

Fond et support génétiques
et
diffusion des BLSE

Marie-Hélène Nicolas-Chanoine
Service de Microbiologie
Hôpital Beaujon
Faculté de médecine Denis Diderot
CRB3, Inserm U 773, Université Paris 7

Depuis.....Toujours

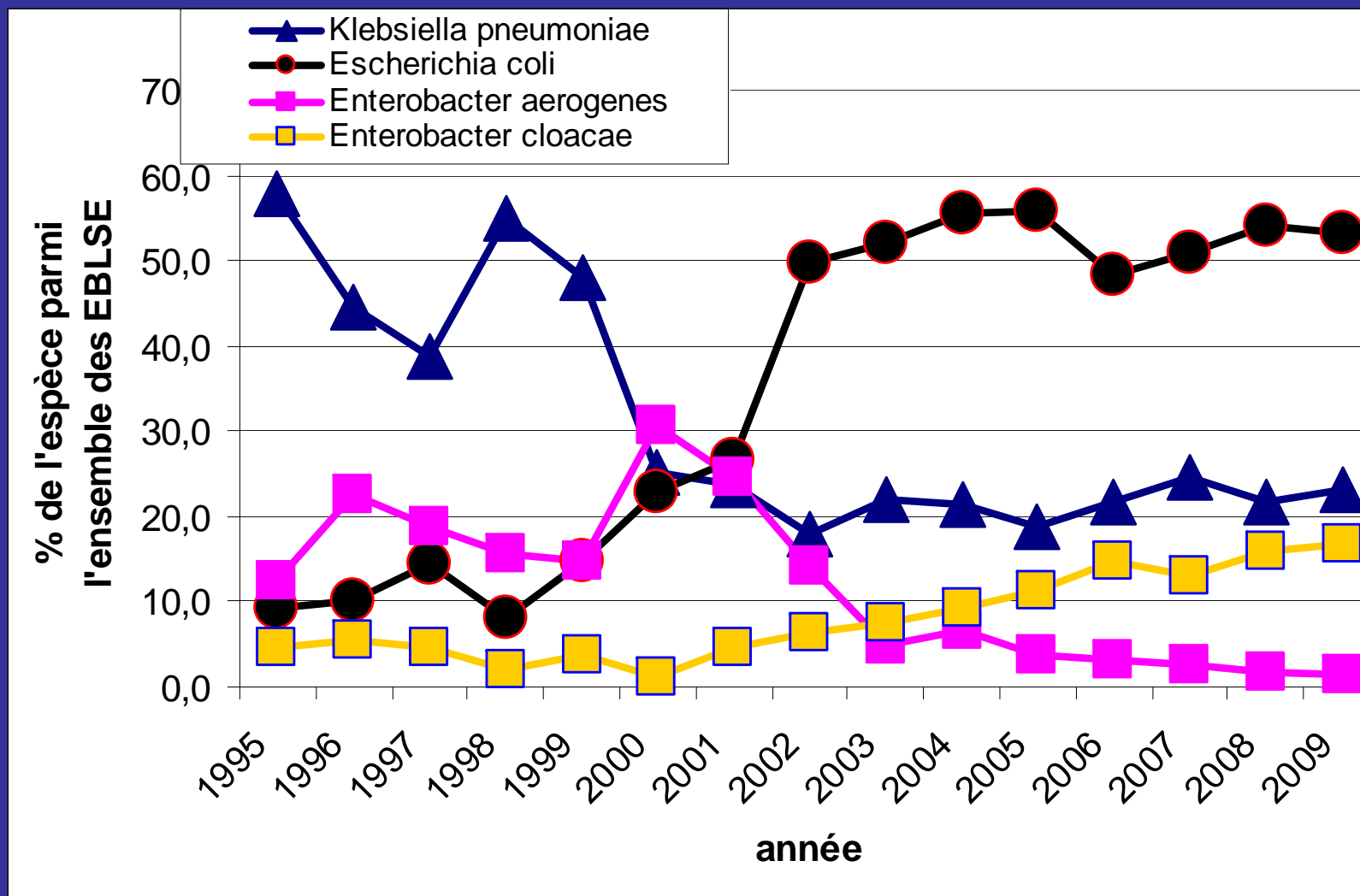
Escherichia coli, l'entérobactérie
commensale du tube digestif

- de l'homme
- de nombreux animaux

Depuis début des années 2000

E. coli, l'espèce dominante au
sein des souches d'entérobactéries
productrices de BLSE

Prévalence des entérobactéries productrices de BLSE, AP-HP



Depuis début des années 2000

- BLSE de type CTX-M
- CTX-M-15 (France)

Émergence d'un clone *E. coli* producteur de CTX-M-15 (souches identiques chez des personnes sans lien épidémiologique)

- À l'hôpital
- En ville

Journal of Antimicrobial Chemotherapy (2008) 61, 273–281
doi:10.1093/jac/dkm464
Advance Access publication 11 December 2007

36 isolats

JAC

Intercontinental emergence of *Escherichia coli* clone O25:H4-ST131 producing CTX-M-15

Marie-Hélène Nicolas-Chanoine^{1,2*}, Jorge Blanco³, Véronique Leflon-Guibout¹, Raphael Demarty¹,
Maria Pilar Alonso⁴, Maria Manuela Caniça⁵, Yeon-Joon Park⁶, Jean-Philippe Lavigne⁷,
Johann Pitout⁸ and James R. Johnson⁹

Caractérisation du clone O25:H4-ST131 producteur CTX-M-15

- Sérotype : O25 : H4 (O25b)
- Séquence type : ST131
- Groupe phylogénétique B2 [extra intestinal pathogénique *E. coli* (ExPEC), urine pathogénique *E. coli* (UPEC)]

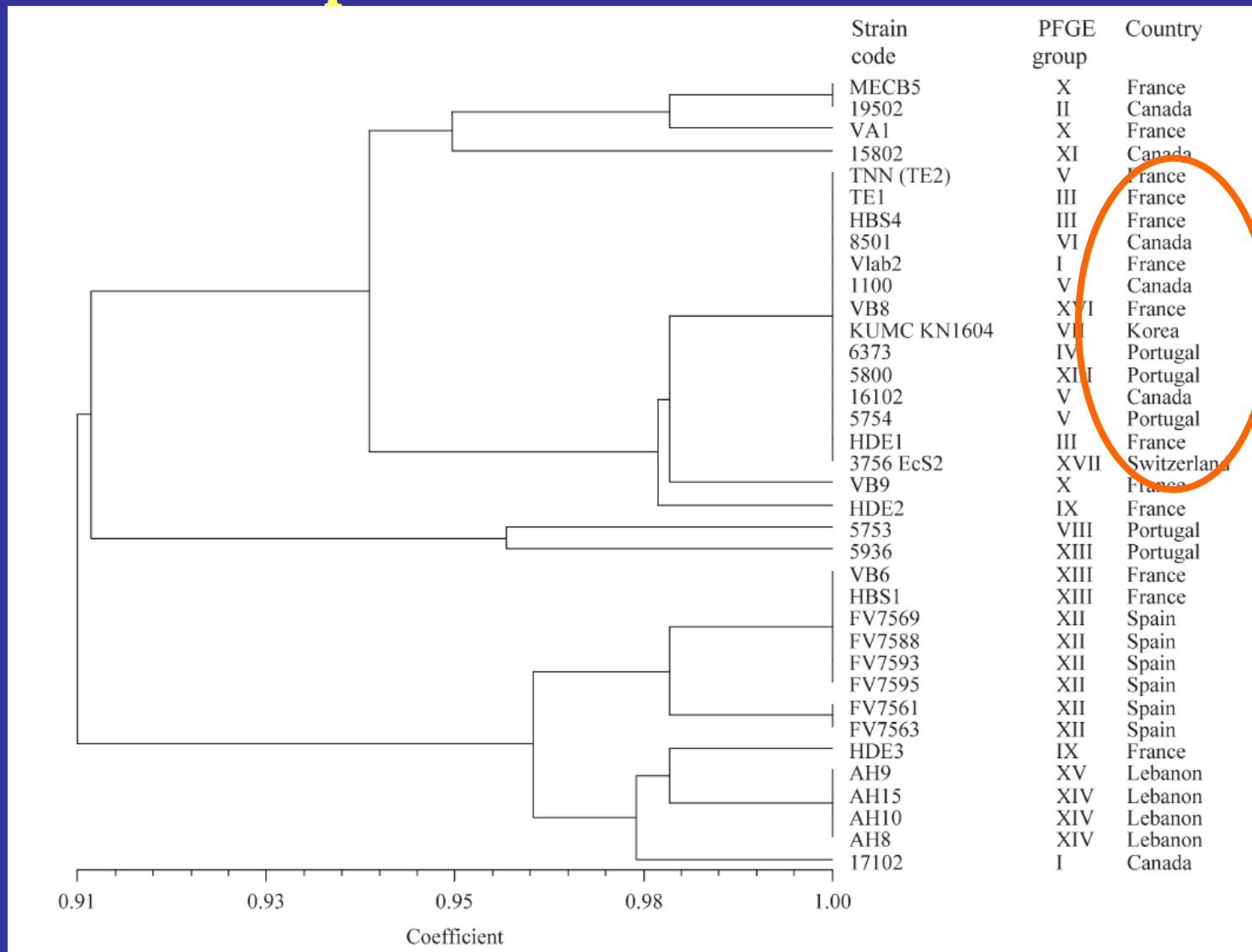
Peu de facteurs de virulence

43 gènes

- Gènes codant pour des adhésines (*papAH*, *papC*, *papEF*, *papG* and its 3 alleles, *sfa/focDE*, *sfaS*, *focG*, *afa/draBC*, *afaE8*, *iha*, *bmaE*, *gafD*, *F17*, *clpG*, *fimH*, et *hra*),
 - Gènes codant pour des toxines (*hlyA*, *hlyF*, *cnf1*, *cdtB*, *sat*, *pic*, *tsh*, et *astA*),
 - Gènes codant pour des sidérophores (*iron*, *fyuA*, *ireA*, et *iutA*),
 - Gènes codant pour des protectines/invasines (*kpsM II*, *kpsMT III*, the K1, K2, K5, et K15 *kps* variants, *rfa*, *traT*, *ibeA*, et *iss*),
 - Gènes codant pour d'autres marqueurs de pathogénicité (*cvaC*, *usp*, *ompT*, *clbB*, *clbN*, *fliC H7*, et *malX*).
- 100 % ● 80 % ● 50 % ● < 10 %

De 7 à 14 facteurs de virulence

Caractérisation du clone O25:H4-ST131 producteur CTX-M-15



13 profils de virulence

Caractérisation du clone O25 : H4-ST131

producteur CTX-M-15

Sensibilité aux antibiotiques

CIP	GEN	AMK	TET	CHL	SXT	Nb
R	R	R	R	S	S	6
R	S	R	R	S	R	5
R	R	R	R	S	R	4
R	R	S	R	S	R	3
R	S	S	S	S	S	3
R	S	R	R	S	S	2
R	R	R	S	S	S	1
R	R	S	R	S	S	1
R	R	R	S	S	R	1
R	S	R	S	S	R	1
R	R	R	R	R	R	1
R	R	R	R	S	S	1
R	S	S	R	S	R	1

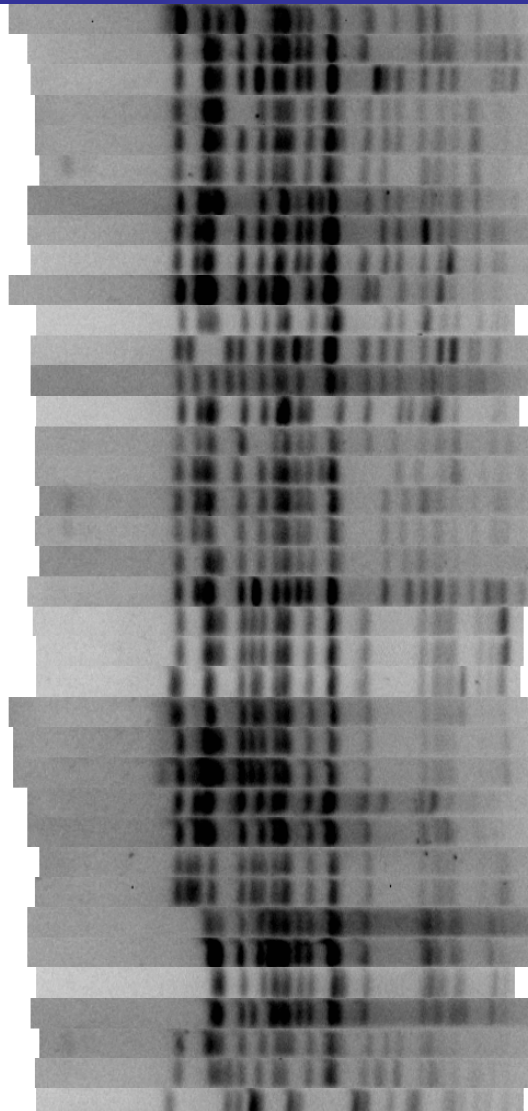
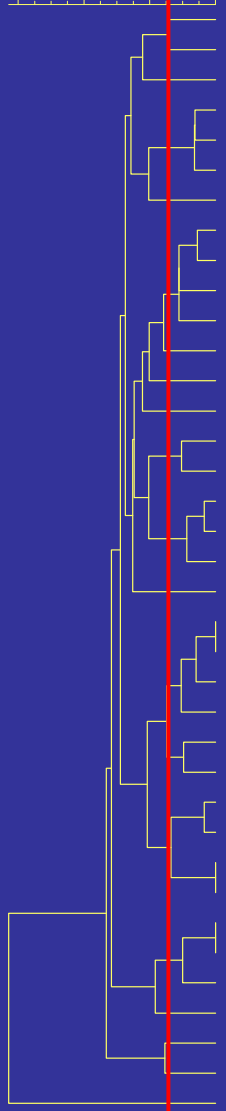
R: Résistant, S: Sensible

13 phénotypes de résistance

Caractérisation du clone O25:H4-ST131 producteur CTX-M-15

Similarity (%)

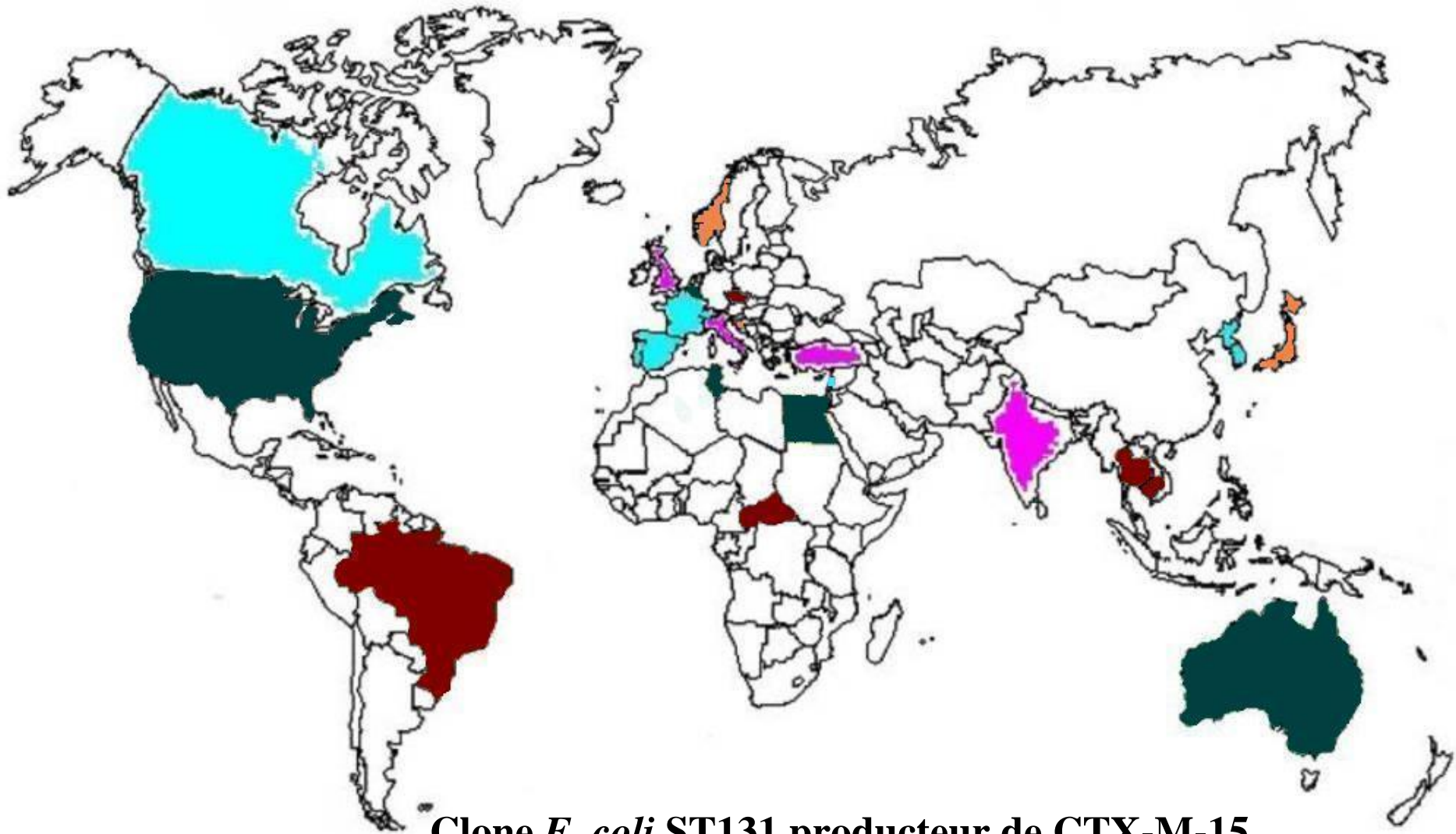
-40 -60 -80 100



Code Pays	Groupe PFGE	Pays
Vlab2	I	France
17102	I	Canada
19502	II	Canada
HBS4	III	France
HDE1	III	France
TE1	III	France
6373	IV	Portugal
1100	V	Canada
16102	V	Canada
TNN (TE2)	V	France
5754	V	Portugal
8501	VI	Canada
KUMC KN1604	VII	Korea
5753	VIII	Portugal
HDE2	IX	France
HDE3	IX	France
VA1	X	France
MECB5	X	France
VB9	X	France
15802	XI	Canada
FV7569	XII	Spain
FV7595	XII	Spain
FV7561	XII	Spain
FV7563	XII	Spain
FV7588	XII	Spain
FV7593	XII	Spain
5800	XIII	Portugal
5936	XIII	Portugal
VB6	XIII	France
HBS1	XIII	France
AH15	XIV	Lebanon
AH10	XIV	Lebanon
AH8	XIV	Lebanon
AH9	XV	Lebanon
VB8	XVI	France
3756 EcS2	XVII	Switzerland
FV7591	XVIII	Spain

**Diversité des
profils PFGE**

17/36 isolats



	Canada	Suisse		Angleterre		Norvège		Brésil	2010		Tunisie
	Portugal	Liban		Italie		Croatie		République Afrique Centrale			Australie
	Espagne	Corée		Turquie		Japon		Tchèque			Belgique
	France			Inde				Cambodge			Egypte
								Thaïlande			USA

Y a-t-il des souches du clone

***E. coli* ST131 non**

productrices de BLSE ?

Absence of CTX-M Enzymes but High Prevalence of Clones, Including Clone ST131, among Fecal *Escherichia coli* Isolates from Healthy Subjects Living in the Area of Paris, France[∇]

Leflon-Guibout V., J. Blanco, K. Amaqdouf, A. Mora, L. Guize, and M.H. Nicolas-Chanoine

J. Clin. Microbiol. 2008; 46:3900-3905

Selles de 332 sujets sains (février 2006)

7 %, avec clone ST131 comme population fécale dominante

**Rapid detection of the O25b-ST131 clone of
Escherichia coli encompassing the CTX-M-15-
producing strains**

E. Ruppé. J.-L. Sarthou. T. Frank. S. Vimont. G. Arlet. C. Brander. N. Woodford and E. Denamur
J. Antimicrob. Chemother. 2009; 64:274-277

Clone ST131 représente 3% des isolats du groupe B2
non producteurs de BLSE parmi les *E. coli* responsables
d'infections urinaires à Paris (Décembre 2002 – Mars 2003)

Phylogenetic and genomic diversity of human bacteremic *Escherichia coli* strains

Jaureguy F., L. Landraud, V. Passet, L. Diancourt, E. Frapy, G. Guigon, E. Carbonnelle, O. Lortholary, O. Clermont, E. Denamur, B. Picard, X. Nassif and S. Brisse

BMC Genomics 2008, 9:560

Clone ST131 représente presque 3 % de 165 *E. coli*
responsables de bactériémies chez les patients
hospitalisés dans 2 hôpitaux universitaires de Paris
(Décembre 2002 – Décembre 2003)

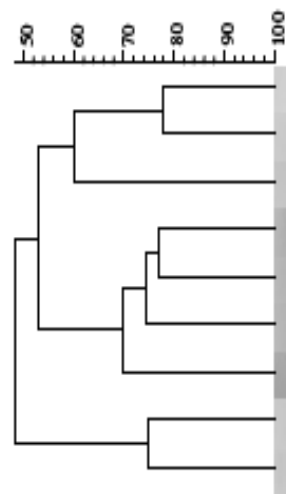
Similarity and divergence among adherent-invasive *E. coli* (AIEC) and Extraintestinal pathogenic *E. coli* (ExPEC)

Martinez-Medina M. A. Mora, M. Blanco, C. Lopez, M. Pilar Alonso, S. Bonacorsi, M.H. Nicolas-Chanoine, J. Garcia-Gil and J. Blanco

J. Clin. Microbiol. 2009 (online ahead of print on 14 October 2009)

PFGE-XbaI

Dice (Tol 1.0%-1.0%) (H>0.0% S>0.0%) [0.0%-100.0%]



Id Strain	Origin	Serotype	Phylo	ST types	Virulence gene profile
LF 82	Intestinal, CD	O83:H1	B2	ST135	<i>ibeA fimAv_{M77s} fimH malX usp kpsM-II</i>
PP 16	Sepsis	O83:H1	B2	ST135	<i>ibeA fimAv_{M77s} fimH malX usp kpsM-II</i>
FV7563	UTI	O25:H4	B2	ST131	<i>afa/draBC iucD fimH sat malX usp kpsM-II</i>
OL 96a	UTI	O6:H1	B2	ST73	<i>papGII sfa/focDE(focG) iucD hlyA cnf1 fimH sat malX usp iroN kpsM-II</i>
AIEC 01	Intestinal, CD	O6:H1	B2	ST73	<i>sfa/focDE(focG) iucD fimH sat traT malX usp iroN kpsM-II</i>
AIEC 21	Intestinal, CD	O6:H1	B2	ST73	<i>papGII iucD hlyA cnf1 fimH sat traT malX usp kpsM-II</i>
PP 215	Sepsis	O6:H1	B2	ST73	<i>papGII sfa/focDE(focG) iucD hlyA cnf1 fimH sat traT malX usp iroN kpsM-II</i>
AIEC 08	Intest., non-IBD	O25:H4	B2	ST131	<i>papGIII ibeA iucD fimH traT malX usp cdtB kpsM-II</i>
AIEC 13	Intestinal, UC	O25:H4	B2	ST131	<i>papGIII ibeA iucD hlyA cnf1 fimH cvaC traT malX usp iroN cdtB kpsM-II</i>

Caractères variables et stables du clone ST131 (n=15)

Souche	Source	β-lactamase	Sensib. A.Nal.	Sensib. SXT FOS		biofilm	<i>papGII</i>	<i>papC</i>	<i>fimH</i>	<i>hly</i>	<i>aer</i>	<i>fyuA</i>
TE1	Urines	CTX-M-15	R	S	S	0.02			+		+	+
TE2	Urines	CTX-M-15	R	S	R	0.23			+		+	+
FV7563	Urines	CTX-M-15	R	R	S	0.84			+		+	+
250	Selles SS	-	S	S	S	0.22			+		+	+
208	Selles SS	OXA-1	S	S	S	0.17			+		+	+
196	Selles SS	TEM-1	S	R	S	0.15			+		+	+
02	Selles SS	TEM-1	R	S	S	0.05			+		+	+
39	Selles SS	TEM-1	R	S	S	0.03			+		+	+
183	Selles SS	TEM-1	R	S	S	0.24			+		+	+
187	Selles SS	TEM-1	R	S	S	0.87			+		+	+
A26	Sang	CTX-M-15	R	S	S	0.1			+		+	+
A88	Sang	CTX-M-15*	R	S	S	0.04			+		+	+
A47	Sang	TEM-1	S	R	S	2.2	+	+	+	+	+	+
A68	Sang	TEM-1	R	I	S	0.05			+		+	+
N74	Sang	TEM-1	S	R	S	0.26			+		+	+

SS: sujet sain ; * : hyperproduction céphalosporine ; S: sensible; R: résistant ; -: absence de mutation ; +: test positif

Fond génétique du clone ST131

Macro array (BMC Genomics 2008, 9:560)

Analyse de 2289 séquences issues du “flexible gene pool” de 2 UPEC de référence (CFT073, 536) une souche K2 et de la souche RS218 (K1 méningite)

Clone ST131 : souche TE1 (14 autres souches en cours d’analyse)

50% des séquences positives

Facteurs de virulence (204) : 34% positives

Protéines de structure (126) : 57% positives

Régions intergéniques (86) : 53% positives

IS et transposases (90) : 53%

Facteurs métaboliques (493) : 51% positives

**Y a-t-il des clones autres que
ST131 identifiés chez des sujets
sans lien épidémiologique ?**

Autres clones que ST131 chez sujets sans lien épidémiologique

- Clone O15: K52: H1 (groupe phylogénétique D, ST393)

Bouffées épidémiques d'infections urinaires et de bactériémies dans le sud de Londres de 1986 à 1987

(Phillips et al., Lancet, 1988; i:1038-1041)

- Clone CgA (groupe phylogénétique D, ST69)

Forte prévalence de ce clone dans les infections urinaires communautaires dans différentes villes des Etats-Unis début 2000

(Manges et al., N. Engl. J. Med, 2001; 345:1007-1013)

Dans les selles des sujets sains Paris

Population dominante :

- groupe B2 : clone ST95 (clone méningite)
clone ST141

Sous-dominante *E. coli* résistant aux quinolones :

- groupe D : clone ST393 (O15: K52: H1)
clone ST117
 - groupe A : clone ST10
clone ST167
clone ST709
clone ST744
clone ST606
- CC 10

(Leflon et al., *J. Clin. Microbiol.*, 2008; 46:3900-3905)

European Emergence of Ciprofloxacin-Resistant *Escherichia coli*
Clonal Groups O25:H4-ST 131 and O15:K52:H1 Causing
Community-Acquired Uncomplicated Cystitis[▽]

Cañacci S., L. Gualco, E. Debbia, G.C. Schito and A. Marchese

J. Clin. Microbiol. 2008; 46:2605-2612

Parmi 148 isolats (2003-2006) d'Espagne, Russie, Italie, France, Allemagne, Hongrie, Australie et Pologne

- 11 %, clone O15:K52:H1 **ST393** (Espagne, Russie, Italie)
- 23 %, clone **ST131** (dans tous les pays sauf la Pologne)

Epidemic Clonal Groups of *Escherichia coli* as a Cause of Antimicrobial-Resistant Urinary Tract Infections in Canada, 2002 to 2004[∇]

Johnson J.-R., M. Menard, B. Johnston, M.-A. Kuskowski, K. Nichol and G.-G. Zhanel

Antimicrob. Agents Chemother. 2009; 53:2733-2739

Parmi 199 isolats :

- Clone CgA : 4,5 %

- Clone O15:K52:H1 ST393 : 9,5 %

- Clone ST131 : 23 %

**Y a-t-il d'autres clones que
ST131 producteurs
d'enzymes CTX-M ?**

Groupe D :

clone CgA, ST69 : CTX-M-14, Canada et Espagne

clone O15 : K52 : H1, ST393 : CTX-M-14, Espagne
CTX-M-15, Tchéquie

clone ST117 : CTX-M-9, Espagne

Groupe A

clones ST10, ST167, ST606 : CTX-M-9, -14, SHV-12,
autres BLSE, Espagne

Groupe B2

clone ST73 : CTX-M-14, Japon :

(Pitout et al., Antimicrob. Agents Chemother. 2005; 49:4667-4670)

(Oteo et al., Int. J Antimicrob. Agents 2009; 34:173-176)

(Suzuki et al., J. Antimicrob. Chemother. 2009; 63:72-79)

**Y a t'il d'autres BLSE que
CTX-M-15 produites
par *E. coli* ST131 ?**

Espagne : CTX-M-14/ CTX-M- 1, -9, -10, -14 et SVH-12

(Blanco et al., J. Antimicrob. Chemother., 2009; 63:1135-1141)

(Oteo et al., Int. J. Antimicrob. Agents 2009; 34:173-176)

Japon : CTX-M-14 et 35

(Suzuki et al., J. Antimicrob. Chemother. 2009; 63:72-79)

France : CTX-M-14, -32, et TEM-24

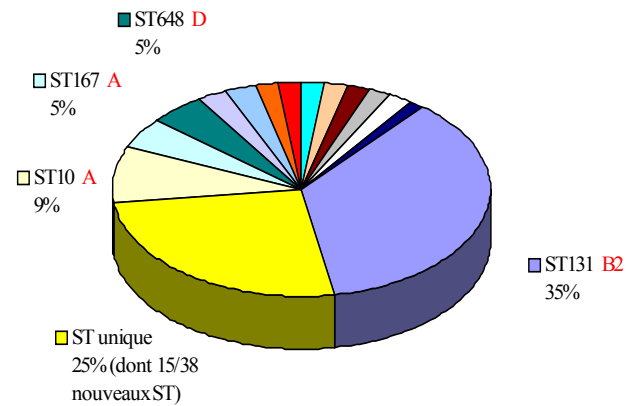
(Clermont et al., J. Antimicrob. Chemother. 2009; 64:274-277)

Croatie : CTX-M-3

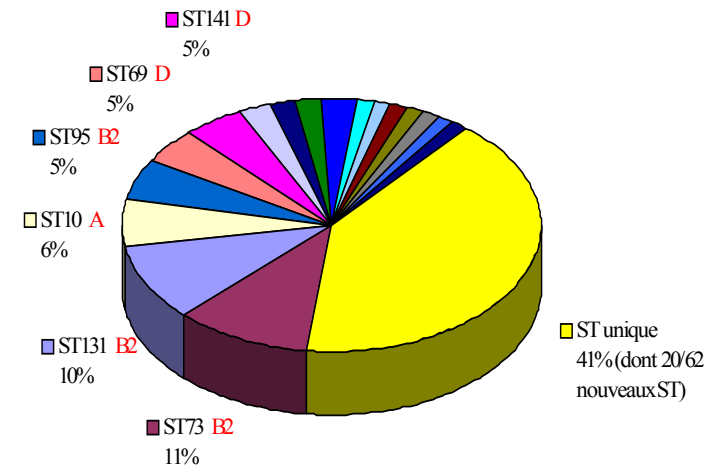
(Literacka et al., Antimicrob. Agents Chemother. 2009; 53:1630-1635)

**Place des clones au sein des
E. coli producteurs de CTX-M ?**

Distribution des ST des *E. coli* producteurs de CTX-M et de *E. coli* non producteurs de BLSE



n= 152



n= 152

Distribution significativement différente : plus de ST131 chez les *E. coli* producteurs de CTX-M ($p < 10^{-7}$) et plus de ST uniques ($p < 0,0004$), ST73 ($p < 10^{-5}$) et ST95 ($p < 0,0003$) chez les *E. coli* non producteurs de BLSE.

**Y a-t-il d'autres espèces que
E. coli présentant des
clones producteurs de BLSE ?**

Klebsiella pneumoniae

Hongrie : 41 centres 2005, 3 clones **ST11**, ST15 et ST147,
tous producteurs de CTX-M-15

(Damjanova et al., J. Antimicrob. Chemother. 2008; 62:978-985)

Espagne : 5 hôpitaux (Madrid) 2008, ST1, **ST11**, ST14,
ST17, ST20, ST35 et ST36, tous producteurs de
CTX-M-15

(Oteo et al., J. Antimicrob. Chemother. 2009; 64:524-528)

Tchéquie : 1 hôpital, 2 mois en 2006, **ST11**, ST14
producteurs de SHV-2 et SHV-5, respectivement

(Hrabak et al. J. Clin. Microbiol. 2009; 47:3353-3357)

CTX-M portées par des éléments mobiles (Angleterre)

Paramètre	Plasmide		
	pEK499	pEK516	pEK204
Gpe incomp / réplicon	IncF / IncFII-FIA	IncFII	IncI1
Gènes de résistance	8 classes d'ATB	5 classes d'ATB	<i>bla</i> _{CTX-M-3} et <i>bla</i> _{TEM1}
Taille fragment support	25 Kb	22 Kb	2Kb
<i>ISEcp1</i> // <i>bla</i> _{CTX-M}	non	oui	oui
Conjugaison	non	oui	oui

Woodford *et al.* AAC, 2009

Conclusion

L'analyse du couple *E.coli* /CTX-M nous a progressivement amené à “réaliser”

- qu'il existe chez les souches d'*E. coli* multirésistantes aux antibiotiques un phénomène de clonalité comme chez *Staphylococcus aureus* multirésistant
- que la clonalité des isolats cliniques d'*E. coli* producteurs de CTX-M s'adosserait au phénomène de clonalité des populations d'*E. coli* fécaux existantes au moins chez les sujets sains

Les données récentes du phénomène de clonalité chez les souches de *K. pneumoniae* productrices de BLSE renforcent l'idée que multirésistance et clonalité seraient des phénomènes convergents sous la pression de l'évolution (récente ???)