

**Infections à *Escherichia coli* producteurs de
beta-lactamase à spectre élargi (BLSE) chez
les enfants :
les souches communautaires sont-elles
différentes des souches nosocomiales?**

Présentation Outcomerea
04-12-2015
M.Morgand

Pourquoi?

- En 20 ans : explosion des infections/colonisations à *Escherichia coli* BLSE
- En milieu hospitalier comme en milieu communautaire
- Clone circulant pandémique O25b:H4-ST131
- Bactéries responsables
 - d'infections plus sévères
 - d'augmentation des durées de séjour
 - Favorisent l'émergence de carbapénémases

Caractéristiques de l'étude

Critères d'inclusion

- moins de 16 ans
 - Prélèvements microbiologiques pertinents à *E. coli* (galerie API 20)
 - Phénotype BLSE à l'antibiogramme
- 1^{er} épisode d'infection à ce germe (atcd de colonisation ok)**

Critères d'exclusion

- Infections communautaires :
 - Infection >48h d'hospitalisation
 - Antibiothérapie récente (1 mois)
 - Hospitalisation récente (6 mois)
 - Soins au long cours
 - Institutionnalisation
- Infections nosocomiales
 - <7 jours d'hospitalisation
- En cas d'infection urinaire :
 - Prélèvement polymicrobien
 - Seuil de significativité de l'examen cytobactériologique des urines **non atteint** (leucocyturie $\geq 10^4$ /ml et bactériurie $\geq 10^5$ UFC/ml)

Recueil des souches d' *Escherichia coli* BLSE

Initialement
176 souches

Necker
2008-2012

Trousseau
2009-2011

Nosocomiales
41 souches

Communautaires
90 souches

Nosocomiales
10 souches

Communautaires
35 souches

14 retenues

19 retenues

8 retenues

18 retenues

17 exclues

71 exclues

2 exclues

17 exclues

- Non BLSE: 1
- Manque de données : 3
- Colonisation : 7
- Critères exclusion: 6
(Infection < à 7jrs ;
ECBU non significatif)

- Non BLSE: 4
- Manque de données:22
- Souches perdues: 13
- Colonisation: 6
- Critères d'exclusion :26
(liés au soins,
ECBU non significatif)

- Non BLSE : 1
- Infection < à 7Jrs:1

- Non BLSE: 2
- Infection à BLSE antérieure :1
- Manque de données : 2
- Colonisation : 2
- Critères exclusion: 10
(plus de 16ans, hospitalisation ou
antibiothérapie récente, soins au
long cours)

Soit au total :

- 37 souches communautaires
- 22 souches nosocomiales

Caractéristiques étudiées

- Type de BLSE
- Groupe phylogénétique
- Clonalité
- Résistances associées
- Facteurs de virulence : 11 testés (adhésines, capteur de fer, invasines...)
- Capacité de croissance en différents milieux
- Capacité à produire du biofilm

Résultats

Comparaison des deux groupes d'enfants

| | Origin of infection | | p-value |
|--|-----------------------------------|---------------------------|---------|
| | Community-acquired (CA) (n=37) | Nosocomial (NA) (n=21) | |
| Age (years)** | 1 (0-4) | 2 (0-7) | 0.2 |
| Number of male/female (% male) | 14/23 (37.8) | 6/15 (28.6) | 0.6 |
| Uropathy [N=54]* | 8 (21.6) | 6 (37.5) | 0.3 |
| Frequent urinary tract infections [N=52]* | 7 (18.9) | 4 (28.6) | 0.5 |
| Recent travel (1-3 months) [N=32]* | 5 (26.3) | 2 (16.7) | 0.7 |
| Prolonged used of antibiotics [N=39]* | 7 (26.9) | 8 (66.7) | 0.02 |
| Recent hospitalization (6-12 months) [N=48]* | 3 (8.8) | 10 (76.9) | <0.001 |
| Type of infection* | | | 0.005 |
| Urinary | 37 (100) | 16 (76.2) | |
| Meningitis | 0 | 1 (4.8) | |
| Pneumonitis | 0 | 1 (4.8) | |
| Peritonitis | 0 | 1 (4.8) | |
| Septicemia | 0 | 2 (9.5) | |
| Year of infection* | | | 0.11 |
| 2008 | 3 (8.1) | 7 (33.3) | |
| 2009 | 14 (37.8) | 3 (14.3) | |
| 2010 | 10 (27.0) | 4 (19.1) | |
| 2011 | 9 (24.3) | 6 (28.6) | |
| 2012 | 1 (2.7) | 1 (4.8) | |

*Number (%), **Median (interquartile range QR)

Communautaires:

- Moins d'antibiotiques
- Moins de fdr infectieux
- Autant d'IU à répétition
- Autant d'uropathie

Majoritairement infections urinaires (91.5%)

IU = infection urinaire
Fdr = facteur de risque

Résultats

Caractéristiques des souches

| | Origin of infection | | <i>p</i> -value |
|-------------------------------|--------------------------|-----------------------|-----------------|
| | CA (<i>n</i> =36)*** | NA (<i>n</i> =21) | |
| ESBL type* | | | 0.06 |
| CTX-M1 | 23 (63.9) | 13 (61.9) | |
| CTX-M9 | 12 (33.3) | 3 (14.3) | |
| SHV | 0 | 1 (4.8) | |
| TEM | 1 (2.8) | 4 (19.1) | |
| ESBL sequence* | | | 0.11 |
| CTX-M1 | 4 (11.1) | 4 (19.1) | |
| CTX-M3 | 3 (8.3) | 3 (14.3) | |
| CTX-M14 | 11 (30.6) | 3 (14.3) | |
| CTX-M15 | 16 (44.4) | 6 (28.6) | |
| CTX-M27 | 1 (2.8) | 0 | |
| SHV-12 | 0 | 1 (4.8) | |
| TEM-52 | 1 (2.8) | 4 (19.1) | |
| Resistance associated* | | | |
| OXA-1 | 8 (22.2) | 3 (14.3) | 0.7 |
| TEM-1 | 17 (47.2) | 8 (38.1) | 0.6 |
| Gentamicine | 17 (47.2) | 9 (42.9) | 0.8 |
| Ciprofloxacin | 21 (58.3) | 13 (61.9) | 0.9 |
| Trimethoprim-Sulfamethoxazole | 25 (69.4) | 13 (61.9) | 0.6 |
| Phylogenetic group* | | | 0.7 |
| A | 4 (11.1) | 3 (14.3) | |
| B1 | 1 (2.8) | 2 (9.5) | |
| B2 | 18 (50) | 8 (38.1) | |
| B2-3 | 14 (38.9) | 6 (28.6) | |
| ST131 clone (% B2 strains) | 12 (67) | 5 (62.5) | |
| C | 3 (8.3) | 2 (9.5) | |
| D | 7 (19.4) | 2 (9.5) | |
| Clonal group A | 2 | 0 | |
| F | 3 (8.3) | 4 (19.1) | |

Pas de différence globale de répartition pour :

- BLSE
- Résistance associée
- Groupe phylogénétique

Répartition des CTX-M
 CTX-M-15 > CTX-M-14
 > CTX-M-1

Groupe B2-3:
 majoritairement clone
 ST131

Résultats

Caractéristiques des souches

Facteurs de virulence

Souches communautaires: 4 FV Souches nosocomiales: 3 FV (médiane)

*Ajustement des différences en nombre de facteurs de virulence.
Modèle de régression linéaire*

Groupe phylo New clermont

| Origine de l'infection | Différence | (IC 95%) | p |
|--|-------------|--------------|--------------|
| Analyse univariée | | | |
| Nosocomiale | 0 | | |
| Communautaire | 0.9 | (0.09, 1.79) | 0.049 |
| Analyse multivariée | | | |
| <i>Ajustement aux BLSE et au groupe phylogénique</i> | | | |
| Nosocomiale | 0 | | |
| Communautaire | 1.12 | (0.17, 2.07) | 0.02 |

Les souches communautaires possèdent plus de FV que les souches nosocomiales

Répartition des facteurs de virulence

| Facteurs de virulence* | Communautaires (n=37) | Nosocomiales (n=22) | p-value |
|--|-----------------------|---------------------|--------------|
| <i>fyuA</i> | 33 (89.2) | 15 (68.2) | 0.045 |
| <i>hlyC</i> | 11 (29.7) | 1 (4.6) | 0.02 |
| <i>sfa</i> | 4 (10.8) | 4 (18.2) | 0.5 |
| <i>papC</i> | 19 (51.4) | 3 (13.6) | 0.005 |
| <i>iucc</i> | 32 (86.5) | 19 (86.4) | 0.9 |
| <i>papGIII</i> | 0 | 2 (9.1) | 0.14 |
| <i>cnf</i> | 4 (10.8) | 2 (9.1) | 0.9 |
| <i>papGII</i> | 17 (46.0) | 1 (4.6) | 0.001 |
| <i>ibeA</i> | 1 (2.7) | 2 (9.1) | 0.5 |
| <i>ironN</i> | 7 (18.9) | 11 (50.0) | 0.01 |
| agK1 | 27 (73.0) | 12 (54.6) | 0.18 |
| Nombre de facteurs de virulence** | 4 (3-6) | 3 (2-4) | 0.07 |

* médiane

Répartition différente de certains FV

- Communautaires : *fyuA*; *hly*; *papC*; *papGII*
- Nosocomiales : *ironN*

Résultats

Caractéristiques des souches

Facteurs de virulence

Souches les plus virulentes:

➤ ≥ 5 FV

➤ 43% souches communautaires

➤ 22.7% souches nosocomiales

Ajustement de la répartition des FV (seuil de virulence ≥ 5 FV) - Régression logistique

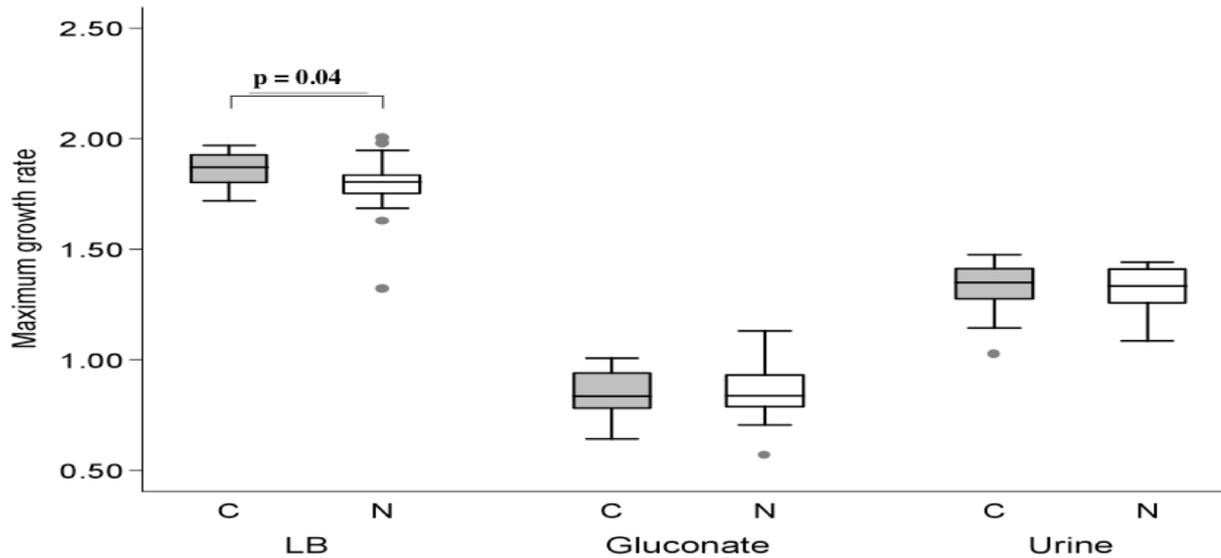
| | OR | (95% CI) | <i>p</i> |
|--|-------------|--------------|-------------|
| Origine de l'infection | | | |
| Analyse multivariée | | | |
| <i>Ajustement aux BLSE et au groupe phylogénique</i> | | | |
| Nosocomiale | 1.00 | -- | -- |
| Communautaire | 9.17 | (1.59-53.01) | 0.02 |

-Souches C : 9,17 fois plus de risque d'avoir au moins 5 FV que les souches N (p= 0.02)

Résultats

Caractéristiques des souches

Capacités de croissance – Fitness des bactéries



box plot de la croissance des souches en milieu LB, urine et MM gluconate

Milieu LB:

MGR C = 1.87 h^{-1} vs MGR N = 1.80 h^{-1} (**p=0.04**)

Résultats

Caractéristiques des souches

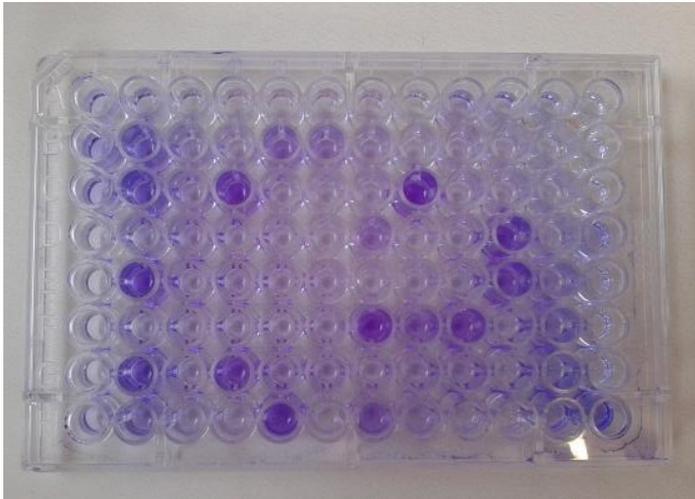
Propension à la fabrication de biofilm

Mise en culture des souches en milieu LB ou LB enrichi en gluconate (3 répétitions)

Teinture au crystal violet après 20 heures de culture en microplaques en polystyrène

Mesure de la DO_{540nm} du biofilm teint, solubilisé par éthanol

Calcul du SBF => specific biofilm formation =
$$\frac{(DO_{540nm} \text{ Biofilm souche} - DO_{540nm} \text{ puits sans Bactérie})}{DO_{630nm} \text{ Bouillon bactérien}}$$



| Milieu | SBF Souches communautaires * | SBF Souches nosocomiales * | p |
|--------|------------------------------|----------------------------|------|
| LB | 0.014 (0.004-0.109) | 0.006 (0.002-0.017) | 0.11 |

* médiane

Tendance à une meilleure production de biofilm pour les souches communautaires mais NS

Synthèse

Les souches communautaires semblent posséder **plus de FV** que les souches nosocomiales
La **répartition** des FV **diffère** selon l'origine des souches.
Adaptabilité des souches en fonction de leur environnement? Critères d'hôtes?

Souches communautaires:

- Meilleure **capacité de croissance** en milieu riche
- Tendance à une meilleure faculté à fabriquer du biofilm?

Merci !

1^{ère} étude pédiatrique comparant strictement des souches communautaires à des souches nosocomiales en contexte d'infection.

Souches **semblables** sur le plan :

- Du type de BLSE exprimée
- Des résistances associées
- De la répartition des groupes phylogénétiques

Par rapport à la littérature: résultats similaires

- Répartition des BLSE :

CTX-M15 > CTX-M14 > CTX-M1

- Grande variété génétique sauf dans le groupe B2-3

=> Diffusion du clone ST131 dans le milieu pédiatrique

- **Répartition phylogénétique superposable à**

- Etude pédiatrique américaine (Revell)
- Etudes rapportées chez les adultes

Résultats

Caractéristiques des souches

Capacités de croissance – phénotype métabolique

| Sources Carbone | Origine des souches | | p |
|---------------------------------|---------------------|--------------|--------------|
| | Communautaires | Nosocomiales | |
| Nombre total substrats utilisés | 40 | 39 | 0.54 |
| D Saccharic acid | 36/37 (97%) | 17/22 (77%) | 0.013 |
| L rhamnose | 32/37 (86.5%) | 22/22 (100%) | 0.07 |
| M Inositol | 0/37 (0%) | 2/22 (9%) | 0.06 |

- Pas de différence en nombre total de substrats utilisés

- D saccharic acid plus utilisé par souches C

| Sources Carbone | Antibiothérapie récente chez l'hôte | | p |
|------------------------------|-------------------------------------|--------------|--------------|
| | Oui | Non | |
| L alanyl glycine | 68.8% | 95.7% | 0.022 |
| L rhamnose | 100% | 82.6% | 0.078 |
| L alanine | 56.2% | 82.6% | 0.07 |
| L asparagine | 50% | 78.3% | 0.06 |
| Lactulose | 6.2% | 52.2% | 0.0027 |
| Monomethyl succinate | 81.2% | 47.8% | 0.034 |
| p- hydroxy phénylacétic acid | 12.5% | 43.5% | 0.039 |
| Acide succinique | 81.2% | 47.8% | 0.01348 |

L rhamnose plus utilisé par souches N et en cas d'antibiothérapie récente chez l'hôte

Résultats

Caractéristiques des souches : Facteurs de virulence

- Souches C ont en moyenne 1 FV de plus : 4.22 vs 3.32 (**p=0.049**)
- En analyse multivariée , différence de 1.12 en faveur des souches C (**p= 0.02**)
- Souches les plus virulentes : 9 fois plus de risque d'avoir au moins 5 FV chez les souches C (p= 0.02)
(modèle régression logistique ajusté au type de BLSE et au groupe phyloénétique)

Répartition des facteurs de virulence

| | Origin of infection | | p-value |
|--------------------|---------------------|--------------|--------------|
| | CA (n=36)*** | NA (n=21) | |
| Virulence factors* | | | |
| <i>fyuA</i> | 33 (91.7) | 15 (71.4) | 0.06 |
| <i>hlyC</i> | 11 (30.6) | 1 (4.8) | 0.04 |
| <i>sfa</i> | 4 (11.1) | 4 (19.1) | 0.5 |
| <i>papC</i> | 19 (52.8) | 3 (14.3) | 0.005 |
| <i>iucc</i> | 31 (86.1) | 19 (90.5) | 0.6 |
| <i>papGIII</i> | 0 | 2 (9.5) | 0.13 |
| <i>cnf</i> | 4 (11.1) | 2 (9.5) | 0.9 |
| <i>papGII</i> | 17 (47.2) | 1 (4.8) | 0.001 |
| <i>ibeA</i> | 1 (2.8) | 2 (9.5) | 0.6 |
| <i>iroN</i> | 6 (16.7) | 11 (52.4) | 0.007 |
| <i>agK1</i> | 27 (75) | 13 (61.9) | 0.4 |