

Cutibacterium acnes peut accroître
son arsenal de résistance :
Emergence in vitro de la résistance aux FQ et
caractérisation moléculaire
des mutations dans *gyrA*

E-M. TAKOUDJU, A. GUILLOUZOUIC, S. KAMBAREFF, F. PECORARI, S. CORVEC

Service de Bactériologie-Hygiène hospitalière, CHU de Nantes

CONTEXTE *Cutibacterium acnes* & résistance

Review Article

Propionibacterium acnes: An Underestimated Pathogen in Implant-Associated Infections

María Eugenia Portillo,¹ Stéphane Corvec,^{2,3} Olivier Borens,⁴ and Andrej Trampuz⁵

¹ Microbiology Laboratory, Laboratori de Referencia de Catalunya, Barcelona, Spain

² Service de Bactériologie-Hygiène, CHU de Nantes, Institut de Biologie, Nantes Cedex, France

³ Université de Nantes, EA3826, Thérapeutiques Cliniques et Expérimentales des Infections, 1 rue G. Veil, 44000 Nantes, France

⁴ Orthopedic Septic Surgical Unit, Department of Surgery and Anesthesiology, Lausanne University Hospital, Lausanne, Switzerland

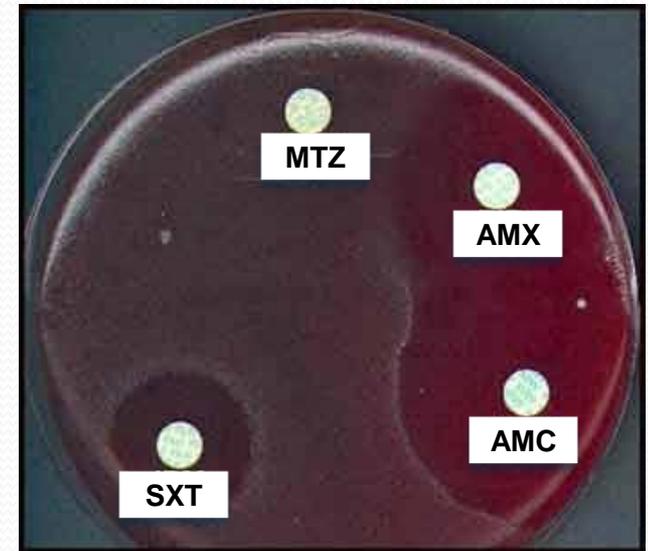
⁵ Center for Musculoskeletal Surgery, Charité-University Medicine Berlin, Free University and Humboldt University, Charitéplatz 1, 10117 Berlin, Germany

■ Résistances naturelles...

- Métronidazole
- Fosfomycine
- Colistine
- Trimethoprim
- Aztréonam
- Aminosides

■ ... et résistances acquises décrites

- Macrolides (gènes ARN 23S, *ermX*)
- Cyclines (gène ARN 16S)
- Rifampicine (gène *rpoB*)
- Cotrimoxazole (mécanisme ?)
- Fluoroquinolones



Nakase *et al.*, *Anaerobe* 2016

Oprica *et al.*, *Anaerobe* 2015

Ross *et al.*, *AAC*, 1997

Ross *et al.*, *British Journal of Dermatology*, 2003

Sinnott *et al.*, *Journal Dermatology* 2016

Sardana *et al.*, *Indian J. Dermatology* 2015



Clinical microbiology

Antibiotic susceptibility of *Propionibacterium acnes* isolated from orthopaedic implant-associated infections

Jasmine Khasseba^{a, b}, Bengt Hellmark^b, Sabina Davidsson^{a, c}, Magnus Unemo^b, Åsa Nilsson-Augustinsson^{d, e}, Bo Söderquist^{a, *}

^a Faculty of Medicine and Health, Örebro University, Örebro, Sweden

^b Department of Laboratory Medicine, Clinical Microbiology, Örebro University Hospital, Örebro, Sweden

^c Department of Urology, Örebro University Hospital, Örebro, Sweden

^d Division of Infectious Diseases, Department of Clinical and Experimental Medicine, Faculty of Health Sciences, Linköping University, Linköping, Sweden

^e Department of Infectious Diseases, County Council of Östergötland, Linköping, Sweden

Technical note

Occurrence and new mutations involved in rifampicin-resistant *Propionibacterium acnes* strains isolated from biofilm or device-related infections[☆]

Ulrika Furustrand Tafin^{a, 1}, Guillaume Ghislain Aubin^{b, c, 1}, Gerhard Eich^d, Andrej Trampuz^e, Stéphane Corvec^{b, c, *}

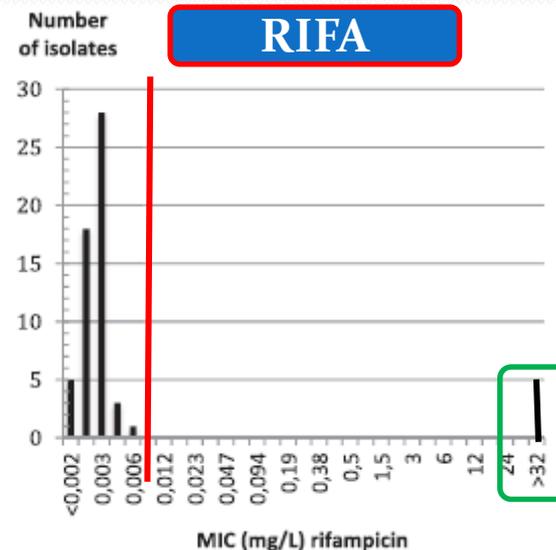
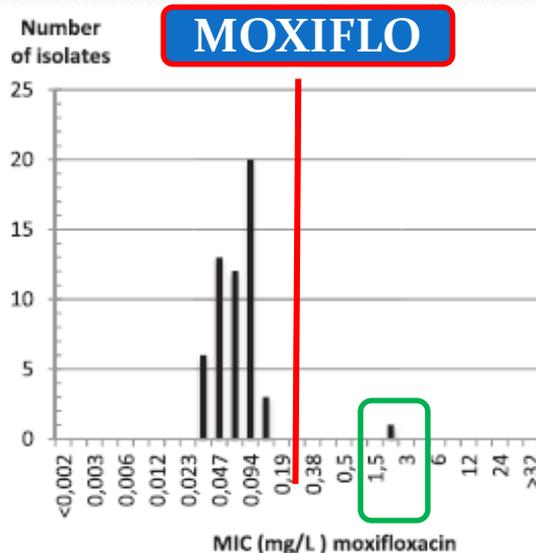
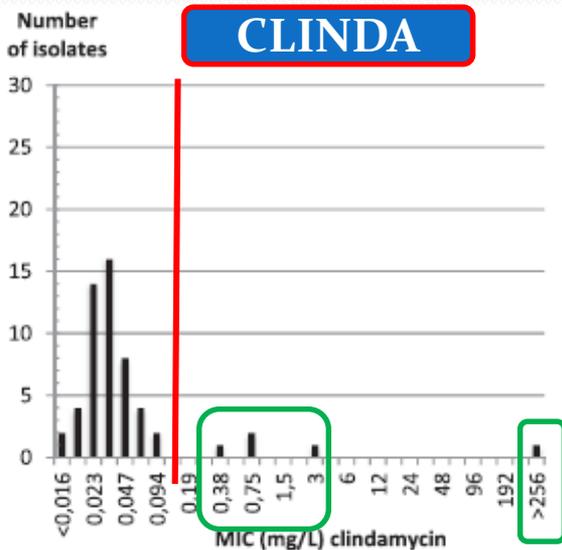


Observations cliniques

Antimicrobial Susceptibility of *Propionibacterium acnes* Isolates from Shoulder Surgery

John K. Crane,^{a, c} Donald W. Hohman,^{b, c} Scott R. Nodzo,^{b, c} Thomas R. Duquin^{b, c}

Department of Medicine, Division of Infectious Diseases, University at Buffalo, Buffalo, New York, USA^a; Department of Orthopaedic Surgery, University at Buffalo, Buffalo, New York, USA^b; Erie County Medical Center, Buffalo, New York, USA^c



Des souches avec un bas ou haut niveau de résistances rapportées

Observation en modèle animal avec matériel

Role of Rifampin against *Propionibacterium acnes* Biofilm *In Vitro* and in an Experimental Foreign-Body Infection Model



Ulrika Furustrand Tafin,^a Stéphane Corvec,^{a,b} Bertrand Betrisey,^a Werner Zimmerli,^c and Andrej Trampuz^a

Infectious Diseases Service, Department of Medicine, University Hospital and University of Lausanne, Lausanne, Switzerland^a; Institut de Biologie des Hôpitaux de Nantes, Service de Bactériologie-Hygiène, CHU de Nantes, Nantes, France^b; and University Medical Clinic, Kantonsspital, Liestal, Switzerland^c

TABLE 1 Antimicrobial susceptibility of planktonic and biofilm *P. acnes*

Parameter	Value ($\mu\text{g/ml}$) ^a		
	Rifampin	Daptomycin	Levofloxacin
MIC	0.007	1	1
MBC	4	4	2
MBC/MIC ratio	571	4	2
MBEC	16	64	512

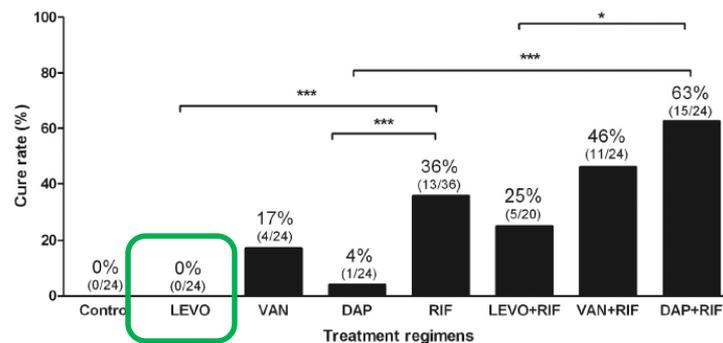
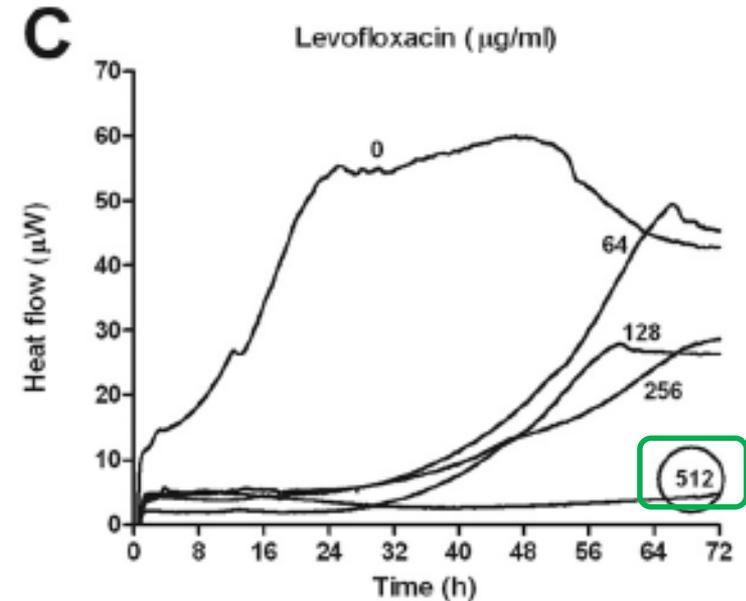


FIG 5 Treatment activity against biofilm *P. acnes*. Shown are the cure rates of adherent bacteria from explanted cages. The percentages above the columns indicate the cure rates. *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.005$.



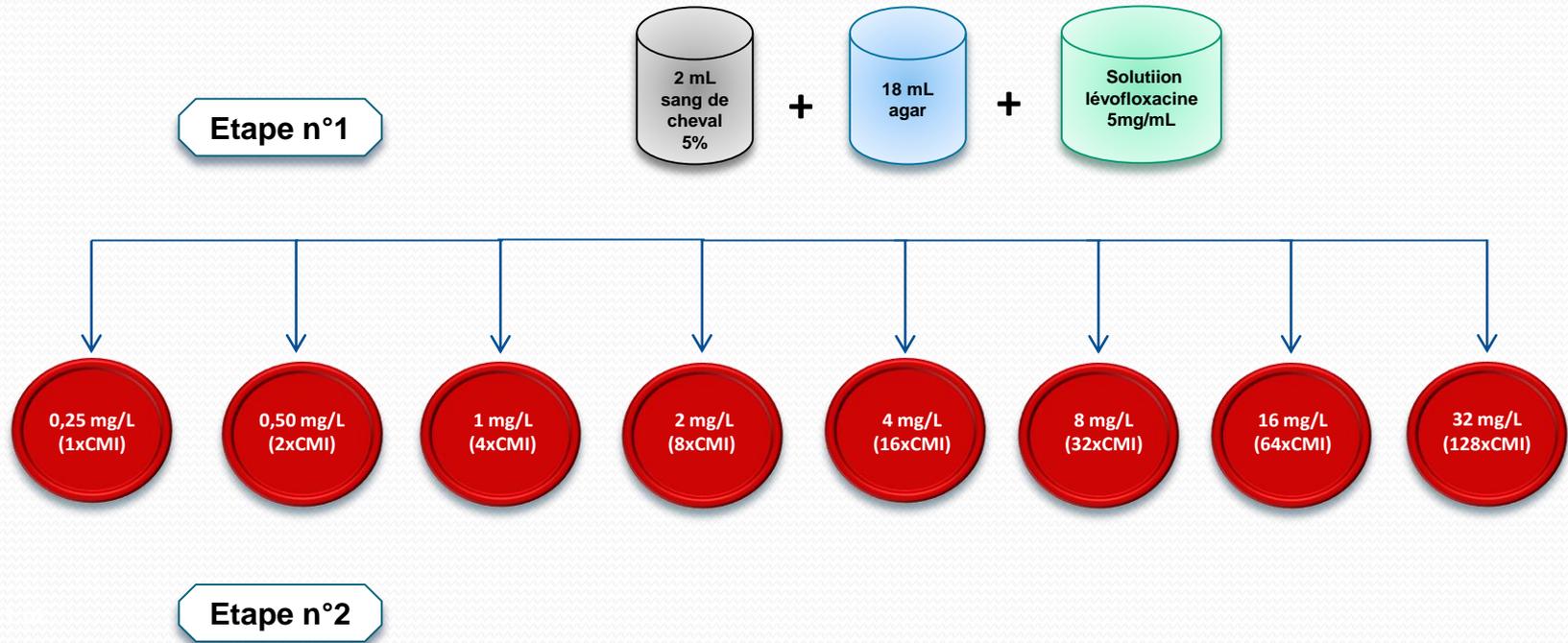
Y-a-t-il un risque de sélectionner *in vitro* et *in vivo* ?

Objectifs de l'étude

Emergence in vitro de la résistance aux FQ chez *C. acnes* ?

- ✓ Fréquence de mutation ?
- ✓ Niveau de résistance observé ? Bas ou haut niveau ?
- ✓ Quelles cibles sont impliquées ?
- ✓ Impact en clinique ?

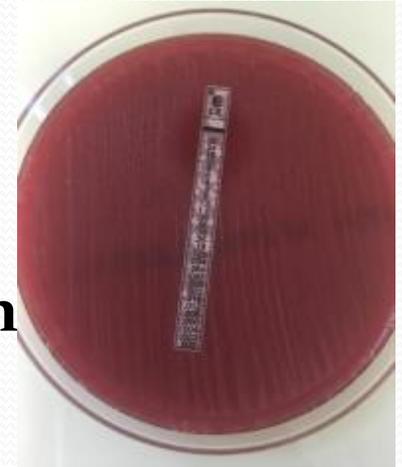
Matériel et méthodes (1)



- ✓ Inoculum 1 McF souche *C. acnes* ATCC 11827
= 10^8 bactéries/mL
- ✓ Incubation à 37°C , pendant 7 jours en anaérobiose
- ✓ CMI LEV = 0,25 mg/L

Matériel et méthodes (2)

- ✓ Identification et contrôle des CMI par MALDI-TOF et Etest
- ✓ Détermination de la fréquence de mutation
- ✓ Second cycle de sélection BNR
- ✓ Caractérisation moléculaire des cibles QRDR : gènes *gyrA* et *parC*



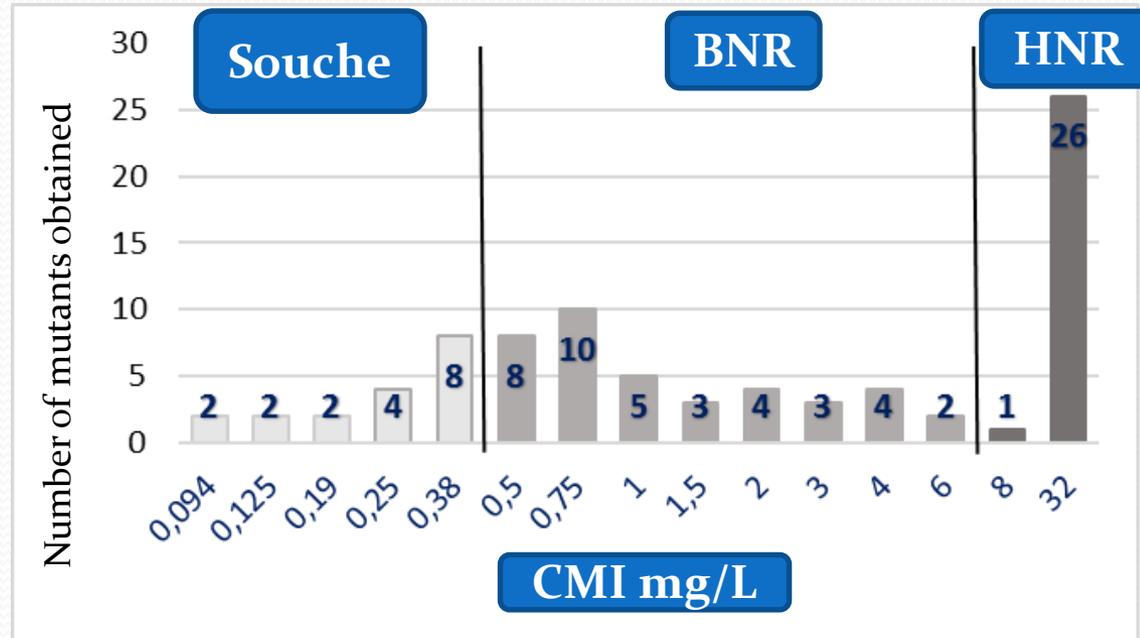
<u><i>GyrA C. acnes</i></u> <u>ATCC 11827</u>	SRVVGDV MGKYHPHCD	101	S	AIY	105	D	TLVRLAQPWAMRYKLVQGG
<u><i>ParC C. acnes</i></u> <u>ATCC 11827</u>	ARVVGQVMGQLHPHGD	89	A	AIY	93	D	ALVRTAQPWAMRLPLVDGH

RESULTATS (1)

- ✓ 89 mutants obtenus
- ✓ CMI LEV de 0,5 à >32 mg/L
- ✓ Fréquence de mutation à x4 or x8 CMI

	Fréquence de mutation
Lévoﬂoxacine (4xCMI)	1.6×10^{-7}
Lévoﬂoxacine (8xCMI)	3.8×10^{-8}

- ✓ Mutants BNR :
> 0,50 CMI ≤ 6 mg/L
- ✓ Mutants HNR :
CMI > 6 mg/L



RESULTATS (2)

✓ 40 mutants avec une mutation dans le gène *gyrA*

Etest for MIC (mg/L)

Substitution
detected in QRDR
regions

Ofloxacin

Ciprofloxacin

Levofloxacin

Moxifloxacin

GyrA

ParC

0.19	0.25	0.25	0.064	None	None
>32	>32	>32	0.75	Gly99Cys	None
>32	1	>32	6	Gly99Asp	None
>32	>32	>32	4	Asp100Asn	None
3	4	4	0.5	Asp100His	None
2	2	0.75	0.38	Asp100Gly	None
>32	>32	>32	3	Ser101Leu	None
>32	>32	>32	12	Ser101Trp	None
1.5	1.5	1	0.25	Ala102Pro	None
6	>32	4	0.5	Asp105His	None
4	>32	4	0.5	Asp105Gly	None

RESULTATS (3)

- ✓ **Sélection possible de HNR à partir des mutants de BNR :**
mutation S101L avec CMI LEV >32 mg/L
- ✓ **Prévention de l'émergence de la résistance à la LEV**
RIF (0.007 mg/L) AMX (0.064 mg/L)

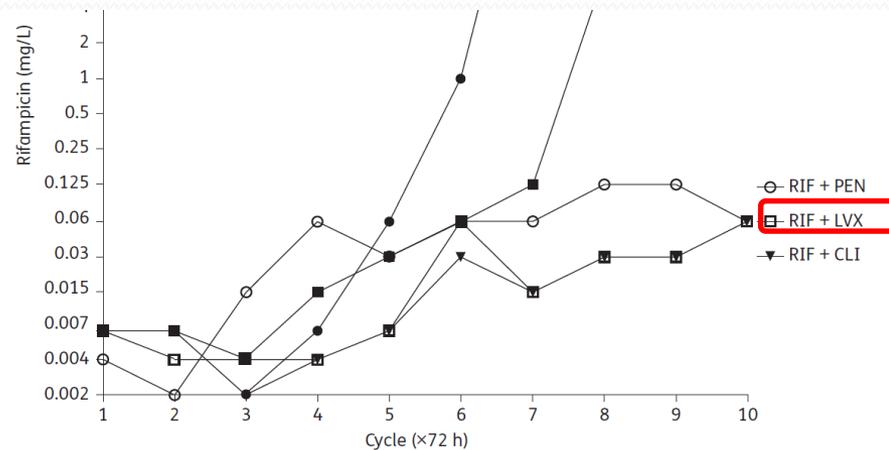


Figure 1. Progressive emergence of rifampicin (RIF) resistance in *P. acnes* using two different inocula (a) and in combination with 0.25x MIC of daptomycin (DAP), levofloxacin (LVX), clindamycin (CLI) or penicillin G (PEN) using an inoculum of 10^6 cfu/mL (b).

DISCUSSION

- ✓ **Facilité d'obtention des mutants résistants**
F de mutation identique

Remy et al. , JAC, 2012 ; Ince et al., AAC, 2000 ;Hovde et al., DMI, 2008 ; Maeda et al., JAC 2011 ; Lopez et al., JAC, 2015

- ✓ **10 génotypes décrits précédemment chez d'autre G+**

Onseedang et al., Journal Clin. Lab. Anal 2016 ; Horii et al., Diagn Microbiol Infect Dis 2003 ; Sierra et al., AAC 2005 ; Kakinuma et al., Br J Biomed, 2012 ; Cattoir et al., JAC 2010 ; Zhang et al., AAC 2014 ; Matsumoto et al., JAC 2012 ; Drudy et al, JAC 2007

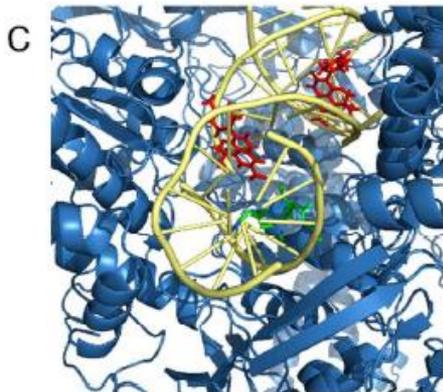
- ✓ **Hot spot Ser101Leu *cf. E. coli***

Piddock et al., Drugs 1999 ; Ahmed et al., J. Bacteriology 1995 ; Lopez et al., JAC 2015

- ✓ **Risque de sélection de HNR à partir de BNR !**

Take home messages

- 👉 *C. acnes* peut résister aux FQ, CMI LEV > 0,50 mg/L
 - 👉 Fréquence de mutation observée, attention inoculum!
 - 👉 CMI basse Moxifloxacin peut cacher un BNR !
-
- 👉 Tester la sensibilité de vos souches !!
 - 👉 Impact en clinique et risque d'échec si inoculum +++
 - 👉 Intérêt de tester en modèle animal les BNR ?



Anaerobe 47 (2017) 194–200

Contents lists available at ScienceDirect

Anaerobe

journal homepage: www.elsevier.com/locate/anaerobe

Antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria

In vitro emergence of fluoroquinolone resistance in *Cutibacterium* (formerly *Propionibacterium*) *acnes* and molecular characterization of mutations in the *gyrA* gene

Eve-Marie Takoudju^a, Aurélie Guillouzouic^a, Stanimir Kambarev^b, Frédéric Pecorari^b, Stéphane Corvec^{a, c, d, *}

^aService de Bactériologie-Hygiène Hospitalière, CHU NANTES, Nantes, France
^bCRCINA, INSERM, CNRS, Université d'Angers, Université de Nantes, Nantes, France
^cCRCINA, INSERM, Université d'Angers, Université de Nantes, Nantes, France
^dNantes Study Group Member of CRUOGO (Centre de Référence des Infections Ostéo-articulaires du Grand Ouest), Nantes, France



MERCI!

