HAL
open science

Résistance aux biocides des souches Pseudomonas productrices de carbapénémases de type VIM-2 : impact sur les détergents-désinfectants usuels

Antoine Géry, Audrey Mouet, Annie Lemarié, Céline Bazin, Antoine Bidon, François Gravey, Francois Guerin, Michel Auzou, Marguerite Fines-Guyon, François Ethuin, et al.

To cite this version:

Antoine Géry, Audrey Mouet, Annie Lemarié, Céline Bazin, Antoine Bidon, et al.. Résistance aux biocides des souches Pseudomonas productrices de carbapénémases de type VIM-2 : impact sur les détergents-désinfectants usuels . XXXe Congrès National de la Société Française d'Hygiène Hospitalière, Jun 2019, Strasbourg, France. hal-03385142

HAL Id: hal-03385142

https://normandie-univ.hal.science/hal-03385142v1

Submitted on 19 Oct 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

P-038 Résistance aux biocides des souches *Pseudomonas* productrices de carbapènémases de type VIM-2 : impact sur les détergents-désinfectants usuels

A. Géry[1], A. Mouet[1], A. Lemarié[1], C. Bazin[1], A. Bidon[1], F. Gravey[1,2,3], F. Guérin[2,3], M. Auzou[2], M. Fines-Guyon[2], F. Ethuin[4], M. Pottier[1,5], A. Leon-Seck[5], P. Plésiat[6], S. Le Hello[1,3]

[1] *CHU de Caen, Service d'hygiène, Caen, France*
[2] *CHU de Caen, Service de Microbiologie, Caen, France*
[3] *Groupe de Recherche sur l'Adaptation Microbienne GRAM 2.0 ; EA2656 UFR santé, Université de Caen Normandie, France*
[4] *CHU de Caen, Service de réanimation chirurgicale, Caen, France*
[5] *LABEO,* Pôle d'analyse et de recherche, Saint Contest, France
[6] CNR résistance aux antibiotiques, CHU Besançon, France

@ : lehello-s@chu-caen.fr

Introduction

Un nombre de 67 cas cliniques à *Pseudomonas aeruginosa* producteurs de carbapènémases de type VIM-2 (pyoVIM-2) ont été notifiées dans notre établissement entre 2011 et 2018, et ce, malgré les précautions prises (dépistage des patients, isolement contact et procédure spécifique d'entretien des locaux, cf P-O72). Cela nous a amené à évaluer l'activité bactéricide des détergents-désinfectants (DD) utilisés dans notre établissement sur des souches cliniques et environnementales *Pseudomonas* représentatives de notre écologie hospitalière et de comprendre leur mécanisme de résistance.

Méthode

L'activité bactéricide *in vitro* des sept détergents-désinfectants de surfaces utilisés au CHU de Caen (Aniosurf ND Premium®, Surfanios Premium®, Anios Oxy'Floor®, Anioxy Spray WS®, Surfa'Safe Premium®, Hyginet® et eau de javel) a été évaluée selon le protocole de filtration sur membrane en conditions de propreté (NF EN 13727 + A2). Cette détermination a été effectuée sur un panel de trois souches de *Pseudomonas aeruginosa* : une souche de référence (PAO1) et deux souches de pyoVIM-2 (clinique et environnementale) et six souches de *Pseudomonas* autre que *aeruginosa* et productrices de VIM-2 (*putida*, *oleovorans*, *nitroreducens*, *monteilii*, *pleicoglossicida*) isolées en 2018 au CHU de Caen.
Les concentrations minimales inhibitrices au chlorure de didécyldiméthylammonium (CDMA) ont obtenues par méthode de micro-dilution sur plaque sur la PA01 et quelques souches de *Pseudomonas* VIM-2. le CDMA a été utilisé après une dilution sériée de raison 1/2, d'une concentration allant de 512 mg/L à 0,5 mg/L, sur microplaque où les souches bactériennes sont ensuite inoculées à partir d'une suspension à 0,5 McF et diluée au dixième.
Les cinétiques de mortalité (Time-Kill curves) en conditions d'utilisation du Surfanios (ANIOS®) : Des suspensions bactériennes normalisées à 0,5 McF sont réalisées dans de l'eau physiologique stérile. Elles sont ensuite diluées au 1/20e dans du bouillon TS (Biorad®) contenant 62,5 mg/L de CDMA, puis placées sous agitation à 37 °C. A T_0, T_{5min}, T_{10min}, T_{15min}, T_{30min}, T_{1h}, T_{2h30}, T_{4h}, T_{5h30} et T_{24h}, 1 mL de solution a été prélevé et ajouté à 9 mL de neutralisant (neutralisant pour ammoniums quaternaires de la Norme NF EN 13727+A2) afin de stopper l'effet bactéricide du CDMA. Après 10 minutes de contact à température ambiante, le nombre de bactéries cultivables a ensuite été obtenu par dilution de l'échantillon neutralisé dans de l'eau physiologique stérile et dénombrement sur gélose TS.

Résultats

Étape 1

Objectif : Tester la sensibilité de souches des espèce de *Pseudomonas* environnementales et cliniques VIM-2 aux détergents-désinfectants utilisés dans l'établissement.

Souches testées :
- PAO1 (souche de référence)
- *Pseudomonas aeruginosa* VIM-2 environnemental
- *Pseudomonas aeruginosa* VIM-2 clinique
- *Pseudomonas* VIM-2 : *Pseudomonas plecoglossicida, monteilii, nitroreducens, oleovorans*

Résultat : Tous les détergents-désinfectants présentent une activité bactéricide sur le *Pseudomonas aeruginosa* VIM-2 hormis le Surfanios ND Premium. Le Surfanios ND Premium® conserve son activité bactéricide sur toutes les autres espèces environnementales VIM-2.

Tableau 1. Évaluation de l'activité bactéricide du Surfanios ND Premium® sur les différentes espèces de *Pseudomonas* VIM-2 environnementales et sur une souche de pyo VIM-2 clinique.

Solution d'essai	Souche	Dilution	Bactéries	Réduction logarithmique	Effet bactéricide
Surfanios ND Premium®	PA01	0,25% (dilution d'usage recommandée)	1,40E+02	6,51	OUI
		0,5%	1,40E+02	6,51	OUI
	Pseudomonas oleovorans VIM-2	0,25% (dilution d'usage recommandée)	1,40E+02	6,15	OUI
		0,5%	1,40E+02	6,15	OUI
	Pseudomonas nitroreducens VIM-2	0,25% (dilution d'usage recommandée)	1,40E+02	6,24	OUI
		0,5%	1,40E+02	6,24	OUI
	Pseudomonas monteilii VIM-2	0,25% (dilution d'usage recommandée)	6,60E+02	5,85	OUI
		0,5%	1,40E+02	6,53	OUI
	Pseudomonas plecoglossicida VIM-2	0,25% (dilution d'usage recommandée)	1,40E+02	6,53	OUI
		0,5%	1,40E+02	6,53	OUI
	Pseudomonas aeruginosa VIM-2 clinique	0,25% (dilution d'usage recommandée)	2,74E+05	2,95	NON
		0,5%	1,40E+02	6,24	OUI
	Pseudomonas aeruginosa VIM-2 environnement	0,25% (dilution d'usage recommandée)	1,36E+05	3,24	NON
		0,5%	1,40E+02	6,22	OUI
Témoins	PAO1		4,55E+08		
	Pseudomonas oleovorans VIM-2		1,98E+08		
	Pseudomonas nitroreducens VIM-2		2,45E+08		
	Pseudomonas monteilii VIM-2		4,72E+08		
	Pseudomonas plecoglossicida VIM-2		4,72E+08		
	Pseudomonas aeruginosa VIM-2 clinique		2,45E+08		
	Pseudomonas aeruginosa VIM-2 environnement		2,35E+08		

Étape 2

Objectif : Tester la sensibilité de souches résistantes au Surfanios ND Premium à un de ses composés ammonium quaternaire, le Chlorure de DidécyldiMéthylAmmonium (CDMA) via la détermination de la concentration minimale inhibitrice en milieu liquide et les cinétiques de mortalité (Time-Kill curves) en conditions d'utilisation de ce composé dans le Surfanios

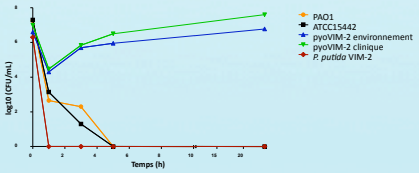
Souches testées :
- PAO1 (souche de référence)
- *Pseudomonas aeruginosa* VIM-2 clinique
- *Pseudomonas putida* VIM-2

Résultat : Les souches pyoVIM-2 sont résistantes aux ammoniums quaternaires et survivent plus longtemps que les autres souches aux concentrations d'usage

Tableau 2. Concentrations minimales inhibitrices au CDMA obtenues par méthode de micro-dilution sur plaque

Souche	Concentration minimale inhibitrice du CDMA (mg/L)	Statut (Seuil de sensibilité = 62,5 mg/L)
PA01	32	Sensible
pyoVIM-2 environnement	128	Résistante
pyoVIM-2 clinique8	128	Résistante
Pseudomonas putida VIM-2	32	Sensible

Figure. Time kill curves de *Pseudomonas sp.* en présence de didecylmethylammonium chloride (62mg/L)



Conclusion

L'utilisation de ce protocole a permis de révéler une sensibilité diminuée au Surfanios ND Premium® à la concentration recommandée par le fabricant pour certaines souches de *Pseudomonas aeruginosa* productrices de carbapénémase VIM-2. Ce constat nous a fait préconiser l'utilisation de ce détergent-désinfectant à double dose pour l'entretien des surfaces de l'environnement proche des patients colonisés et le traitement des points d'eau à l'eau de javel. Il s'agit d'une résistance aux composés ammoniums quaternaires. Un séquençage des souches est en cours afin de déterminer le support génétique de cette résistance.