

41^e

LUNDI 13 & MARDI 14
DÉCEMBRE 2021

PALAIS DES CONGRÈS • PARIS

REUNION INTERDISCIPLINAIRE DE
CHIMIOThÉRAPIE ANTI-INFECTIEUSE



Épidémiologie moléculaire des gènes de résistance croisée antiseptiques – antibiotiques

M. BOISSON, J. BUYCK, L. COUTEAU, N. PREBONNAUD, S. MARCHAND,
C. BURUCOA, J. GUENEZAN, O. MIMOZ, M. PICHON

Maxime PICHON

Maître de Conférence des Universités – Praticien Hospitalier
CHU de Poitiers - Département des Agents Infectieux
INSERM U1070 – *Pharmacology of Antimicrobial Agents*

Lundi 13 Décembre 2021 –
12h/12h15
Communication
CO-006
Session Sensibilité aux
antibiotiques et antiseptiques



Inserm
La science pour la santé
From science to health



INSERM U-1070
PHAR
Pharmacology of
anti-infective agents

41^e

RÉUNION INTERDISCIPLINAIRE DE
CHIMIOTHÉRAPIE ANTI-INFECTIEUSE

LUNDI 13 & MARDI 14
DÉCEMBRE 2021

PALAIS DES CONGRÈS • PARIS



Orateur : Maxime Pichon, Poitiers

- Je déclare les liens d'intérêt potentiels suivants :
- Speaker Grant : Pfizer (RICAI2020)
 - Conférencier : Fondation Mérieux

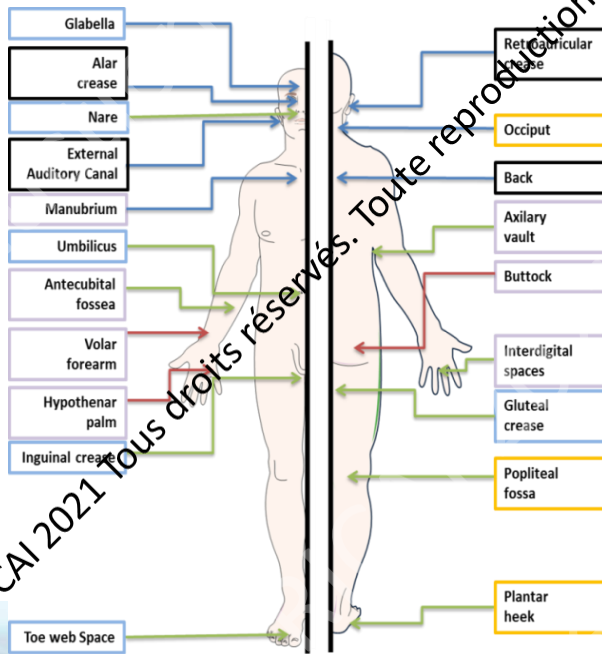
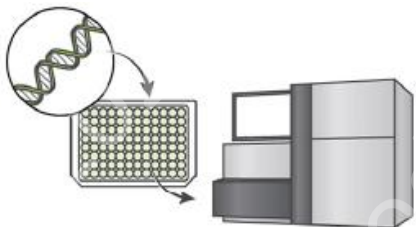
© RICA I 2021 Tous droits réservés

© RICA I 2021 Tous droits réservés

Microbiome cutané, antiseptiques ...

25 m² de surface (~1/10^e du GIT) – 100 fois plus de diversité

Variabilité importante entre
ses espèces bactériennes
(cultivables ou non).



Chlorhexidine

Altère la membrane cellulaire



Povidone

Inactive protéines et acides gras après traversée de la membrane

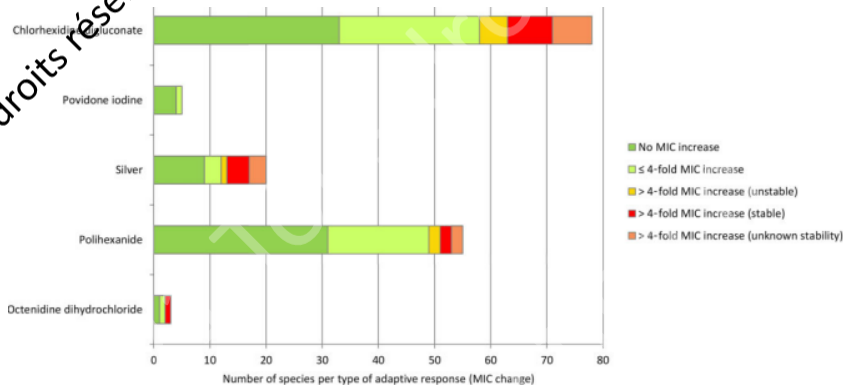


Hypochlorite de Sodium ...
Ethanol 70° ...



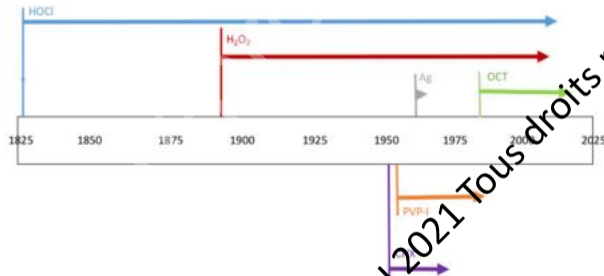
... et résistance(s)

Une résistance adaptative ?



Maillard J-Y. et al. JAC Antimicrobial resist. 2021

Une impression de déjà-vu ?



Maillard J-Y. et al. JAC Antimicrobial resist. 2021

Une résistance croisée ?

Species	Strains	Type of Exposure	MIC Increase (CHG)	Antibiotic(s)	MIC Increase (Antibiotic)
<i>Staphylococcus aureus</i>	2 MIC 25923 and 14 clinical isolates	14 d at various sublethal concentrations	4-fold-6-fold (6 isolates)	Ciprofloxacin Tetracycline Gentamicin Amikacin Cefepime Meropenem	4-fold-64-fold (6) ¹ 4-fold-512-fold (15) ¹ 4-fold-512-fold (8) ¹ 16-fold-512-fold (11) ¹ 8-fold-64-fold (11) ¹ 8-fold-64-fold (9) ¹
¹ microdilution method (mg/L); () = number of strains or isolates.					
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> spp.	6 strains with higher MICs to biocidal products	50-fold-200-fold (2 strains)	Tetracycline Chloramphenicol Nalidixic acid	<1 ⁴ 4 ⁴ 4 ⁴	>16 (1) ⁵ 8 (1) ⁵ 16 (1) ⁵
					R I I

Kampf G. et al. Antibiotics. 2018

Kampf G. et al. Antibiotics. 2018

Un véritable problème ?

REVIEW | VOLUME 94, ISSUE 3, P213-227, NOVEMBER 01, 2016

Acquired resistance to chlorhexidine – is it time to establish an 'antiseptic stewardship' initiative?

G. Kampf



Adaptive bacterial response exposure and its implications for

approach

are pertinent to wounds: Günther Kampff and Rose Cooper

Objectif

1. Déterminer la **prévalence des gènes de résistance croisée antibiotique antiseptique** dans les souches isolées de prélèvements cliniques (cathéter veineux périphériques)
2. Déterminer l'association de ces gènes à une **procédure antiseptique particulière** (PVI, DAK, ...)



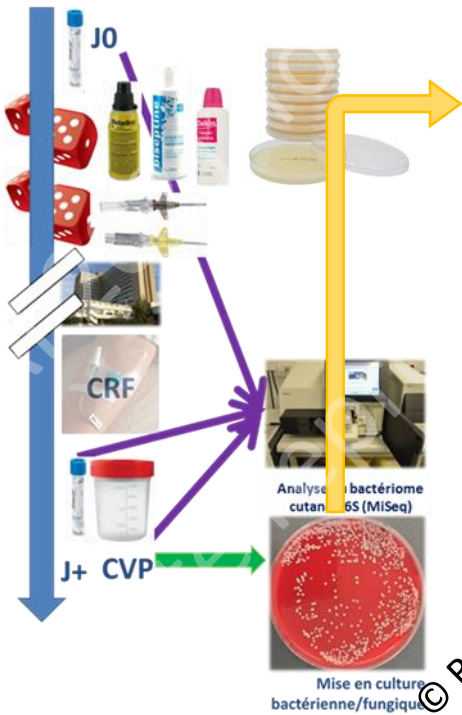
Méthodes (1): Sélection des souches

Etude ancillaire des études CLEAN3 et DACLEAN

	DAKALL (n=81)	PVI (n=44)	DAK (n=40)	DAKOH (n=39)
Age (mean+/- SEM)	72,8 (1,73)	77,2 (2,66)	71,8 (2,38)	74,0 (2,54)
SexRatio (H/F)	52/29	30/14	28/14	24/15
Colonization rate (n; %)	49 (60.5)	32 (72.7)	23 (54.8)	27 (69.2)
Concentration (log10 mean; sd)	2.76 (1.15)	3.34 (1.14)	2.58 (1.09)	2.95 (1.2)
Bacteria				
<i>S. aureus</i> (n=12; 9,52%)	9 (11.1)	6 (6.8)	5 (11.9)	4 (10.3)
<i>S. epidermidis</i> (n=71; 56,35%)	40 (49.4)	30 (68.2)	18 (42.9)	22 (56.4)
<i>S. hominis</i> (n=19; 15,08%)	15 (18.5)	4 (9.1)	11 (26.2)	4 (10.3)
<i>S. capitis</i> (n=11; 8,73%)	9 (11.1)	2 (4.5)	5 (11.9)	4 (10.3)
<i>S. haemolyticus</i> (n=7; 5,5%)	4 (4.9)	3 (6.8)	2 (4.8)	2 (5.1)
<i>S. pettenkoferi</i> (n=2; 1,59%)	2 (2.5)	0 (-)	0 (-)	2 (5.1)
<i>S. warneri</i> (n=2; 1,59%)	1 (1.2)	1 (2.3)	0 (-)	1 (2.6)
<i>S. lugdunensis</i> (n=1; 0,79%)	0 (-)	1 (2.3)	0 (-)	0 (-)
<i>S. succinus</i> (n=1; 0,79%)	1 (1.2)	0 (-)	1 (2.4)	0 (-)

Absence de différence en terme de :

- Age
- SexRatio
- Prévalence de colonisation des cathéters
- Concentration
- Répartition selon prévalence habituelle
 - *S.aureus*>CNS
 - CNS<*S.epidermidis*>*S.hominis*>autres



© RICAI 2021 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2021 Tous droits réservés.

Méthodes (2): Biologie Moléculaire



Gene cible	Température de fusion	Taille d'amplicon
<i>lmrS</i>	53°C	180
<i>mepA</i>	60°C	718
<i>nanA</i>	60°C	620
<i>pacA/B</i>	53°C	361
<i>sepA</i>	53°C	103
<i>smr</i>	53°C	285

Résultats (1): Prévalence des gènes

- Nombre moyen de gènes par bactérie **2,20** (sur les 6 testés)
 - Absence de différence selon l'antisepsie utilisée
- Prévalence des gènes de résistance cohérent avec les rapports de la littérature
 - *qacA/B>lmrS>norA>mepA>sepA>smr*

Gene (n;%)	DAKALL (n=81)	PVI (n=44)	DAK (n=42)	DAKOH (n=39)
<i>qacA/B</i> (n=74; 59,2%)	52 (64,2)	22 (50,0)	30 (71,4)	22 (56,4)
<i>lmrS</i> (n=52; 41,6%)	40 (49,4)	12 (27,3)	21 (50,0)	19 (48,7)
<i>norA</i> (n=50; 40,0%)	30 (37,0)	20 (45,5)	15 (35,7)	15 (38,5)
<i>mepA</i> (n=46; 36,8%)	21 (25,9)	25 (56,8)	13 (31,0)	8 (20,5)
<i>sepA</i> (n=34; 27,2%)	26 (32,1)	8 (18,2)	16 (38,1)	10 (25,6)
<i>smr</i> (n=19; 15,2%)	8 (9,9)	11 (25,0)	3 (7,1)	5 (12,8)
Number of gene per bacterial mean; SEM)	2,19 (0,14)	2,23 (0,17)	2,33 (0,18)	2,03 (0,21)

Résultats (2): Associations de gènes

Associations significatives ($p < 0,05$)

qacA/B avec *sepA*

- OR=2,91 ; IC95]1,19-7,71[

norA

- OR=5,53 ; IC95]2,51-12,19[

mepA

- OR=6,22 ; IC95]2,78-13,9[

Tendance statistique ($p < 0,1$)

mepA avec

norA

- OR=1,93 ; IC95]0,92-4,05[

sepA

- OR=2,14 ; IC95]0,96-4,78[

		<i>qacA/B</i>		p-value
		Pos.	Neg.	
<i>sepA</i>	Pos.	26	8	0,0237
	Neg.	48	43	

		<i>norA</i>		p-value
		Pos.	Neg.	
<i>qacA/B</i>	Pos.	30	16	<0,001
	Neg.	20	59	

		<i>mepA</i>		p-value
		Pos.	Neg.	
<i>qacA/B</i>	Pos.	29	17	<0,001
	Neg.	17	62	

		<i>norA</i>		p-value
		Pos.	Neg.	
<i>mepA</i>	Pos.	23	23	0,0915
	Neg.	27	52	

		<i>mepA</i>		p-value
		Pos.	Neg.	
<i>sepA</i>	Pos.	17	17	0,0945
	Neg.	29	62	

Résultats (3): Association ATS - Gènes

<i>smr</i> (n=19)	Pos.	Neg.
DAKALL	8	73
DAK	3	39
DAKOH	5	34
PVI	11	33

**Surreprésentation de *smr*
si PVI vs. DAK (non-alcool)**

OR=3,04
IC95]1,12-8,26[

<i>mepA</i> (n=46)	Pos.	Neg.
DAKALL	21	60
DAK	13	29
DAKOH	8	31
PVI	25	19

**Surreprésentation de *mepA*
si PVI vs. DAK (avec ou sans OH)**

DAK : OR=2,94 ; IC95]1,21-7,13[
DAKOH : OR=5,10 ; IC95]1,91-13,59[

<i>sepA</i> (n=34)	Pos.	Neg.
DAKALL	26	55
DAK	16	26
DAKOH	10	29
PVI	8	36

**Surreprésentation de *sepA*
si DAK vs. PVI (non-alcool)**

OR=2,77
IC95]1,03-7,43[

<i>lmrS</i> (n=52)	Pos.	Neg.
DAKALL	40	41
DAK	21	21
DAKOH	19	20
PVI	12	37

**Surreprésentation de *lmrS*
si DAK vs. PVI (avec ou sans OH)**

DAK : OR=1,83 ; IC95]1,09-6,55[
DAKOH : OR=2,53 ; IC95]0,99-6,31[

<i>qacA/B</i> (n=74)	Pos.	Neg.
DAKALL	52	29
DAK	30	12
DAKOH	22	17
PVI	22	22

**Surreprésentation de *qacA/B*
si DAK vs. PVI (non-alcool)**

OR=1,43
IC95]1,02-6,11[

Résultats (4): Association conséquences - Gènes

La colonisation de PVC (>10³ UFC/ml) est associée à un **nombre plus important de gènes testés positifs** (tendance statistique; $\Delta=0,42$; $p<0,1$)

- ***sepA* est surreprésenté** dans les souches colonisant les PVC
 - **Seul**
OR= 3,16 ; IC95]1,37-7,29[
 - **En association avec *qacAB***
OR= 2,82 ; IC95]1,16-6,83[

	Absence colonization (n=43)	Presence Colonization (n=82)
Number of gene per bacteria (mean; SEM)	2,51 (0,20)	2,09 (0,13)
Gene name (n)		
<i>norA</i> (n=50)	17 (39,5)	33 (40,2)
<i>mepA</i> (n=48)	20 (46,5)	28 (34,1)
<i>qacA/B</i> (n=74)	27 (62,8)	47 (57,3)
<i>sepA</i> (n=32)	17 (39,5)	15 (18,3)
<i>lmrS</i> (n=52)	20 (46,5)	32 (39,0)
<i>smr</i> (n=19)	7 (16,3)	12 (14,6)
Gene association (n;%)		
<i>mepA+qacA/B</i> (n=29)	13 (30,2)	16 (19,5)
<i>qacA/B+sepA</i> (n=26)	14 (32,6)	12 (14,6)

Résultats (5): Association espèces - Gènes

Staphylococcus aureus présente un nombre plus important de gènes testés positifs que les CNS ($\Delta=1,59$; $p<0,05$)

- sepA* est surreprésenté dans les souches de *Staphylococcus aureus*
 - Seul
OR= 4,68 ; IC95]1,37-15,99[
 - En association avec *qacA/B*
OR= 6,93 ; IC95]1,99-24,17[
- lmrS* est surreprésenté dans les souches de *Staphylococcus aureus*
 - OR= 20,08 ; IC95]2,5-161,24[

	<i>S.aureus</i> (n=12)	CNS (n=113)
Number of gene per bacteria (mean; SEM)	3,67 (0,26)	2,08 (0,11)
Gene name (n)		
<i>norA</i> (n=50)	7 (58,3)	44 (38,9)
<i>mepA</i> (n=48)	6 (50,0)	43 (38,1)
<i>qacA/B</i> (n=74)	9 (75,0)	63 (55,8)
<i>sepA</i> (n=32)	7 (58,3)	26 (23,0)
<i>lmrS</i> (n=52)	11 (91,7)	40 (35,4)
<i>smr</i> (n=19)	3 (25,0)	17 (15,0)
Gene association (n;%)		
<i>mepA+qacA/B</i> (n=29)	4 (33,3)	25 (22,1)
<i>qacA/B+sepA</i> (n=26)	7 (58,3)	19 (16,8)

Discussion (1) : Conséquences

Une des premières étude sur les caractéristiques de souches sélectionnées par les protocoles antiseptiques de routine dans le cadre du soin courant.

Un niveau préoccupant?

Country	MRSA-isolates (n)	qacA/B detection rate
Malaysia	60	83.3%
China	53	83.0%
Brazil	74	80%
Australia	151	78.6%
Malaysia	95	70.5%
Korea	465	65%
Turkey	28	64.3%
Europa	297	62.2%
China	131	61.1%
Taiwan	96	43.8%
Asia	894	41.6%
Republic of Korea	169	37.7%
Japan	283	33.9%
Japan	334	32.6%
Serbia	50	32%
Scotland	38	26.3%

Kampf. G. JHI 2016

Un critère de choix?



Une adaptation clinique/anatomique ?

Bacterial species	Type and number of infections	Patient population	Source of infection and role of CHG resistance
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	Eleven cases of bacterial ventriculitis	Patients on a neurosurgical unit after craniotomy or trepanation	Eleven strains of <i>A. xylosoxidans</i> were identified from cerebrospinal fluid. Of them, seven strains were able to survive in a solution of 2% CHG, three strains in 1% CHG, and one strain in 0.1% CHG. The species was isolated from a container for disposal of surgical instruments which contained a 0.1% CHG solution. CHG at 0.1% was in addition used for surgical skin scrubbing and for the preoperative treatment of skin.
<i>Serratia marcescens</i>	Twelve cases of bacteremia in ten patients; three patients died.	Patients on a paediatric oncology unit with Hickman-lines	The source of the outbreak was a container close to the patients filled with 0.5% CHG in tap water. The container was used to store clamps which were used during disconnection to avoid air entry. The solution was renewed daily. The container, however, was neither cleaned or processed.
<i>Proteus mirabilis</i>	88 cases of urinary tract infections and two other types of infection.	Patients on general medical and geriatric wards; 75% of the urinary tract infections were catheter-associated	The isolate was multi-resistant and chlorhexidine resistant. Resistance to CHG was assumed when an isolates was able to survive in 200 mg/l CHG. The outbreak was suspected to be caused by the widespread use of CHG for various types of antiseptic treatment including hand hygiene.
Methicillin-resistant <i>S. aureus</i>	One case of recurrent cutaneous abscess	Patient with a first cutaneous infection on the left knee followed by a similar infection nine weeks later on the left foot	The patient was in a study group that received 4% chlorhexidine soap for weekly showering. He had used chlorhexidine once or twice before his first episode and four or five times prior to the second episode. The first clinical isolate (PFGE type USA 300) was negative for the chlorhexidine resistance genes (qacA/B), but the second one was positive (also PFGE type USA 300).
Methicillin-resistant <i>S. aureus</i>	517 patients admitted with an MRSA infection, 347 patients acquired an MRSA infection	Two intensive care units	MRSA carrier were treated with an antiseptic protocol: 1% CHG applied to nostrils, around the mouth, and at tracheostomy sites 4 times daily; 1% CHA applied daily to groin, axillae, and skinfolds; 4% CHG for daily



Discussion (2) : Perspectives

- Association des gènes avec des **phénotypes de résistance** cliniquement pertinents aux antibiotiques et aux antiseptiques.
- Etude d'autres molécules antiseptiques/désinfectantes (CHG en cours, alcool, Hexamedine, ...).
- Application aux **bactéries gram négatives - fungi**
- Etude des **niveaux d'expression de ces gènes par transcriptomique/RTqPCR**



Merci pour votre attention



Caroline Michaud
Manon Prat
Lila Couteau



Jeremy Guenezan
Bertrand Drugeon
Olivier Mimoz



Pharmacology of Antimicrobial Agents
Research group - INSERM U1070

Julien Buyck
Matthieu Boisson
Noémie Prébonneau

Maxime.pichon@chu-poitiers.fr

© RICAI 2021 Tous droits réservés.

© RICAI 2021 Tous droits réservés.