

Dans l'œil du génome, quelle Hygiène de vie des BMR/BHRe normandes?

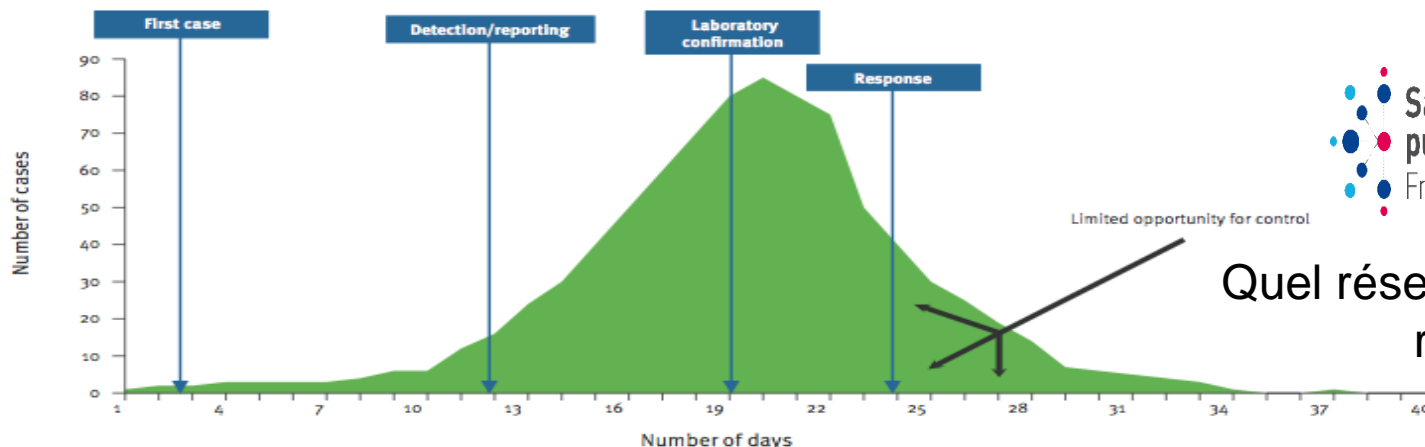
Pr Simon Le Hello
lehello-s@chu-caen.fr

Co-responsable CNR *E.coli-Shigella-Salmonella*
Unité des Bactéries Pathogènes Entériques
Institut Pasteur, 2008-2018

Chef de service Hygiène Hospitalière
CHU de Caen Normandie
depuis 1^{er} septembre 2018

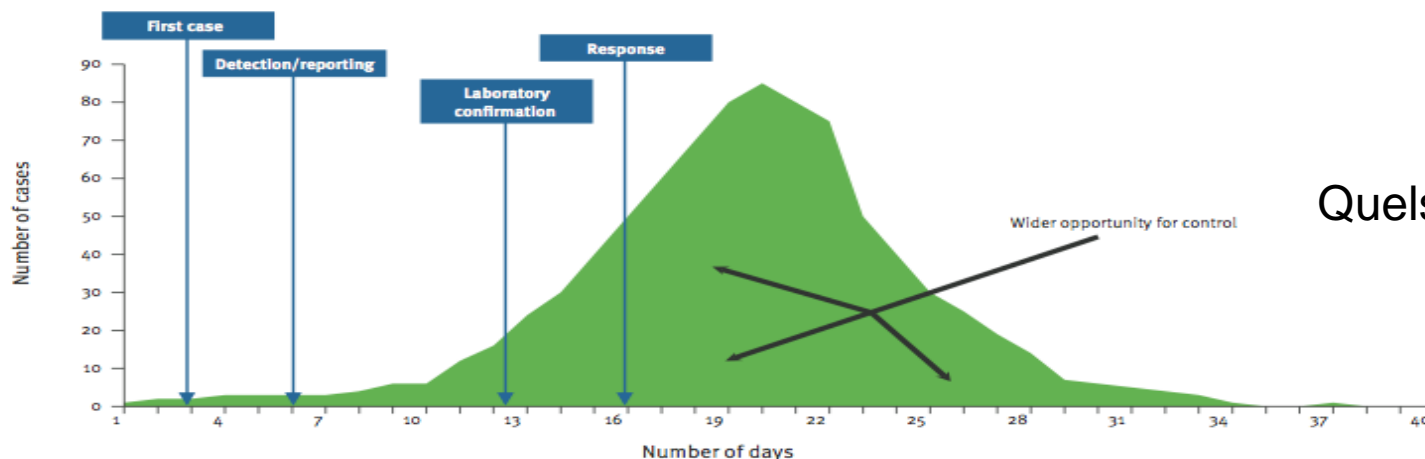
Détections – Investigations microbiologiques d'épidémies

A. Standard scenario



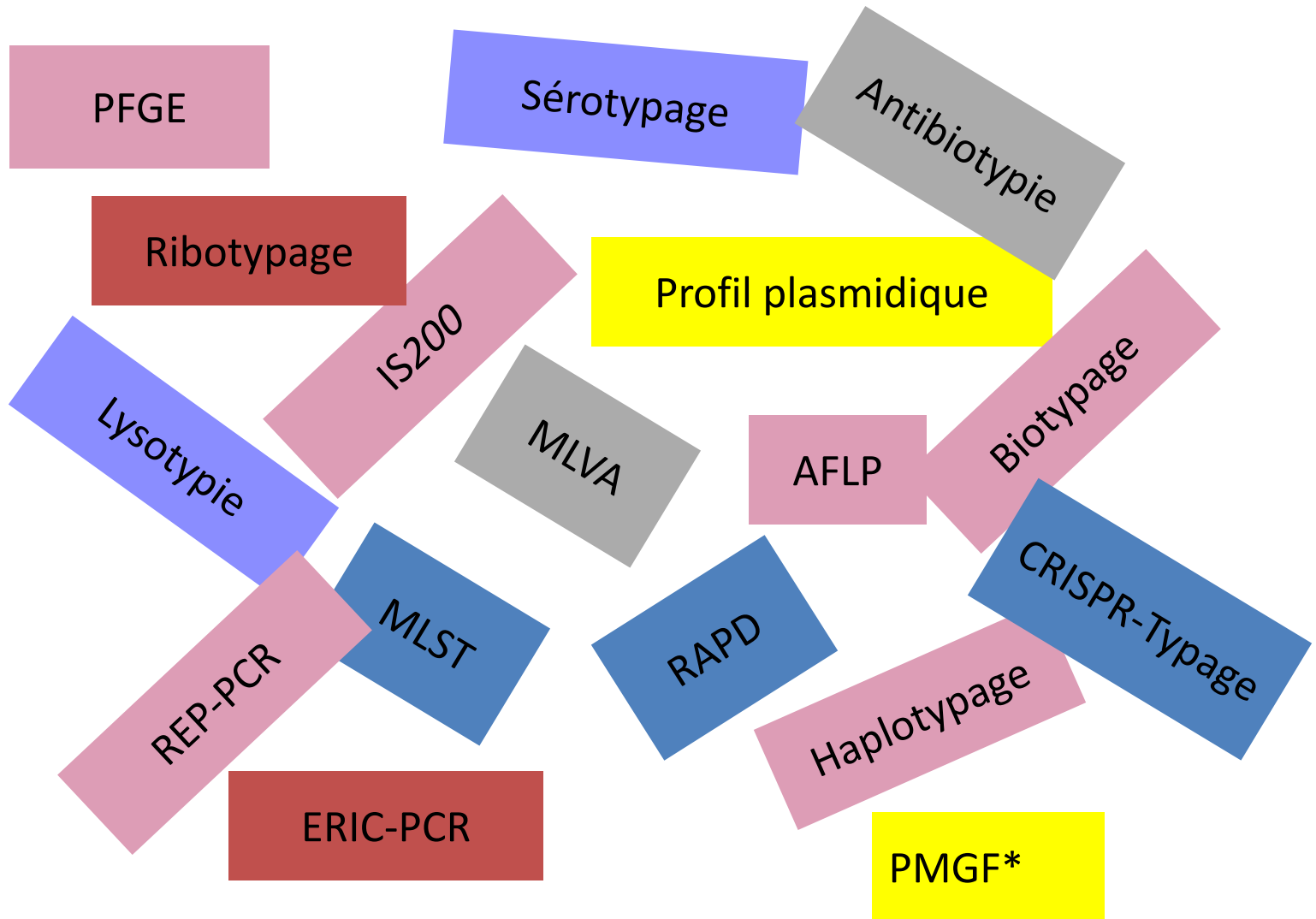
Quel réseau :
représentativité

B. Early detection scenario



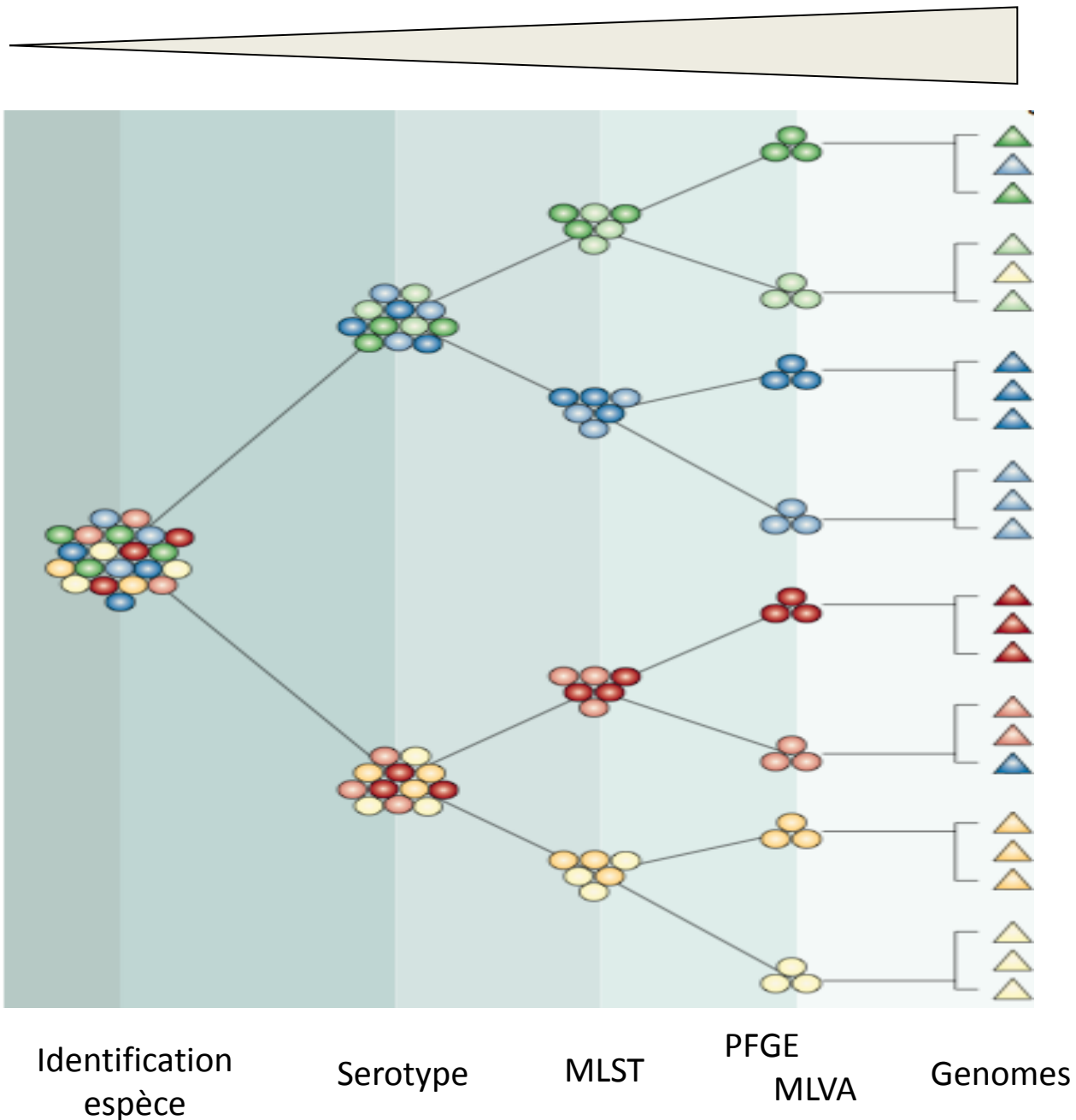
Quels outils :
statistiques
de typages

Méthodes de typages des bactéries



(Prochaine Méthode Géniale du Futur)

Critères d'acceptation : discrimination

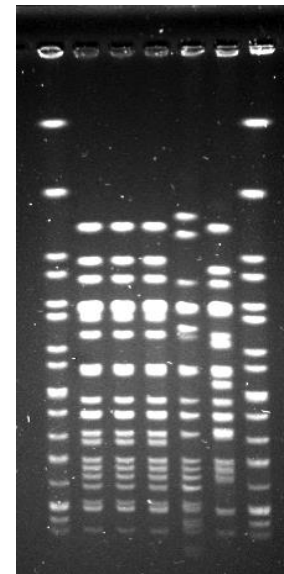
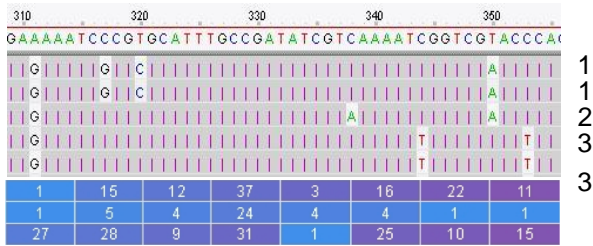
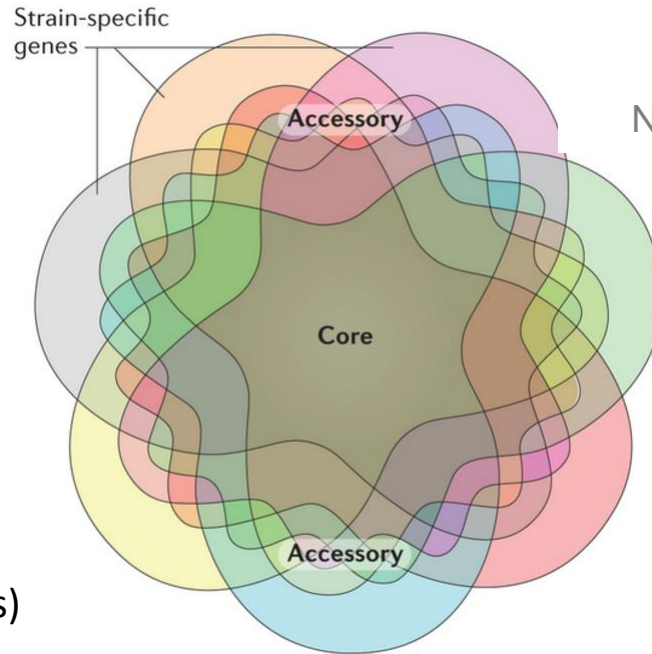


NGS : Next Generation Sequencing

WGS : Whole Genome Sequencing

Séquençage complet du génome

Shannon et al.
Nature Reviews Genetics, 2015



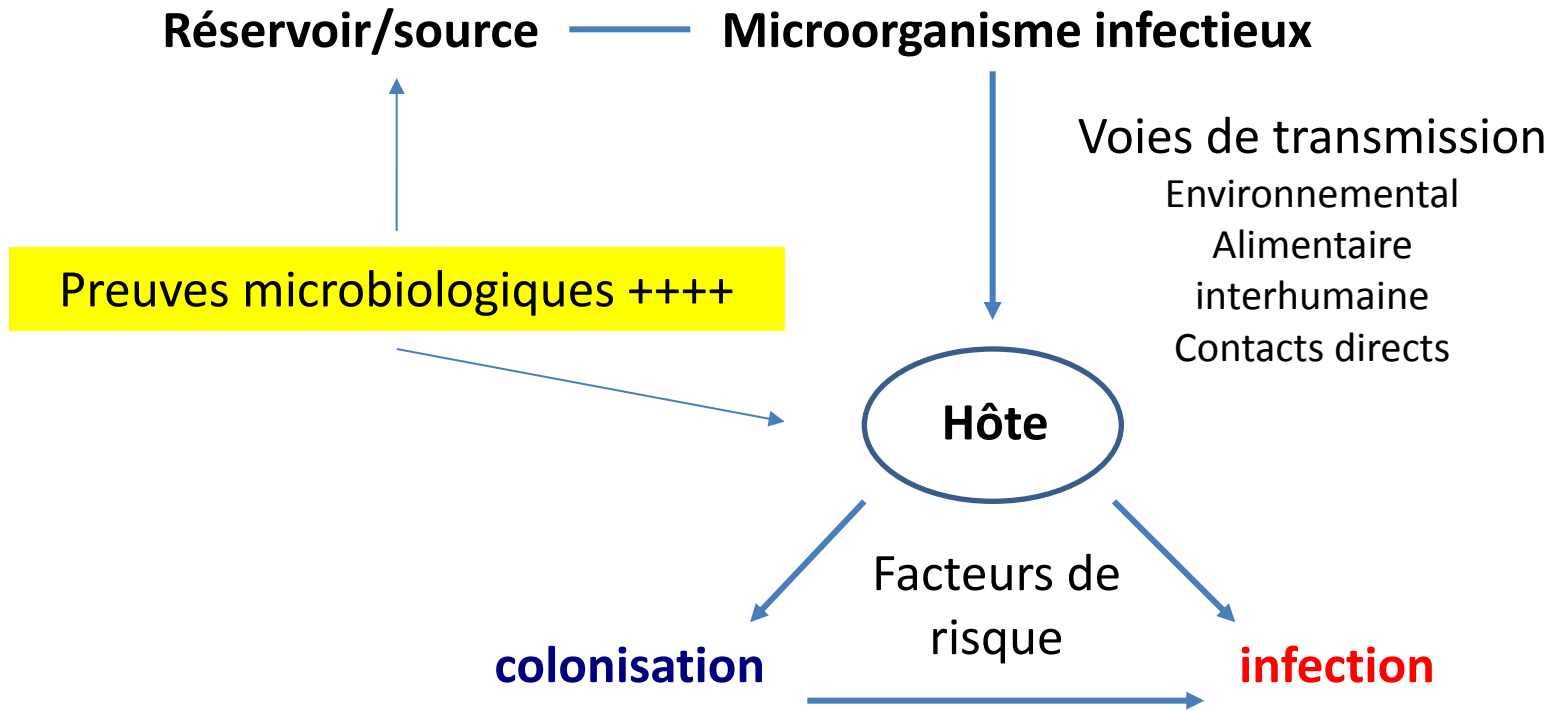
Macrorestriction ADN (PFGE, 10 à 15 sites polymorphiques) à **SNPs** (qqf > 30 000 SNPs)

```
:AAACAGGAACGCCGGGTGCA
:AAACAGGAACGCCGGGTGCAC
:AAACAGGAACGCCGGGTGCACG
:AAACAGGAACGCCGGGTGCACGC
:AAACAGGAACGCCGGGTGCACGC
:AAACAGGAACGCCGGGTGCACGC
:AAACAGGAACGCCGGGTGCACGC
:AAACAGGAACGCCGGGTGCACGC
:AAACAGGAACGCCGGGTGCACGC
:AAACAGGAACGCCGGGTGCACGC
:AAACAGGAACGCCGGGTGCACGC
```

Séquençage Sanger (500 bp) à **WGS** (5M bp)

MLST (7 gènes) à **cgMLST** (>3000 gènes)

Détections – Investigations des épidémies



Preuves microbiologiques :

- ✓ d'une transmission croisée
- ✓ d'une souche épidémique / sporadique
- ✓ d'une source de contamination

Génome : génotypage, virulome, résistome, plasmidome

Nom.etude	Beta.lactam	Fluoroquinolone Mutation	Trimethoprim	Colistin	Phenicol	Sulphonamide
C12-03	blaCTX-M-1	-	-	-	-	sul2
C12-06	blaCTX-M-1_blaSHV-12_blaTEM-35	-	dfrA19	-	-	sul1_sul2_sul2
C12-01	blaCTX-M-14	gyrA p.S83L, gyrA p.D87N, parC p.A56T, parC p.S80I	-	-	-	-
C12-10	blaCTX-M-14_blaCTX-M-19_blaTEM-1B	gyrA p.S83L, gyrA p.D87N, parC p.S80I, parC p.E84V, parE p.I529L	-	-	-	-
C13-07	blaCTX-M-14	parE p.I355T	-	-	-	-
P1EC03	-	-	-	-	-	-
C13-01	blaCTX-M-55_blaTEM-1B	gyrA p.S83L, gyrA p.D87N, parC p.S80I, parE p.S458A	dfrA14	-	cmlA1	sul2_sul3
C13-03	blaCTX-M-1_blaTEM-1B	-	dfrA17	-	catA1	sul2_sul2
C13-06	blaCTX-M-1_blaTEM-1B	gyrA p.S83L, gyrA p.D87N, parC p.S80I	dfrA1	-	catA1	sul1_sul2_sul2

Etude de l'écologie des entérobactéries BLSE du CHU

➤ Mise en place d'outils d'analyse des données de WGS comme supports d'études microbiologiques et Hygiène

1. Etude rétrospective sur *E.coli* BLSE, 2012-2016
2. 200 BMR/BHRe séquencées annuellement : fonds de surveillance + réponses aux épidémies
3. Appels à projets extérieurs : CHU, réseaux de labo médicaux et vétérinaires,....



➤ Quels sont les clones retrouvés à l'hôpital ?

➤ Epidémiologie communautaire vs nosocomiale ?

➤ Existe t-il des voies de disséminations des BMR/BHRe au sein de l'hôpital ?

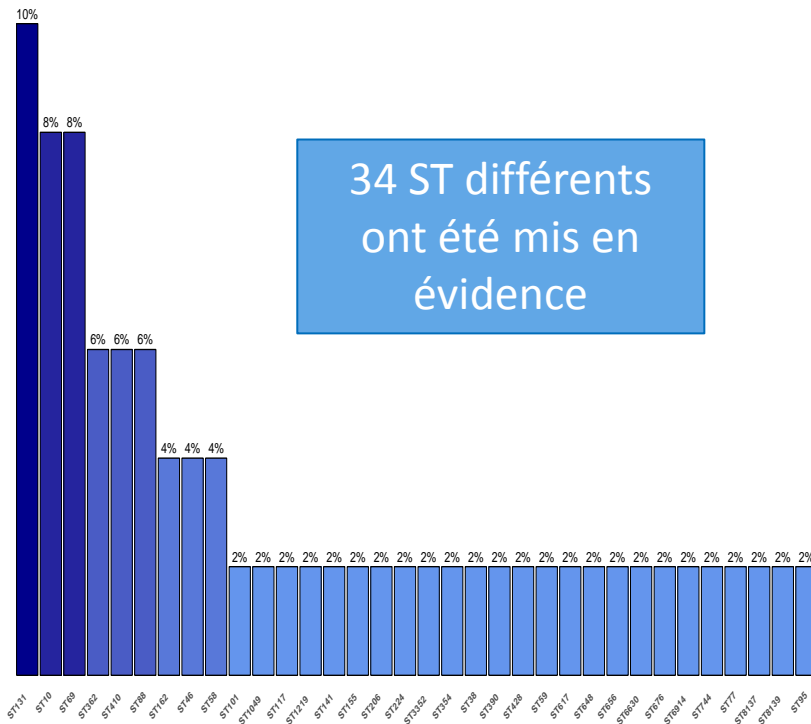
1. Etude rétrospective sur *E. coli* BLSE au CHU de Caen

Matériels et méthodes

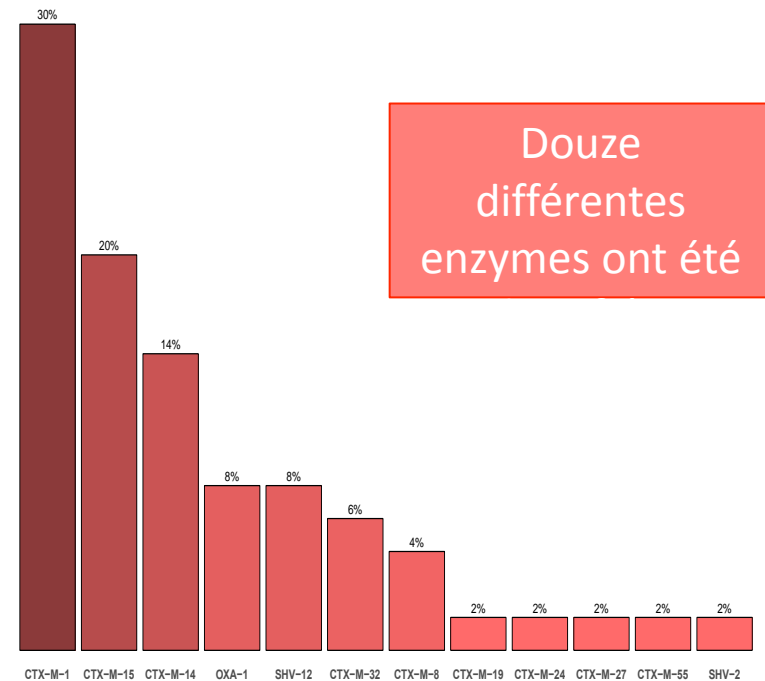
- Mono centrique et rétrospective
- 2012 - 2016
- Écouvillonnages rectaux
- Pas de restriction sur les caractéristiques des patients
 - Age
 - Sexe
 - Durée d'hospitalisation
 - Service clinique
- *Escherichia coli*
- 53 patients uniques
- Première identification (98%)
- Souches/an : [7-16]
- Sex ratio : 0,9
- Âge moyen : 64 ans
- 16 services cliniques

1. Etude rétrospective sur *E. coli* BLSE au CHU de Caen une très grande diversité

Proportion des ST isolés parmi les souches BLSE d'*E. coli* provenant du CHU de Caen entre 2012 et 2016



Proportion des BLSE isolées parmi les souches d'*E. coli* provenant du CHU de Caen entre 2012 et 2016

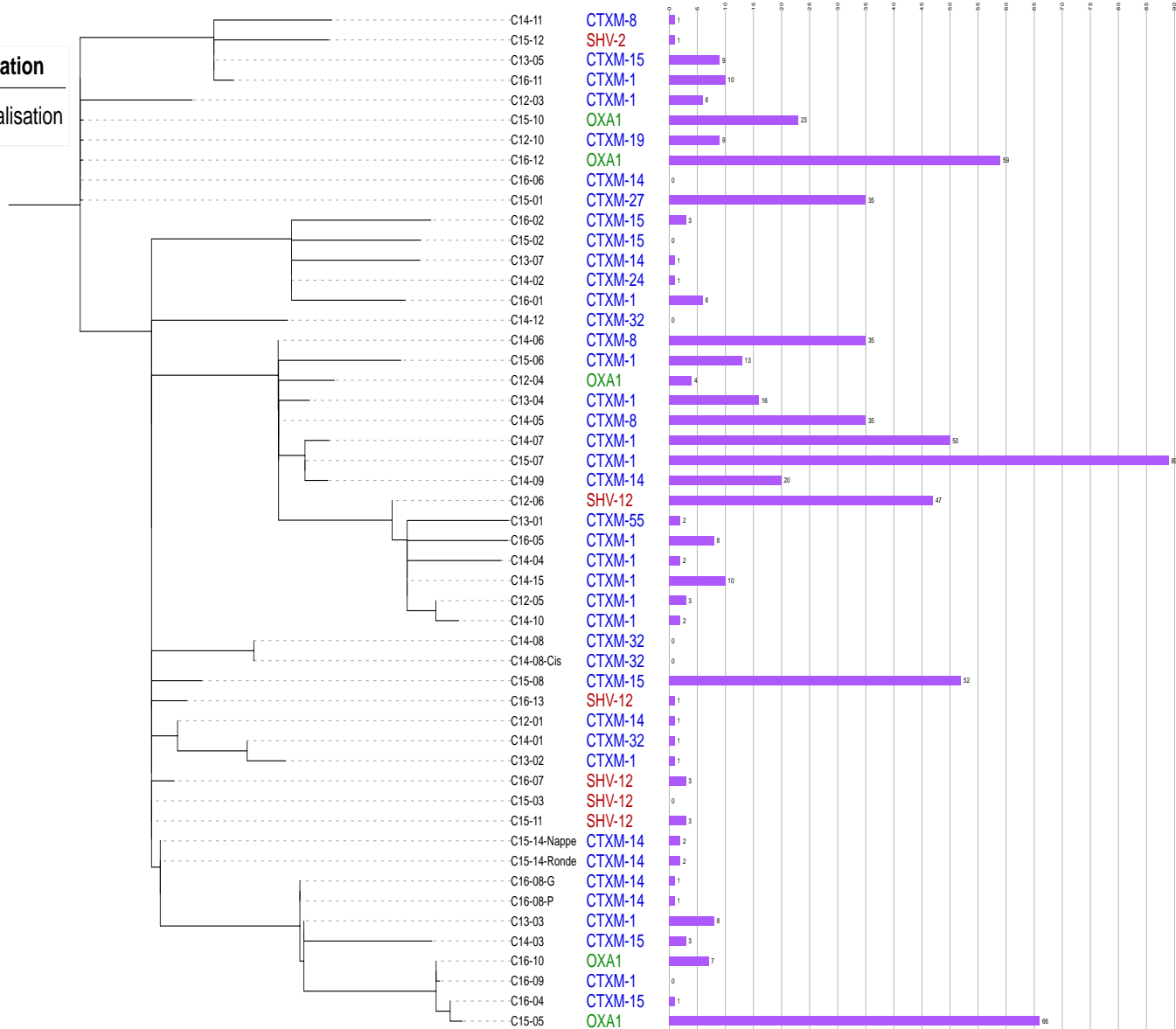


Acquisition type BLSE selon communauté/hôpital

Définition retenue : Acquisition après une durée d'hospitalisation > 48 heures

Tree scale: 1000

Duree_hospitalisation
 duree_hospitalisation



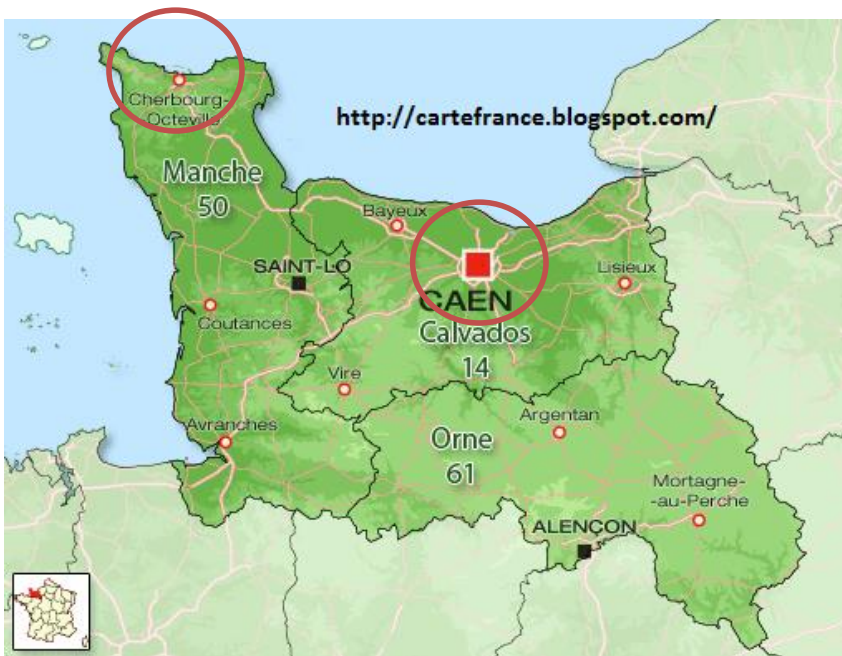
Définition retenue : Acquisition après une durée d'hospitalisation > 48 heures

	Communautaire	Nosocomial	chi2 value	p-value
blaCTX-M-1	7	12	1,1	0,4
blaCTX-M-14	7	2	4,2	0,06
blaCTX-M-15	3	9	2,8	0,13
blaCTX-M-24	1	0	1,2	0,46
blaCTX-M-32	3	0	3,7	0,11
blaCTX-M-55	1	0	1,2	0,46
blaCTX-M-8	1	2	0,2	1
blaSHV-12	2	3	0,1	1
blaSHV-2	1	0	1,2	0,46
blaCTX-M-19	0	1	0,9	1
blaCTX-M-27	0	1	0,9	1

	Medecine	Chirurgie	Reanimation	chi2 value	p value
blaCTX-M-1	8	6	2	3,4	0,2
blaCTX-M-15	6	3	2	1,9	0,44
blaCTX-M-19	1	0	0	1,7	1
blaCTX-M-32	1	2	0	2	0,51
blaCTX-M-8	3	0	0	5,4	0,09
blaCTX-M-14	0	3	5	7,1	0,02
blaCTX-M-24	0	1	0	2	0,64
blaSHV-12	0	1	4	7,2	0,02
blaSHV-2	0	1	0	2	0,64
blaCTX-M-27	0	0	1	2,4	0,29
blaCTX-M-55	0	0	1	2,4	0,3

”Seulement” 58 souches, manque de puissance de l’étude : inclusion plus importante

Epidémie d'*E. coli* BLSE



- Juin - Juillet 2017
- **12 patients** - 28 prélèvements positifs à *E. coli* BLSE
- **Deux hôpitaux** : CHU de Caen et Hôpital de Cherbourg
- Réanimations néonatalogie
- **Infections profondes** et **colonisation**
- **Antibiogrammes très proches**

Caractérisation des *E. coli* BLSE épidémiques

Patient	Nom.etude	Sexe	Age	Origin	ST
P1	P1-01	M	51	Eye	ST131
P1	P1-02	M	68	Stools	ST131
P2	P2-01	M	57	Eye	ST131
P2	P2-02	M	62	Stools	ST131
P2	P2-03	M	82	Stools	ST131
P3	P3-01	M	19	Stools	ST131
P3	P3-02	M	20	Blood	ST131
P3	P3-03	M	23	Stools	ST131
P3	P3-04	M	37	Blood	ST131
P3	P3-05	M	49	Stools	ST131
P3	P3-06	M	50	Stools	ST131
P4	P4-01	M	14	Stools	ST131
P5	P5-01LacN	M	6	Stools	ST131
P5	P5-01LacP	M	6	Stools	ST131
P6	P6-01	F	24	Stools	ST131
P6	P6-03	F	40	Stools	ST131
P6	P6-04	F	40	Stools	ST131
P6	P6-05	F	62	Stools	ST131
P7	P7-01	M	40	Stools	ST131
P7	P7-02LacN	M	48	Stools	ST131
P7	P7-02LacP	M	48	Stools	ST131
P8	P8-01LacN	M	21	Stools	ST131
P8	P8-01LacP	M	21	Stools	ST131
P8	P8-02	M	22	Eye	ST131
P9	P9-01	M	22	Respi	ST131
P10	P10-01	F	70	Stools	ST131
P12	P12-01	M	26	Stools	ST131
P13	P13-01	M	17	Stools	ST131

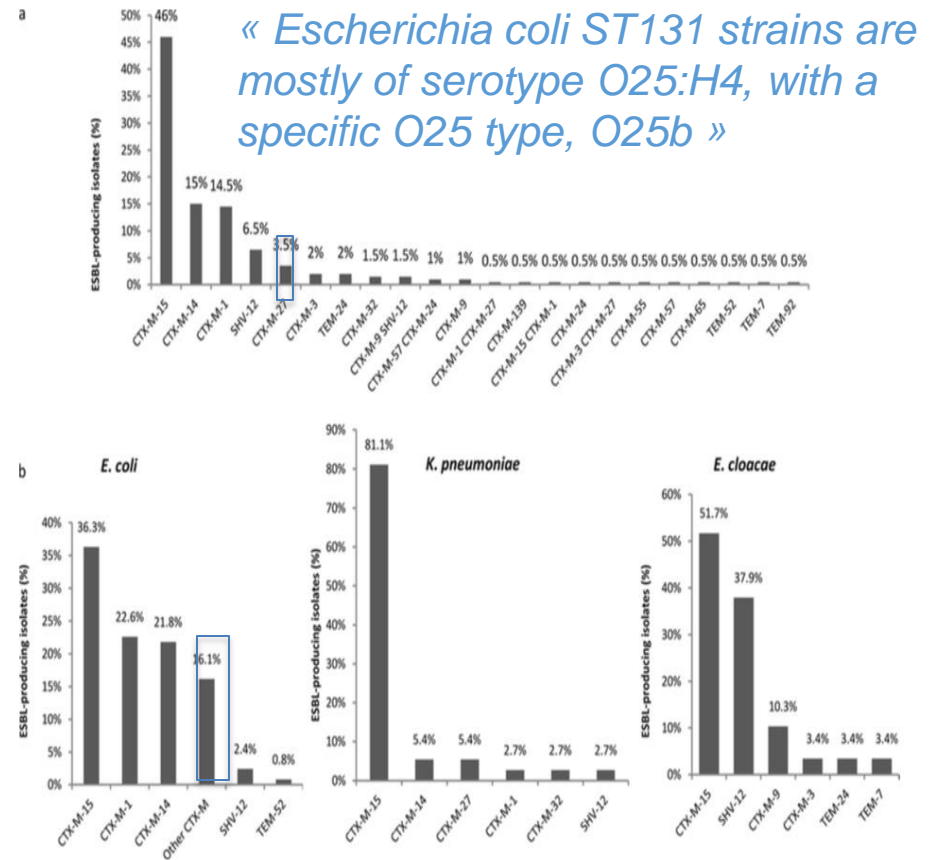
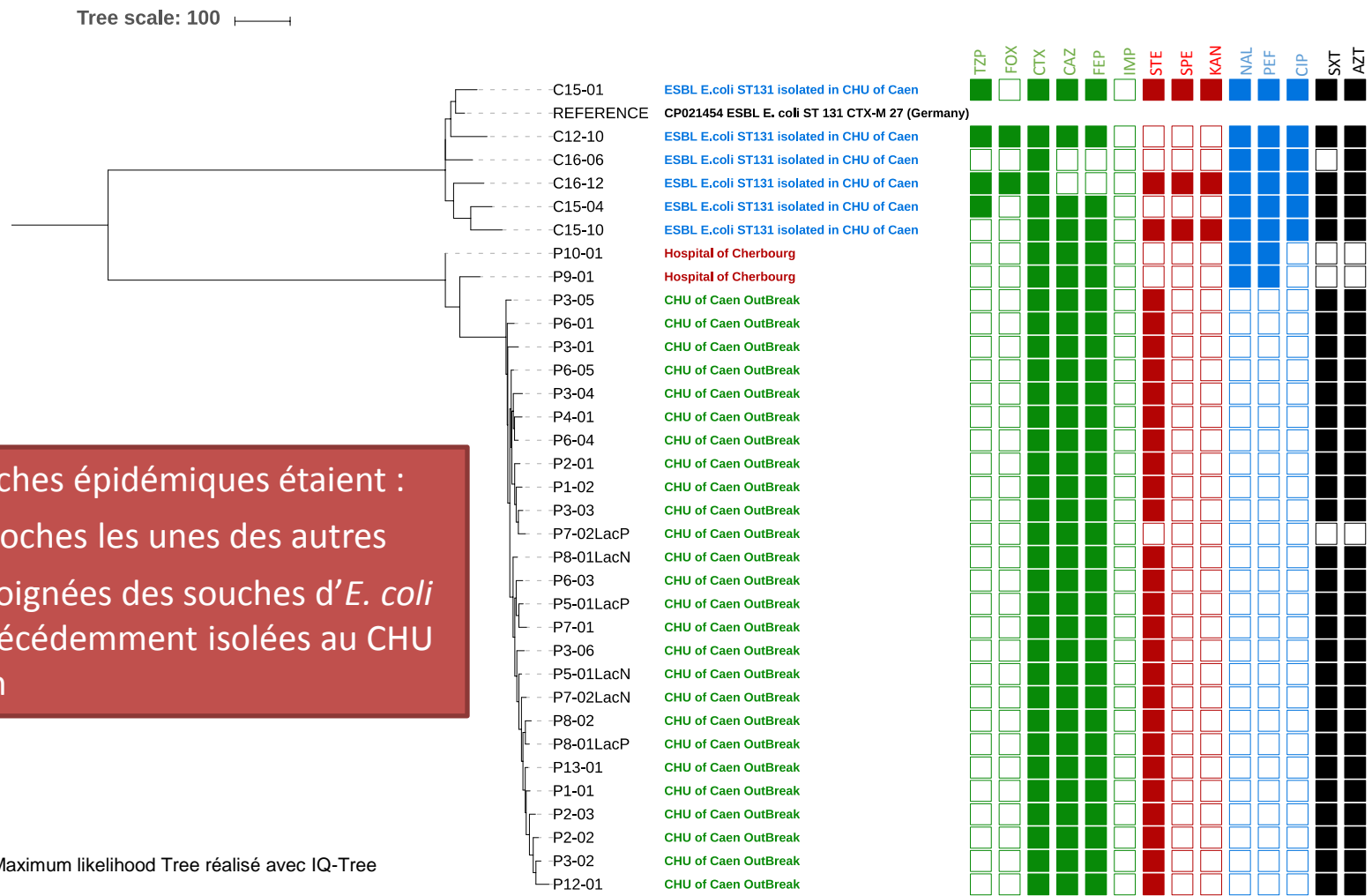


FIG 2 The diversity of ESBLs in *Enterobacteriaceae* isolated from clinical samples in 18 French hospitals ($n = 200$). (a) Prevalence of ESBLs in *Enterobacteriaceae*. (b) Distribution of ESBLs in *E. coli* ($n = 124$), *K. pneumoniae* ($n = 37$), and *E. cloacae* ($n = 29$).

Robin, F., et al. "Inventory of extended-spectrum- β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in France as assessed by a multicenter study." *Antimicrobial agents and chemotherapy* 61.3 (2017): e01911-16.

Epidémie de réanimation néonatale – Phylogénie locale ST131



Les souches épidémiques étaient :

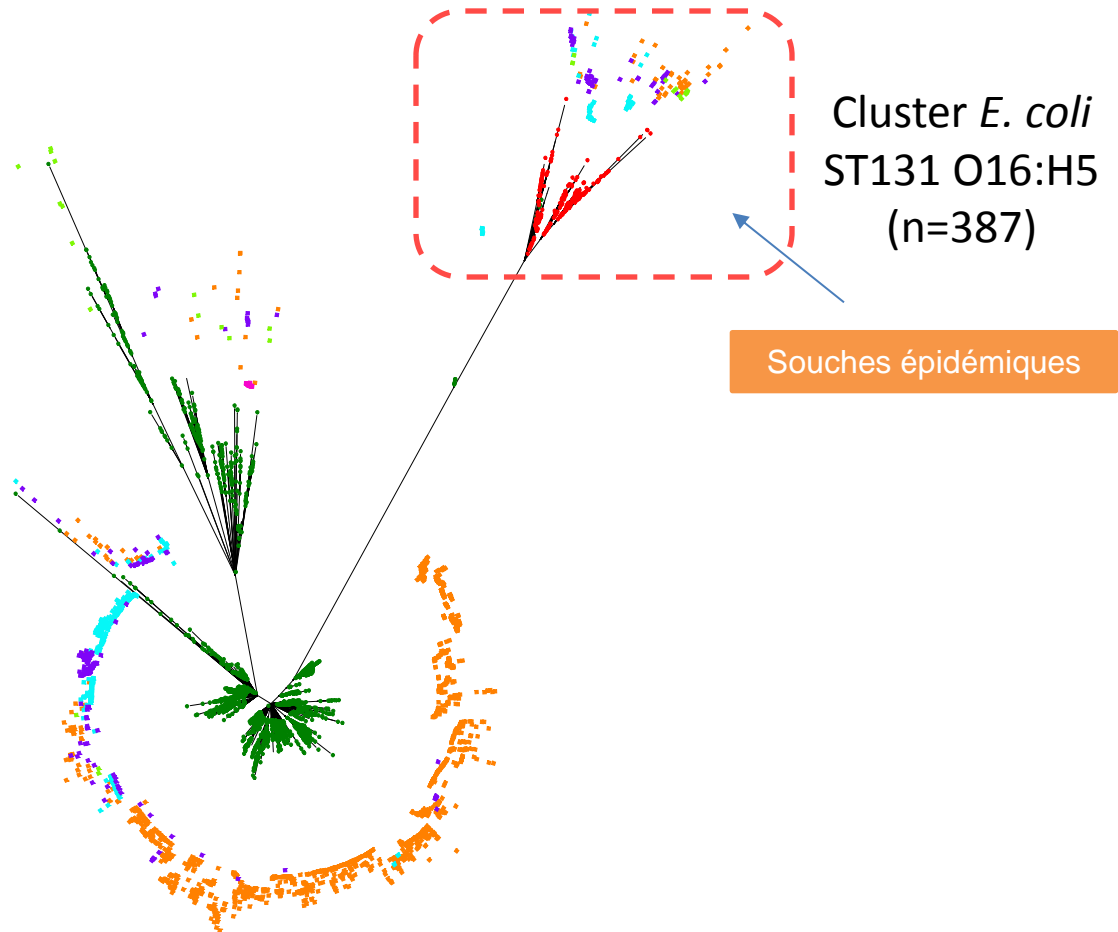
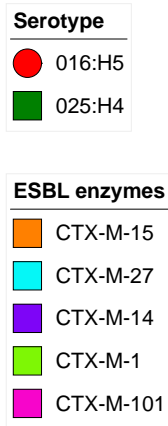
- Très proches les unes des autres
- Très éloignées des souches d'*E. coli* BLSE précédemment isolées au CHU de Caen

Maximum likelihood Tree réalisé avec IQ-Tree

Les deux épidémies semblent liées

- Mais...
 - Aucun patient de Cherbourg n'a jamais été hospitalisé à Caen
 - Aucun patient de Caen n'a jamais été hospitalisé à Cherbourg
- Une piste ?!
 - Un personnel médical qui travaillait à Caen et à Cherbourg

Epidémie de réanimation pédiatrique – Phylogénie internationale ST131

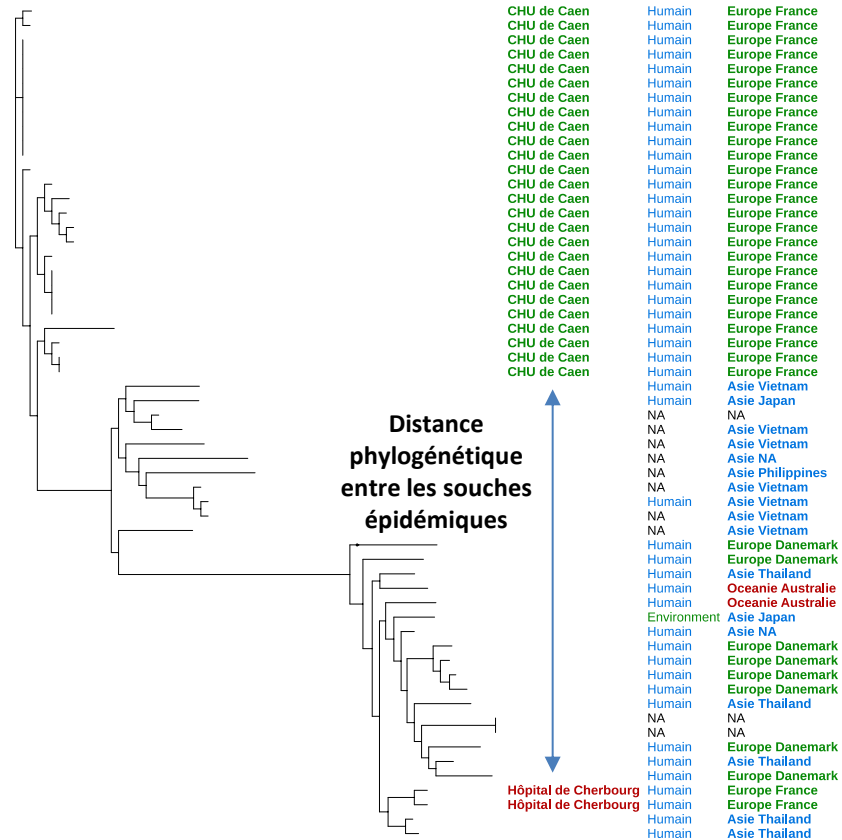


La population d'*E. coli* ST131 est principalement composée de deux sérotypes

cgMLST réalisé avec 3765 genomes d'*E. coli* ST 131 Unrooted minimum spanning tree cgMLST illustré utilisant itol¹

« Zoom » au sein du cluster ST131 O16:H5

Tree scale: 0.001



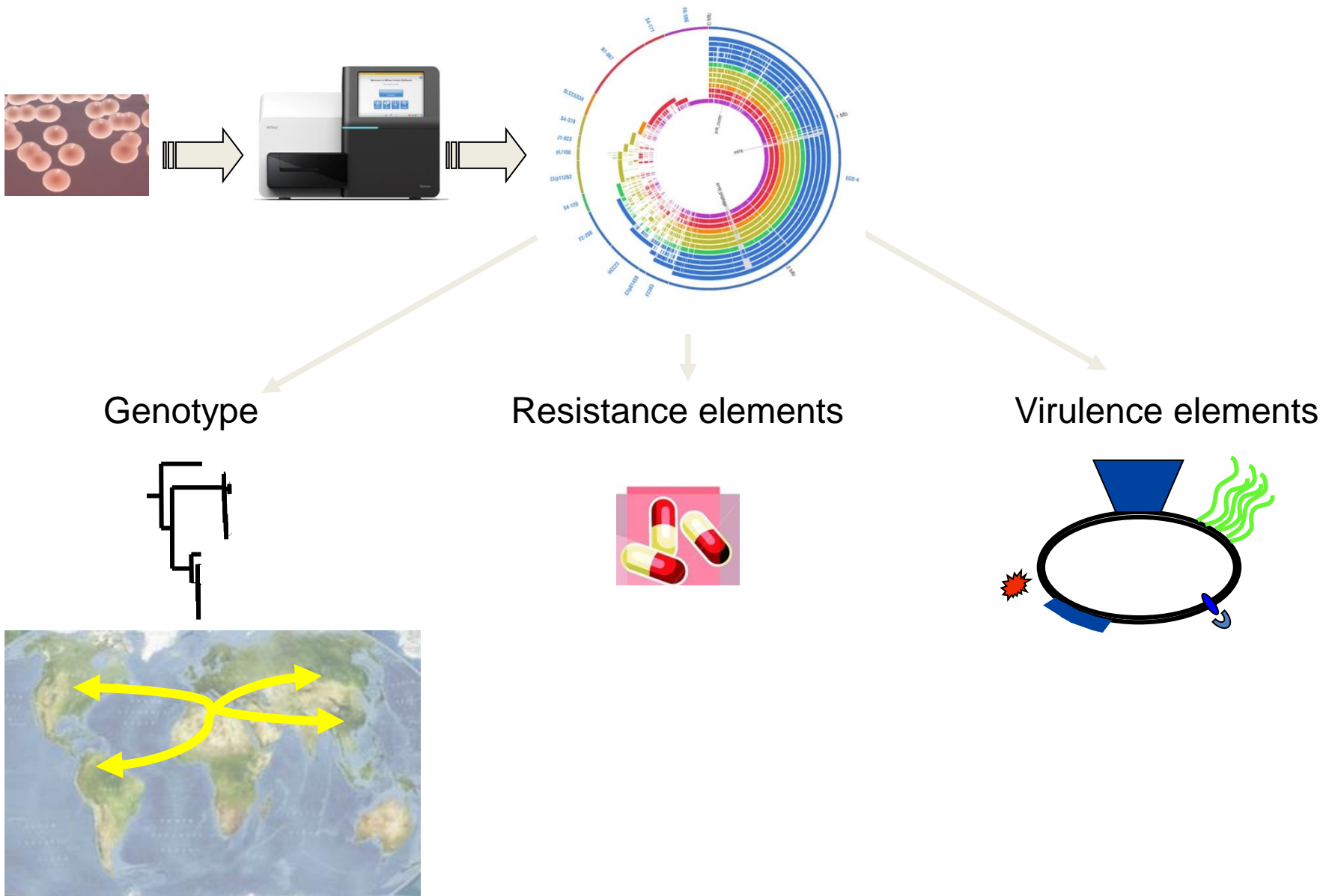
2 épidémies indépendantes – Caen/Cherbourg

Conclusion de l'enquête

- Souches *E. coli* rarement décrites
- Souches ne circulant pas préalablement pas au sein du CHU de Caen = origine communautaire ? étrangère?
- Les 2 épidémies ont touchées « en même temps » Caen et Cherbourg mais sont indépendantes entre elles
- Attention...
 - Risque de biais de sélection, faibles effectifs et courte durée de suivi
 - Que c'est-il passé dans les autres hôpitaux ?
 - Y a t-il eu un pic de BLSE dans les laboratoires de villes ?
 - Y a t-il eu un pic de BLSE en médecine vétérinaire ?
- Séquençage de plus de souches issues du CHU de Caen « entourant » l'épidémie.
- **Intérêt +++** de souches BLSE isolées au cours de l'été 2017 d'autres origines
- **Intérêt +++** d'avoir tous les éléments cliniques et épidémiologiques pour nous orienter dans nos recherches

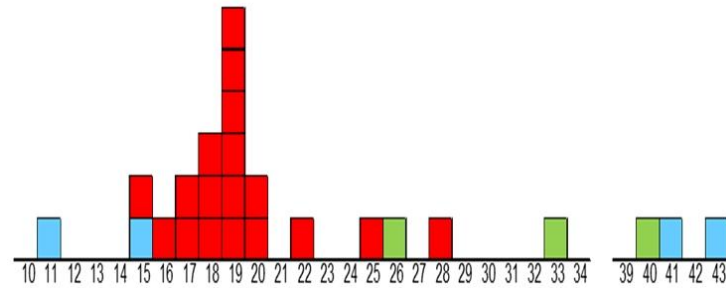
WGS: technologie "tout en un"

Salmonella, Listeria monocytogenes, STEC, Campylobacter, Vibrio, Yersinia,

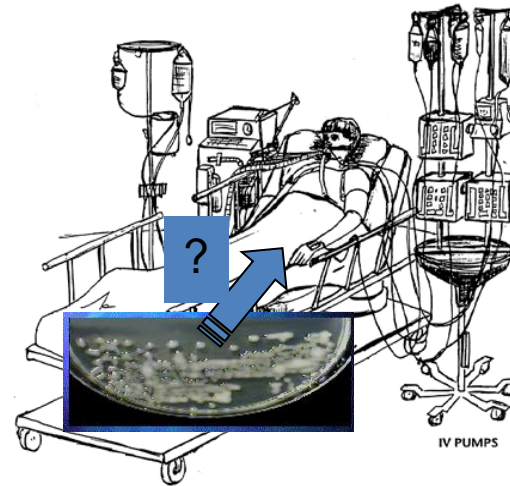


Objectifs de l'épidémiologie génomique

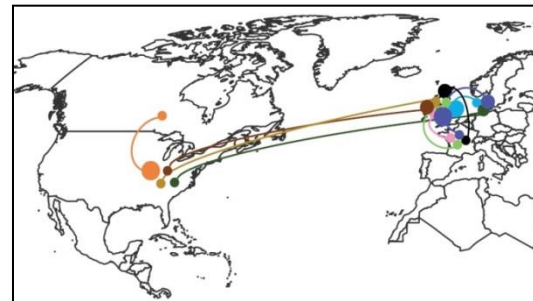
- Détecter clusters, épidémies



- Définir une souche et sa clonalité; source et route des infections



- Comprendre sa transmission et dissémination mondiale



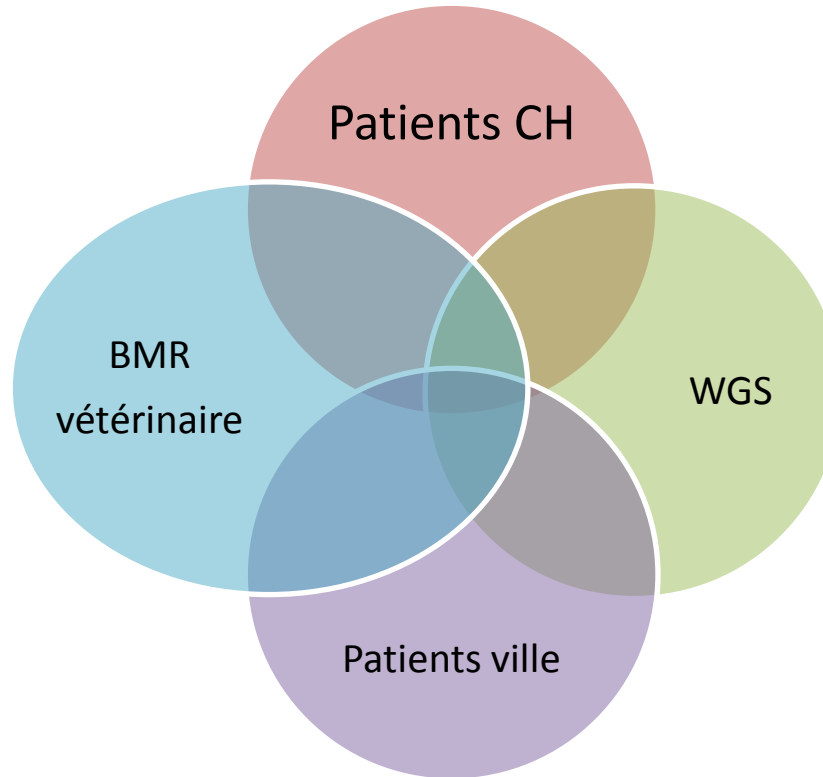
Epidémiologie génomique BMR/BHRe – One health



Toute l'équipe EOH
Le labo de microbio-H



Normandie Université



UNIVERSITÉ
CAEN
NORMANDIE



Institut Pasteur

MERCI DE VOTRE ATTENTION