

DISSÉMINATION D'ENTÉROBACTÉRIES PRODUCTRICES CARBAPÉNÉMASES OXA-48-LIKE AU SEIN D'UN CH NORMAND

François Gravey¹, Isabelle Herluison-petit², Paul Dequiré³, Michel Auzou³, Guillaume Leduc³, Marguerite Fines³, Christophe Isnard³, O. Join-Lambert³, Pascal Thibon⁴, France Borgey⁴, Simon Le Hello^{1,3}

1. Groupe de Recherche sur l'Adaptation Microbienne (GRAM 2.0) Normandie Univ, UNICAEN, UNIROUEN, GRAM 2.0, 14000 Caen, France
2. CH FALAISE-CH ARGENTAN, Coordonnateur de gestion des risques associés aux soins, Argentan, France
3. CHU de Caen, Service de Bactériologie - Hygiène Hospitalière, Caen, France
4. Centre d'appui pour la prévention des infections associées aux soins Région Normandie, Caen, France



41^e

RÉUNION INTERDISCIPLINAIRE DE
CHIMIOTHÉRAPIE ANTI-INFECTIEUSE

LUNDI 13 & MARDI 14
DÉCEMBRE 2021

PALAIS DES CONGRÈS • PARIS



Gravey François, CHU de Caen

☒ Je n'ai pas de lien d'intérêt potentiel à déclarer

Contexte

- CH Argentan - Période 2019 - 2021
- Seize patients infectés/colonisés par des Entérobactéries productrices d'oxacillinase de type OXA-48
- Six espèces bactériennes
- Comprendre la dynamique de circulation des souches
- Cellule Régionale d'Épidémiologie GénoMique (CREM) de Normandie

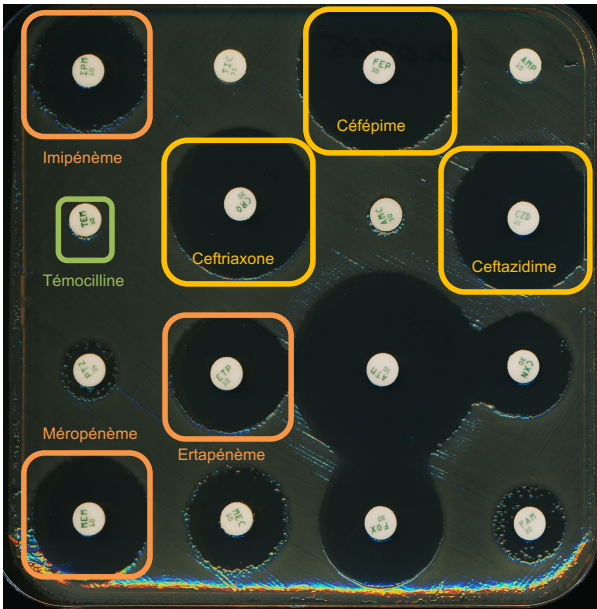


Données démographiques et cliniques

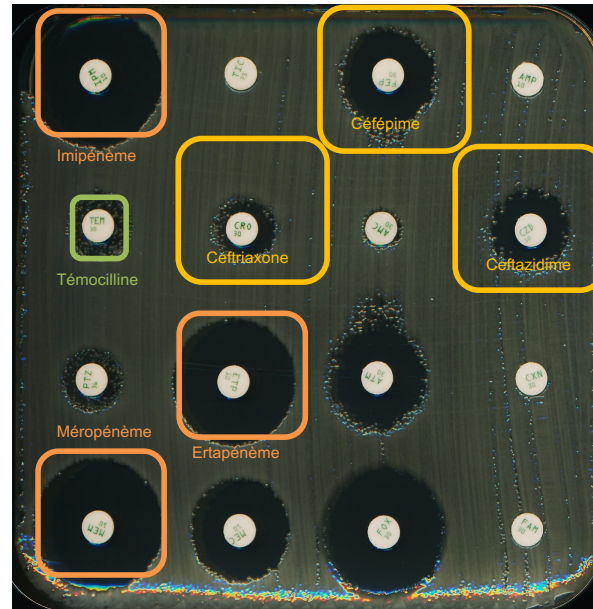
Nom.etude	Sexe	DDN	Age	DDP	Nature
Citro20191101	M	23/12/1933	85	28/11/2019	Selles
Citro20191102	F	30/04/1943	76	25/11/2019	Selles
Citro20210302	F	19/02/1933	87	04/03/2021	Urines
Ec20191110	F	06/05/1928	90	08/11/2019	Selles
Ec20191111	F	29/04/1927	91	21/11/2019	Selles
Ec20191112	F	01/10/1928	89	18/04/2019	Selles
Ec20191113	F	04/03/1937	82	31/10/2019	Urines
Ec20191114	F	05/07/1959	60	28/11/2019	Selles
Ec20191115	M	16/04/1947	72	25/11/2019	Selles
Ec20210314	F	29/09/1960	60	11/03/2021	Selles
Ec20210315	M	16/04/1947	73	08/03/2021	Selles
Kox20210302	F	25/02/1936	84	18/03/2021	Selles
Kox20210303	M	04/07/1934	85	01/03/2021	Broncho-pulmonaire
Kp20191107	M	23/03/1933	85	10/10/2019	Hémocultures
Kp20191203	M	27/07/1925	93	20/12/2019	Selles
Kp20191204	M	28/03/1931	87	15/11/2019	Urines

- Population
 - Féminine sex-ratio F/H = 1,3
 - Agée : âge médian 85 ans
- Octobre 2019 – Mars 2021
 - Services d'hospitalisation différents
 - Novembre 2019
 - Mars 2021
- Responsables d'infections 30%

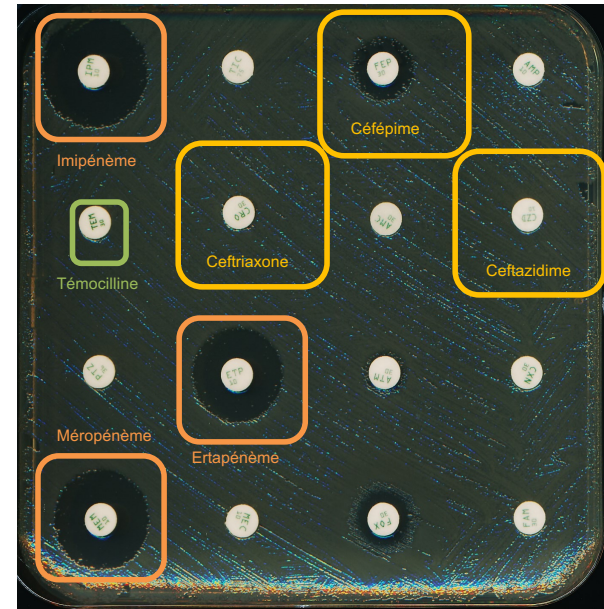
Antibiorésistance – phénotypes variés



Escherichia coli



Klebsiella pneumoniae



Citrobacter freundii

Questions

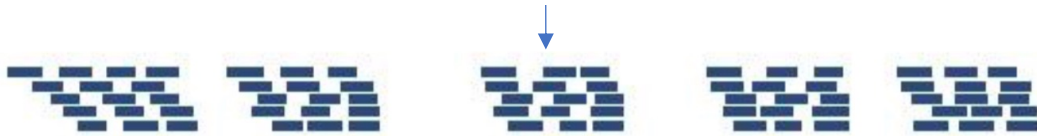


Etude populationnelle

- Quelle est la dynamique derrière la diffusion de la carbapénèmase ?
 - Deux épisodes épidémiques ?
 - Circulation de souches sporadiques ?
 - Tous les cas ont un lien entre eux ?
Mais espèces bactériennes et
phénotypes de résistances variables

Etude mécanistique

- Quelle est la nature exact de la carbapénèmase isolée ?
- Quel est son support génétique ?



Assemblage *de novo*

Génome

Sequence
Type^{1,2}

Resistance
aux
antibiotiques³

“Plasmides”⁴



- 1 - Wirth T, Falush D, Lan R, Colles F, Mensa P, Wieler LH, et al. Sex and virulence in *Escherichia coli*: an evolutionary perspective. *Mol Microbiol.* juin 2006;60(5):1136-51
- 2 - Larsen MV, Cosentino S, Rasmussen S, Friis C, Hasman H, Marvig RL, et al. Multilocus Sequence Typing of Total-Genome-Sequenced Bacteria. *J Clin Microbiol.* 1 avr 2012;50(4):1355-61.
- 3 - Zankari E, Hasman H, Cosentino S, Vestergaard M, Rasmussen S, Lund O, et al. Identification of acquired antimicrobial resistance genes. *J Antimicrob Chemother.* 1 nov 2012;67(11):2640-4
- 4 - Carattoli A, Zankari E, García-Fernández A, Voldby Larsen M, Lund O, Villa L, et al. In Silico Detection and Typing of Plasmids using PlasmidFinder and Plasmid Multilocus Sequence Typing. *Antimicrob Agents Chemother.* juill 2014;58(7):3895-903

Premiers résultats

Nom.etude	Taxon
Citro20191101	<i>Citrobacter amalonaticus</i>
Citro20191102	<i>Citrobacter freundii</i>
Citro20210302	<i>Citrobacter freundii</i>
Ec20191110	<i>Escherichia coli</i>
Ec20191111	<i>Escherichia coli</i>
Ec20191112	<i>Escherichia coli</i>
Ec20191113	<i>Escherichia coli</i>
Ec20191114	<i>Escherichia coli</i>
Ec20191115	<i>Escherichia coli</i>
Ec20210314	<i>Escherichia coli</i>
Ec20210315	<i>Escherichia coli</i>
Kox20210302	<i>Klebsiella oxytoca</i>
Kox20210303	<i>Klebsiella oxytoca</i>
Kp20191107	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Kp20191204	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Kp20191203	<i>Klebsiella variicola</i>

Au total 6 espèces isolées

Escherichia coli (n = 8)

Klebsiella pneumoniae (n = 2)

Klebsiella oxytoca (n = 2)

Citrobacter freundii (n = 2)

Klebsiella variicola (n = 1)

Citrobacter amalonaticus (n = 1)

Premiers résultats

Nom.etude	Taxon	ST
Citro20191101	<i>Citrobacter amalonaticus</i>	ST645
Citro20191102	<i>Citrobacter freundii</i>	ST216
Citro20210302	<i>Citrobacter freundii</i>	ST216
Ec20191110	<i>Escherichia coli</i>	ST2015
Ec20191111	<i>Escherichia coli</i>	ST770
Ec20191112	<i>Escherichia coli</i>	ST69
Ec20191113	<i>Escherichia coli</i>	ST2015
Ec20191114	<i>Escherichia coli</i>	ST216
Ec20191115	<i>Escherichia coli</i>	ST127
Ec20210314	<i>Escherichia coli</i>	ST141
Ec20210315	<i>Escherichia coli</i>	ST127
Kox20210302	<i>Klebsiella oxytoca</i>	ST141
Kox20210303	<i>Klebsiella oxytoca</i>	ST176
Kp20191107	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ST48
Kp20191204	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ST48
Kp20191203	<i>Klebsiella variicola</i>	ST5802

Diversité populationnelle,
13 séquences types retrouvés

Pour chaque espèce il y a
coexistence d'au moins deux ST
différents

Premiers résultats

Nom.etude	Taxon	ST	Beta-lactamase(s) acquise(s)
Citro20191101	<i>Citrobacter amalonaticus</i>	ST645	OXA-48
Citro20191102	<i>Citrobacter freundii</i>	ST216	CTX-M-15, OXA-1, OXA-48, TEM-1B, TEM-2
Citro20210302	<i>Citrobacter freundii</i>	ST216	CTX-M-15, OXA-1, OXA-48, TEM-1B, TEM-2
Ec20191110	<i>Escherichia coli</i>	ST2015	OXA-48
Ec20191111	<i>Escherichia coli</i>	ST770	OXA-48
Ec20191112	<i>Escherichia coli</i>	ST69	OXA-48, TEM-1B
Ec20191113	<i>Escherichia coli</i>	ST2015	OXA-48
Ec20191114	<i>Escherichia coli</i>	ST216	OXA-48
Ec20191115	<i>Escherichia coli</i>	ST127	OXA-48, TEM-1A
Ec20210314	<i>Escherichia coli</i>	ST141	OXA-48
Ec20210315	<i>Escherichia coli</i>	ST127	OXA-48, TEM-1A
Kox20210302	<i>Klebsiella oxytoca</i>	ST141	DHA-1, OXA-48
Kox20210303	<i>Klebsiella oxytoca</i>	ST176	OXA-48
Kp20191107	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ST48	CTX-M-15, OXA-181, TEM-1B
Kp20191204	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ST48	CTX-M-15, OXA-181, TEM-1B
Kp20191203	<i>Klebsiella variicola</i>	ST5802	OXA-48

Diversité de résistome

Associations des beta-lactamases +++

Premiers résultats

Nom.etude	Taxon	ST	Beta-lactamase(s) acquise(s)
Citro20191101	<i>Citrobacter amalonaticus</i>	ST645	OXA-48
Citro20191102	<i>Citrobacter freundii</i>	ST216	CTX-M-15, OXA-1, OXA-48, TEM-1B, TEM-2
Citro20210302	<i>Citrobacter freundii</i>	ST216	CTX-M-15, OXA-1, OXA-48, TEM-1B, TEM-2
Ec20191110	<i>Escherichia coli</i>	ST2015	OXA-48
Ec20191111	<i>Escherichia coli</i>	ST770	OXA-48
Ec20191112	<i>Escherichia coli</i>	ST69	OXA-48, TEM-1B
Ec20191113	<i>Escherichia coli</i>	ST2015	OXA-48
Ec20191114	<i>Escherichia coli</i>	ST216	OXA-48
Ec20191115	<i>Escherichia coli</i>	ST127	OXA-48, TEM-1A
Ec20210314	<i>Escherichia coli</i>	ST141	OXA-48
Ec20210315	<i>Escherichia coli</i>	ST127	OXA-48, TEM-1A
Kox20210302	<i>Klebsiella oxytoca</i>	ST141	DHA-1, OXA-48
Kox20210303	<i>Klebsiella oxytoca</i>	ST176	OXA-48
Kp20191107	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ST48	CTX-M-15, OXA-181, TEM-1B
Kp20191204	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ST48	CTX-M-15, OXA-181, TEM-1B
Kp20191203	<i>Klebsiella variicola</i>	ST5802	OXA-48

Production d'OXA-181

Premiers résultats

Nom.etude	Taxon	ST	Beta-lactamase(s) acquise(s)
Citro20191101	<i>Citrobacter amalonaticus</i>	ST645	OXA-48
Citro20191102	<i>Citrobacter freundii</i>	ST216	CTX-M-15, OXA-1, OXA-48, TEM-1B, TEM-2
Citro20210302	<i>Citrobacter freundii</i>	ST216	CTX-M-15, OXA-1, OXA-48, TEM-1B, TEM-2
Ec20191110	<i>Escherichia coli</i>	ST2015	OXA-48
Ec20191111	<i>Escherichia coli</i>	ST770	OXA-48
Ec20191112	Espèces différentes + Diversité populationnelle (ST) + Résistomes variés = Diffusion d'un élément mobile porteur de l'oxacillinase <i>bla</i>_{OXA-48} à travers l'ensemble de ces souches		
Ec20191113			
Ec20191114			
Ec20191115			
Ec20210314	<i>Escherichia coli</i>	ST127	OXA-48, TEM-1A
Ec20210315	<i>Escherichia coli</i>	ST127	OXA-48, TEM-1A
Kox20210302	<i>Klebsiella oxytoca</i>	ST141	DHA-1, OXA-48
Kox20210303	<i>Klebsiella oxytoca</i>	ST176	OXA-48
Kp20191107	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ST48	CTX-M-15, OXA-181, TEM-1B
Kp20191204	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ST48	CTX-M-15, OXA-181, TEM-1B
Kp20191203	<i>Klebsiella variicola</i>	ST5802	OXA-48

N'allons pas trop vite...

Nom.etude	Taxon	ST	Beta-lactamase(s) acquise(s)
Citro20191101	<i>Citrobacter amalonaticus</i>	ST645	OXA-48
Citro20191102	<i>Citrobacter freundii</i>	ST216	CTX-M-15, OXA-1, OXA-48, TEM-1B, TEM-2
Citro20210302	<i>Citrobacter freundii</i>	ST216	CTX-M-15, OXA-1, OXA-48, TEM-1B, TEM-2
Ec20191110	<i>Escherichia coli</i>	ST2015	OXA-48
Ec20191111	<i>Escherichia coli</i>	ST770	OXA-48
Ec20191112	<i>Escherichia coli</i>	ST69	OXA-48, TEM-1B
Ec20191113	<i>Escherichia coli</i>	ST2015	OXA-48
Ec20191114	<i>Escherichia coli</i>	ST216	OXA-48
Ec20191115	<i>Escherichia coli</i>	ST127	OXA-48, TEM-1A
Ec20210314	<i>Escherichia coli</i>	ST141	OXA-48
Ec20210315	<i>Escherichia coli</i>	ST127	OXA-48, TEM-1A
Kox20210302	<i>Klebsiella oxytoca</i>	ST141	DHA-1, OXA-48
Kox20210303	<i>Klebsiella oxytoca</i>	ST176	OXA-48
Kp20191107	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ST48	CTX-M-15, OXA-181, TEM-1B
Kp20191204	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ST48	CTX-M-15, OXA-181, TEM-1B
Kp20191203	<i>Klebsiella variicola</i>	ST5802	OXA-48

Ne pas méconnaître de phénomènes de dissémination clonale

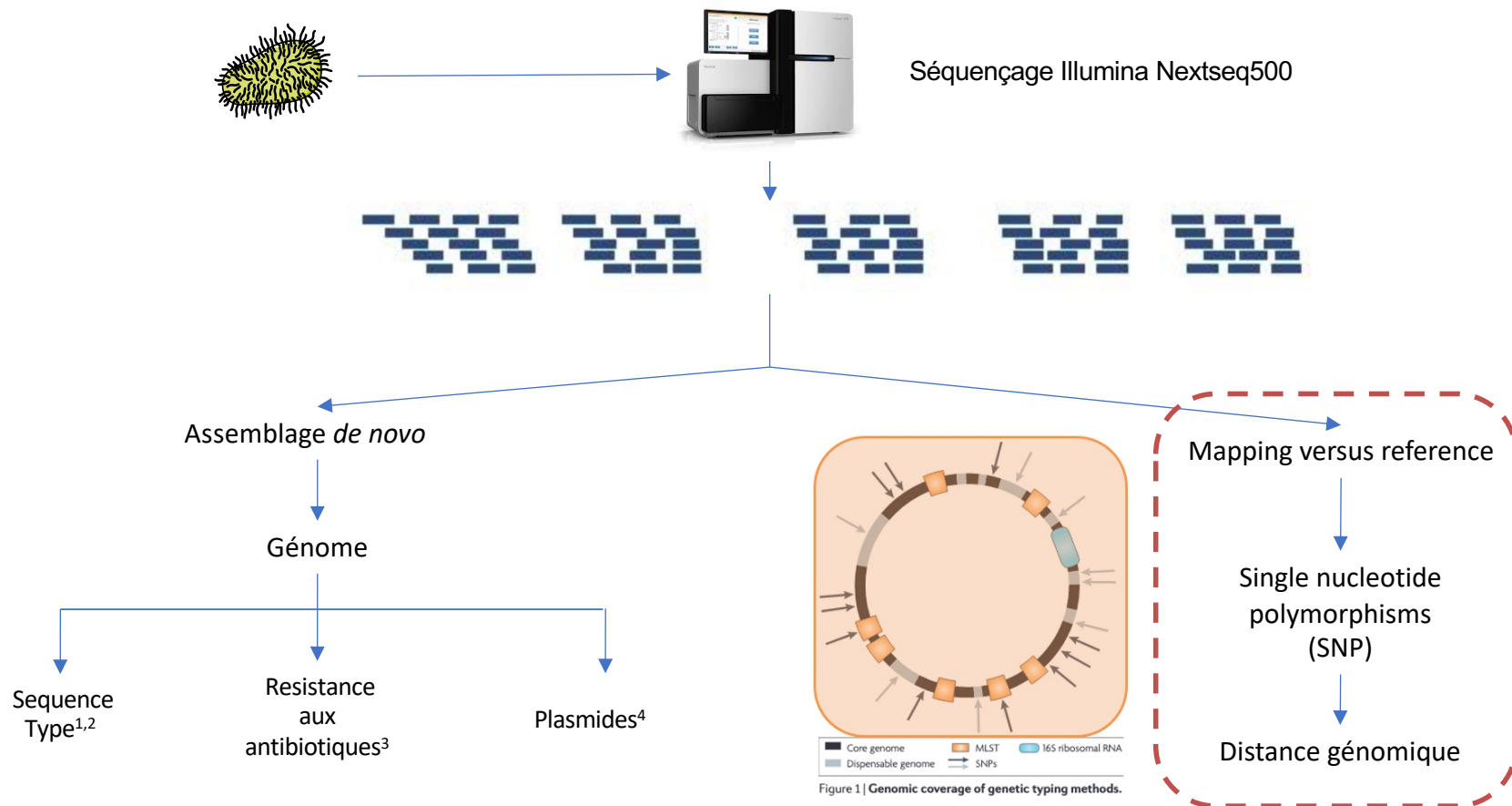
Pour aller plus loin

Recherche de diffusion clonale

- Distance génomique:
 - Deux souches de même ST
 - *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP)
- Définition d'une transmission croisée
 - Données épidémiologiques en faveur
 - Distance < 10 SNP

Explorations plasmidiques

1. Identification des familles de plasmides portées
2. Analyse de la distance génomique basée sur les SNP entre les plasmides de même famille
3. Etude du transposon présent dans les plasmides



Résultats de analyses SNP

Espèces	Souches	ST	Année d'isolement	Genome de reference	Distance génomique (SNP)
<i>Citrobacter freundii</i>	Citro20191102	ST216	2019	CP056314.1	34
	Citro20210302		2021		
<i>Escherichia coli</i>	Ec20191115	ST127	2019	CP016358.1	5
	Ec20210315		2021		
	Ec20191110	ST2015	2019	ESC_VA3377AA	10
	Ec20191113		2019		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Kp20191107	ST48	2019	CP029388.1	5
	Kp20191204		2019		

Résultats de analyses SNP

Espèces	Souches	ST	Année d'isolement	Genome de reference	Distance génomique (SNP)
<i>Citrobacter freundii</i>	Citro20191102	ST216	2019	CP056314.1	34
	Citro20210302		2021		
<i>Escherichia coli</i>	Ec20191115	ST127	2019	CP016358.1	5
	Ec20210315		2021		
	Ec20191110	ST2015	2019	ESC_VA3377AA	10
	Ec20191113		2019		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Kp20191107	ST48	2019	CP029388.1	5
	Kp20191204		2019		

Identification de la même population bactérienne (ST) après deux ans

Promiscuité génomique importante *E. coli* ST127

Réservoirs environnementaux ?

Résultats de analyses SNP

Espèces	Souches	ST	Année d'isolement	Genome de reference	Distance génomique (SNP)
<i>Citrobacter freundii</i>	Citro20191102	ST216	2019	CP056314.1	34
	Citro20210302		2021		
<i>Escherichia coli</i>	Ec20191115	ST127	2019	CP016358.1	5
	Ec20210315		2021		
	Ec20191110	ST2015	2019	ESC_VA3377AA	10
	Ec20191113		2019		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Kp20191107	ST48	2019	CP029388.1	5
	Kp20191204		2019		

Données génomiques et chronologiques sont compatibles avec une transmission croisée de entre les patients

Résultats de analyses SNP

Espèces	Souches	ST	Année d'isolement	Genome de reference	Distance génomique (SNP)
<i>Citrobacter freundii</i>	Citro20191102	ST216	2019	CP056314.1	34

L'existence des souches bactériennes de même ST au sein du CH peut s'expliquer par deux mécanismes :

1. Existence de réservoirs environnementaux
2. Transmission croisée d'une même souche

<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Kp20191107	ST48	2019	CP029388.1	5
	Kp20191204		2019		

Pour aller plus loin

Recherche de diffusion clonale

- Distance génomique:
 - Deux souches de même ST
 - *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP)
- Définition d'une transmission croisée
 - Données épidémiologiques en faveur
 - Distance < 10 SNP

Explorations plasmidiques

1. Identification des familles de plasmides portées
2. Analyse de la distance génomique basée sur les SNP entre les plasmides de même famille
3. Etude du transposon présent dans les plasmides

Détermination des familles de plasmides

Souche	Famille de plasmides
Citro20191101	IncL
Citro20191102	
Citro20210302	
Ec20191110	
Ec20191111	
Ec20191112	
Ec20191114	
Ec20191113	
Ec20210314	
Kp20191203	
Kox20210303	Inconnue
Kox20210302	
Kp20191107	
Kp20191204	
Ec20191115	
Ec20210315	IncF

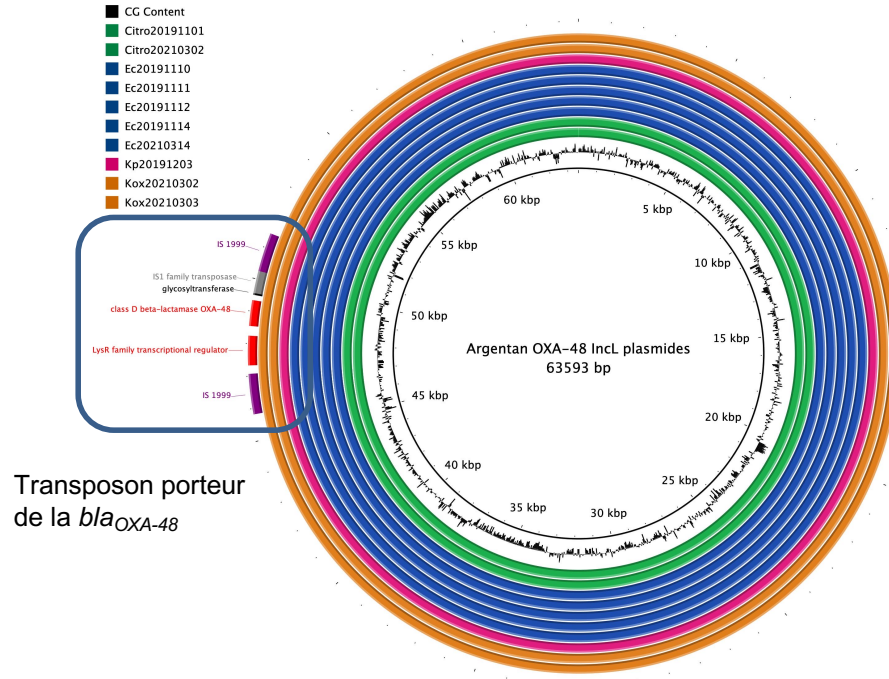
- Les bactéries n'ont **pas toutes des plasmides de même famille** :
- 12/16 plasmides **IncL**
- 2/16 famille non retrouvée (souches productrices de OXA-181).
- 2/16 plasmides **IncF**

Détermination des familles de plasmides

Souche	Famille de plasmides	Accession number	Taille
Citro20191101	IncL	CP018461.1	63593
Citro20191102		CP018461.1	
Citro20210302		CP018461.1	
Ec20191110		CP018461.1	
Ec20191111		CP018461.1	
Ec20191112		CP018461.1	
Ec20191114		CP018461.1	
Ec20191113		CP018461.1	
Ec20210314		CP018461.1	
Kp20191203		CP018461.1	
Kox20210303		CP018461.1	
Kox20210302		CP018461.1	
Kp20191107	Inconnue	CP044088.1	1410
Kp20191204		CP044088.1	
Ec20191115	IncF	CP045282.1	27029
Ec20210315		CP045282.1	

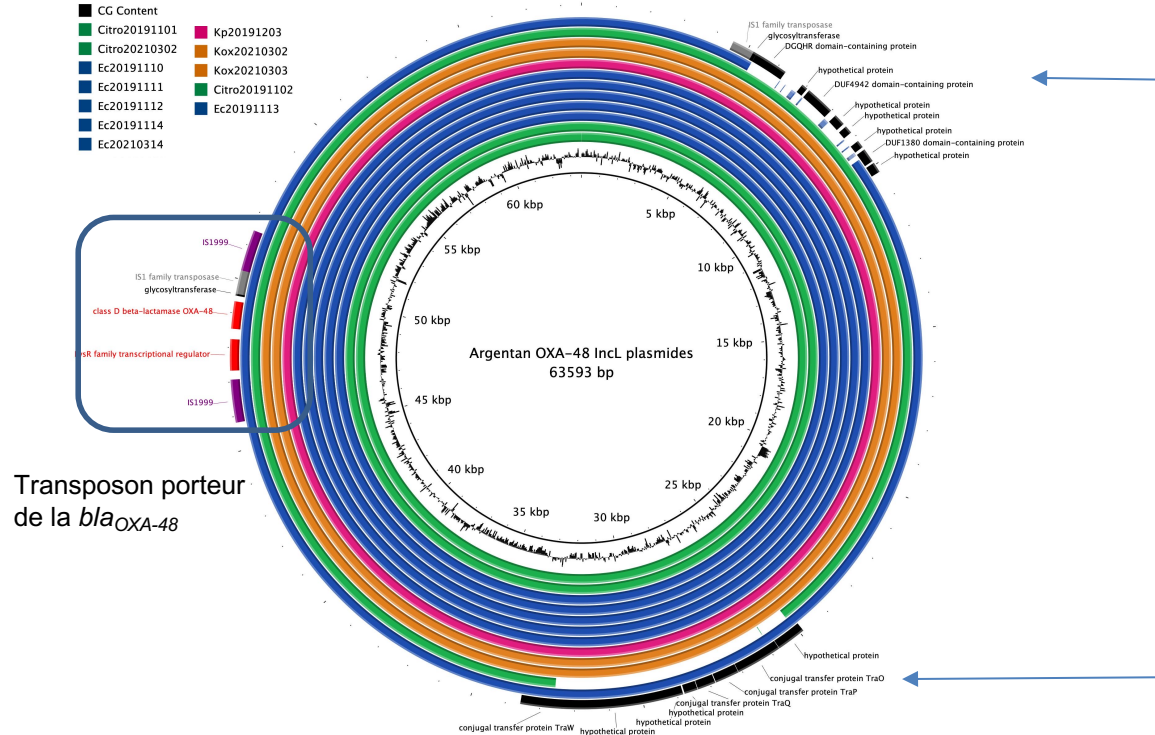
- Au sein d'une même famille, les séquences « matchent » toutes contre la même référence
- Diffusion inter espèces de plasmides

Etudes au sein de la famille IncL - Mapping

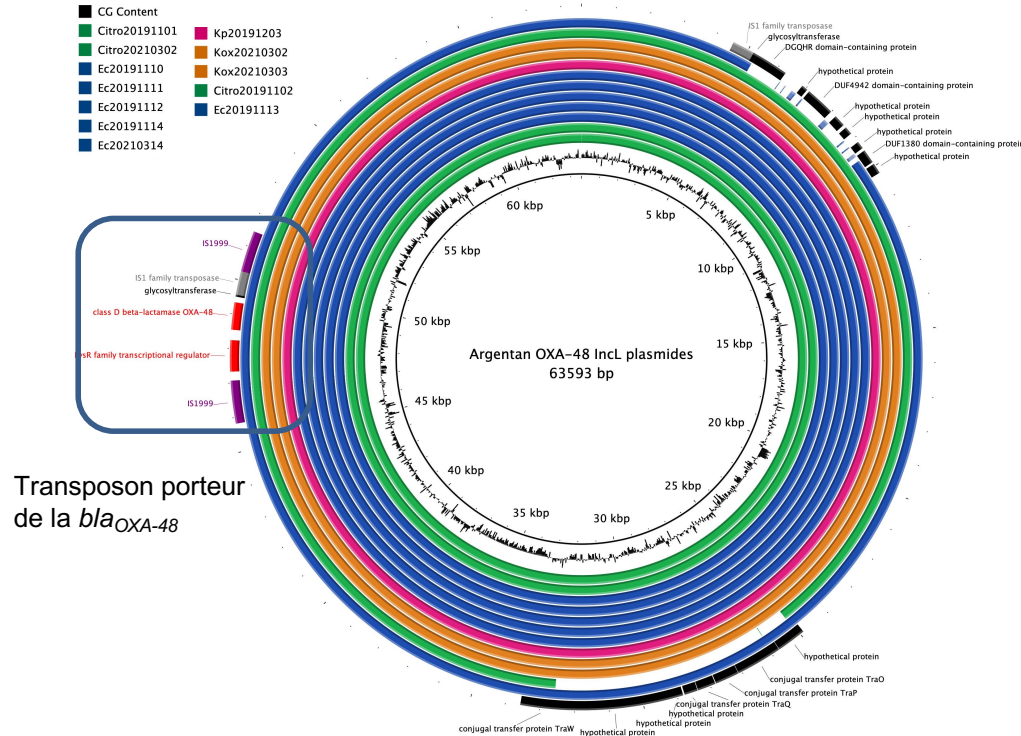


10/12 souches portent des plasmides dont les séquences ne sont distantes que d'un maximum de 1 SNP

Etudes au sein de la famille IncL - Mapping



Etudes au sein de la famille IncL - Mapping



Les deux dernières
séquences plasmidiques
des souches
Citro202191102 et
Ec20191113 ne peuvent
pas être formellement
rattachées à l'épisode de
transmissions croisées

Détermination des familles de plasmides

Souche	Famille de plasmides	Accession number	Taille	Distance génomique
Citro20191101	IncL	CP018461.1	63593	0-1 SNP
Citro20210302		CP018461.1		
Ec20191110		CP018461.1		
Ec20191111		CP018461.1		
Ec20191112		CP018461.1		
Ec20191114		CP018461.1		
Ec20210314		CP018461.1		
Kp20191203		CP018461.1		
Kox20210303		CP018461.1		
Kox20210302		CP018461.1		
Kp20191107	Inconnue	CP044088.1	1410	0 SNP*
Kp20191204		CP044088.1		
Ec20191115	IncF	CP045282.1	27029	0 SNP
Ec20210315		CP045282.1		

* Au regard de la taille de la séquence de référence soit 1410 paires de bases

Quelle est la nature du transposon ?

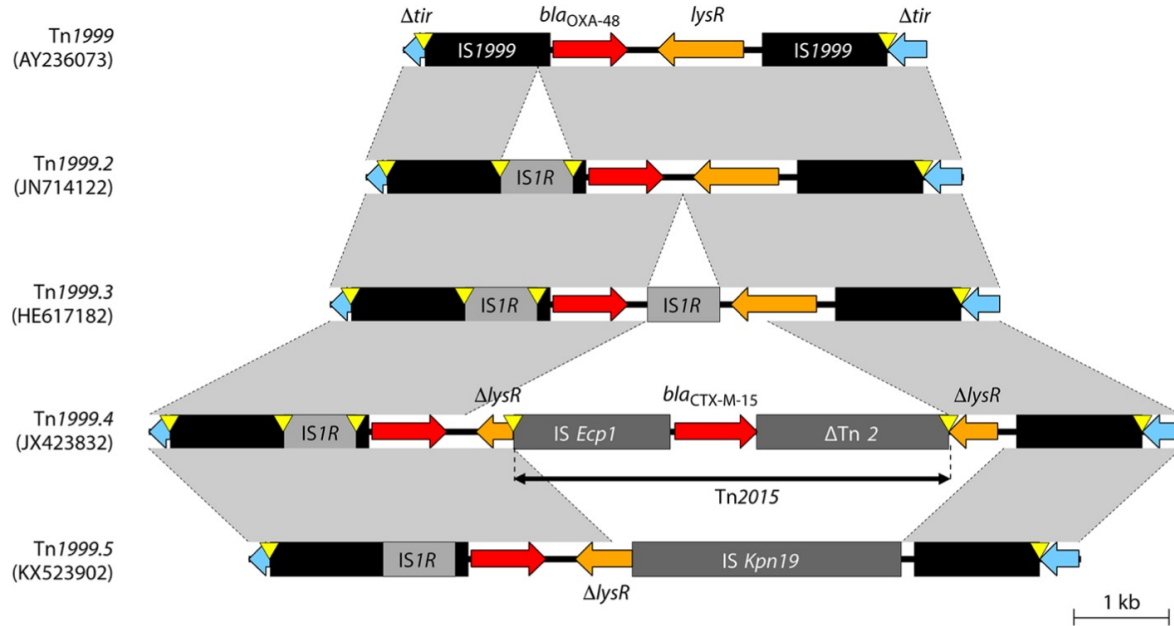


FIG 5 Genetic environments of Tn1999 and its variants within pOXA-48a-like plasmids. Mobile elements are indicated with black (e.g., IS1999) or gray (others). Genes from background plasmids are indicated with cyan. Yellow triangles indicate target site duplications.

Détermination des familles de plasmides

Souche	Famille de plasmides	Accession number	Taille	Distance génomique	Transposon
Citro20191101	IncL	CP018461.1	63593	0-1 SNP	Tn1999.3
Citro20210302		CP018461.1			
Ec20191110		CP018461.1			
Ec20191111		CP018461.1			
Ec20191112		CP018461.1			
Ec20191114		CP018461.1			
Ec20210314		CP018461.1			
Kp20191203		CP018461.1			
Kox20210303		CP018461.1			
Kox20210302		CP018461.1			
Kp20191107	Inconnue	CP044088.1	1410	0 SNP*	Tn2013
Kp20191204		CP044088.1			
Ec20191115	IncF	CP045282.1	27029	0 SNP	Tn1999.3
Ec20210315		CP045282.1			

* Au regard de la taille de la séquence de référence soit 1410 paires de bases

Conclusion – mécanisme complexe



https://fr.wikipedia.org/wiki/Infection_nosocomiale#/media/Fichier:Contaminated_surfaces_increase_cross-transmission.jpg

Réservoirs environnementaux



Réservoirs Humains

Conclusion – mécanisme complexe



https://fr.wikipedia.org/wiki/Infection_nosocomiale#/media/Fichier:Contaminated_surfaces_increase_cross-transmission.jpg

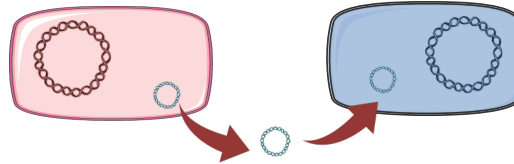
Réservoirs environnementaux

Dissémination clonale

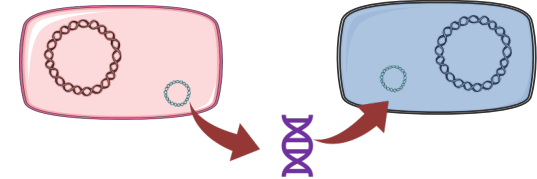


Réservoirs Humains

Dissémination de plasmides
IncL et IncF



Dissémination de transposons
Tn1999.3



Conclusion – mécanisme complexe



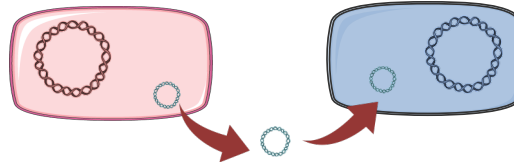
https://fr.wikipedia.org/wiki/Infection_nosocomiale#/media/Fichier:Contaminated_surfaces_increase_cross-transmission.jpg

Réservoirs environnementaux

Dissémination clonale

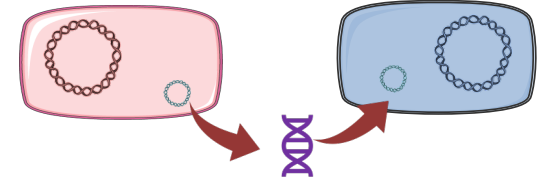


Dissémination de plasmides
IncL et IncF



Réservoirs Humains

Dissémination de transposons
Tn1999.3



Découverte de *bla*_{OXA-181} dans un contexte d'épidémie à *bla*_{OXA-48}

Conclusion – mécanisme complexe



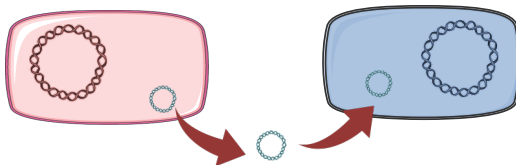
https://fr.wikipedia.org/wiki/Infection_nosocomiale#/media/Fichier:Contaminated_surfaces_increase_cross-transmission.jpg

Réservoirs environnementaux

Dissémination clonale

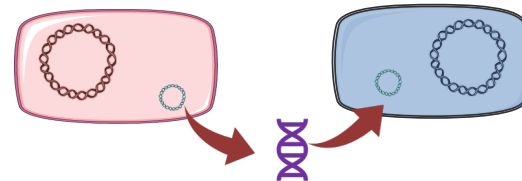


Dissémination de plasmides
IncL et IncF



Réservoirs Humains

Dissémination de transposons
Tn1999.3



- Ne **pas méconnaître une épidémie de plasmides** dans le cadre d'une diffusion de carbapénèmases
 - L'identification d'espèces différentes n'est pas « rassurant »
- En savoir plus sur la dissémination de ce plasmide, **collaborations régionales**

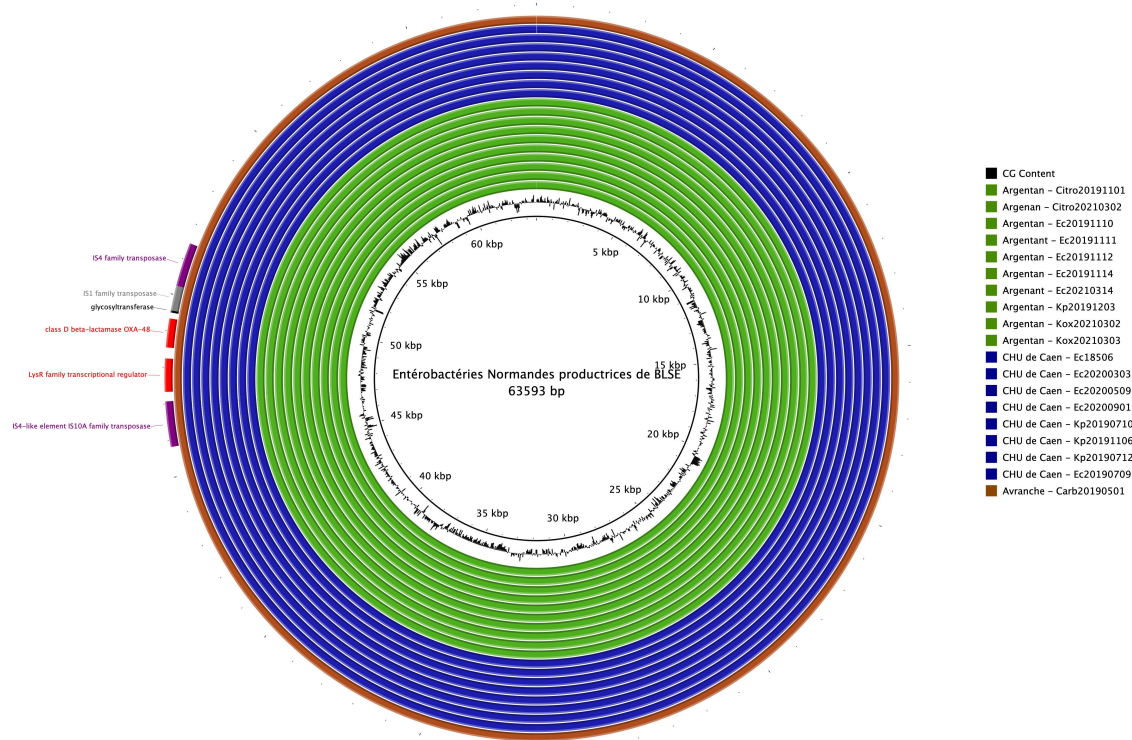
Dissémination régionale ?

2015 – 2021

31 souches productrices de
OXA-48

23 souches porteuses du
plasmide IncL + Tn1999.3

19 plasmides divergents de 0 à
2 SNP



MERCI BEAUCOUP DE VOTRE
ATTENTION
