J.J. SANTINI – D. SAUVAGE – D. SIRINELLI – B. TOUMIEUX – J. WEILL

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

ANDRES Christian	Biochimie et biologie moléculaire
ANGOULVANT Denis	Cardiologie
AUPART Michel	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
BABUTY Dominique	Cardiologie
BALLON Nicolas	Psychiatrie ; addictologie
BARILLOT Isabelle	Cancérologie ; radiothérapie
BARON Christophe	Immunologie
BEJAN-ANGOULVANT Théodora	Pharmacologie clinique
BERNARD Anne	Cardiologie
BERNARD Louis	Maladies infectieuses et maladies tropicales
BLANCHARD-LAUMONNIER Emmanuelle	Biologie cellulaire
BLASCO Hélène	Biochimie et biologie moléculaire
BODY Gilles	Gynécologie et obstétrique
BONNET-BRILHAULT Frédérique	Physiologie
BRILHAULT Jean	Chirurgie orthopédique et traumatologique
BRUNEREAU Laurent	Radiologie et imagerie médicale
BRUYERE Franck	Urologie
BUCHLER Matthias	Néphrologie
CALAIS Gilles	Cancérologie, radiothérapie
CAMUS Vincent	Psychiatrie d'adultes
CHANDENIER Jacques	Parasitologie, mycologie
COLOMBAT Philippe	Hématologie, transfusion
CORCIA Philippe	Neurologie
COTTIER Jean-Philippe	Radiologie et imagerie médicale
DE TOFFOL Bertrand	Neurologie
DEQUIN Pierre-François.....	Thérapeutique
DESOUTREUX Guillaume.....	Parasitologie et mycologie
DESTRIEUX Christophe	Anatomie
DIOT Patrice	Pneumologie
DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague	Anatomie & cytologie pathologiques
DUCLUZEAU Pierre-Henri	Endocrinologie, diabétologie, et nutrition
DUMONT Pascal	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
EL HAGE Wissam	Psychiatrie adultes
EHRMANN Stephan	Réanimation
FAUCHIER Laurent	Cardiologie
FAVARD Luc	Chirurgie orthopédique et traumatologique
FOUGERE Bertrand	Gériatrie
FOUQUET Bernard	Médecine physique et de réadaptation
FRANCOIS Patrick	Neurochirurgie
FROMONT-HANKARD Gaëlle	Anatomie & cytologie pathologiques
GAUDY-GRAFFIN Catherine	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
GOGA Dominique	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
GOUPILLE Philippe	Rhumatologie
GRUEL Yves	Hématologie, transfusion
GUERIF Fabrice	Biologie et médecine du développement et de la reproduction
GUYETANT Serge	Anatomie et cytologie pathologiques
GYAN Emmanuel	Hématologie, transfusion
HAILLOT Olivier	Urologie
HALIMI Jean-Michel	Thérapeutique
HANKARD Régis.....	Pédiatrie
HERAULT Olivier	Hématologie, transfusion
HERBRETEAU Denis	Radiologie et imagerie médicale
HOURIOUX Christophe	Biologie cellulaire
LABARTHE François	Pédiatrie
LAFFON Marc	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale, médecine d'urgence
LARDY Hubert	Chirurgie infantile
LARIBI Saïd	Médecine d'urgence
LARTIGUE Marie-Frédérique	Bactériologie-virologie
LAURE Boris	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
LECOMTE Thierry	Gastroentérologie, hépatologie

LESCANNE Emmanuel	Oto-rhino-laryngologie
LINASSIER Claude	Cancérologie, radiothérapie
MACHET Laurent	Dermato-vénéréologie
MAILLOT François	Médecine interne
MARCHAND-ADAM Sylvain	Pneumologie
MARRET Henri	Gynécologie-obstétrique
MARUANI Annabel	Dermatologie-vénéréologie
MEREGHETTI Laurent	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
MORINIERE Sylvain	Oto-rhino-laryngologie
MOUSSATA Driffa	Gastro-entérologie
MULLEMAN Denis	Rhumatologie
ODENT Thierry	Chirurgie infantile
OUAISSI Mehdi	Chirurgie digestive
OULDAMER Lobna	Gynécologie-obstétrique
PAGES Jean-Christophe	Biochimie et biologie moléculaire
PAINTAUD Gilles	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
PATAT Frédéric	Biophysique et médecine nucléaire
PERROTIN Dominique	Réanimation médicale, médecine d'urgence
PERROTIN Franck	Gynécologie-obstétrique
PISELLA Pierre-Jean	Ophtalmologie
PLANTIER Laurent	Physiologie
REMERAND Francis	Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence
ROINGEARD Philippe	Biologie cellulaire
ROSSET Philippe	Chirurgie orthopédique et traumatologique
RUSCH Emmanuel	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
SAINT-MARTIN Pauline	Médecine légale et droit de la santé
SALAME Ephrem	Chirurgie digestive
SAMIMI Mahtab	Dermatologie-vénéréologie
SANTIAGO-RIBEIRO Maria	Biophysique et médecine nucléaire
THOMAS-CASTELNAU Pierre	Pédiatrie
TOUTAIN Annick	Génétique
VAILLANT Loïc	Dermato-vénéréologie
VELUT Stéphane	Anatomie
VOURC'H Patrick	Biochimie et biologie moléculaire
WATIER Hervé	Immunologie

PROFESSEUR DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

LEBEAU Jean-Pierre

PROFESSEURS ASSOCIES

MALLET Donatien	Soins palliatifs
POTIER Alain	Médecine Générale
ROBERT Jean	Médecine Générale

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

BAKHOS David	Physiologie
BARBIER Louise.....	Chirurgie digestive
BERHOUE Julien	Chirurgie orthopédique et traumatologique
BERTRAND Philippe	Biostat., informatique médical et technologies de communication
BRUNAUT Paul	Psychiatrie d'adultes, addictologie
CAILLE Agnès	Biostat., informatique médical et technologies de communication
CLEMENTY Nicolas	Cardiologie
DOMELIER Anne-Sophie	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
DUFOUR Diane	Biophysique et médecine nucléaire
FAVRAIS Géraldine	Pédiatrie
FOUQUET-BERGEMER Anne-Marie	Anatomie et cytologie pathologiques
GATAULT Philippe	Néphrologie
GOUILLEUX Valérie.....	Immunologie

GUILLON Antoine	Réanimation
GUILLON-GRAMMATICO Leslie	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
HOARAU Cyrille	Immunologie
IVANES Fabrice	Physiologie
LE GUELLEC Chantal	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
MACHET Marie-Christine	Anatomie et cytologie pathologiques
MOREL Baptiste	Radiologie pédiatrique
PIVER Eric	Biochimie et biologie moléculaire
REROLLE Camille	Médecine légale
ROUMY Jérôme	Biophysique et médecine nucléaire
SAUTENET Bénédicte	Néphrologie
TERNANT David	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
ZEMMOURA Ilyess	Neurochirurgie

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

AGUILLON-HERNANDEZ Nadia	Neurosciences
BOREL Stéphanie	Orthophonie
DIBAO-DINA Clarisse	Médecine Générale
MONJAUZE Cécile	Sciences du langage - orthophonie
PATIENT Romuald.....	Biologie cellulaire
RENOUX-JACQUET Cécile	Médecine Générale

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES

RUIZ Christophe	Médecine Générale
SAMKO Boris	Médecine Générale

CHERCHEURS INSERM - CNRS – INRA

BOUAKAZ Ayache	Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 1253
CHALON Sylvie	Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 1253
COURTY Yves	Chargé de Recherche CNRS – UMR INSERM 1100
DE ROCQUIGNY Hugues	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1259
ESCOFFRE Jean-Michel	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1253
GILOT Philippe	Chargé de Recherche INRA – UMR INRA 1282
GOUILLEUX Fabrice	Directeur de Recherche CNRS – UMR CNRS 7001
GOMOT Marie	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 1253
HEUZE-VOURCH Nathalie	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
KORKMAZ Brice	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
LAUMONNIER Frédéric	Chargé de Recherche INSERM - UMR INSERM 1253
LE PAPE Alain	Directeur de Recherche CNRS – UMR INSERM 1100
MAZURIER Frédéric	Directeur de Recherche INSERM – UMR CNRS 7001
MEUNIER Jean-Christophe	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1259
PAGET Christophe	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
RAOUL William	Chargé de Recherche INSERM – UMR CNRS 7001
SI TAHAR Mustapha	Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
WARDAK Claire	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 1253

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Pour l'Ecole d'Orthophonie

DELORE Claire	Orthophoniste
GOUIN Jean-Marie	Praticien Hospitalier
PERRIER Danièle	Orthophoniste

Pour l'Ecole d'Orthoptie

LALA Emmanuelle	Praticien Hospitalier
MAJZOUB Samuel.....	Praticien Hospitalier

Pour l'Ethique Médicale

BIRMELE Béatrice	Praticien Hospitalier
------------------------	-----------------------

REMERCIEMENTS

À Monsieur le Professeur Francis REMERAND,

Pour m'avoir fait l'honneur de présider ce jury de thèse et pour votre disponibilité, durant ma formation, malgré les nombreuses sollicitations auxquelles vous avez à faire face.

À Monsieur le Professeur Marc LAFFON,

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de juger ce travail. Votre optimisme à toute épreuve est un moteur permanent pour les personnes avec qui vous travaillez, la pertinence de vos remarques m'a fait progresser j'en suis sûr.

À Monsieur le Professeur Laurent MEREGHETTI,

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de juger ce travail et pour y apporter son expertise.

À Monsieur le Docteur Jérôme GUINARD,

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de juger ce travail. Les six mois passés dans ton service m'ont été plus que bénéfiques, je reste encore admiratif devant ta passion palpable pour la microbiologie et l'implication que tu as mise à m'encadrer.

À Monsieur le Docteur Khalid AZOUGAGH,

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de juger ce travail. J'ai énormément progressé durant mon premier semestre en réanimation chirurgicale, ta pédagogie et ta patience ne sont plus à prouver tout autant que ta sympathie. Seul bémol : ne pas pouvoir travailler avec toi à partir de novembre...

À mon directeur de thèse, Monsieur le Docteur François BARBIER,

Pour m'avoir fait l'honneur de me proposer et d'encadrer ce travail. On n'en fini jamais d'apprendre à tes côtés. Ton accessibilité, ta bonne humeur et ta générosité font de toi une personne plus que louable sur le plan humain. J'espère qu'à l'avenir nous continuerons de collaborer car travailler avec toi est un réel plaisir.

A Monsieur le Docteur Thierry BOULAIN, merci pour l'aide précieuse que vous avez apportée à ce travail, et pour la formation reçue lors de mon stage dans votre service.

À mes parents, que je ne remercierai jamais assez car je leur dois tout, à commencer par un grand frère et une grande sœur extra. Notre famille reste un noyau dur, un point d'ancrage dans ma vie qui me permet de me construire. Papa, maman, je vous aime.

À mon grand-frère Jonathan, je te dois mes premiers pas dans le monde du sport auquel tu m'as donné goût, même si je n'ai jamais dû gagner un seul de nos échanges sportifs ! Tu m'as ouvert toutes les voies, je te dois en partis ma réussite car tu as toujours été d'une grande aide sur le plan scolaire. Maintenant tu es à la tête d'une magnifique famille, et avec Fanny, je suis sûre que vous saurez faire de mes neveux chéris, Nolan et Daren, de futurs champions toutes catégories !

À ma grande sœur Julie, comme disais ton maître à penser : Maître Gims « hello sista, on t'a d'jà dit qu't'étais une beauté numérique ». Pour ma part je dirais que ta folie n'a d'égale que ta beauté, ton sens de la répartie n'a de limite qu'à l'étanchéité de ta soif et que ta générosité ne cesse en tout temps. Et c'est pour tout ça que je t'aime. Prend soin de ma princesse Joy et continu de combler Claudio.

À toute ma famille, grands-parents, oncles, tantes, cousins, cousines. Vous avez tous une place précieuse dans mon cœur, nous avons la chance d'être une grande famille unie alors continuons de montrer l'exemple aux futures générations !

À mes cher(e)s ami(e)s, j'ai eu l'ambition à travers ces remerciements de vous exprimer, à chacun, de façon personnelle toute la gratitude que j'ai pour vous, mais je n'ai pas trouvé de mots suffisamment variés et justes pour vous exprimer l'importance que vous avez à mes yeux. Et pour être honnête le temps qu'il me reste limite mon expressivité ! ^^

Essayons de résumer en quelques lignes chronologiques :

- Merci à mes amis de toujours : Olivier et Russel qui bordent mes souvenirs les plus anciens et avec qui je compte bien traverser les âges !
- Merci à mes amis de collège-lycée : Julie, Laura, Valentine, Anaïs et leurs chers et tendres, sans qui ces années n'auraient pas eu les mêmes saveurs. Le temps a passé dans nos vies mais pas dans nos cœurs.

- Merci à mes amis de fac « les boloss », Mazdak, Julien (Rul), Rémi, Julien (Poupou), Ronan, Pierre, Jean-Baptiste, Christophe, Raphaël, Géraldine, Audrey, Maeva, Katia et Amandine. Un seul regret : celui de ne pas avoir fait de 2^{ème} année de médecine avec la majorité d'entre vous ! Restez comme vous êtes c'est toujours un plaisir de vous voir !
- Merci à mes amis de fac « les josjos » : Axelle, Claire, Samya, Aida, Julia, Yalda, Stéphanie, Marie, Walid, Brahim, Kévin, Christian, Evan, Raphaël et Sam. Au programme de nos futurs vacances : exercice de marchandage (#radinmalin) – épreuve de tricherie aux jeux de société et exercice physique pour les grands sportifs comme S et Y, je crois que tous les ingrédients sont là pour qu'on se retrouve ! (sa va j'est pas tros fé de fotes ?) #cestpasmoiquiécrivaitlefairepart
- Merci à mes co-internes : Carlito, Matthieu el Profesor, Juju, Pedro, Mario, Marco, Loulou et Titi, l'internat m'a permis de faire de belles rencontres dont vous faites tous partie et j'espère qu'on continuera à passer autant de bon temps au travail comme en dehors !

À toutes les équipes médicales et paramédicales,

Merci à tous les internes et médecins que j'ai pu côtoyer, à tous les infirmiers/ères, les IADE, les AS, les kinés, les sages-femmes, les IBODE qui au cours des différents semestres (Blois, Orléans et Tours) qui m'ont permis de m'épanouir au travail dans une ambiance chaleureuse.

Et bien-sûre un **Grand Merci à ma chérie Clémence** sans qui mon quotidien n'aurait pas de sens. Tu as toujours su faire preuve d'une tolérance à bien des égards, ta bienveillance me comble, merci d'être là tout simplement. Mon amour je t'aime.

SERMENT D'HIPPOCRATE



En présence des Maîtres de cette Faculté,
de mes chers condisciples
et selon la tradition d'Hippocrate,
je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur
et de la probité dans l'exercice de la Médecine.
Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent,
et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.
Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux
ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira
les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira
pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.
Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres,
je rendrai à leurs enfants
l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.
Que les hommes m'accordent leur estime
si je suis fidèle à mes promesses.
Que je sois couvert d'opprobre
et méprisé de mes confrères
si j'y manque.

ABRÉVIATIONS

BGN-RCF : bacille à Gram négatif résistant à la ceftriaxone
BLSE : β -lactamase à spectre élargi
BMR : bactérie multi-résistante
BAC : bactériémie
BLC : bactériémie liée au cathéter
CVC : cathéter veineux central
COL : colonisation
CHRO : Centre Hospitalier Régional d'Orléans
CIM-10 : Classification Internationale des Maladies 10^{ème} version
CDC : *Centers for Disease Control and Prevention*
C3G : céphalosporine de 3^{ème} génération
EARS-net : *European Antimicrobial Resistance Surveillance Network*
EBLSE : entérobactérie productrice de BLSE
EHCA : entérobactérie hyper-productrice de céphalosporinase AmpC
EPC : entérobactérie productrice de carbapénémase
ERV : entérocoque résistant à la vancomycine
ER : écouvillonnage rectal
IC : intervalle de confiance
IN : infection nosocomiale
ILC : infection liée au cathéter
KPC : *Klebsiella pneumoniae* Carbapénémase
MBL : métallo- β -lactamase
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
PAVM : pneumonie acquise sous ventilation mécanique
PMSI : programme de médicalisation des systèmes d'information
USI : unité de soins intensifs

RÉSUMÉ

Introduction : Le portage intestinal de bacilles à Gram négatif résistants à la ceftriaxone (BGN-RCF) représente le principal facteur de risque d'infection nosocomiale causée par ces pathogènes chez les patients de réanimation. L'acquisition de ce portage pourrait être favorisée par des altérations de la flore intestinale anaérobie et de la résistance à la colonisation qu'elle exerce physiologiquement.

Patients et méthodes : Dans cette étude rétrospective réalisée en réanimation chirurgicale au Centre Hospitalier Régional d'Orléans et incluant les patients admis pour un premier séjour ≥ 3 jours entre janvier 2015 et juin 2017, nous avons souhaité évaluer l'impact des principaux antibiotiques à activité anti-anaérobie autres que les carbapénèmes (amoxicilline-clavulanate, pipéracilline-tazobactam et métronidazole) sur le risque d'acquisition d'un portage de BGN-RCF (entérobactéries productrices de β -lactamase à spectre élargi, entérobactéries hyper-productrices de céphalosporinase AmpC, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*).

Résultats : Parmi les 352 patients inclus (hommes, 72,4% ; âge, 63 [49-72] ans ; IGS 2 à l'admission, 39 [30-51] points ; durée de séjour, 16 [9-30] jours), 120 (34,1%) ont acquis un portage d'au moins un BGN-RCF, principalement entérobactéries hyper-productrices d'AmpC ($n = 62$, 17,6%) et *P. aeruginosa* ($n = 52$, 14,8%). Nous avons initialement comparé deux cohortes de patients appariés ($n = 77/77$) selon un score de propension à être exposé ou non à une antibiothérapie anti-anaérobie durant le séjour par un modèle semi-paramétrique de régression additive intégrant l'exposition aux différentes classes d'antibiotiques comme des variables à entrées différées et appréhendant le décès ou la sortie de réanimation comme des risques compétitifs : dans ce modèle, l'exposition aux anti-anaérobies était indépendamment associée au risque d'acquisition d'un portage intestinal de BGN-RCF [hazard ratio (HR), 3,92 ; intervalle de confiance à 95% (IC95%), 1,12-13,7 ; $P = 0,028$]. Ce modèle à risques compétitifs - pondéré selon le score de propension - a ensuite été appliqué sur l'ensemble de la cohorte et a confirmé l'association indépendante entre l'exposition aux anti-anaérobies et l'acquisition d'un portage de BGN-RCF (HR, 4,3 ; IC95%, 1,46-12,63 ; $P = 0,0128$). Aucune des autres classes d'antibiotiques (pénicillines sans activité anti-pyocyanique, céphalosporines avec ou sans excrétion biliaire prédominante, carbapénèmes, aminosides, glycopeptides) n'était indépendamment associée à l'acquisition de ce portage.

Conclusion : Nos résultats démontrent l'impact délétère des antibiotiques anti-anaérobies sur la flore intestinale des patients de réanimation et la nécessité de limiter leur usage dans cette population.

Mots-clés : Antibiothérapie – Pression de sélection – Bactéries multi-résistantes – Microbiote intestinal – Réanimation

ABSTRACT

Introduction: Intestinal colonization with ceftriaxone-resistant Gram-negative bacilli (CFR-GNB) is a major risk factor for nosocomial infection due to these pathogens in intensive care unit (ICU) patients. The acquisition of CFR-GNB carriage could be promoted by antimicrobial-related alterations of the anaerobic intestinal microflora and its inherent colonization resistance.

Methods: In this retrospective study performed in the surgical ICU of a teaching hospital and including all patients admitted for a first stay ≥ 3 days over a 30-months period, we sought to appraise the impact of antibiotics with potent activity against intestinal anaerobes (namely, amoxicillin-clavulanic acid, piperacillin-tazobactam, and metronidazole) on the hazard of CFR-GNB acquisition. Rectal swabs were routinely collected at ICU admission then weekly afterwards, and processed for detection of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae, AmpC cephalosporinase-hyper-producing Enterobacteriaceae, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, and *Stenotrophomonas maltophilia*.

Results: Among the 352 included patients (male sex, 72.4%, age, 63 [49-72] years, SAPS-2 at admission, 39 [30-51] points, length of ICU stay, 16 [9-30] days), 120 (34.1%) acquired intestinal colonization with at least one CFR-GNB, mainly AmpC-hyperproducing Enterobacteriaceae ($n = 62$, 17.6%) and *P. aeruginosa* ($n = 52$, 14.8%). We initially compared two cohorts of patients ($n = 77/77$) matched on a propensity score to be exposed or not to anti-anaerobes antibiotics during the ICU stay by a semi-parametric model of additive regression handling exposure to antibiotic classes as delayed entry variables and in-ICU death or discharge as competing events: in this model, exposure to anti-anaerobes antibiotics was independently associated with the hazard of carriage acquisition [hazard ratio (HR), 3.92; 95% confidence interval (95% CI), 1.12-13.7; $P = 0.028$]. Multivariable analyses were then performed on the whole study cohort using propensity score-based inverse probability of treatment weighting and with adjustment for confounders exhibiting strong imbalance between patients exposed and those not exposed to anti-anaerobic antibiotics. These analyses confirmed the independent association between exposure to anti-anaerobes antibiotics and the risk of CFR-GNB acquisition (HR, 4.3, 95% CI, 1.46-12.63, $P = 0.0128$). None of the other antibiotic classes (*i.e.*, penicillins without antipseudomonal activity, cephalosporins with or without predominant biliary excretion, carbapenems, aminoglycosides, and glycopeptides) were independently associated with carriage acquisition.

Conclusions: This preliminary work suggests that exposure to antibiotics that impair the anaerobic intestinal microflora and the colonization resistance that it confers may contribute to the dissemination of CFR-GNB in ICU patients. Restraining the use of anti-anaerobes drugs could be a pivotal facet of antibiotic stewardship programs that aim at controlling the spread of CFR-GNB in this setting.

Keywords: Antibiotic stewardship – Selection pressure – Multidrug-resistant bacteria - Gut microbiota – Intensive care

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	13
I. Préambule : Les antibiotiques au cœur de la résistance.....	13
II. Épidémiologie : quels germes, quels mécanismes de résistance ?	16
a) Principales bactéries en cause dans la résistance.....	16
i. Les entérobactéries.....	16
ii. Les BGN non fermentants	18
b) Mécanismes de résistance :.....	19
i. Entérobactéries.....	19
ii. Les BGN non fermentants	22
III. La flore intestinale comme réservoir de BGN résistants aux C3G	22
IV. Impact de l'exposition aux antibiotiques sur la flore digestive	25
a) La sélection de bactéries résistantes	25
b) L'effet sur la résistance à la colonisation	25
c) Paramètres conditionnant l'acquisition	27
V. Etat actuel de l'usage des antibiotiques	28
VI. Quelles conséquences de la résistance aux antibiotiques en réanimation ?	30
a) Épidémiologie actuelle des infections nosocomiales	30
b) Portage digestif de BMR et IN	31
OBJECTIF DE LA RECHERCHE.....	32
PATIENTS ET METHODES	33
ARTICLE PRÉLIMINAIRE	35
DISCUSSION ET CONCLUSION.....	59
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	63

INTRODUCTION

I. Préambule : Les antibiotiques au cœur de la résistance

Les antibiotiques ont pavé le chemin du développement médical et sont aujourd'hui indispensables dans notre système de santé. La réussite de la médecine moderne, tel que la chirurgie, la transplantation d'organe, le traitement des infections materno-fœtales, ou encore les chimiothérapies, est aujourd'hui considérée comme acquise. Cependant elle risque de ne plus l'être sans traitement efficace pour lutter contre les infections bactériennes.

Au cours de l'histoire, la résistance bactérienne semble apparaître dans le sillage de l'usage des antibiotiques (1) (*figure 1*) ayant ainsi engagé l'industrie pharmaceutique dans une course au développement de nouvelles molécules. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 51 antibiotiques synthétiques et 11 antibiotiques naturels étaient en développement en mai 2017. Parmi ces 62 antibiotiques, 42 ciblaient des pathogènes priorités par l'OMS. Cependant, l'OMS estime que moins de 10 de ces antibiotiques pourraient être commercialisés d'ici cinq ans. De plus, ces nouveaux traitements ajouteront peu à l'arsenal déjà existant et ne seront pas suffisants pour faire face à la menace grandissante de la résistance antimicrobienne.

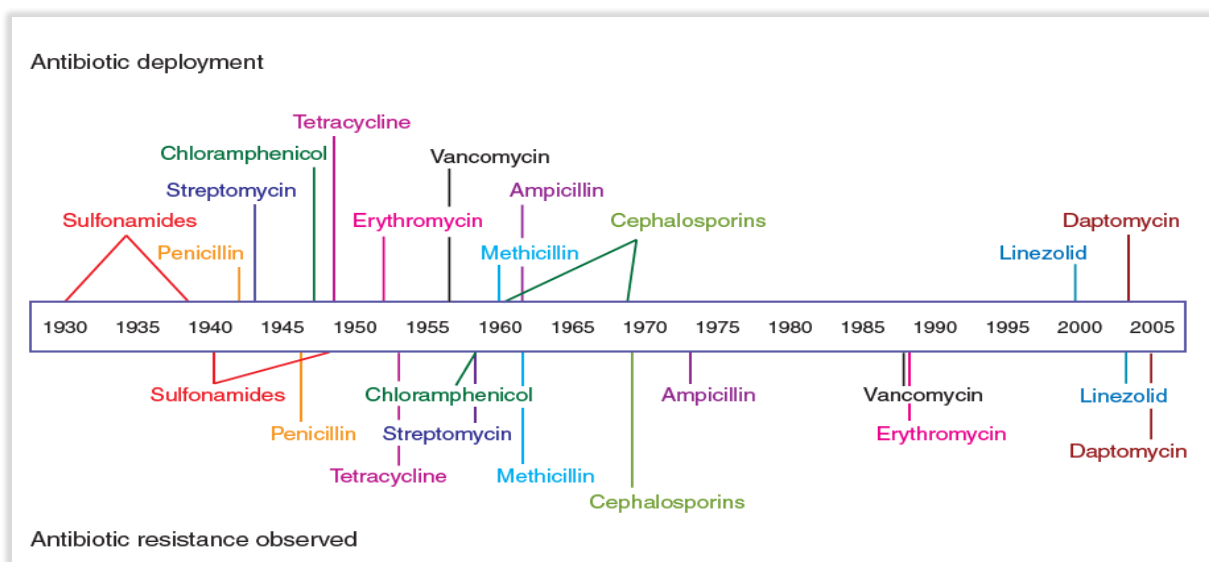


Figure 1. Chronologie du déploiement d'antibiotiques et de l'évolution de la résistance aux antibiotiques. L'année où chaque antibiotique a été déployé est représentée au-dessus de la frise chronologique, et l'année où la résistance à chaque antibiotique a été observée est représentée au-dessous de la frise (avec la mise en garde que l'apparition de la résistance aux antibiotiques n'implique pas nécessairement qu'un antibiotique donné a perdu toute utilité clinique)

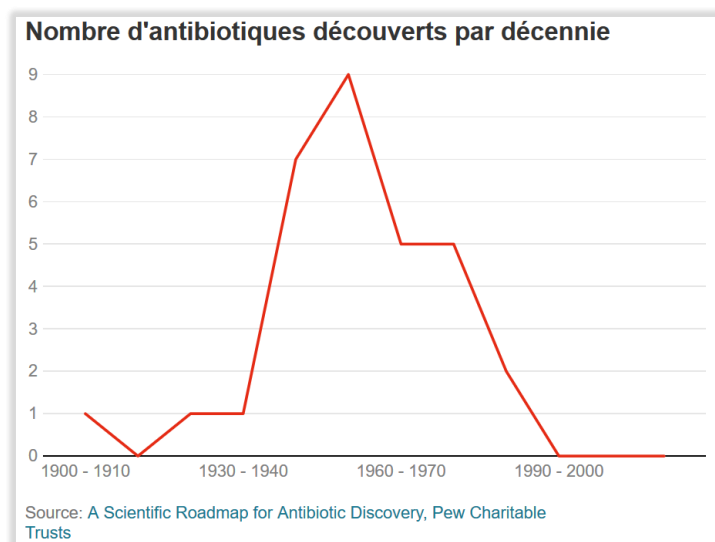


Figure 2. Nombre d'antibiotiques découverts par les industries pharmaceutiques par décennie.

Globalement, depuis la fin des années 1980, on observe une décroissance du nombre de nouvelles molécules mises au point (2) (Figure 2). Ce désintérêt de l'industrie pharmaceutique est directement lié au faible profit issu des anti-infectieux. En effet, par comparaison à ceux pouvant être générés par des traitements utilisés pour la prise en charge de maladies chroniques à fortes prévalences telles que l'HTA ou le diabète, ceux des antibiotiques sont limités par leur courte durée de prescription et la population réduite de patients à laquelle ils sont destinés. De plus, pour limiter la résistance, les antibiotiques doivent être utilisés avec parcimonie, réduisant encore plus la marge de profit des entreprises. Cela a pour conséquence un arsenal thérapeutique peu diversifié contribuant à l'utilisation répétée des mêmes classes d'antibiotiques favorisant ainsi l'apparition de la résistance (3,4).

Comme facteurs aggravants et précipitants de la propagation mondiale des BMR, on peut également citer la transmission des gènes inter-espèces, l'hygiène dans les communautés et les hôpitaux, et l'augmentation en fréquence des voyages et du commerce (5). L'implication de l'Homme est donc complexe et se fait à différents niveaux de la société à travers le monde. Ainsi les perspectives d'amélioration ne doivent pas se restreindre à l'usage hospitalier des antibiotiques, car leur emploi dans l'agriculture animale ou leur déversement environnemental via les eaux usées, sont autant de facteurs mis en causes à l'échelle planétaire (6).

On estime actuellement à 700000 le nombre de décès attribuables chaque année à la résistance bactérienne dans le monde. Ce chiffre pourrait atteindre dix millions d'ici 2050 si aucun changement ne survient (7).

À l'échelle individuelle cela se traduit par une inefficacité croissante des antibiotiques dans le traitement d'infections communes. L'OMS parle de « superbactéries » (« *superbugs* ») et a lancé en 2015 une alerte concernant la résistance chez les entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*, pathogènes pour lesquels le risque est jugé « critique ». Cette tendance est particulièrement préoccupante pour les β -lactamines, cette classe constituant le traitement de 1^{ère} ligne dans la quasi-totalité des infections graves à entérobactéries et à BGN non fermentants, en particulier *P. aeruginosa* (8). De plus, la résistance aux β -lactamines est souvent associée à des mécanismes affectant d'autres classes thérapeutiques, ce qui aboutit à un profil de multi-résistance (résistance à au moins une molécule dans ≥ 3 classes différentes). Les aminosides et les fluoroquinolones sont les principales classes concernées par ces co-résistances.

Par ailleurs, la précocité d'administration d'un traitement adéquate est un facteur pronostique majeur au cours des états septiques graves (9) : l'implication d'une BMR expose le patient infecté à une surmortalité liée au risque accru d'inadéquation de l'antibiothérapie probabiliste. La multi-résistance est également associée à une augmentation significative de la durée de séjour en réanimation, des coûts liés au séjour, et du risque d'effets indésirables liés aux mesures d'isolement chez les malades avec colonisation documentée (10).

Le problème janusien est alors posé :

Traiter chaque patient avec le meilleur antibiotique



Contrôler la résistance au sein des écosystèmes

II. Épidémiologie : quels germes, quels mécanismes de résistance ?

a) Principales bactéries en cause dans la résistance

i. Les entérobactéries

Les entérobactéries sont une grande famille de BGN appartenant à la flore commensale gastro-intestinale humaine et animale. Ces micro-organismes sont une cause fréquente d'infections communautaires et nosocomiales. Bien que cette famille comprenne plus de 70 genres (11), les entérobactéries impliquées dans les infections liées aux soins les plus fréquemment signalées aux systèmes de surveillance du *National Health Safety Network* (NHSN) et des *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) sont les espèces *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter* spp.

En France, les données du réseau EARS-Net rapportent la poursuite de l'augmentation de la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G), en particulier chez *K. pneumoniae*. Cette résistance est principalement en lien avec la production de β -lactamases à spectre étendu (BLSE). En 2016, 28,9% des souches de *K. pneumoniae* isolées d'infections invasives étaient résistantes aux C3G et 11,2% des souches d'*E. coli* l'étaient également (Figure 3).

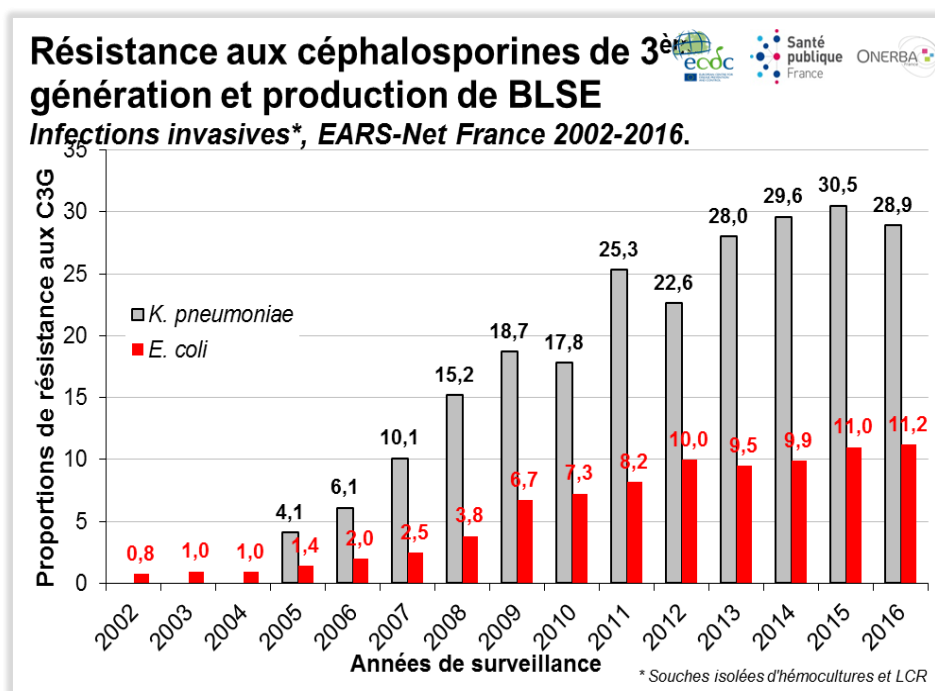


Figure 3. Infections invasives (hémocultures et LCR) à *E. coli* et *K. pneumoniae* BLSE entre 2002 et 2016 en France d'après le réseau EARS-net

En revanche, la prévalence de la résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries reste faible en France (<0,1% pour *E. coli* et 0,4% pour *K. pneumoniae*) alors qu'elle est maintenant supérieure à 10% chez *K. pneumoniae* dans plusieurs pays du Sud-Est de l'Europe, voire supérieure à 30% dans certains pays dont l'Italie (Figure 4). Cette prévalence est en augmentation dans la totalité des grands réseaux de surveillance internationaux.

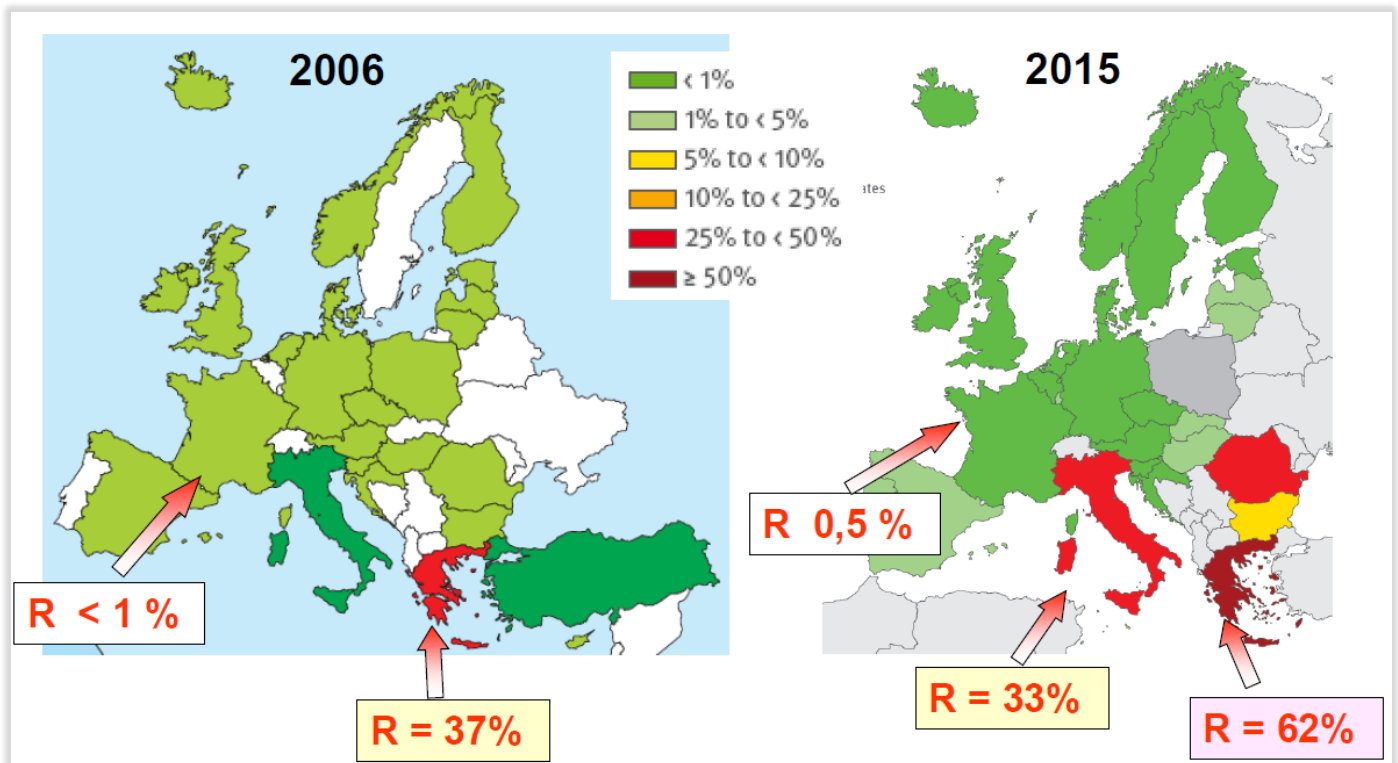


Figure 4. Carbapénèmes – La situation en Europe - *Klebsiella pneumoniae* (extrait cours du DURPI-2016)

La majorité des entérobactéries productrices de carbapénémase (EPC) sont désormais isolées chez des malades sans antécédent de voyage ou d'hospitalisation dans des régions d'endémicité, confirmant leur dissémination autochtone (notamment pour les carbapénèmes de type OXA-48) (12). Dans ce contexte, l'émergence de la résistance aux polymyxines est particulièrement inquiétante (13,14), cette classe constituant le dernier recours pour le traitement des infections à BGN résistants aux carbapénèmes.

ii. Les BGN non fermentants

La résistance aux β -lactamines atteint également des niveaux critiques chez *P. aeruginosa* et *A. baumannii*. Selon les données du réseau EARS-Net France, la prévalence de la résistance aux carbapénèmes chez *Acinetobacter* spp. atteignait 7,1% en France en 2016, avec une évolution difficile à interpréter compte tenu du nombre limité de souches étudiées. Ceci situe néanmoins la France très en dessous de la prévalence moyenne en Europe (35,1%). La résistance aux carbapénèmes chez *P. aeruginosa* reste à un haut niveau depuis 2009 (>15% des souches, 16,5% en 2016), avec des évolutions difficiles à interpréter entre 14 et 19% (Figure 5).

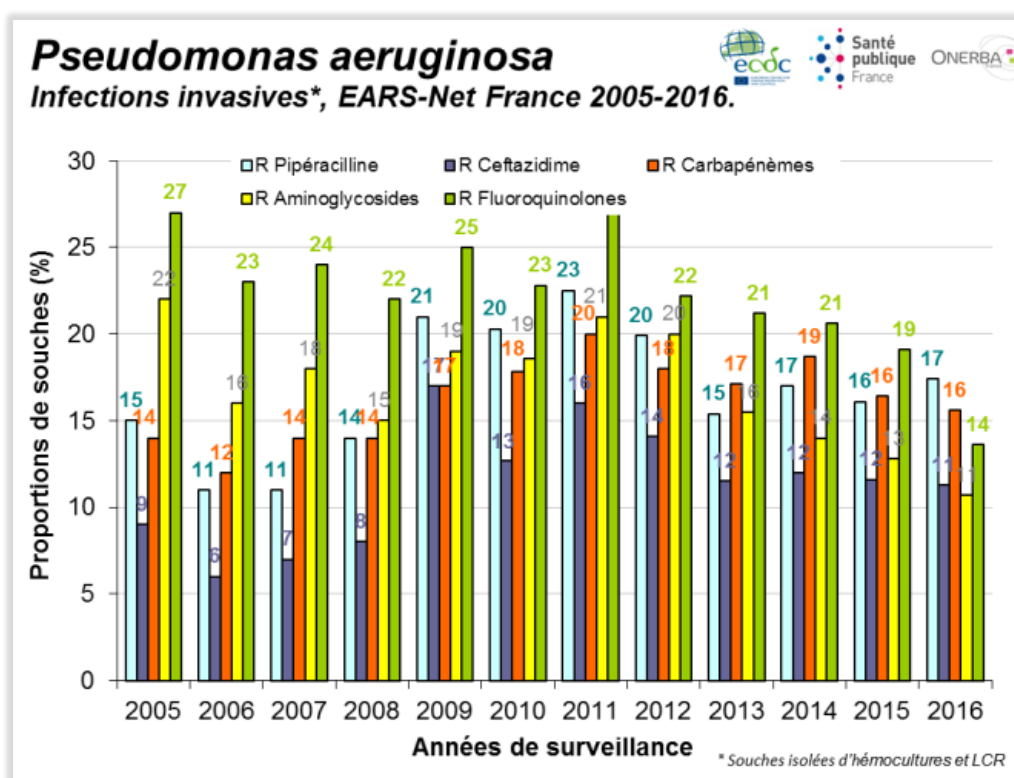


Figure 5. Evolution de la résistance aux carbapénèmes chez *P. aeruginosa* depuis 2009

b) Mécanismes de résistance :

i. Entérobactéries

1. La résistance aux C3G

Deux mécanismes éventuellement imbriqués peuvent expliquer la résistance phénotypique aux C3G. Il peut s'agir de l'expression d'une BLSE codée par un gène à support plasmidique et acquis par transfert horizontal du plasmide (conjugaison). La quasi-totalité des BLSE acquises par les entérobactéries appartiennent à la classe A d'Ambler (sensibilité *in vitro* aux inhibiteurs de bêta-lactamases) et sont de type TEM, SHV ou CTX-M, ce dernier type ayant massivement émergé chez les souches communautaires (en particulier chez *E. coli*) au cours des deux dernières décennies (8,15). Les plasmides codant ces BLSE contiennent très fréquemment des gènes de résistance à d'autres classes d'antibiotiques, notamment les aminosides et les fluoroquinolones : un unique événement génétique (conjugaison) suffit alors à conférer à la bactérie réceptrice un phénotype de multi-résistance. Le deuxième mécanisme est l'hyper-production d'une céphalosporinase AmpC. Ce mécanisme résulte le plus souvent de mutations sur les gènes codant les protéines régulatrices du gène chromosomique *bla_{ampC}* chez les entérobactéries du groupe 3 (*Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, *Hafnia alvei*, *Providencia* spp.) et *E. coli* (16). Ces mutations sont spontanées et non provoqués par les β -lactamines, qui ne font que sélectionner les mutants résistants au site de l'infection ou dans la flore digestive. Ce phénotype peut également résulter de l'acquisition par conjugaison d'un gène *bla_{ampC}* à support plasmidique : ce mécanisme émergent semble encore rare chez les souches d'entérobactéries résistantes aux C3G isolées chez les malades de réanimation (17).

2. La résistance aux carbapénèmes :

Le premier mécanisme de résistance aux carbapénèmes est l'association d'une baisse de la perméabilité de la membrane externe à une surexpression des β -lactamases possédant une activité limitée de carbapénémase (céphalosporinase AmpC). L'ertapénème est le seul carbapénème concerné dans la quasi-totalité des cas. Ces mécanismes de résistance aux carbapénèmes ne sont pas transférables entre souches de mêmes espèces ou d'espèces différentes.

Le deuxième mécanisme est l'expression de carbapénémases *stricto sensu*. Ces enzymes sont principalement codées par des gènes plasmidiques : elles sont donc transférables – en

particulier chez les entérobactéries – et potentiellement responsables d'épidémies. Les plasmides portant les gènes de carbapénémases véhiculent fréquemment des gènes de résistance à d'autres classes d'antibiotiques.

Selon la classification d'Ambler, les carbapénémases réparties en : (figure 6)

- Carbapénémases de classe A, avec en particulier les enzymes de type KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase). Les carbapénémases de type KPC hydrolysent toutes les β -lactamines. Ces enzymes sont peu inhibées par l'acide clavulanique ou le tazobactam. En plus de KPC, d'autres carbapénémases de classe A ont été identifiées, telles que IMI (imipenemase) ou NMC-A (non-metallo-carbapenemase-A), décrites chez *Enterobacter* spp., ou encore des variants de l'enzyme SME (*Serratia marcescens* enzyme) chez *Serratia marcescens*. En parallèle de ce que l'on pourrait appeler ces "vraies" carbapénémases, il existe l'enzyme GES-5, qui a été identifiée chez *Enterobacter cloacae* (18). En fait, cette enzyme est un variant de l'enzyme GES-1 connue pour être une BLSE "classique", mais dont le spectre d'hydrolyse est étendu aux carbapénèmes par mutation et modification conformationnelle induite. À ce jour, un seul isolat a été identifié au Canada ; cependant, de nombreuses souches de *P. aeruginosa* produisant GES-5 ont été identifiées en Amérique du Sud, ce qui suggère une capacité de dissémination importante du gène *bla*_{GES-5}.
- Carbapénémases de classe B ou métallo- β -lactamases (MBL) : Les MBL hydrolysent toutes les bêtalactamines à l'exception de l'aztréonam. Elles sont totalement résistantes à l'action des inhibiteurs classiques de β -lactamases tels que l'acide clavulanique ou le tazobactam. Parmi ces enzymes, celles de type IMP et VIM ont une distribution mondiale, mais leur prévalence reste relativement faible, excepté en Grèce, où les souches productrices de VIM-1 sont considérées comme endémiques. En France, ces enzymes sont rarement identifiées au sein des entérobactéries (en revanche, elles sont plus fréquentes chez *P. aeruginosa*). Les MBL de type NDM représentent actuellement la principale menace en termes de dissémination géographique (19). Les souches productrices de MBL sont la plupart du temps multi-résistantes et appartiennent à une grande variété d'espèces d'entérobactéries, les plus fréquentes étant *E. coli* et *K. pneumoniae*.

- Les carbapénémases de classe D incluant les enzymes de type OXA, principalement OXA-48 : Ces β -lactamases ont un spectre d'hydrolyse plus limité : elles hydrolysent les pénicillines et les carbapénèmes mais pas les C3G. Tout comme les MBL, elles ne sont pas sensibles aux inhibiteurs classiques de β -lactamases. L'analyse des profils de résistance de ces souches et l'évaluation de l'implication exacte des carbapénémases sont compliquées par la combinaison possible de différentes enzymes chez une même souche. En l'absence de coproduction de BLSE (moins de 20 % des souches), les souches d'*E. coli* ou de *K. pneumoniae* productrices d'OXA-48 demeurent sensibles aux C3G.

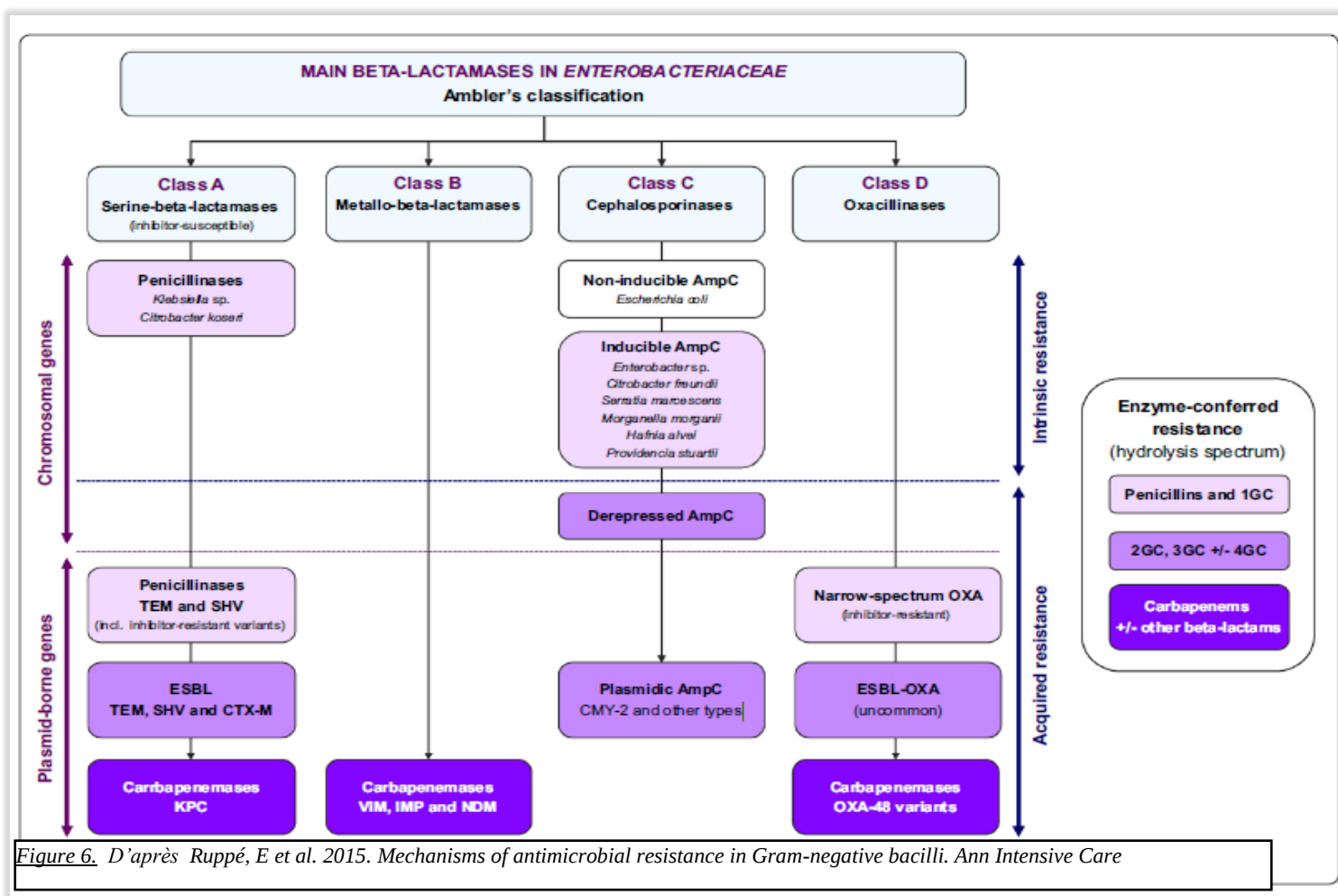


Figure 6. D'après Ruppé, E et al. 2015. Mechanisms of antimicrobial resistance in Gram-negative bacilli. Ann Intensive Care

ii. Les BGN non fermentants

À la différence des entérobactéries, la résistance aux β -lactamines chez ces BGN non fermentants ne repose pas uniquement sur la production de β -lactamases chromosomiques ou acquises par transfert de plasmide (figure 7) : l'hyper-expression de systèmes d'efflux et l'imperméabilité sélective à certaines molécules par altération de porines de la membrane externe (exemple, résistance sélective à l'imipénème par perte fonctionnelle de la porine D2 chez *P. aeruginosa*) sont fréquemment impliquées et résultent de mutations chromosomiques (8).

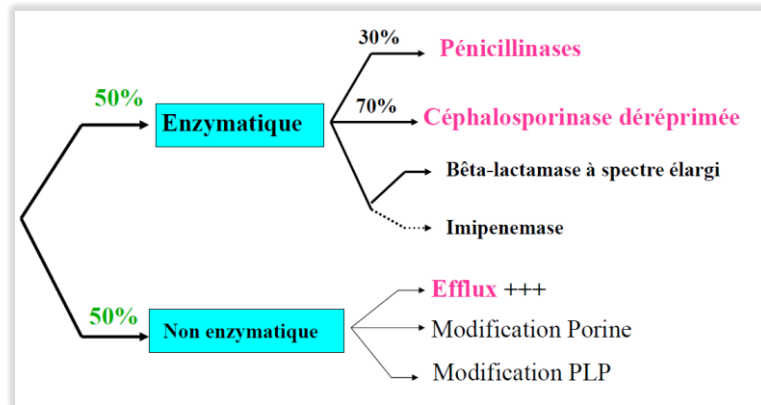


Figure 7. Mécanismes de résistance chez *P. aeruginosa* ; tiré du cours du DURPI de Laurence Armand

III. La flore intestinale comme réservoir de BGN résistants aux C3G

Le côlon humain contient jusqu'à 10^{12} bactéries par gramme de selle : ces bactéries sont représentées par de plus de 1000 espèces essentiellement anaérobies strictes et

majoritairement non cultivables, et une minorité d'espèces aéro-tolérantes dont *E. coli* ($\leq 10^8$ /gramme de selle), potentiellement pathogène (figure 8). Cette flore diverge selon l'âge, l'alimentation, l'origine géographique/ethnique de la population et sa localisation dans le tube digestif (20).

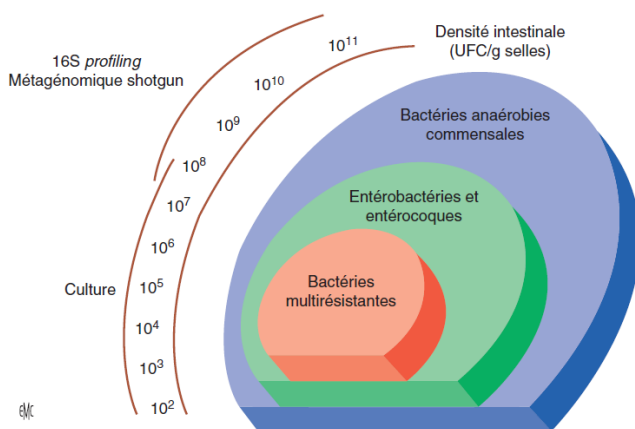


Figure 8. Représentation schématique de la flore digestive extrait de Grall et al EMC 2017

Les phénomènes de résistance ne sont pas limités aux bactéries pathogènes de l'Homme. Les bactéries saprophytes constituant les différentes flores sont également touchées. A ce titre elles représentent un réservoir de gènes de résistance qui pourront être transmis aux bactéries responsables d'infection (21).

Chez les malades de réanimation, il a été observé que le microbiote intestinal représente le principal réservoir de BGN-MR, en particulier d'entérobactéries résistantes aux C3G (22,23). Dans l'étude multicentrique française ColoRéa, un portage intestinal d'entérobactéries résistantes aux C3G avait été documenté à l'admission en réanimation chez 10% des 893 patients inclus (EHCA et EBLSE chez respectivement 56% et 43% des patients avec portage importé) (24). Dans cette même étude, 14% des 694 patients non colonisés à l'admission avaient acquis ce portage au cours du séjour (EHCA et EBLSE chez respectivement 67% et 33% des patients avec portage acquis) (24). D'autres études récentes, françaises et européennes, ont rapportés des résultats similaires (25–30). Ces résultats peuvent être résumés ainsi :

- La prévalence du portage d'EBLSE à l'admission en réanimation est actuellement comprise entre 5 et 15% dans la plupart des services. Ce portage importé est plus fréquent chez les patients ayant été hospitalisés et/ou exposés aux antibiotiques (notamment C3G et fluoroquinolones) dans les mois précédant l'admission ;
- L'acquisition d'un portage d'EBLSE est observée chez 3 à 15% des patients avec durée de séjour supérieure à 3-5 jours. Le risque d'acquisition dépend de la pression de colonisation (transmission croisée) et de la pression de sélection des antibiotiques ;
- *E. coli*, *K. pneumoniae* et *Enterobacter* spp. sont les principales espèces d'EBLSE isolées dans ce contexte, *E. coli* avec BLSE de type CTX-M représentant la grande majorité des souches communautaires importées ;
- La prévalence globale du portage intestinal d'EHCA est comprise entre 9 et 19%, et atteint 30% chez les patients avec séjour prolongé (supérieure à 4 semaines) ;
- Le portage d'EHCA est acquis en réanimation dans 50 à 80% des cas. L'acquisition correspond quasi-exclusivement à l'émergence d'un mutant avec AmpC chromosomique dérégulée au sein de la flore digestive, les souches avec AmpC plasmidique acquise par transmission croisée (dissémination clonale ou plasmidique) semblant encore exceptionnelles dans ce contexte. La durée de séjour, l'exposition aux C3G et l'exposition aux antibiotiques altérant la flore de barrière anaérobie (métronidazole) sont les principaux facteurs de risque d'acquisition de ce portage (31);

- *Enterobacter cloacae* (50-70%), *C. freundii*, *H. alvei* et *E. coli* représentent plus de 90% des EHCA isolées dans la flore digestive des malades de réanimation.

La flore digestive représente également un réservoir de souches MR de *P. aeruginosa* chez les malades de réanimation, la prévalence de ce portage étant comprise entre 15% et 24% dans les études disponibles (32–34). Une récente étude prospective incluant 414 patients de réanimation a démontré qu'un portage digestif était le principal facteur prédictif d'IN à *P. aeruginosa* (HR, 15, 2, IC 95%, 6,9-33,7) (35). Enfin, le rôle de la flore digestive comme réservoir de souches invasives d'*A. baumannii* est également démontré chez les malades de réanimation, en particulier pour les souches MR (36).

IV. Impact de l'exposition aux antibiotiques sur la flore digestive

a) La sélection de bactéries résistantes

Les bactéries peuvent, soit résister naturellement à un antibiotique, soit acquérir la résistance. La résistance résulte de l'absence de cible ou de la non pénétration de l'antibiotique dans la bactérie.

La résistance acquise est l'apparition de sous-populations bactériennes résistant à tel ou tel antibiotique au sein d'une espèce bactérienne habituellement sensible. Deux grands mécanismes sont responsables de ce phénomène :

- Une mutation chromosomique ;
- L'acquisition (par conjugaison) de plasmides portant des gènes de résistance.

Ainsi, lors d'une antibiothérapie curative ou prophylactique, l'antibiotique administré va sélectionner les bactéries qui lui résistent au détriment des sensibles. Cet effet sélectionnant s'exerce à court terme et à long terme (37,38).

b) L'effet sur la résistance à la colonisation

L'effet de résistance à la colonisation décrit par van der Waaij (39) est la capacité que possède la microflore établie dans le tractus digestif à s'opposer à l'implantation et à la persistance durable des bactéries ingérées ultérieurement. Cet effet global de la flore est dû principalement à la présence et à l'activité des bactéries anaérobies. Les antibiotiques efficaces sur les bactéries anaérobies strictes, notamment les antibiotiques à large spectre, en diminuant leur population, réduisent de façon significative l'effet de résistance à la colonisation et favorisent l'implantation digestive des bactéries (40,41).

Autrement dit, l'exposition à un antibiotique est responsable d'une baisse de la diversité et de la richesse de la flore digestive qui perd son effet barrière permettant aux germes résistants d'émerger. Il a également été mis en évidence un impact de l'effet cumulatif des antibiotiques sur la flore digestive (42).

Des mécanismes multiples peuvent contribuer à l'inhibition des pathogènes, y compris l'épuisement des nutriments (43), la prévention de l'accès aux sites d'adhérence ou aux niches associées à la muqueuse et la production de substances ou d'états inhibiteurs (par exemple, les conditions anaérobies) (44). Sur la base d'études animales ou humaines, il a été suggéré que les anaérobies de la flore intestinale normale jouent un rôle crucial dans la résistance à la colonisation. Les résultats d'une étude réalisée par Høyen *et al.* (45) soutiennent l'hypothèse selon laquelle la microflore anaérobie indigène inhibe la colonisation par des Enterobacteriaceae produisant des BLSE, notamment *K. pneumoniae*. Les antibiotiques ayant une activité minime contre les anaérobies intestinaux (céfépime, aztréonam et lévofloxacine) ne favorisaient pas la colonisation par *K. pneumoniae* BLSE, alors qu'un agent anti-anaérobie ayant une activité négligeable contre les entérobactéries (c'est-à-dire la clindamycine) favorisait la colonisation à haute densité. L'effet des antibiotiques, tels que la pipéracilline-tazobactam, la ceftriaxone et la ceftazidime, sur l'établissement de la colonisation suggère un équilibre entre l'activité inhibitrice contre KPP BLSE et leur activité antianaérobie. Pour ces antibiotiques, la prolifération ne s'est produite que lorsqu'un plus grand inoculum ou une souche plus résistante a été administrée.

Cependant, les composants spécifiques de la microflore qui inhibent la colonisation par les pathogènes sont encore mal connus. L'efficacité de la résistance à la colonisation est illustrée par la situation des travailleurs de la santé, dont les mains et les vêtements sont fréquemment contaminés par des pathogènes nosocomiaux capables de coloniser le tractus intestinal, notamment *C. difficile*, entérocoques résistants à la vancomycine (ERV), BGN et différentes espèces de *Candida*. Il est probable que de petits nombres de ces agents pathogènes sont ingérés par intermittence. Cependant, la colonisation intestinale avec des niveaux détectables de pathogènes résistants aux antimicrobiens et la diarrhée à *C. difficile* restent rares chez les travailleurs de la santé, car la flore de barrière inhibe la croissance de ces micro-organismes (46,47).

c) Paramètres conditionnant l'acquisition

Les perturbations écologiques ne sont pas seulement liées au spectre des agents, mais également à leur degré d'absorption, leur voie d'élimination et leur éventuelle inactivation enzymatique. La connaissance du potentiel de différents agents antimicrobiens à provoquer des perturbations écologiques dans la microflore normale est d'une grande importance, même si les variations individuelles de la pharmacocinétique, de la composition et de la sensibilité de la flore normale et le degré d'inactivation déterminent davantage le résultat écologique du traitement antimicrobien.

On distingue les antibiotiques à large spectre qui peuvent tuer une très grande diversité d'espèces bactériennes et les antibiotiques à spectre d'hôte restreint. Lorsque l'espèce bactérienne responsable d'une infection est connue, il est préférable d'utiliser un antibiotique ciblé qui aura le moins d'effet possible sur le microbiote intestinal et le développement de résistance.

Il convient de noter que le spectre clinique d'un antibiotique donné et son impact sur le microbiote sont deux phénomènes distincts. Le spectre clinique se réfère à (i) la distribution *in vitro* de la concentration minimale qui inhibe la croissance de diverses espèces bactériennes et (ii) les données pharmacocinétiques garantissant que la concentration de l'antibiotique atteinte dans le site infectieux est supérieure à la CMI pour les pathogènes bactériens impliqués dans l'infection. L'élargissement du spectre clinique fait référence au nombre d'espèces bactériennes contre lesquelles l'antibiotique peut être utilisé dans une perspective thérapeutique. Inversement, l'impact sur le microbiote intestinal résulte à la fois des concentrations obtenues par l'antibiotique dans le côlon et de la sensibilité des bactéries intestinales (généralement inconnue).

Par exemple, l'érythromycine est considérée comme un antibiotique à spectre étroit car elle n'est efficace que sur les pathogènes à Gram positif. Pourtant, les concentrations intestinales d'érythromycine sont suffisamment élevées (jusqu'à 600 mg / g de matières fécales) pour que le médicament soit actif sur certaines bactéries intestinales à Gram négatif, y compris les entérobactéries (48). En revanche, l'imipénème a un spectre clinique très large car il est actif sur une large gamme de bactéries à Gram positif et à Gram négatif, mais il atteint de très faibles concentrations intestinales (49) et son impact sur le microbiote ne semble pas refléter son spectre clinique (50).

Ainsi, bien que le spectre clinique des antibiotiques anciens et nouveaux ait été évalué par des méthodes standardisées, leur impact sur le microbiote intestinal reste incertain. C'est précisément ce qui doit être évalué pour appuyer la décision des cliniciens de désescalader l'antibiothérapie

V. Etat actuel de l'usage des antibiotiques

L'utilisation massive et répétée d'antibiotiques génère au fil du temps une augmentation des résistances bactériennes qui menacent l'efficacité des traitements et ont un impact de santé publique considérable : d'après l'institut de Veille Sanitaire, en France, 158 000 personnes contractent chaque année une infection à BMR et on estime que 12 500 (soit 8 %) en décèdent. (51)

La résistance aux antibiotiques en France bien que n'atteignant pas la magnitude observée chez certains de nos voisins proches, comme l'Italie, la Grèce, ou les pays d'Europe de l'Est, est cependant bien supérieure à celle des pays scandinaves, de la Hollande ou de l'Allemagne, pays qui consomment très peu d'antibiotiques. La France se situe parmi les pays les plus consommateurs en Europe, juste derrière la Grèce. Elle en consomme 30 % de plus que la moyenne européenne. Cette surconsommation entraîne une dépense injustifiée de 71 millions d'euros par rapport à la moyenne européenne, et de 441 millions par rapport aux pays les plus vertueux.

Figure 9. Consommation d'antibiotiques (taux global) en nombre de DDJ/1000 JH en réanimation, dans les établissements ayant détaillé leur consommation.

Antibiotiques	Réanimation N=192
Pénicillines M	42
Amoxicilline	201
Amoxicilline ac clavulanique	208
Pénicillines anti- <i>P. aeruginosa</i> ^a	121
Pipéracilline tazobactam	114
Céphalosporines 1 ^{ère} et 2 ^{ème} G	24
Céphalosporines 3 ^{ème} G (C3G) orales ^b	1
C3G Injectables sans activité sur <i>P. aeruginosa</i> ^c	154
Céfotaxime	91
Ceftriaxone	63
C3G actives sur <i>P. aeruginosa</i> ^d	72
Carbapénèmes	93
Imipénème	55
Méropénème	35
Ertapénème	3
Aminosides	107
Fluoroquinolones	105
Ciprofloxacine	44
Lévofloxacine	42
Ofloxacine	17
Glycopeptides	56
Vancomycine	52
Linézolide	29
Daptomycine	12
Anti-SRM ^e	97
Macrolides + kétolides	74
Streptogramines	3
Imidazolés	55
Rifampicine	19
Tous les ATB	1 468

a Pénicillines anti- *P. aeruginosa* : pipéracilline, ticarcilline, ticarcilline+acide clavulanique, pipéracilline+tazobactam.
b C3G orales : céfotiam, céfixime, cefpodoxime.
c C3G injectables non actives sur *P. aeruginosa* : cefotaxime, ceftriaxone.
d C3G injectables actives sur *P. aeruginosa* : ceftazidime, céfépime.
e Anti-SRM (anti staphylocoques résistants à la méticilline) : glycopeptides, linézolide, daptomycine, tédizolide.

Une attention particulière portée sur la réanimation (Figure 9) permet de remarquer que les principaux antibiotiques utilisés sont l'amoxicilline seule (201 DDJ/1000JH) ou associée à l'acide clavulanique (AAC) (208 DDJ/1000JH), la pipéracilline + tazobactam (PTZ) (114 DDJ/1000JH), les C3G sans activité anti-pyocyanique (154 DDJ/1000JH). L'impact de ces antibiotiques sur la flore digestive en terme d'émergence de germes résistant n'est pas clairement défini mais certaines études tendent à démontrer que l'activité anti-anaérobie en est l'un des principaux facteurs (52). Or l'AAC et la PTZ ont une activité anti-anaérobie très importante.

Par ailleurs, sur l'ensemble de la période, la consommation a diminué dans presque toutes les classes. Seuls font exception les carbapénèmes (dont la consommation, même si elle se situe encore à un niveau faible, a plus que doublé), les céphalosporines de 3e et 4e générations, et la PTZ (Figure 12).

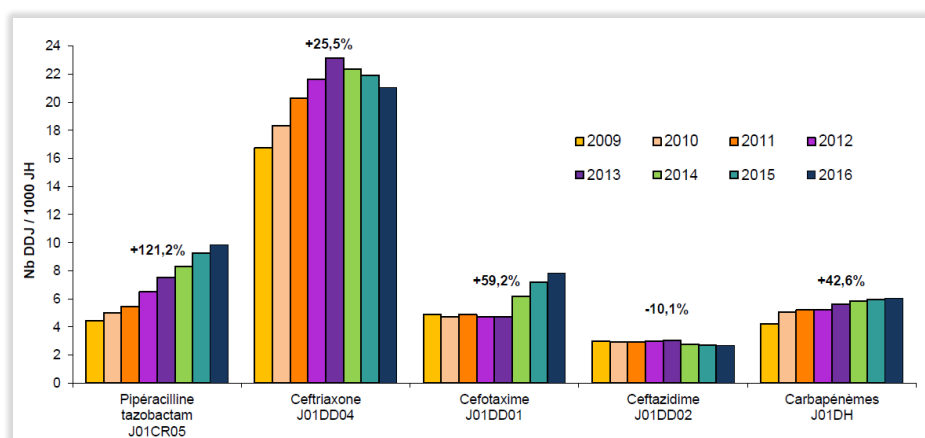


Figure 71 : Evolution de la consommation de certaines bêta-lactamines dans les 490 établissements de santé ayant participé de 2009 à 2016 (et pourcentage d'évolution calculé entre 2009 et 2016)

VI. Quelles conséquences de la résistance aux antibiotiques en réanimation ?

a) Épidémiologie actuelle des infections nosocomiales

La surveillance des infections nosocomiales (IN) est prioritaire en réanimation, secteur à haut risque du fait de l'état critique des patients et de leur exposition aux dispositifs invasifs. Depuis 2004, la surveillance nationale coordonnée par le Réseau d'Alerte, d'Investigation et de Surveillance des IN (Réa-RAISIN) cible en réanimation adulte les infections associées à un dispositif invasif pour lesquelles une démarche de prévention est essentielle : pneumonies acquises sous ventilation mécanique (PAVM), colonisation ou infection ou bactériémie (COL/ILC/BLC) liée au cathéter veineux central (CVC) et bactériémie (BAC). Depuis 2015, les services volontaires recueillent les données de manière continue de janvier à décembre (versus 6 mois auparavant) concernant tout patient hospitalisé plus de 2 jours.

De janvier à décembre 2016, 200 services ont inclus 67 899 patients (âge moyen : 64,3 ans), hospitalisés en moyenne 11,0 jours et dont 70,5% relèvent à l'admission de la médecine, 17,5% de chirurgie urgente et 12,0% de chirurgie programmée ; 7,7% des patients étaient traumatisés, 15,3% étaient immunodéprimés et 57,2% avaient reçu un traitement antibiotique dès l'admission. Le score IGS II moyen était de 46 points et la mortalité moyenne de 17,2%. L'exposition à un dispositif invasif était fréquente : intubation (61,2%), CVC (64,3%) et sonde urinaire (85,8%). Parmi les 67 899 patients, 10,35% ont présenté au moins une IN surveillée.

Les taux d'incidence étaient de 15,22 PAVM pour 1000 j-intubation, 3,39 BAC pour 1 000 j d'hospitalisation, 0,76 ILC et 0,55 BLC pour 1 000 j-CVC. Ces taux varient fortement d'un service à l'autre en lien avec les caractéristiques des patients et les politiques de prévention des IN.

b) Portage digestif de BMR et IN

L'incidence des IN à entérobactéries résistantes aux C3G chez les patients de réanimation colonisés est relativement élevée, de l'ordre de 15%, l'absence de portage ayant *a contrario* une valeur prédictive négative supérieure à 95% (25,26,29,31). Les facteurs favorisant la survenue de ces IN chez les sujets porteurs sont actuellement mal connus. Cependant, des données issues de travaux réalisés hors réanimation suggèrent fortement qu'une densité de colonisation (quantité d'entérobactéries résistantes aux C3G dans la flore digestive) et/ou une abondance relative (proportion de ces bactéries par rapport à l'ensemble des souches bactériennes présentes dans la flore) élevée(s) favorisent le développement d'une infection ultérieure (53,54). Il apparaît donc comme essentiel de mieux identifier les facteurs favorisant l'acquisition ou l'augmentation de la densité de colonisation (et/ou de l'abondance relative) d'une entérobactérie résistante aux C3G au sein du microbiote intestinal.

De même, dans une étude prospective monocentrique, 26% des patients colonisés à *P. aeruginosa* avaient développé au moins une IN à ce germe au cours du séjour, la souche de portage et celle responsable de l'infection étant génotypiquement identiques dans 87% des cas (35).

Par ailleurs, les IN impliquant ces agents pathogènes ont été associées à un risque accru de traitement empirique inadéquat qui se traduit par une durée d'hospitalisation prolongée et des coûts de soins supplémentaires, renforçant ainsi la nécessité d'initiatives efficaces de gestion des antibiotiques et d'autres mesures préventives (22).

OBJECTIF DE LA RECHERCHE

L'objectif de ce travail était d'évaluer l'impact des principaux antibiotiques à activité anti-anaérobie autres que les carbapénèmes (amoxicilline-clavulanate, pipéracilline-tazobactam et métronidazole) sur le risque d'acquisition d'un portage intestinal de BGN-RCF (EBLSE, EHCA, *P. aeruginosa*, *A. baumannii* et *S. maltophilia*) chez les patients de réanimation. Nous avons ainsi souhaité apporter des données originales permettant d'optimiser la prescription (probabiliste ou en désescalade) des antibiotiques en réanimation en identifiant ceux associées à un risque accru d'acquisition d'un portage de BGN-RCF.

PATIENTS ET METHODES

Cette étude monocentrique a été menée dans le service de réanimation chirurgicale du CHR d'Orléans. Tous les patients admis dans ce service sont systématiquement dépistés pour le portage intestinal de BGN-RCF par prélèvement rectal, à l'admission puis une fois par semaine pendant toute la durée du séjour.

Les patients ayant été admis pour un premier séjour d'une durée de trois jours calendaires ou plus sur une période de 30 mois (du 1er janvier 2015 au 30 juin 2017) ont été identifiés et inclus dans la cohorte de l'étude sous réserve qu'au moins un écouvillon rectal de surveillance ait été collecté pendant le séjour. Les données ont été extraites de dossiers médicaux informatisés et de la base de données du laboratoire de microbiologie. Le portage importé de BGN-RCF a été défini comme un prélèvement rectal positif dans les 48 heures suivant l'admission, tandis que le portage acquis a été défini comme un prélèvement de surveillance positif chez les patients dont l'échantillon d'admission était négatif. Les patients colonisés lors de leur admission avec un à quatre des cinq BGN-RCF ciblés n'ont pas été exclus car ils pouvaient encore être évalués pour l'acquisition d'autres BGN-RCF.

L'amoxicilline-acide clavulanique, la pipéracilline-tazobactam et le métronidazole ont été définis comme antibiotiques dotés d'une forte activité contre les anaérobies intestinaux en raison de leur spectre d'activité et de leur biodisponibilité intestinale. Les β -lactamines autres que l'amoxicilline-acide clavulanique et la pipéracilline-tazobactam ont été classées comme suit :

- Pénicillines sans activité sur *P. aeruginosa* (amoxicilline, oxacilline et cloxacilline)
- C3G avec excrétion biliaire massive (ceftriaxone)
- C3G et C4G avec clairance rénale presque exclusive et excrétion biliaire absente à faible (céfotaxime, ceftazidime et céfépime)
- Carbapénèmes avec clairance rénale presque exclusive et excrétion biliaire absente à faible (imipénème et méropénème).

L'exposition aux fluoroquinolones, aux aminoglycosides et aux glycopeptides a également été mesurée. Il convient de souligner que l'ertapénème (un carbapénème avec une excrétion biliaire marquée), les pénicillines anti-pseudomonales sans inhibiteur de la β -

lactamase (c'est-à-dire la pipéracilline et la ticarcilline), la clindamycine, la tigécycline, les oxazolidinones et les rifamyxines ont tous été prescrits chez moins de 1% des patients inclus et n'ont donc pas été retenus pour analyse.

La gestion des données, les analyses statistiques utilisées ainsi que les résultats de ce travail sont présentés sous forme d'un article qui sera prochainement soumis à une revue internationale à comité de lecture.

ARTICLE PRÉLIMINAIRE

Antimicrobials with activity against intestinal anaerobes and the risk of acquired carriage of ceftriaxone-resistant Gram-negative pathogens in ICU patients

Maxime Boutrot,¹ MD; Khalid Azougagh,¹ MD; Jérôme Guinard,² PharmD; Thierry Boulain,³ MD; François Barbier,³ MD PhD

Author affiliations:

¹ Surgical intensive care unit, La Source hospital, CHR Orléans, Orléans, France

² Department of microbiology, La Source hospital, CHR Orléans, Orléans, France

³ Medical intensive care unit, La Source hospital, CHR Orléans, Orléans, France

Running title: Anti-anaerobic drugs and GNB carriage

Key-words: piperacillin-tazobactam – metronidazole – carbapenem – *Pseudomonas aeruginosa* – Extended-spectrum β -lactamase – intestinal microbiota – colonization resistance

Content: main text (2,440 words), 4 tables, 2 figures, 30 references, on-line supplement

Corresponding author:

Dr. François Barbier

Medical Intensive Care Unit

La Source Hospital, CHR Orléans

45100-Orléans, France

E-mail: francois.barbier@chr-orleans.fr

INTRODUCTION

The incidence of healthcare-associated infections due to ceftriaxone-resistant Gram-negative bacilli (CFR-GNB) has reached critical levels in most of intensive care units (ICU) worldwide. Extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae (ESBL-E), AmpC cephalosporinase-hyperproducing Enterobacteriaceae (AHE) and non-fermenting Gram-negative bacilli (especially *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* and *Stenotrophomonas maltophilia*) account for the major part of the burden (1-4). ICU-acquired infections involving these pathogens have been associated with an increased hazard of inadequate empirical therapy that translates into impaired outcomes, extended lengths of hospital stay and additional costs of care, thereby strengthening the requirement for efficient antibiotic stewardship initiatives and other preventive measures in critically ill patients (5).

The gut microbiota is the main reservoir of invasive strains of CFR-GNB in this population (6-8). The acquisition of intestinal colonization results from either the *in vivo* emergence and overgrowth of isolates with sporadic mutations conferring a CFR phenotype (e.g., AHE with derepressed chromosomal AmpC) or the implantation of an exogenous CFR-GNB through cross-transmission or environmental sources in ICUs with substantial colonization pressure (9-10). In both cases, carriage acquisition may conceivably be promoted by antimicrobial-related alterations of the normal intestinal microbiota – primarily resident anaerobes – and its inherent barrier function, also known as colonization resistance (9). Therefore, and in addition to its clinical spectrum, the selective pressure exerted by a given antimicrobial could imply both its activity against intestinal anaerobes and its bowel bioavailability, which depends on the degree of biliary or intestinal excretion (11). Yet, this hypothesis remains scarcely investigated in critically ill patients.

The objective of this study was to appraise whether exposure to antibiotics with potent activity against intestinal anaerobes impacts the hazard of acquisition of CFR-GNB carriage in ICU patients.

PATIENTS AND METHODS

Study setting

This single-centre study was conducted in the 16-bed surgical ICU of a 1,100-bed teaching hospital in France. The ICU comprises only single-bed rooms with 1:2.5 nurse-to-patient ratio. All admitted patients are routinely screened for intestinal carriage of CFR-GNB (namely, AHE, ESBL-E, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* and CFR-*A. baumannii*) by rectal swabbing at admission then weekly afterwards. Standard precautions for infection prevention and details on swab processing and CFR-GNB detection are available in the electronic supplementary material (ESM). Contact precautions are implemented in documented carriers of ESBL-E and/or multidrug-resistant non-fermenting GNB.

Patient population and study design

Patients with a first admission of three or more calendar days over a 30-month periods (from January 1st, 2015 to June 30th, 2017) were retrospectively identified using administrative registries and included in the study cohort provided that at least one surveillance sample was collected during the ICU stay. Variables exposed in the tables were extracted from computerized medical charts and the microbiology laboratory database. Imported carriage of CFR-GNB was defined as a positive rectal swab within the 48 hours following admission, while acquired carriage was defined as a positive surveillance swab in patients with a negative admission sample. Patients colonized upon admission with one to four of the five targeted CFR-GNB were not excluded as they remained assessable for acquisition of other CFR-GNB. Likewise, patients with imported carriage of a given ESBL-E species (e.g. *Escherichia coli*) were evaluated for acquisition of other ESBL-E (e.g., *Klebsiella pneumoniae*). Given the retrospective design of this study, isolates were not available for molecular characterization, and phenotypically identical CFR-GNB from successive samples of a given patient were considered as belonging to the same strain. CFR-GNB carriers were assumed to be colonized from the first positive sample to ICU discharge or death. The institutional review board waived the requirement for informed consent (IRB report n°2018-001). This study is reported according to the STROBE guidelines.

Antimicrobial exposure

Amoxicillin-clavulanic acid, piperacillin-tazobactam and metronidazole were defined as antimicrobials with potent activity against intestinal anaerobes due to their spectrums and bowel bioavailability, and are hereafter referred to as anti-anaerobes antibiotics. β -lactams other than amoxicillin-clavulanic acid and piperacillin-tazobactam were classified as non-antipseudomonal penicillins (*i.e.*, amoxicillin, oxacillin, and cloxacillin), third-generation cephalosporins (3GC) with major biliary excretion (*i.e.*, ceftriaxone), 3GC/4GC with almost exclusive renal clearance and absent-to-weak biliary excretion (*i.e.*, cefotaxime, ceftazidime and cefepime) and carbapenems with almost exclusive renal clearance and absent-to-weak biliary excretion (*i.e.*, imipenem and meropenem). Exposure to fluoroquinolones, aminoglycosides and glycopeptides was also measured. Initiation and termination days were recorded for every single antimicrobial course during the ICU stay. Of note, ertapenem (a carbapenem with marked biliary excretion), anti-pseudomonal penicillins without β -lactamase inhibitor (*i.e.*, piperacillin and ticarcillin), clindamycin, tigecycline, oxazolidinones and rifamycin were all prescribed in <1% of included patients and were not retained for analyses.

Statistical analysis

Data are expressed as median (interquartile range, IQR) for continuous variables and number (%) for categorical variables, unless indicated. Patient demographics and clinical features were compared using the Student *t* test or the Mann-Whitney *U* test for continuous variables and the Fisher exact test or the χ^2 test for categorical variables, as appropriate.

Our objective was to estimate the excess risk of CFR-GNB acquisition attributable to the use of anti-anaerobes antibiotics. Therefore, we first performed a propensity score-based matching of two cohorts of patients exposed and not exposed to anti-anaerobes antibiotics during their ICU stay (12). Baseline characteristics associated with the use these drugs in bivariate analyses (*i.e.*, those yielding *P*-values <0.2 by either bivariate logistic regression, cause-specific proportional hazards Cox model, or Fine & Gray's sub-distribution hazards model handling in-ICU death or ICU discharge as competing risks) were entered into a multivariable logistic regression model to calculate the propensity score – that is, the estimated probability of receiving one or more defined daily doses (DDD) of at least one of the three aforementioned anti-anaerobic antibiotics. Matching was based on this propensity score with a caliper fixed at 0.03 SD of the logit. The two matched cohorts were compared in

the framework of a flexible semiparametric additive regression model for the calculation of hazards ratio (HR) and 95% confidence interval (CI) with the acquisition of CFR-GNB carriage as the primary endpoint (13-14). In this model, in-ICU death or ICU discharge were handled as competing risks, and all antibiotic courses were incorporated as delayed entry variables. Second, multivariable analyses were performed on the whole study cohort using propensity score-based inverse probability of treatment weighting (IPTW) and with adjustment for confounders exhibiting strong imbalance between patients exposed and those not exposed to anti-anaerobic antibiotics (15-16). Analyses were right-censored at the time of the first acquisition of CFR-GNB (whatever the first acquired pathogen) in patients with multiple acquisitions, and at Day-90 of the ICU stay in patients with no acquisition. Two-tailed *P*-values <0.05 were considered statistically significant. Analyses were performed using the R software version 3.3.1 (R Foundation for Statistical Computing).

RESULTS

Study population. A total of 352 patients were included in the study cohort (**Table 1** and **Figure S1** in the ESM). Among them, 159 (45.2%) were admitted directly from the Emergency Department, in most cases following urgent surgical procedures for trauma or intra-abdominal infections. The remaining 193 patients (54.8%) were transferred from surgical wards, either immediately after at-risk scheduled surgery or for post-operative complications. Thirty-six patients (10.2%) were colonized with CFR-GNB upon admission, mostly ESBL-E and AHE (4.5% and 4.8%, respectively). During the ICU stay, 249 patients (70.7%) were exposed to at least one anti-anaerobes antibiotic, including 70 (19.9%), 136 (38.6%) and 104 (29.5%) patients receiving one or more DDD of amoxicillin-clavulanic acid, piperacillin-tazobactam and metronidazole, respectively (**Table 1**). Overall consumption volumes of each antibiotic group are exposed in **Table S1**. Median LOS was 16 [9-30] days, and 43 patients (12.2%) died in the ICU.

Acquisition of intestinal colonization with CFR-GNB. One hundred and twenty patients (34.1%) acquired one or more CFR-GNB, mainly AHE (17.6%, 7.2 acquisitions per 1,000 patient-days), *P. aeruginosa* (14.8%, 6.0 acquisitions per 1,000 patient-days) and ESBL-PE (7.1%, 2.9 acquisitions per 1,000 patient-days) (**Table 2**). Cumulative acquisition rates rose steadily over time, with an overall prevalence of acquired carriage reaching 50% after the fifth week of the ICU stay (**Figure 1**).

Impact of anti-anaerobes antibiotics in propensity score-matched cohorts. The final sub-cohorts included 77 patients exposed to anti-anaerobes antibiotics and 77 paired patients not exposed to these drugs (**Table S2**). In regression analyses handling in-ICU death or discharge as competing risks, exposure to anti-anaerobes antibiotics was the main predictor of CFR-GNB acquisition (HR, 3.92, 95% CI, 1.12-13.7, $P = 0.03$). Cancer (HR, 1.01, 95% CI, 1.00-1.02, $P = 0.02$) and the type of ICU admission (transfer versus direct admission, HR, 0.99, 95% CI, 0.990-0.997, $P = 0.004$) exerted a marginal impact, while exposure to other antibiotic groups was not independently associated with the hazard of carriage acquisition (**Table 3**). Predicted cumulative rates of acquired 3CGR-GNB carriage in patients exposed and non-exposed to anti-anaerobes antibiotics are exposed in **Figure 2**.

Impact of anti-anaerobes antibiotics in the whole study cohort. In a multivariable model using propensity score-based IPTW and adjusted for confounders exhibiting strong imbalance between patients exposed and those not exposed to anti-anaerobic antibiotics, receiving these drugs remained associated with the acquisition of CFR-GNB carriage (HR, 4.30, 95% CI, 1.46-12.63, $P = 0.01$) (**Table 4** and **Figure 2**). Other antibiotics – especially ceftriaxone (HR, 0.95, 95% CI, 0.46-1.95, $P = 0.64$) – had no independent impact on the hazard of carriage acquisition (**Table 4** and **Figure S2**).

DISCUSSION

In this study including 352 surgical ICU patients, exposure to antibiotics with activity against intestinal anaerobes was independently associated with a higher risk of acquiring colonization with CFR-GNB, mostly *P. aeruginosa*, AHE and ESBL-E. Other antibiotics – especially ceftriaxone – had no independent impact on the hazard of acquired carriage of such pathogens.

The ecological side-effects of antimicrobial agents on the gut microbiota of critically ill patients remain under-investigated (17). In an era of increasing prevalence of antimicrobial resistance in GNB and assuming that colonization is the strongest prerequisite for subsequent infections and patient-to-patient cross-transmission, a pivotal issue is to identify the drugs that exert the greatest impact on intestinal colonization resistance and the hazard of carriage acquisition. Colonization resistance is mainly exerted by obligate anaerobes via indirect mechanisms such as competition for nutrients intake, stimulation of the host immune system against particular pathogens, or the production of specific compounds that preclude their

implantation in the intestinal tract (9). In experimental studies, antibiotics with potent anti-anaerobes activity such as clindamycin have been shown to affect the capacity of the microbiota to prevent colonisation by exogenous microorganisms (18). Conversely, the restoration of colonization resistance through faecal microbiota transplantation is spectacularly efficient in *Clostridium difficile* infections and may in addition clear intestinal colonization with pathogens such as vancomycin-resistant enterococci (VRE) and ESBL-producing *E. coli* (19-20). Yet, evidence that anti-anaerobes antibiotics favour the acquisition of antibiotic-resistant pathogens in ICU patients is currently scarce and fragmentary. A previous exposure to β -lactam/ β -lactamase inhibitor combinations such as amoxicillin-clavulanic acid or piperacillin-tazobactam has been shown to increase the likelihood of acquired ESBL-E carriage in ICUs facing massive colonization pressure with these pathogens (21). A link between metronidazole exposure and acquisition of multidrug-resistant *P. aeruginosa* has been suggested (22-23). Along this line, in a previous study conducted in another ICU of our hospital, we observed that metronidazole exposure promoted the acquisition of AHE carriage, while cephalosporins had no independent impact (8). Interestingly, the overall consumption volumes of amoxicillin-clavulanic acid and nitroimidazoles in a given ICU have been found to correlate with the incidence of ventilator-associated pneumonia due to AHE (24), which might indicate an impact on the intestinal reservoir of these pathogens.

In the present study, we decided to investigate the impact of antibiotics on the risk of CFR-GNB acquisition by pooling them according to their anti-anaerobes spectrum and bowel bioavailability. This approach has recently gained increasing consideration for appraising the effects of these drugs on intestinal colonization resistance (25). This work was conducted in an environment with a relatively limited colonization pressure for horizontally transmissible CFR-GNB such as ESBL-E or *P. aeruginosa*, as reflected by the low prevalence of imported carriage of these pathogens. Our results support the hypothesis that, even in an ICU with this low colonization pressure, exposure to antibiotics that may alter intestinal colonization resistance acts as a strong risk factor for CFR-GNB acquisition. Further studies based on new-generation tools – that is, RNA r16S profiling or shotgun metagenomics – are necessary to precisely identify the components of the normal gut microbiome that exert a prominent role in colonization resistance against CFR-GNB (17).

The prevalence of CFR-GNB carriage at ICU admission will probably increase in the years to come. This is especially plausible for ESBL-E due to the successful dissemination of

these pathogens in both healthcare systems and community-based populations (26). In this context, antibiotic stewardship programs aiming at controlling the spread of CFR-GNB should include measures to restrain the use of drugs that impair intestinal colonization resistance. Anti-anaerobes coverage remains essential in patients with intra-abdominal infections and other conditions that commonly involve anaerobes (e.g., brain or pulmonary abscesses, oropharyngeal suppurations, or perineal cellulitis); yet, the duration of anti-anaerobes therapy in these situations remains largely empirical, and further studies should assess the risk-benefit balance of shortened regimen. Another circumstance when anti-anaerobes antibiotics are widely prescribed is suspected aspiration pneumonia, especially in comatose patients. Since bacterial pneumonia is documented in only half of patients with aspiration (27-28), clinical algorithms including lower respiratory tract sampling and biomarkers kinetics (e.g., serum procalcitonin) warrant evaluation to rationalize the use of anti-anaerobes antibiotics in this indication.

This work has several limitations that should be underlined. First, this is a single-centre study; therefore, it remains to be confirmed whether our findings are transposable to other critical care environments with different case-mix and colonization pressure with CFR-GNB. Second, owing to the relatively limited number of included patients, we cannot firmly exclude that the absence of association between CFR-GNB acquisition and exposure to other co-factors – especially antibiotics considered as without potent effect on intestinal anaerobes – resulted from underpowered analyses. Also, we did not appraise the impact of antibiotic exposure on the faecal relative abundance of CFR-GNB in carriers. Further studies are needed to address this point as the relative abundance of a given pathogen may modulate the risk of subsequent infection and patient-to-patient dissemination (29-30). Lastly, it is plausible that antibiotic exposure prior to ICU admission exerts a long-lasting impact on intestinal colonization resistance and increases the hazard of ICU-acquired carriage of CFR-GNB (21); however, this hypothesis was not investigated in the present study.

In conclusion, this preliminary work suggests that exposure to antibiotics that impair the anaerobic intestinal microflora and the colonization resistance that it confers may contribute to the dissemination of CFR-GNB in ICU patients. Further studies are warranted to confirm our results in other critical care environments. Restraining the use of anti-anaerobes drugs could be a pivotal facet of antibiotic stewardship programs that aim at controlling the spread of CFR-GNB in this setting.

REFERENCES

1. Lob SH, Biedenbach DJ, Badal RE, Kazmierczak KM, Sahm DF. Antimicrobial resistance and resistance mechanisms of Enterobacteriaceae in ICU and non-ICU wards in Europe and North America: SMART 2011-2013. J Glob Antimicrob Resist 2015;3(3):190-7.
2. Rosenthal VD, Al-Abdely HM, El-Kholy AA, et al. International Nosocomial Infection Control Consortium report, data summary of 50 countries for 2010-2015: Device-associated module. Am J Infect Control 2016;44(12):1495-504.
3. Weiner LM, Webb AK, Limbago B, et al. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2011-2014. Infect Control Hosp Epidemiol 2016;37(11):1288-301.
4. Hu FP, Guo Y, Zhu DM, et al. Resistance trends among clinical isolates in China reported from CHINET surveillance of bacterial resistance, 2005-2014. Clin Microbiol Infect 2016;22 Suppl 1:S9-14.
5. Bassetti M, De Waele JJ, Eggimann P, et al. Preventive and therapeutic strategies in critically ill patients with highly resistant bacteria. Intensive Care Med 2015;41(5):776-95.
6. Gomez-Zorrilla S, Camoez M, Tubau F, et al. Prospective observational study of prior rectal colonization status as a predictor for subsequent development of *Pseudomonas aeruginosa* infections. Antimicrob Agents Chemother 2015;59(9):5213-9.
7. Detsis M, Karanika S, Mylonakis E. ICU acquisition rate, risk factors, and clinical significance of digestive tract colonization with extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*: a systematic review and meta-analysis. Crit Care Med 2017;45(4):705-14.
8. Poignant S, Guinard J, Guignon A, et al. Risk factors and outcomes of intestinal carriage of AmpC-hyperproducing *Enterobacteriaceae* in ICU patients. Antimicrob Agents Chemother 2015;60(3):1883-7.
9. Buffie CG, Pamer EG. Microbiota-mediated colonization resistance against intestinal pathogens. Nat Rev Immunol 2013;13(11):790-801.
10. Holmes AH, Moore LS, Sundsfjord A, et al. Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. Lancet 2016;387(10014):176-87.

11. Woerther PL, Lepeule R, Burdet C, Decousser JW, Ruppe E, Barbier F. Carbapenems and alternative beta-lactams for the treatment of infections due to ESBL-producing Enterobacteriaceae: what impact on intestinal colonization resistance? (doi: 10.1016/j.ijantimicag.2018.08.026). Int J Antimicrob Agents 2018.
12. Austin PC. The use of propensity score methods with survival or time-to-event outcomes: reporting measures of effect similar to those used in randomized experiments. Stat Med 2014;33(7):1242-58.
13. Scheike TH, Zhang MJ. Flexible competing risks regression modeling and goodness-of-fit. Lifetime Data Anal 2008;14(4):464-83.
14. Scheike TH, Zhang MJ, Gerds TA. Predicting cumulative incidence probability by direct binomial regression. Biometrika 2008;95(1):205-20.
15. Xu S, Ross C, Raebel MA, Shetterly S, Blanchette C, Smith D. Use of stabilized inverse propensity scores as weights to directly estimate relative risk and its confidence intervals. Value Health 2010;13(2):273-7.
16. Cole SR, Hernan MA. Adjusted survival curves with inverse probability weights. Comput Methods Programs Biomed 2004;75(1):45-9.
17. Ruppé E, Lisboa T, Barbier F. The gut microbiota of critically ill patients: first steps in an unexplored world. Intensive Care Med 2018;44(9):1561-4.
18. van der Waaij D, Berghuis-de Vries JM, Lekkerkerk L-v. Colonization resistance of the digestive tract in conventional and antibiotic-treated mice. J Hyg (Lond) 1971;69(3):405-11.
19. Singh R, van Nood E, Nieuwdorp M, et al. Donor feces infusion for eradication of extended-spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* in a patient with end stage renal disease. Clin Microbiol Infect 2014;20:O977-8.
20. Stripling J, Kumar R, Baddley JW, et al. Loss of vancomycin-resistant enterococcus fecal dominance in an organ transplant patient with *Clostridium difficile* colitis after fecal microbiota transplant. Open Forum Infect Dis 2015;2:ofv078.
21. Razazi K, Derde LP, Verachten M, Legrand P, Lesprit P, Brun-Buisson C. Clinical impact and risk factors for colonization with extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in the intensive care unit. Intensive Care Med 2012;38(11):1769-78.
22. Paramythiotou E, Lucet JC, Timsit JF, et al. Acquisition of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in patients in intensive care units: role of antibiotics with antipseudomonal activity. Clin Infect Dis 2004;38(5):670-7.

23. Cipriano Souza R, Vicente AC, Vieira VV, et al. Clindamycin and metronidazole as independent risk factors for nosocomial acquisition of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. J Hosp Infect 2008;69(4):402-3.
24. Fihman V, Messika J, Hajage D, et al. Five-year trends for ventilator-associated pneumonia: correlation between microbiological findings and antimicrobial drug consumption. Int J Antimicrob Agents 2015;46(5):518-25.
25. Ruppé E, Burdet C, Grall N, et al. Impact of antibiotics on the intestinal microbiota needs to be re-defined to optimize antibiotic usage. Clin Microbiol Infect 2018;24(1):3-5.
26. Woerther PL, Burdet C, Chachaty E, Andremont A. Trends in human fecal carriage of extended-spectrum beta-lactamases in the community: toward the globalization of CTX-M. Clin Microbiol Rev 2013;26(4):744-58.
27. Legriel S, Grigoresco B, Martel P, et al. Diagnostic accuracy of procalcitonin for early aspiration pneumonia in critically ill patients with coma: a prospective study. Neurocrit Care 2018.
28. Lascarrou JB, Lissonde F, Le Thuaut A, et al. Antibiotic therapy in comatose mechanically ventilated patients following aspiration: differentiating pneumonia from pneumonitis. Crit Care Med 2017;45(8):1268-75.
29. Ruppé E, Lixandru B, Cojocaru R, et al. Relative fecal abundance of extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* strains and their occurrence in urinary tract infections in women. Antimicrob Agents Chemother 2013;57(9):4512-7.
30. Donskey CJ, Chowdhry TK, Hecker MT, et al. Effect of antibiotic therapy on the density of vancomycin-resistant enterococci in the stool of colonized patients. N Engl J Med 2000;343(26):1925-32.

Table 1. Study population

Characteristics	All patients (N = 352)	Patients without acquired carriage of CFR-GNB (n = 232)	Patients with acquired carriage of CFR-GNB (n = 120)	P value
Sex, male	255 (72.4)	164 (70.7)	91 (75.8)	0.318
Age, years	63 [49-72]	61 [47-70]	66 [53-75]	0.01
Chronic diseases				
Diabetes mellitus	58 (16.5)	40 (17.2)	18 (15.0)	0.65
Cardiac	168 (47.7)	105 (45.2)	63 (52.5)	0.22
Respiratory	61 (17.3)	43 (18.5)	18 (15.0)	0.46
Neurological	20 (5.7)	11 (4.7)	9 (7.5)	0.33
Hepatic	18 (5.1)	9 (3.9)	9 (7.5)	0.20
Immunosuppression				
Cancer	85 (24.1)	50 (21.5)	35 (29.2)	0.12
Others	5 (1.4)	4 (1.7)	1 (0.8)	0.66
Type of admission				
Direct	159 (45.2)	95 (40.9)	64 (53.3)	0.03
Transfer	193 (54.8)	137 (59.1)	56 (46.7)	
Prior hospital LOS, days	2 [1-6]	2 [1-5]	3 [1-9]	0.11
SAPS-2 at ICU admission	39 [30-51]	38 [29-48]	43 [34-56]	0.0001
Intestinal carriage of CFR-GNB at ICU admission				
Overall	36 (10.2)	20 (8.6)	16 (13.3)	0.19
ESBL-E (all species)	16 (4.5)	8 (3.4)	8 (6.7)	0.17
ESBL-producing <i>Escherichia coli</i>	9 (2.6)	4 (1.7)	5 (4.2)	0.28
Other ESBL-E	7 (2.0)	4 (1.7)	3 (2.5)	0.69
AHE	17 (4.8)	9 (3.9)	8 (6.7)	0.19
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7 (2.0)	5 (2.1)	2 (1.7)	1.00
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1 (0.3)	0	1 (0.8)	0.34
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2 (0.6)	2 (0.9)	0	0.55
Main diagnosis of the ICU stay				
Respiratory	65 (18.5)	40 (17.2)	25 (20.8)	0.09
Circulatory	41 (11.5)	23 (9.9)	18 (15.0)	
Sepsis	33 (9.3)	22 (9.5)	11 (9.2)	
Neurological	32 (9.1)	25 (10.7)	7 (5.8)	
Trauma	76 (21.5)	46 (19.7)	30 (25.0)	
Hepatic/intestinal	46 (13.1)	29 (12.4)	17 (14.2)	
Miscellaneous	60 (17.0)	48 (20.6)	12 (10.0)	
Surgery during the ICU stay				
At least one procedure (all types)	115 (32.7)	65 (28.0)	50 (41.7)	0.01
Abdominal	36 (10.2)	21 (9.1)	15 (12.5)	0.35
Neurosurgery	28 (7.9)	18 (7.8)	10 (8.3)	0.84
Orthopedic	26 (7.4)	15 (6.5)	11 (9.2)	0.39
Vascular	28 (7.9)	11 (4.7)	7 (5.8)	0.80
Others	31 (8.8)	13 (5.6)	18 (15.0)	0.05

Table 1 (continued).

Characteristics	All patients (N = 352)	Patients without acquired carriage of CFR-GNB (n = 232)	Patients with acquired carriage of CFR-GNB (n = 120)	P value
Procedures during the ICU stay				
Central venous catheter	167 (47.4)	99 (42.7)	68 (56.7)	0.01
Arterial line catheter	297 (84.4)	187 (80.6)	110 (91.7)	0.008
Non-invasive ventilation	60 (17.0)	37 (15.9)	23 (19.2)	0.46
Duration, days	5 [3-9]	5 [3-10]	6 [2-9]	0.61
Mechanical ventilation	303 (86.1)	196 (84.5)	107 (89.2)	0.26
Duration, days	14 [6-26]	11 [5-21]	21 [13-42]	<0.0001
Vasopressors	259 (73.6)	160 (68.9)	99 (82.5)	0.007
Duration, days	5 [3-10]	4 [3-7]	6 [3-16]	0.0006
Renal replacement therapy	37 (10.5)	15 (6.5)	22 (18.3)	0.009
Duration, days	17 [11-21]	17 [12-19]	9 [16-23]	0.69
Parenteral nutrition	256 (72.7)	164 (70.7)	92 (76.7)	<0.0001
Duration, days	10 [5-18]	8 [4-14]	14 [8-24]	0.26
Blood transfusion	118 (33.5)	60 (25.9)	58 (48.3)	<0.0001
Exposure to anti-anaerobes antibiotics ¹				
Amoxicillin-clavulanic acid	70 (19.9)	41 (17.7)	29 (24.2)	0.16
Duration, days	5 [4-7]	5 [4-8]	5 [4-7]	0.68
Piperacillin-tazobactam	136 (38.6)	79 (34.1)	57 (47.5)	0.02
Duration, days	7 [3-11]	7 [4-12]	6 [3-11]	0.19
Metronidazole	104 (29.5)	65 (28.0)	39 (32.5)	0.39
Duration, days	6 [4-8]	7 [6-9]	5 [3-7]	0.004
All (pooled)	249 (70.7)	145 (62.5)	104 (86.7)	<0.0001
Duration, days	7 [4-11]	7 [5-11]	6 [4-10]	0.17
Exposure to other antibiotics ¹				
Non-antipseudomonal penicillins ²	29 (8.2)	20 (8.6)	9 (7.5)	0.84
Duration, days	7 [6-12]	7 [6-12]	6 [4-12]	0.42
Ceftriaxone	100 (28.4)	67 (28.9)	33 (27.5)	0.80
Duration, days	7 [5-9]	7 [5-10]	6 [4-8]	0.03
Other cephalosporins ³	75 (21.3)	51 (22.0)	24 (20.0)	0.78
Duration, days	7 [5-11]	7 [5-12]	6 [4-10]	0.29
Imipenem and/or meropenem	47 (13.3)	25 (10.8)	22 (18.3)	0.07
Duration, days	8 [5-10]	8 [5-9]	7 [5-11]	0.76
Aminoglycosides	121 (34.4)	84 (36.2)	37 (30.8)	0.34
Duration, days	2 [1-2]	2 [1-2]	2 [1-2]	0.43
Fluoroquinolones	23 (6.5)	19 (8.2)	4 (3.3)	0.11
Duration, days	5 [3-9]	4 [3-6]	9 [8-10]	0.04
Glycopeptides	87 (24.7)	55 (23.7)	32 (26.7)	0.60
Duration, days	6 [4-10]	7 [4-11]	5 [4-8]	0.17

Table 1 (continued).

Characteristics	All patients (N = 352)	Patients without acquired carriage of CFR-GNB (n = 232)	Patients with acquired carriage of CFR-GNB (n = 120)	P value
Outcome				
ICU LOS, days	16 [9-30]	13 [8-24]	25 [16-46]	<0.0001
Hospital LOS, days	30 [18-49]	27 [16-42]	42 [24-67]	<0.0001
In-ICU mortality	43 (12.2)	27 (11.6)	16 (13.3)	0.73
In-hospital mortality	51 (14.5)	31 (13.4)	20 (16.7)	0.43

Table 1 footnote

Data are indicated as number (%) or median [interquartile range].

CFR-GNB, ceftriaxone-resistant Gram-negative bacilli; LOS, length of stay; SAPS-2, simplified acute physiology score 2; ICU, intensive care unit; ESBL-E, extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae; AHE, AmpC cephalosporinase-hyperproducing Enterobacteriaceae

¹Cumulative number of treatment-days from ICU admission to the first positive rectal swab in patients with acquired MDR-GNB carriage, and during the whole ICU stay in patients without acquired MDR-GNB carriage; ²Aminopenicillins, oxacillin and cloxacillin (pooled);

³Cefotaxime, ceftazidime and cefepime (pooled)

Table 2. Acquisition of intestinal carriage of ceftriaxone-resistant Gram-negative bacilli

CFR-GNB	Patients with acquired intestinal carriage, n (%)	Acquisition rate, per 1,000 patient-days	Median time from ICU admission to acquired carriage, days
ESBLE-E (all species)	25 (7.1) ¹	2.9	13 [7-41]
ESBL-producing <i>Escherichia coli</i>	13 (3.7)	1.5	9 [5-13]
Other ESBL-E	15 (4.3)	1.7	18 [9-38]
AHE (all species)	62 (17.6)	7.2	14 [6-20]
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (all)	52 (14.8)	6.0	13 [7-21]
Ceftazidime-resistant <i>P. aeruginosa</i>	10 (2.8)	1.2	16 [12-38]
Carbapenem-resistant <i>P. aeruginosa</i>	11 (3.1)	1.3	28 [10-50]
Multidrug-resistant <i>P. aeruginosa</i> ²	5 (1.4)	0.6	28 [16-48]
<i>Acinetobacter baumannii</i> (all)	4 (1.1)	0.46	14 [11-20]
Carbapenem-resistant <i>A. baumannii</i>	1 (0.3)	0.1	35
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	6 (1.7)	0.69	25 [8-49]

Table 2 footnote

CFR-GNB, ceftriaxone-resistant Gram-negative bacilli; ICU, intensive care unit; ESBL-E, extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae; AHE, AmpC cephalosporinase-hyperproducing Enterobacteriaceae

¹Including 3 patients with concomitant acquisition of ESBL-producing *E. coli* and another ESBL-E; ²Defined as an isolate exhibiting resistance to at least one drug from at least three antimicrobial classes among anti-pseudomonal penicillins, anti-pseudomonal cephalosporins, carbapenems, fluoroquinolones, and aminoglycosides.

Table 3. Independent predictors of acquired intestinal colonization with ceftriaxone-resistant Gram-negative bacilli after propensity score-based matching of patients with and without exposure to anti-anaerobes drugs during the ICU stay

Variables	Hazards ratio	95% confidence interval	P value
Sex, male	1.00	0.99 - 1.00	0.16
Cardiac chronic disease	1.00	1.00 - 1.01	0.48
Cancer	1.01	1.00 - 1.02	0.02
Type of ICU admission - Transfer	0.99	0.99 - 0.997	0.004
Intestinal carriage of CFR-GNB at ICU admission ¹	1.01	0.99 - 1.02	0.28
SAPS-2 at ICU admission (per 1-point increase)	1.00002	0.99 - 1.0002	0.85
Main diagnosis of the ICU stay - Respiratory	1.00	1.00 - 1.01	0.42
Exposure to non-anti-pseudomonal penicillins ²	1.05	0.50 - 2.22	0.56
Exposure to ceftriaxone	0.75	0.48 - 1.19	0.31
Exposure to other cephalosporins ³	1.02	0.57 - 1.85	0.32
Exposure to imipenem and/or meropenem	1.09	0.62 - 1.94	0.48
Exposure to aminoglycosides	1.29	0.53 - 3.16	0.15
Exposure to glycopeptides	2.99	0.31 - 28.72	0.90
Exposure to anti-anaerobes antibiotics ⁴	3.92	1.12 - 13.7	0.03

Table 3 footnote

ICU, intensive care unit; CFR-GNB, ceftriaxone-resistant Gram-negative bacilli; SAPS-2, simplified acute physiology score 2

¹Any CFR-GNB; ²Aminopenicillins, oxacillin and cloxacillin; ³Cefotaxime, ceftazidime and cefepime; ⁴Amoxicillin-clavulanic acid, piperacillin-tazobactam and metronidazole

Table 4. Independent predictors of acquired intestinal colonization with ceftriaxone-resistant Gram-negative bacilli in the whole study population

Variables	Hazards ratio	95% confidence interval	P value
Sex, male	0.99	0.99 - 1.005)	0.78
Age (per 1-year increase above the median)	1.0002	1.00 - 1.0003	0.002
Chronic liver disease	1.00	0.99 - 1.01	0.34
Cancer	1.00	0.99 - 1.01	0.44
Type of ICU admission - Transfer	0.99	0.99 - 1.0003	0.06
SAPS-2 at ICU admission (per 1-point increase)	1.00	0.99 - 1.00	0.81
Intestinal carriage of ESBL-E at ICU admission	1.00	0.99- 1.01	0.40
Main diagnosis of the ICU stay - Trauma	1.00	0.99 - 1.01	0.82
Main diagnosis of the ICU stay - Hepatic/intestinal	0.99	0.98 - 1.002	0.12
Main diagnosis of the ICU stay - Neurological	0.99	0.99 - 1.00	0.21
Surgery during the ICU stay	1.00	0.99 - 1.005	0.97
Exposure to non-anti-pseudomonal penicillins ¹	1.47	0.78 - 2.76	0.91
Exposure to ceftriaxone	0.95	0.46 - 1.95	0.64
Exposure to other cephalosporins ²	0.88	0.62 - 1.24	0.90
Exposure to imipenem and/or meropenem	3.41	0.35 - 33.64	0.60
Exposure to aminoglycosides	2.14	0.84 - 5.48	0.17
Exposure to glycopeptides	0.58	0.24 - 1.39	0.52
Exposure to anti-anaerobes antibiotics ³	4.30	1.46 - 12.63	0.01

Table 4 footnote

ICU, intensive care unit; SAPS-2, simplified acute physiology score 2; ESBL-E, extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae

¹Aminopenicillins, oxacillin and cloxacillin; ²Cefotaxime, ceftazidime and cefepime;

³Amoxicillin-clavulanic acid, piperacillin-tazobactam and metronidazole

Figure 1. Observed cumulative rates of acquired intestinal carriage of ceftriaxone-resistant Gram-negative bacilli during the ICU stay

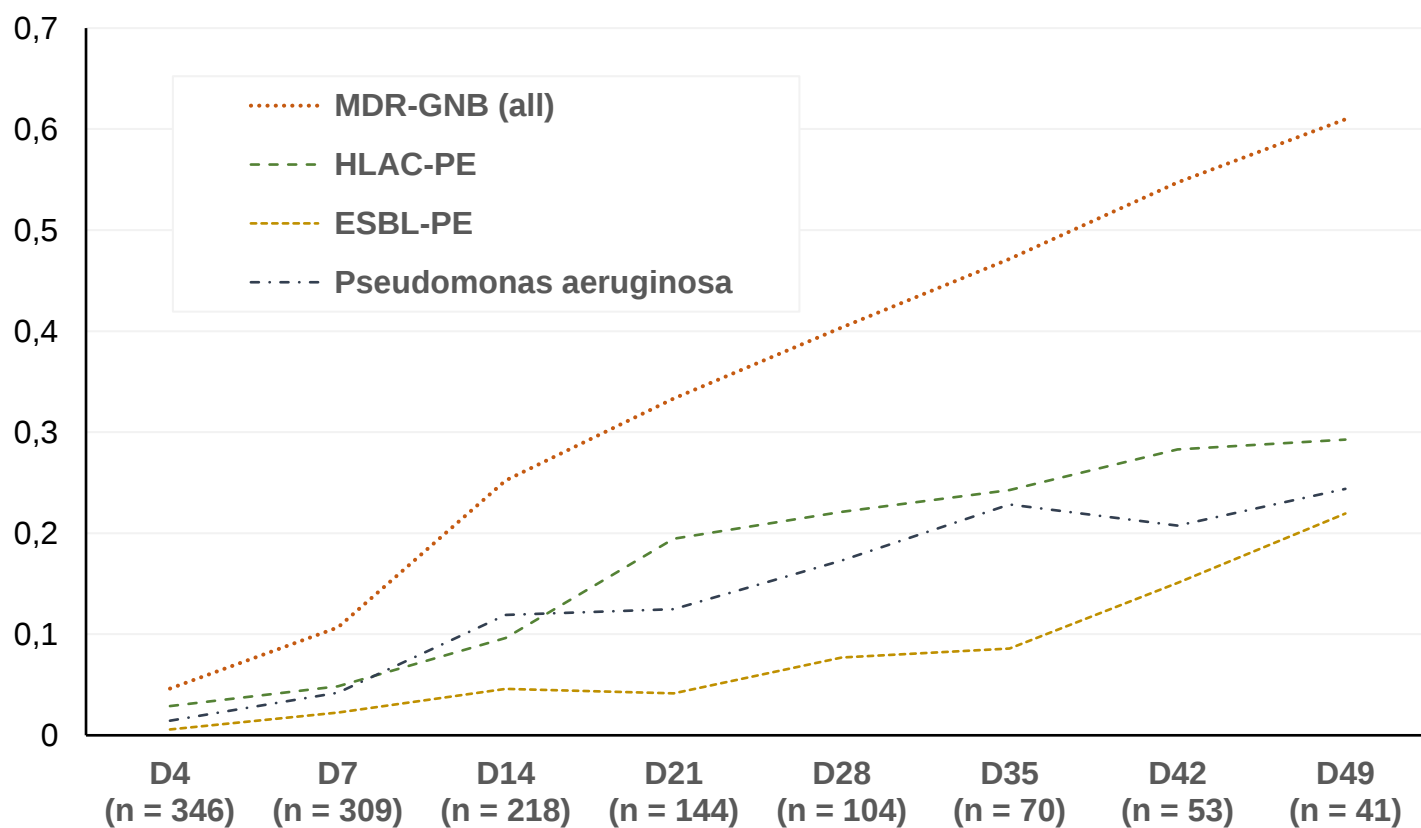


Figure 1 footnote

Figure 2. Predicted cumulative rates of acquired intestinal carriage of ceftriaxone-resistant Gram-negative bacilli in patients exposed and non-exposed to anti-anaerobes antibiotics

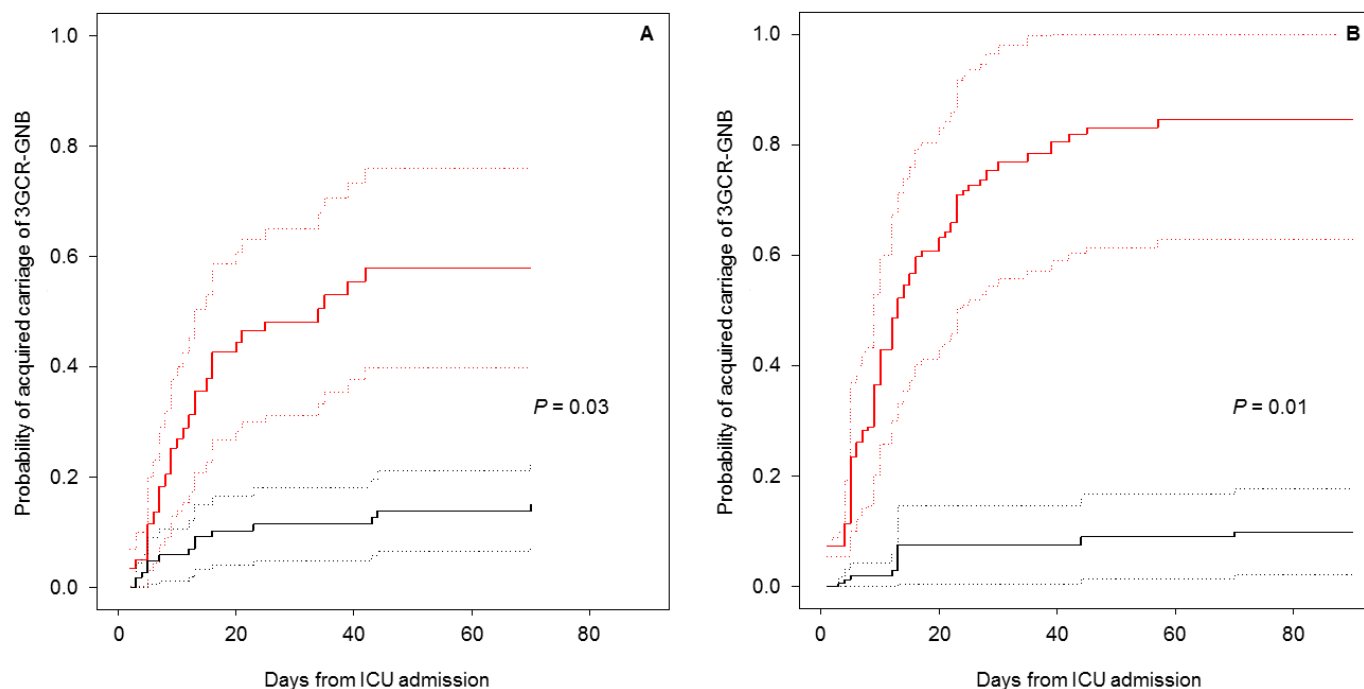


Figure 2 footnote

Red lines: patients exposed to anti-anaerobes antibiotics (amoxicillin-clavulanic acid, piperacillin-tazobactam and metronidazole). Black lines: patients not exposed to anti-anaerobes antibiotics. Solid lines indicate the predicted cumulative acquisition rates of intestinal colonization with ceftriaxone-resistant Gram-negative bacilli handling in-ICU death or discharge as competing risks, dashed lines indicate 95% confidence intervals.

Vignette A: propensity score-matched cohorts (n = 77 x 2). Vignette B: whole study cohort.

ELECTRONIC SUPPLEMENTARY MATERIAL

Patients and methods – Additional information

Standard precautions for infection prevention in the ICU where this study was performed include (i) the use of patient-dedicated equipment for monitoring, care, and mobilization, (ii) hand hygiene with alcohol-based hand rub at room entrance and exit, and between each distinct procedure of care, (iii) the use of single-use gloves and gowns in case of close contact with patients and potential exposure to body fluids during nursing, physiotherapy, and other care not requiring full-barrier precautions, and (iv) a twice-daily cleaning of all inert surfaces from the patient's environment using a quaternary ammonium-based disinfectant.

For the routine detection of intestinal colonization with ceftriaxone-resistant Gram-negative bacilli (CFR-GNB), rectal swabs are discharged in 1 ml of 0.9% saline and 50 µl of the suspension are subsequently plated on a selective medium for CFR-GNB (chromID ESBL; bioMérieux, Marcy-l'Étoile, France). After overnight incubation at 35°C, colonies are identified by matrix assisted laser desorption/ionization – time-of-flight using a Microflex instrument (Bruker Daltonics, Bremen, Germany) and sub-cultured for complete susceptibility testing by the disk diffusion method on Mueller-Hinton agar plates (Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France), in accordance with the French Society of Microbiology guidelines (www.sfm-microbiologie.org). Enterobacteriaceae isolates showing a synergy zone between broad-spectrum cephalosporins and clavulanate are categorized as ESBL-E. Cloxacillin-supplemented Mueller-Hinton agar (250 mg.ml⁻¹) is used for ESBL detection in natural AmpC producers with a derepressed cephalosporinase phenotype.

Table S1. Overall volumes of antimicrobial consumption during the study period, and comparison with nation-wide data

Antimicrobial agents/classes	Overall consumption	Nation-wide data, France, 2015 (n = 193 ICU), ¹ median [interquartile range]
Non antipseudomonal penicillins ²	43	NA
Amoxicillin-clavulanic acid	62	215 [154-283]
Ceftriaxone	106	75 [27-132]
Cefotaxime	24	59 [19-141]
Antipseudomonal cephalosporins ³	115	46 [24-81]
Piperacillin-tazobactam	175	114 [79-147]
Imipenem and/or meropenem	88	66 [36-106]
Aminoglycosides	51	107 [83-149]
Fluoroquinolones	26	133 [89-204]
Metronidazole	115	59 [36-85]
Vancomycin and/or teicoplanin	106	42 [24-69]

Table S1 footnote

Data are expressed as defined daily doses (DDD) per 1,000 patient-days – that is, the total number of treatment days with a given class / total number of patient-days in the ICU x 1,000.

¹Available at www.invs.santepubliquefrance.fr; ²Aminopenicillins, oxacillin and cloxacillin (pooled); ³Ceftazidime and cefepime (pooled).

Table S2. Cohorts of patients with and without exposure to anti-anaerobes drugs during the ICU stay: balance assessment for main baseline characteristics after propensity score-based matching

Baseline characteristics	Exposure to anti-anaerobes antibiotics during the ICU stay		Test	SMD
	Not exposed (n = 77)	Exposed (n = 77)		
Sex, male	50 (64.9)	49 (63.6)	1.000	0.03
Age, years	61.25 ± 17.00	63.13 ± 15.67	0.476	0.11
Diabetes mellitus	15 (19.5)	17 (22.1)	0.843	0.06
Chronic cardiac disease	43 (55.8)	43 (55.8)	1.000	<0.001
Chronic lung disease	16 (20.8)	15 (19.5)	1.000	0.03
Chronic liver disease	2 (2.6)	3 (3.9)	1.000	0.07
Chronic neurological disease	7 (9.1)	7 (9.1)	1.000	<0.001
Cancer	20 (26.0)	19 (24.7)	1.000	0.03
Immunosuppression other than cancer	2 (2.6)	2 (2.6)	1.000	<0.001
Type of ICU admission - Transfer	51 (66.2)	45 (58.4)	0.406	0.16
SAPS-2 at ICU admission	39.08 ± 15.01	39.52 ± 15.10	0.856	0.03
Intestinal carriage of CFR-GNB at ICU admission	9 (11.7)	5 (6.5)	0.400	0.18
Main diagnosis of the ICU stay - Respiratory	16 (20.8)	21 (27.3)	0.451	0.15
Main diagnosis of the ICU stay - Circulatory	9 (11.7)	5 (6.5)	0.400	0.18
Main diagnosis of the ICU stay - Sepsis	6 (7.8)	7 (9.1)	1.000	0.05
Main diagnosis of the ICU stay - Neurological	10 (13.0)	5 (6.5)	0.277	0.22
Main diagnosis of the ICU stay - Trauma	11 (14.3)	14 (18.2)	0.662	0.11
Main diagnosis of the ICU stay - Hepatic/intestinal	7 (9.1)	14 (18.2)	0.159	0.27
Main diagnosis of the ICU stay - Others	18 (23.4)	11 (14.3)	0.216	0.23
Surgery during the ICU stay	19 (24.7)	16 (20.8)	0.701	0.09
Acquisition of CFR-GNB during the ICU stay	14 (18.2)	24 (31.2)	0.093	0.30
Time from admission to the first acquisition, days	18.6 ± 20.0	14.5 ± 10.9	0.408	0.26

Table S2 footnote

Data are expressed as number (%) or mean ± standard deviation.

ICU, intensive care unit; SMD, standardized mean difference; SAPS-2, simplified acute physiology score 2; CFR-GNB, ceftriaxone-resistant Gram-negative bacilli

Figure S1. Study flow-chart

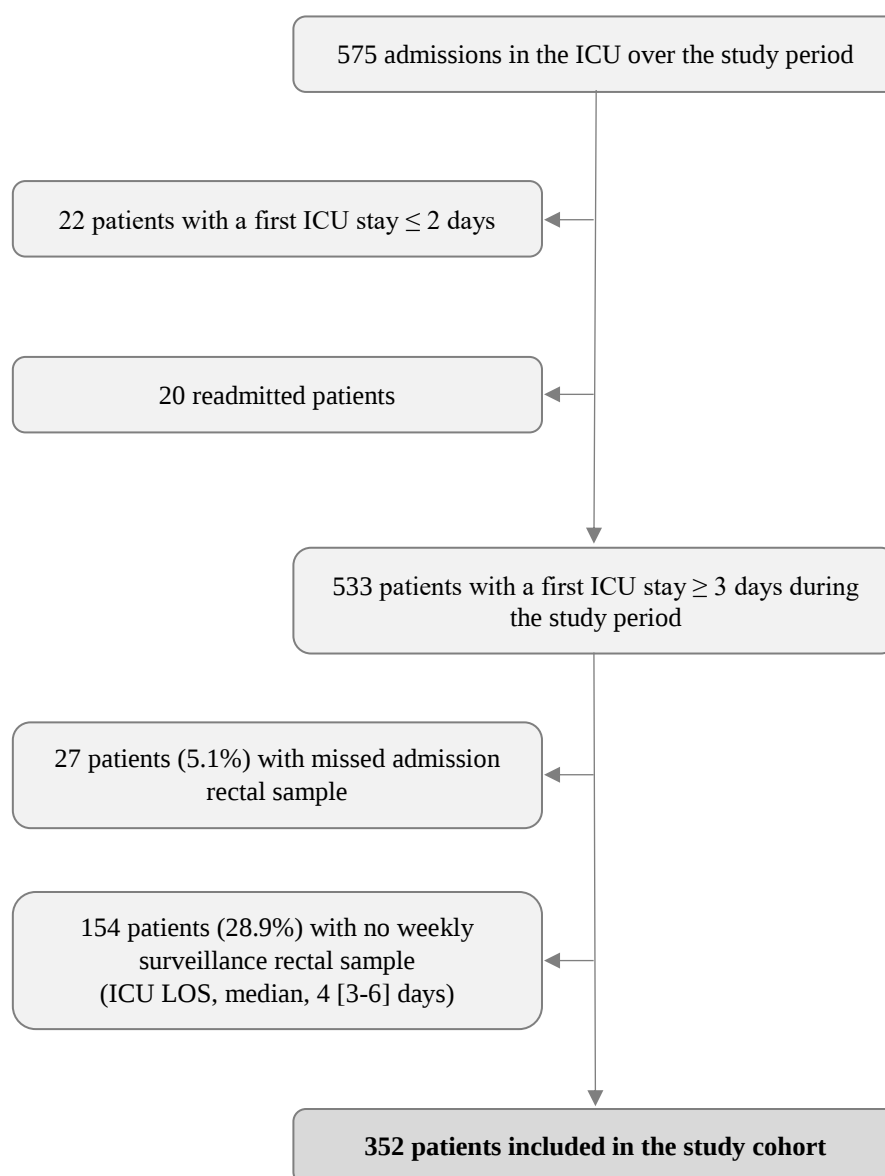


Figure S1 footnote

ICU, intensive care unit; LOS, length of stay

Figure S2. Predicted cumulative rates of acquired intestinal carriage of ceftriaxone-resistant Gram-negative bacilli in patients exposed and non-exposed to ceftriaxone

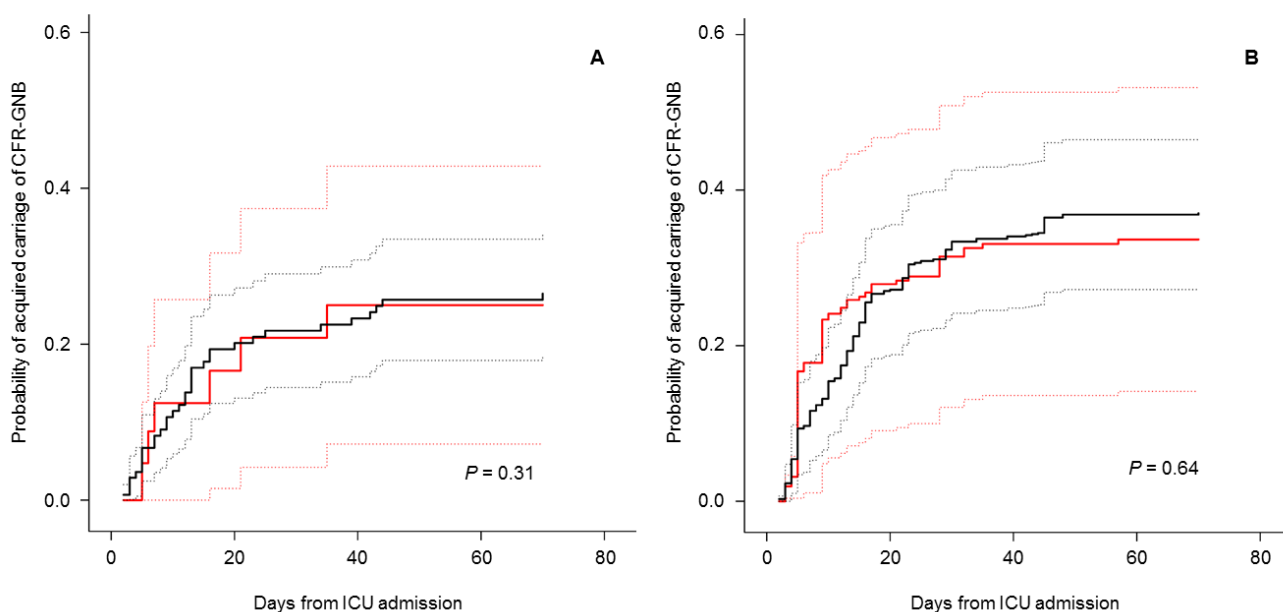


Figure S2 footnote

Red lines: patients exposed to ceftriaxone. Black lines: patients not exposed to ceftriaxone. Solid lines indicate the predicted cumulative acquisition rates of intestinal colonization with ceftriaxone-resistant Gram-negative bacilli handling in-ICU death or discharge as competing risks, dashed lines indicate 95% confidence intervals.

Vignette A: propensity score-matched cohorts (n = 77 x 2). Vignette B: whole study cohort.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Notre étude suggère qu'une réduction de la consommation d'antibiotiques actifs sur les bactéries anaérobies de la flore intestinale pourrait permettre de prévenir l'acquisition d'un portage de BGN-RCF chez les patients de réanimation. Le rôle de la résistance à la colonisation exercée par la flore digestive anaérobie a été essentiellement étudié sur des modèles animaux ou dans des travaux cliniques réalisés en dehors du contexte spécifique de la réanimation : nos résultats sont donc importants dans la mesure où ils soulignent ce rôle de la résistance à la colonisation chez les patients de réanimation, très exposés à la pression de sélection des antibiotiques et à la pression de colonisation par des BGN-RCF.

Des analyses supplémentaires seront réalisées à court terme et intégrées dans l'article avant sa soumission. Dans un premier temps, nous réévaluerons l'impact des antibiotiques anti-anaérobies en distinguant les deux types de BGN-RCF les plus fréquemment acquis dans cette cohorte, c'est-à-dire *P. aeruginosa* et AHE. Dans un second temps, nous analyserons séparément l'impact respectif des trois antibiotiques anti-anaérobies étudiés dans ce travail, c'est-à-dire amoxicilline-acide clavulanique, Pipéracilline Tazobactam, et métronidazole. Enfin, une approche complémentaire consistera à étudier l'impact de ces antibiotiques sur l'évolution de l'abondance relative dans les selles (évaluée en routine de façon semi-quantitative au laboratoire de microbiologie du CHRO) des BGN-RCF chez les sujets porteurs, et de rechercher une éventuelle relation entre l'augmentation de l'abondance relative sous traitement et le risque d'IN ultérieure au même BGN-RCF (52,53).

De façon plus générale, il est nécessaire de réaliser de nouvelles études afin d'évaluer plus finement l'impact des antibiotiques sur le microbiote intestinal des patients de réanimation et ainsi orienter le clinicien dans le choix des molécules. La mise en place de tels projets est complexe en raison de l'hétérogénéité des schémas posologiques, de la co-administration ou de la prise antérieure d'autres antibiotiques – ou d'autres médicaments pouvant avoir un impact sur le microbiote (par exemple, les inhibiteurs de la pompe à protons). Les études futures devront d'abord sélectionner des marqueurs reflétant les divers aspects de l'impact des antibiotiques sur le microbiote. D'un point de vue clinique, l'une des principales justifications de la désescalade d'une antibiothérapie est de prévenir l'implantation et/ou la prolifération de BMR dans le microbiote intestinal. La concentration intestinale de BMR (exprimées en unités formant colonie par gramme de selles) et leur abondance relative

(rapport entre la concentration d'un BGN résistant et celle de l'ensemble des BGN) sont donc des marqueurs de choix (53). Cependant, les techniques modernes d'analyse du microbiote (séquençage du gène de l'ARNr 16S et *shotgun metagenomics*) apporteront à l'évidence des données plus précises sur l'impact écologique des antibiotiques, notamment en termes de richesse et de diversité de cet écosystème. La métagénomique permet également l'analyse du résistome, c'est-à-dire le contenu fécal en gènes de résistance (55). Le suivi de ces marqueurs pourra être réalisé sur des échantillons successifs prélevés chez un même sujet avant, pendant, et à distance de la prise d'antibiotiques.

L'idéal, pour évaluer l'impact des antibiotiques sur le microbiote et optimiser l'interprétation des résultats, serait de réaliser des études sur des volontaires en bonne santé. Un nombre suffisant de volontaires sains devrait être inclus pour prendre en compte les variations interindividuelles possibles de composition du microbiote basal, d'absorption (pour les médicaments oraux) et d'excrétion intestinale des antibiotiques. Cependant, pour des raisons éthiques évidentes, il semble difficilement envisageable d'inoculer des BMR à des volontaires sains.

Par conséquent, l'évaluation de la dynamique quantitative des BMR sous exposition à des antibiotiques doit être réalisée sur des modèles expérimentaux dans le but de reproduire les concentrations intestinales observées chez l'homme (56). Le microbiote animal étant assez différent de celui de l'homme, une alternative pourrait consister à cultiver *in vitro* les matières fécales de volontaires humains enrichis d'inoculum contrôlé de BMR (57). Dans de tels modèles, l'évolution des concentrations de BMR sous exposition aux antibiotiques testés pourrait être mesurée. La conception d'études évaluant l'impact des antibiotiques sur la transmissibilité des BMR sera plus complexe. Cela nécessitera des études contextuelles dans des services spécifiques, ce qui soulèvera la difficulté d'harmoniser les protocoles et les résultats.

Au cours du développement d'un nouvel antibiotique, les essais cliniques de phase I réalisés chez des volontaires sains visent à évaluer la sécurité du médicament et les paramètres pharmacocinétiques. Pour un coût supplémentaire limité, des expériences *in vivo* pourraient être mises en œuvre chez les mêmes volontaires selon un protocole normalisé établi par des experts en résistance microbiologie et en pharmacocinétique (en particulier pour la durée du suivi et les délais d'échantillonnage).

Les résultats de tels protocoles devront permettre de construire un score écologique composite. Ce type d'indicateur permettrait de classer les antibiotiques en termes d'impact sur la flore intestinale. Il serait ensuite accessible et utilisable au clinicien pour optimiser une stratégie de bon usage des antibiotiques (*antibiotic stewardship*). Cette démarche pourrait s'appliquer aux antibiotiques en cours de développement, mais aussi à ceux déjà disponibles sur le marché et pour lesquels les données écologiques manquent.

D'autres perspectives ont été envisagées dans le but de limiter l'impact de certains antibiotiques sur la flore digestive. Elles correspondent davantage à des mesures symptomatiques en réponse aux effets délétères des antibiothérapies :

- Charbon à libération colique, DAV 132 : à la suite de l'administration d'antibiotiques, une partie importante du médicament atteint la flore commensale du côlon, en raison d'une absorption incomplète dans l'intestin grêle (par exemple, les macrolides), d'une sécrétion hépatique *via* la bile (par exemple, les tétracyclines) ou d'un transfert induit par un transporteur dans la lumière intestinale (par exemple, les fluoroquinolones). Les concentrations locales d'antibiotiques dans le cæcum et le côlon sont suffisantes pour induire des effets profondément délétères, tels que l'élimination rapide de nombreux microorganismes sensibles. Le DAV132 permet d'éliminer efficacement des médicaments indésirables du caecum et du côlon, tels que les antibiotiques, sans interférer avec l'absorption des composés dans les parties supérieure et moyenne de l'intestin grêle (58).
- SYN-004 (ribaxamase) : il s'agit d'une β -lactamase conçue pour être administrée par voie orale en même temps que des β -lactamines injectables. Le mécanisme d'action de la ribaxamase est de dégrader l'excès de β -lactamine excrété dans l'intestin grêle, protégeant ainsi la flore colique des dommages collatéraux engendrés par ces antibiotiques (59).
- La transplantation de microbiote fécal a montré des résultats spectaculaires dans les infections à *C. difficile* et peut en outre éliminer la colonisation intestinale avec des agents pathogènes tels que les entérocoques résistants à la vancomycine (60).

En conclusion, ces travaux préliminaires suggèrent que l'exposition à des antibiotiques qui altèrent la microflore intestinale anaérobie, et la résistance à la colonisation qu'elle confère, peuvent contribuer à la dissémination de BGN-RCF chez les patients de réanimation. De nouvelles études sont nécessaires pour confirmer nos résultats dans d'autres environnements de réanimation. Limiter l'utilisation des médicaments anti-anaérobies pourrait constituer un aspect essentiel des programmes de bon usage des antibiotiques visant à contrôler la propagation des BGN-RCF dans cette population de malades.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Clatworthy AE, Pierson E, Hung DT. Targeting virulence: a new paradigm for antimicrobial therapy. *Nat Chem Biol*. 2007 Sep;3(9):541–8.
2. Silver LL. Challenges of Antibacterial Discovery. *Clin Microbiol Rev*. 2011 Jan 1;24(1):71–109.
3. Khan FA, Singh VK, Sharma S, Singh P. A Prospective Study on the Antimicrobial Usage in the Medicine Department of a Tertiary Care Teaching Hospital. *J Clin Diagn Res JCDR*. 2013 Jul;7(7):1343–6.
4. Planquette B, Timsit J-F, Misset BY, Schwebel C, Azoulay E, Adrie C, et al. *Pseudomonas aeruginosa* ventilator-associated pneumonia. predictive factors of treatment failure. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013 Jul 1;188(1):69–76.
5. Arcilla MS, van Hattem JM, Haverkate MR, Bootsma MCJ, van Genderen PJJ, Goorhuis A, et al. Import and spread of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae by international travellers (COMBAT study): a prospective, multicentre cohort study. *Lancet Infect Dis*. 2017;17(1):78–85.
6. Laxminarayan R, Duse A, Wattal C, Zaidi AKM, Wertheim HFL, Sumpradit N, et al. Antibiotic resistance—the need for global solutions. *Lancet Infect Dis*. 2013 Dec 1;13(12):1057–98.
7. Home | AMR Review [Internet]. [cited 2018 Aug 15]. Available from: <https://amr-review.org/>
8. Ruppé É, Woerther P-L, Barbier F. Mechanisms of antimicrobial resistance in Gram-negative bacilli. *Ann Intensive Care* [Internet]. 2015 Aug 12 [cited 2016 Aug 1];5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4531117/>
9. Cohen J, Vincent J-L, Adhikari NKJ, Machado FR, Angus DC, Calandra T, et al. Sepsis: a roadmap for future research. *Lancet Infect Dis*. 2015 May;15(5):581–614.
10. Barbier F, Lisboa T, Nseir S. Understanding why resistant bacteria are associated with higher mortality in ICU patients. *Intensive Care Med*. 2015 Nov 12;1–4.
11. Lagier J-C, Armougom F, Million M, Hugon P, Pagnier I, Robert C, et al. Microbial culturomics: paradigm shift in the human gut microbiome study. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. 2012 Dec;18(12):1185–93.
12. Dortet L, Cuzon G, Nordmann P. Dissemination of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in France, 2012. *J Antimicrob Chemother*. 2014 Mar;69(3):623–7.
13. Olaitan AO, Morand S, Rolain J-M. Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria. *Front Microbiol* [Internet]. 2014 Nov 26 [cited 2016 Aug 1];5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4244539/>

14. Liu Y-Y, Wang Y, Walsh TR, Yi L-X, Zhang R, Spencer J, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis*. 2016 Feb;16(2):161–8.
15. Woerther P-L, Burdet C, Chachaty E, Andremont A. Trends in Human Fecal Carriage of Extended-Spectrum β -Lactamases in the Community: Toward the Globalization of CTX-M. *Clin Microbiol Rev*. 2013 Oct;26(4):744–58.
16. Jacoby GA. AmpC β -Lactamases. *Clin Microbiol Rev*. 2009 Jan;22(1):161–82.
17. Grohs P, Podglajen I, Guerot E, Bellenfant F, Caumont-Prim A, Kac G, et al. Assessment of five screening strategies for optimal detection of carriers of third-generation cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae in intensive care units using daily sampling. *Clin Microbiol Infect*. 2014 Nov;20(11):O879–86.
18. Poirel L, Carrère A, Pitout JD, Nordmann P. Integron Mobilization Unit as a Source of Mobility of Antibiotic Resistance Genes. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009 Jun;53(6):2492–8.
19. Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae: A Potential Threat | Infectious Diseases | JAMA | JAMA Network [Internet]. [cited 2018 Aug 15]. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jama/article-abstract/183101>
20. Yatsunenko T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*. 2012 May 9;486(7402):222–7.
21. Levy SB, Marshall B, Schluederberg S, Rowse D, Davis J. High frequency of antimicrobial resistance in human fecal flora. *Antimicrob Agents Chemother*. 1988 Dec;32(12):1801–6.
22. Bassetti M, Waele JJD, Eggimann P, Garnacho-Montero J, Kahlmeter G, Menichetti F, et al. Preventive and therapeutic strategies in critically ill patients with highly resistant bacteria. *Intensive Care Med*. 2015 Mar 20;41(5):776–95.
23. Bretonnière C, Leone M, Milési C, Allaouchiche B, Armand-Lefevre L, Baldesi O, et al. Strategies to reduce curative antibiotic therapy in intensive care units (adult and paediatric). *Intensive Care Med*. 2015 Jun 3;41(7):1181–96.
24. Thiébaud ACM, Arlet G, Andremont A, Papy E, Sollet J-P, Bernède-Bauduin C, et al. Variability of intestinal colonization with third-generation cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae and antibiotic use in intensive care units. *J Antimicrob Chemother*. 2012 Jun;67(6):1525–36.
25. Barbier F, Pommier C, Essaïed W, Garrouste-Orgeas M, Schwebel C, Ruckly S, et al. Colonization and infection with extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in ICU patients: what impact on outcomes and carbapenem exposure? *J Antimicrob Chemother*. 2016 Apr;71(4):1088–97.

26. Razazi K, Derde LPG, Verachten M, Legrand P, Lesprit P, Brun-Buisson C. Clinical impact and risk factors for colonization with extended-spectrum β -lactamase-producing bacteria in the intensive care unit. *Intensive Care Med.* 2012 Nov;38(11):1769–78.
27. Derde LPG, Cooper BS, Goossens H, Malhotra-Kumar S, Willems RJL, Gniadkowski M, et al. Interventions to reduce colonisation and transmission of antimicrobial-resistant bacteria in intensive care units: an interrupted time series study and cluster randomised trial. *Lancet Infect Dis.* 2014 Jan;14(1):31–9.
28. Vodovar D, Marcadé G, Rousseau H, Raskine L, Vicaud E, Deye N, et al. Predictive factors for extended-spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae causing infection among intensive care unit patients with prior colonization. *Infection.* 2014 Apr 13;42(4):743–8.
29. Bruyère R, Vigneron C, Bador J, Aho S, Toitot A, Quenot J-P, et al. Significance of Prior Digestive Colonization With Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in Patients With Ventilator-Associated Pneumonia. *Crit Care Med.* 2016 Apr;44(4):699–706.
30. Wendt C, Lin D, Baum H von. Risk Factors for Colonization with Third-Generation Cephalosporin-Resistant Enterobacteriaceae. *Infection.* 33(5-6):327–32.
31. Poignant S, Guinard J, Guigon A, Bret L, Poisson D-M, Boulain T, et al. Risk Factors and Outcomes for Intestinal Carriage of AmpC-Hyperproducing Enterobacteriaceae in Intensive Care Unit Patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016 Mar;60(3):1883–7.
32. Peña C, Guzmán A, Suarez C, Dominguez MA, Tubau F, Pujol M, et al. Effects of Carbapenem Exposure on the Risk for Digestive Tract Carriage of Intensive Care Unit-Endemic Carbapenem-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Strains in Critically Ill Patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007 Jun;51(6):1967–71.
33. Gómez-Zorrilla S, Camoez M, Tubau F, Periche E, Cañizares R, Dominguez MA, et al. Antibiotic Pressure Is a Major Risk Factor for Rectal Colonization by Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Critically Ill Patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014 Oct;58(10):5863–70.
34. Paramythiotou E, Lucet J-C, Timsit J-F, Vanjak D, Paugam-Burtz C, Trouillet J-L, et al. Acquisition of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in patients in intensive care units: role of antibiotics with antipseudomonal activity. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2004 Mar 1;38(5):670–7.
35. Gómez-Zorrilla S, Camoez M, Tubau F, Cañizares R, Periche E, Dominguez MA, et al. Prospective Observational Study of Prior Rectal Colonization Status as a Predictor for Subsequent Development of *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Infections. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015 Jun 15;59(9):5213–9.
36. Surveillance Cultures Growing Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Predict the Development of Clinical Infections: A Retrospective Cohort Study [Internet]. [cited 2016 Aug 1]. Available from: <http://cid.oxfordjournals.org/content/60/3/415.long>

37. Jernberg C, Löfmark S, Edlund C, Jansson JK. Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota. *Microbiol Read Engl*. 2010 Nov;156(Pt 11):3216–23.
38. Jakobsson HE, Jernberg C, Andersson AF, Sjölund-Karlsson M, Jansson JK, Engstrand L. Short-term antibiotic treatment has differing long-term impacts on the human throat and gut microbiome. *PloS One*. 2010 Mar 24;5(3):e9836.
39. Van der Waaij D, Berghuis-de Vries JM, Lekkerkerk Lekkerkerk-v null. Colonization resistance of the digestive tract in conventional and antibiotic-treated mice. *J Hyg (Lond)*. 1971 Sep;69(3):405–11.
40. Hentges DJ, Stein AJ, Casey SW, Que JU. Protective role of intestinal flora against infection with *Pseudomonas aeruginosa* in mice: influence of antibiotics on colonization resistance. *Infect Immun*. 1985 Jan;47(1):118–22.
41. Van der Waaij D, Hofstra H, Wiegersma N. Effect of beta-lactam antibiotics of the resistance of the digestive tract of mice to colonization. *J Infect Dis*. 1982 Sep;146(3):417–22.
42. Harbarth S, Harris AD, Carmeli Y, Samore MH. Parallel analysis of individual and aggregated data on antibiotic exposure and resistance in gram-negative bacilli. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2001 Nov 1;33(9):1462–8.
43. Kamada N, Kim Y-G, Sham HP, Vallance BA, Puente JL, Martens EC, et al. Regulated virulence controls the ability of a pathogen to compete with the gut microbiota. *Science*. 2012 Jun 8;336(6086):1325–9.
44. Guarner F. Enteric flora in health and disease. *Digestion*. 2006;73 Suppl 1:5–12.
45. Hoyen CK, Pultz NJ, Paterson DL, Aron DC, Donskey CJ. Effect of Parenteral Antibiotic Administration on Establishment of Intestinal Colonization in Mice by *Klebsiella pneumoniae* Strains Producing Extended-Spectrum β -Lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003 Nov;47(11):3610–2.
46. McKenney ES, Kendall MM. Microbiota and pathogen “pas de deux”: setting up and breaking down barriers to intestinal infection. *Pathog Dis*. 2016;74(5).
47. Hibbing ME, Fuqua C, Parsek MR, Peterson SB. Bacterial competition: surviving and thriving in the microbial jungle. *Nat Rev Microbiol*. 2010 Jan;8(1):15–25.
48. Hartley CL, Clements HM, Linton KB. Effects of cephalexin, erythromycin and clindamycin on the aerobic Gram-negative faecal flora in man. *J Med Microbiol*. 1978 May;11(2):125–35.
49. Nord CE, Kager L, Philipson A, Stiernstedt G. Effect of imipenem/cilastatin on the colonic microflora. *Rev Infect Dis*. 1985 Aug;7 Suppl 3:S432–4.
50. Grall N, Lazarevic V, Gaïa N, Couffignal C, Laouénan C, Ilic-Habensus E, et al. Unexpected persistence of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in the faecal microbiota of hospitalised patients treated with imipenem. *Int J Antimicrob Agents*. 2017 Jul;50(1):81–7.

51. Available from: <http://invs.santepubliquefrance.fr/Publications-et-outils/Rapports-et-syntheses/Maladies-infectieuses/2016/Consommation-d-antibiotiques-et-resistance-aux-antibiotiques-en-France-necessite-d-une-mobilisation-determinee-et-durable>
52. Donskey CJ, Chowdhry TK, Hecker MT, Høyen CK, Hanrahan JA, Hujer AM, et al. EFFECT OF ANTIBIOTIC THERAPY ON THE DENSITY OF VANCOMYCIN-RESISTANT ENTEROCOCCI IN THE STOOL OF COLONIZED PATIENTS. *N Engl J Med*. 2000 Dec 28;343(26):1925–32.
53. Ruppé E, Lixandru B, Cojocaru R, Büke Ç, Paramythiotou E, Angebault C, et al. Relative Fecal Abundance of Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* Strains and Their Occurrence in Urinary Tract Infections in Women. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013 Sep;57(9):4512–7.
54. Woerther P-L, Micol J-B, Angebault C, Pasquier F, Pilorge S, Bourhis J-H, et al. Monitoring antibiotic-resistant enterobacteria faecal levels is helpful in predicting antibiotic susceptibility of bacteraemia isolates in patients with haematological malignancies. *J Med Microbiol*. 2015;64(7):676–81.
55. Xavier BB, Das AJ, Cochrane G, De Ganck S, Kumar-Singh S, Aarestrup FM, et al. Consolidating and Exploring Antibiotic Resistance Gene Data Resources. *J Clin Microbiol*. 2016 Apr;54(4):851–9.
56. Perez F, Pultz MJ, Endimiani A, Bonomo RA, Donskey CJ. Effect of antibiotic treatment on establishment and elimination of intestinal colonization by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* in mice. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011 Jun;55(6):2585–9.
57. Borriello SP, Barclay FE. An in-vitro model of colonisation resistance to *Clostridium difficile* infection. *J Med Microbiol*. 1986 Jun;21(4):299–309.
58. De Gunzburg J, Ducher A, Modess C, Wegner D, Oswald S, Dressman J, et al. Targeted adsorption of molecules in the colon with the novel adsorbent-based medicinal product, DAV132: A proof of concept study in healthy subjects. *J Clin Pharmacol*. 2015 Jan;55(1):10–6.
59. Kokai-Kun JF, Roberts T, Coughlin O, Sicard E, Rufiange M, Fedorak R, et al. The Oral β -Lactamase SYN-004 (Ribaxamase) Degrades Ceftriaxone Excreted into the Intestine in Phase 2a Clinical Studies. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(3).
60. Singh R, van Nood E, Nieuwdorp M, van Dam B, ten Berge IJM, Geerlings SE, et al. Donor feces infusion for eradication of Extended Spectrum beta-Lactamase producing *Escherichia coli* in a patient with end stage renal disease. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. 2014 Nov;20(11):O977–8.