



RICAI

# *Enterobacter cloacae* chez le nouveau-né prématuré, identification de biomarqueurs de sévérité

DENIS-PETIT GERA S, FARAUT-DEROUIN V, GLEIZES O, FOURNIER S, YOUSEF N,  
BEN-AMMAR R, DE LUCA D, DOUCET-POPULAIRE F, BOURGEOIS-NICOLAOS M.

Laboratoire de Bactériologie-Hygiène – Hôpital Antoine Béclère  
Hôpitaux universitaire Paris-Sud

# Nouveau-nés prématurés

Nouveau-nés prématurés  
< 37 semaines d'aménorrhée



En France

- 5,5 % des enfants à la naissance unique
- 42 % des jumeaux

←  
Système immunitaire  
immature

←  
Microbiotes  
instables et  
immatures

←  
Durée  
d'hospitalisation  
prolongée

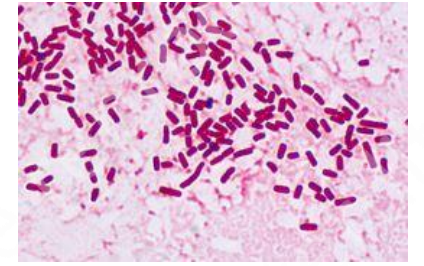
←  
Exposition prolongée  
aux dispositifs  
médicaux

**Environ 20 % des prématurés ont des infections nosocomiales**

# Sepsis tardif chez les nouveau-nés prématurés

- Première cause d'infection nosocomiale
- Diagnostic difficile car **signes cliniques peu spécifiques** :
  - Fièvre, hypothermie, bradycardie, tachycardie, détresse respiratoire...
- **Morbi-mortalité importante**, surtout pour les bacilles à Gram négatif
- *Enterobacter cloacae* est le **deuxième pathogène** responsable de bactériémies en réanimation néonatale (RNN)

# *Enterobacter cloacae* complexe



- **6 espèces** : *E. cloacae*, *E. asburiae*, *E. hormaechei*, *E. kobei*, *E. ludwigii* et *E. nimipressuralis*

- Espèces du complexe non différenciables par méthodes d'identification classique

- Bacille à Gram négatif commensal du tube digestif

- Pathogène opportuniste émergent

- Responsable d'épidémies en unités de soins intensifs

- Réservoir environnemental (siphons, thermomètres) ou patient

# Contexte

Incidence bactériémies  
à *E. cloacae*  
(pour 100 admissions)

0,07 % en 2015

2 % en 2016

2 % en 2017

Suivi de la colonisation  
à *E. cloacae*

Rectale

Naso-pharyngée

Analyse des facteurs  
de risque de cette épidémie

Dossiers cliniques

Caractéristiques  
des souches

Enquête  
environnementale

# Objectif

Comprendre la pathogénicité des souches de **sepsis** comparées à celles de **colonisation** et de **l'environnement**

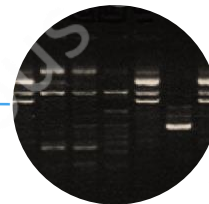


Identifier un facteur de l'hôte associé au sepsis



Comparaison phénotypique

- Résistance aux antibiotiques
- Résistance aux antiseptiques
- Production de biofilm



Épidémiologie moléculaire

- ERIC-PCR

# Population et souches étudiées

Nouveaux-nés prématurés du service de Réanimation Néonatale  
(Janvier 2016 - Décembre 2017)

Nouveaux-nés septiques  
(n = 20)

Nouveaux-nés colonisés  
(n = 20)

Souches d'hémocultures  
(n = 23)

Souches de colonisation  
(cavum ou rectum)  
(n = 20)

Souche de LCR  
(n = 1)

Appariement des groupes sepsis et colonisation selon différents critères démographiques (âge gestationnel, poids de naissance, score CRIBII) et chronologiques (période de séjour)

**GRUPE COLONISES**

**GRUPE SEPSIS**

+

Souches de couveuses  
(n = 20)

**GRUPE ENVIRONNEMENT**



# Contrôles microbiologiques des couveuses

## Méthodologie : Absence de recommandations

1. Géloses contact → Négatif
2. Ecouvillonnage des zones fragiles, dégradées, recoins peu accessibles au bionettoyage
  - Etape d'enrichissement en bouillon cœur-cervelle
  - Recherche de « germes indicateurs », dont *E. cloacae*
  - D'abord en conditions de stockage puis en **conditions hydrique et thermique d'utilisation**





# Critères démographiques des enfants du groupe **SEPSIS**

Critères	Total (n=20)
Fille n (%)	11 (55)
Décès n (%)	14 (70)
Age gestationnel moyen $m \pm \sigma$ (s.a)	27,0 $\pm$ 2,3
Poids de naissance moyen $m \pm \sigma$ (g)	883,6 $\pm$ 343,8
Accouchement par césarienne n (%)	9 (45)
Jumeaux	6 (30)
CRIB II $m \pm \sigma$	10,05 $\pm$ 3,6
Age au sepsis $m \pm \sigma$ (j)	10,0 $\pm$ 5,3
Neutropénie (PNN < 1000 /mm <sup>3</sup> ) n (%)	7 (35)

Tous les enfants inclus sont prématurés

➤ 80% sont extrêmes prématurés (< 28 s.a)

# Critères démographiques des enfants du groupe **SEPSIS**

Critères	Total (n=20)	Groupe Décédés (n=14)	Groupe Non-décédés (n=6)	p-value*
Fille n (%)	11 (55)	5 (35)	5 (83,3)	0,07
Décès n (%)	14 (70)	14 (100)	0	
Age gestationnel moyen $m \pm \sigma$ (s.a)	27,0 $\pm$ 2,3	27,2 $\pm$ 2,2	26,6 $\pm$ 2,4	0,6
Poids de naissance moyen $m \pm \sigma$ (g)	883,6 $\pm$ 343,8	868 $\pm$ 373,9	920 $\pm$ 289,1	0,8
Accouchement par césarienne n (%)	9 (45)	6 (42,9)	3 (50)	1
Jumeaux	6 (30)	4 (28,7)	2 (33,3)	1
CRIB II $m \pm \sigma$	10,05 $\pm$ 3,6	10,07 $\pm$ 3,7	10,00 $\pm$ 3,5	1
Age au sepsis $m \pm \sigma$ (j)	10,5 $\pm$ 5,3	<b>5,7 <math>\pm</math> 3,8</b>	11,5 $\pm$ 4,8	<b>0,007</b>
Neutropénie (PNN < 1000 /mm <sup>3</sup> ) n (%)	7 (35)	<b>7 (50)</b>	0 (0)	<b>0,05</b>

➤ **Plus de risque de décès si sepsis au cours de la première semaine de vie**

➤ **Neutropénie**

# Résistance aux antibiotiques

- Hyperproduction de la céphalosporinase (*ampC*) chez 36 % des souches étudiées.
- Parmi les souches du groupe **sepsis**
  - pas de différence significative d'hyperproduction de la céphalosporinase entre les enfants décédés et non-décédés ( $p=0,63$ )

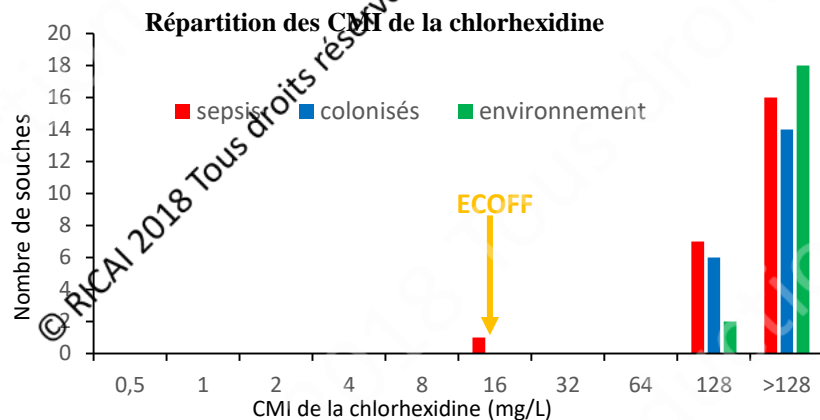
Absence de profil de résistance particulier quelle que soit la famille d'antibiotique

Antibiotiques	Nombre de souches résistantes dans le groupe (%)		
	SEPSIS N=24	COLONISES N=20	p-value*
<b>Céfotaxime</b>	8 (33,3)	8 (40)	0,7
<b>Céfépime</b>	0 (0)	0 (0)	
<b>Pipéracilline-Tazobactam</b>	2 (8,7)	4 (20)	0,5
<b>Méropenème</b>	0 (0)	0 (0)	
<b>Gentamicine, Amikacine</b>	0 (0)	0 (0)	
<b>Ciprofloxacine</b>	0 (0)	0 (0)	

\*test de Chi-2 au risque 5%

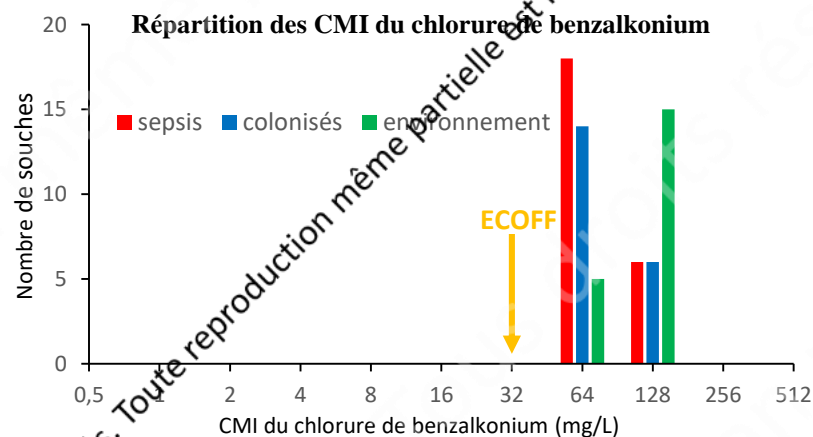
# Résistance aux antiseptiques

- Beaucoup d'antiseptiques sont contre-indiqués chez les prématurés :
  - Seuls la **Biseptine**<sup>®</sup> (chlorhexidine + chlorure de benzalkonium) et le **Dakin**<sup>®</sup> (hypochlorite de sodium) sont autorisés
- Sensibilité aux antiseptiques testée sur milieu Muller-Hinton agar selon les recommandations du CLSI pour toutes les souches des groupes **sepsis**, **colonisés** et **environnement**



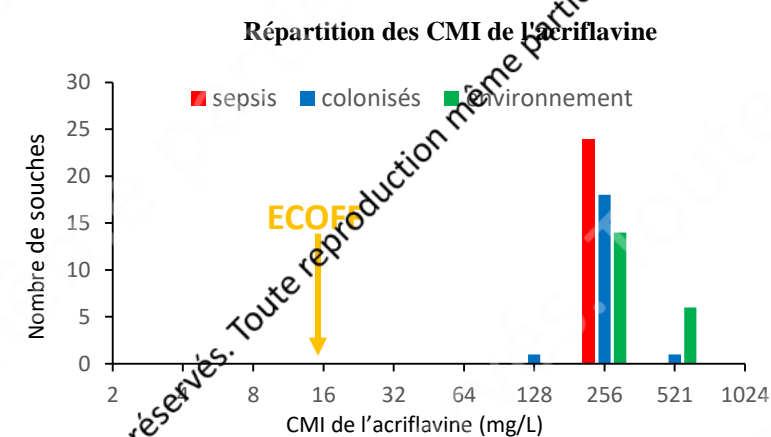
**CMI<sub>90</sub> > 128 mg/L**

→ 98 % des souches ont une CMI > 16mg/L (ECOFF)



**CMI<sub>90</sub> = 64 mg/L**

→ 100 % des souches ont une CMI > 32mg/L (ECOFF)



**CMI<sub>90</sub> = 256 mg/L**

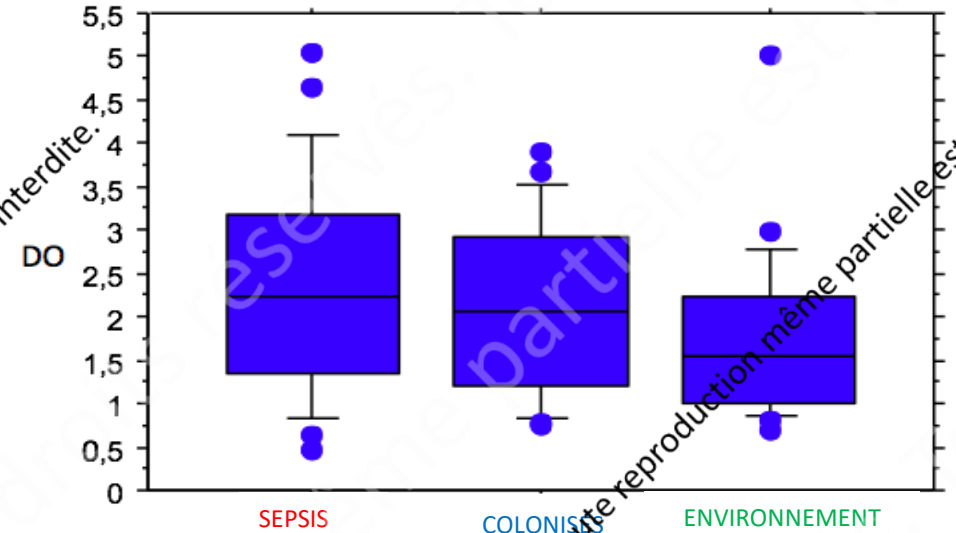
→ 100 % des souches ont une CMI > 16mg/L (ECOFF)

ECOFF = seuils de sensibilité critiques épidémiologiques pour les biocides testés

# Formation de biofilm par cristal violet



Comparaison de la production de biofilm pour les 3 groupes



Moy.	2,3	2,15	1,798
Dév. Std	1,2	1,006	1,001

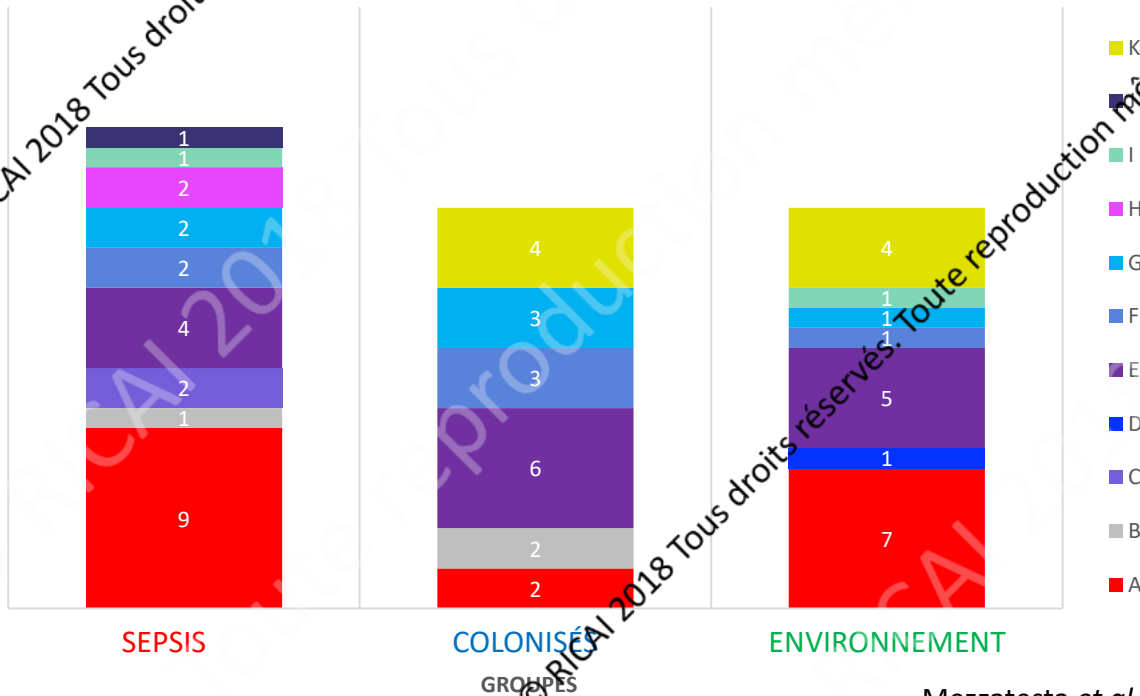
➤ Absence de différence de formation de biofilm significative entre les 3 groupes.

# Comparaison des souches par ERIC-PCR



Exemple de gel d'électrophorèse d'ERIC-PCR de souches de sepsis

- Méthode validée par REP-PCR (CNR des entérobactéries Pr R. Bonnet)
- 11 profils différents
- Pas de différence significative de répartition des différents profils entre les 3 groupes
- 2 profils sont majoritaires dans 3 groupes :



- Profil A (27 %)
- Profil E (25 %)

- Epidémie non-clonale
- Profils identiques entre les souches isolées des couveuses et des enfants
- Pas de profil associé au décès

# Discussion et Conclusion

- Enfants atteints de **sepsis à *E. cloacae*** :

- Grands prématurés (80 % < 28 SA) et mortalité élevée

- Facteurs de risques associés au décès

- Sepsis durant la 1<sup>ère</sup> semaine de vie

- Neutropénie < 1000 /mm<sup>3</sup>

- Caractéristiques phénotypiques des souches de **sepsis** comparées aux groupes **colonisés** et **environnement**

- Pas de profil de résistance aux antibiotiques particulier

- Résistance aux biocides et production de biofilm pourraient expliquer la persistance dans l'environnement et la transmission croisée

# Discussion et Conclusion

- Épidémie non-clonale
- Identification d'un réservoir → Les couveuses



## Solutions envisagées

- Utilisation de la désinfection par la vapeur pour le bionettoyage des couveuses ?
- Utilisation du Dakin® pour l'antiseptie cutanée ?

## Actions menées

- Nombreuses actions d'hygiène
- Remplacement des couveuses







© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Merci de votre  
attention

---