

*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,<sup>1</sup> Stéphane Corvec,<sup>2,3</sup> Olivier Borens,<sup>4</sup> and Andrej Trampuz<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Microbiology Laboratory, Laboratori de Referencia de Catalunya, Barcelona, Spain

<sup>2</sup> Service de Bactériologie-Hygiène, CHU de Nantes, Institut de Biologie, Nantes Cedex, France

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

<sup>4</sup> Orthopedic Septic Surgical Unit, Department of Surgery and Anesthesiology, Lausanne University Hospital, Lausanne, Switzerland

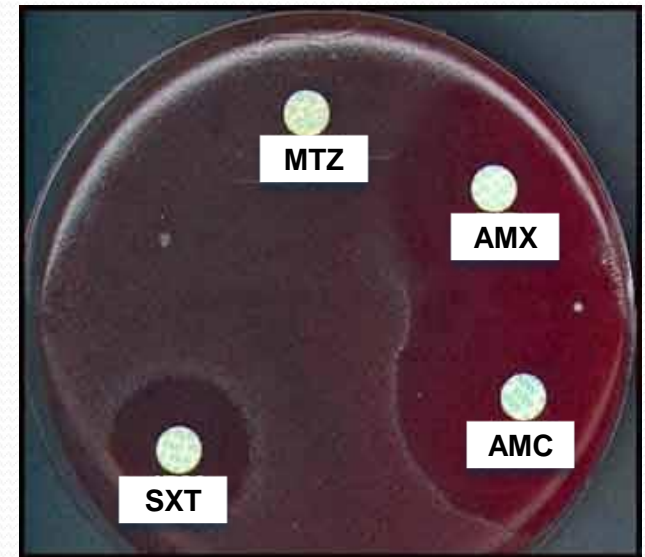
<sup>5</sup> Center for Musculoskeletal Surgery, Charité-University Medicine Berlin, Free University and Humboldt University, Charitéplatz 1, 10117 Berlin, Germany

### ■ 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<sup>a, b</sup>, Bengt Hellmark<sup>b</sup>, Sabina Davidsson<sup>a, c</sup>, Magnus Unemo<sup>b</sup>, Åsa Nilsson-Augustinsson<sup>d, e</sup>, Bo Söderquist<sup>a, \*</sup>

<sup>a</sup> Faculty of Medicine and Health, Örebro University, Örebro, Sweden

<sup>b</sup> Department of Laboratory Medicine, Clinical Microbiology, Örebro University Hospital, Örebro, Sweden

<sup>c</sup> Department of Urology, Örebro University Hospital, Örebro, Sweden

<sup>d</sup> Division of Infectious Diseases, Department of Clinical and Experimental Medicine, Faculty of Health Sciences, Linköping University, Linköping, Sweden

<sup>e</sup> 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<sup>☆</sup>

Ulrika Furustrand Tafin<sup>a, 1</sup>, Guillaume Ghislain Aubin<sup>b, c, 1</sup>, Gerhard Eich<sup>d</sup>, Andrej Trampuz<sup>e</sup>, Stéphane Corvec<sup>b, c, \*</sup>

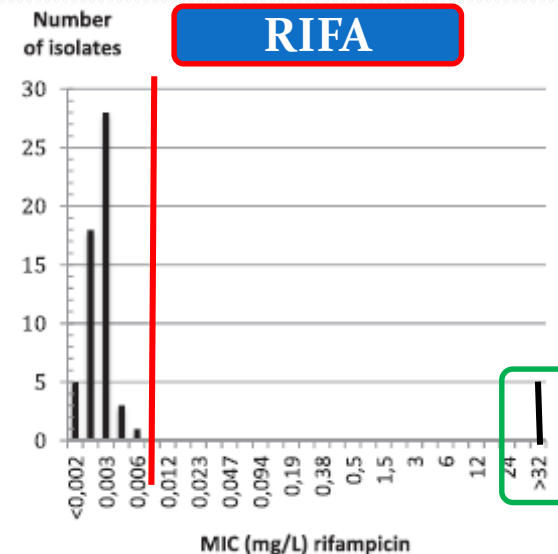
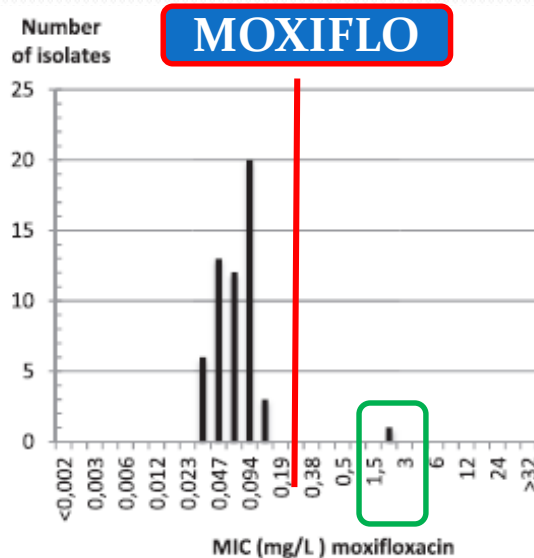
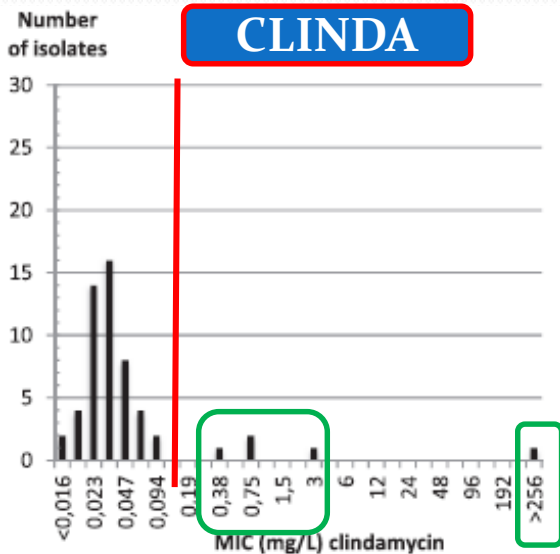


# Observations cliniques

## Antimicrobial Susceptibility of *Propionibacterium acnes* Isolates from Shoulder Surgery

John K. Crane,<sup>a, c</sup> Donald W. Hohman,<sup>b, c</sup> Scott R. Nodzo,<sup>b, c</sup> Thomas R. Duquin<sup>b, c</sup>

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



Des souches avec un bas ou haut niveau de résistantes 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 Tabin,<sup>a</sup> Stéphane Corvec,<sup>a,b</sup> Bertrand Betrisey,<sup>a</sup> Werner Zimmerli,<sup>c</sup> and Andrej Trampuz<sup>a</sup>

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

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

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

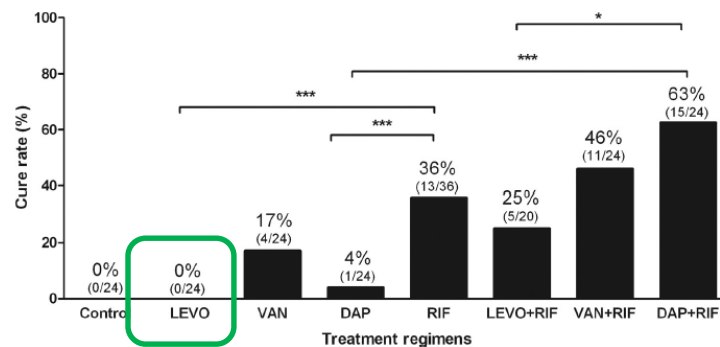
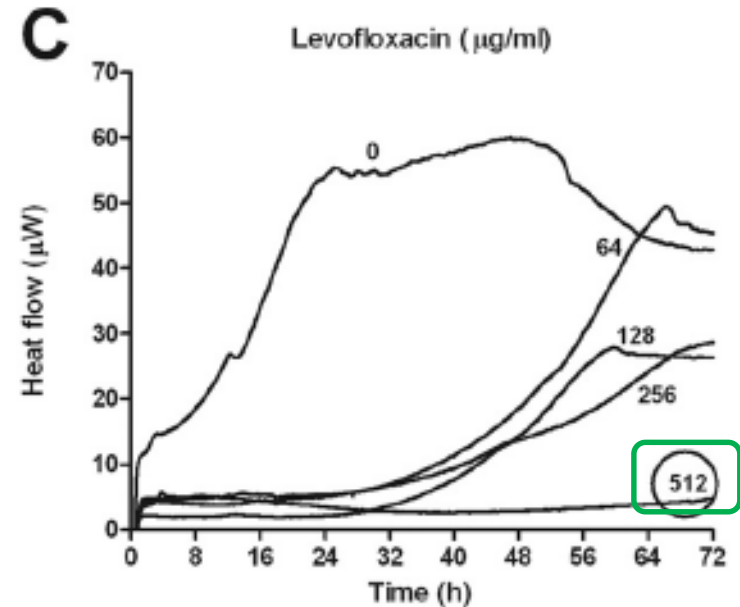


FIG 5 Treatment activity against biofilm *P. acnes*. Shown are the cure rates of adherent bacteria from explanted cages. The percentages above the columns indicate the cure rates. \*,  $P < 0.05$ ; \*\*,  $P < 0.01$ ; \*\*\*,  $P < 0.005$ .



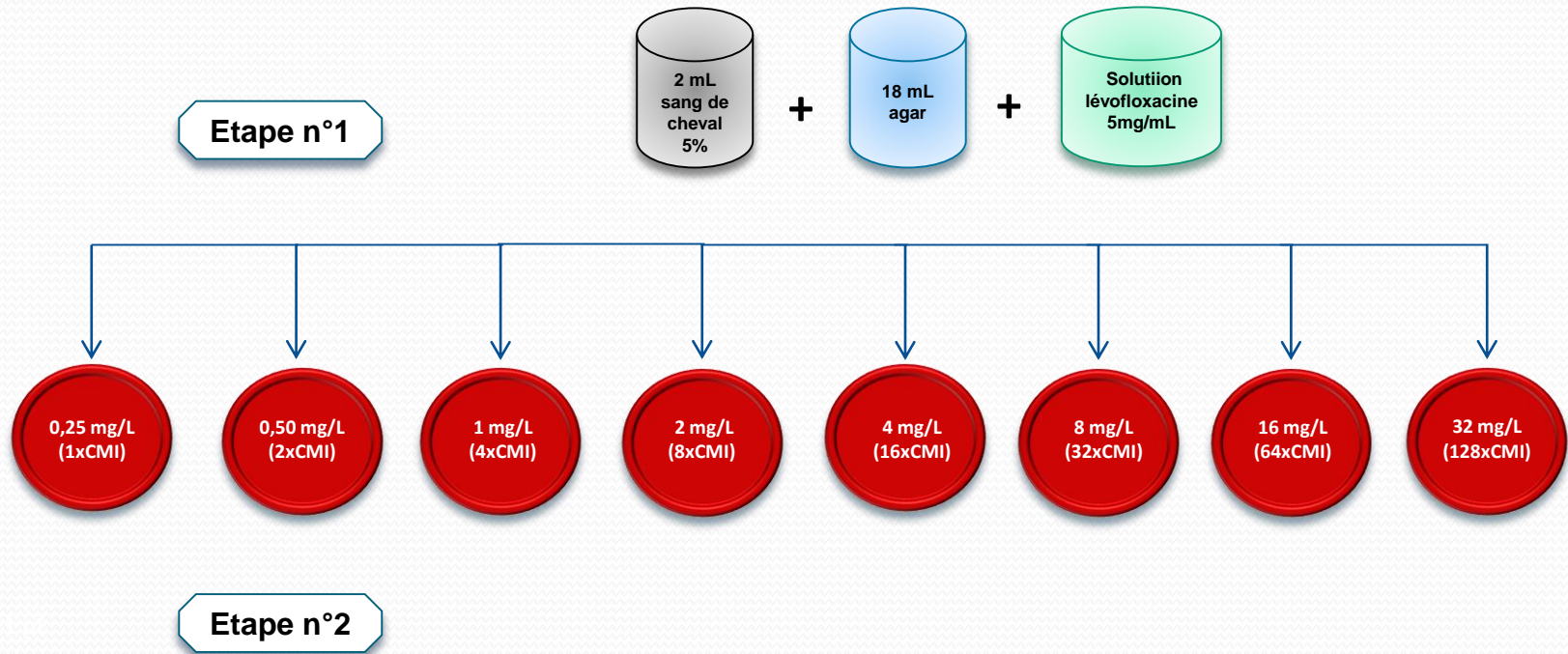
Y-a-t-il un risque de sélectionner *in vitro* et *in vivo* ?

# 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)

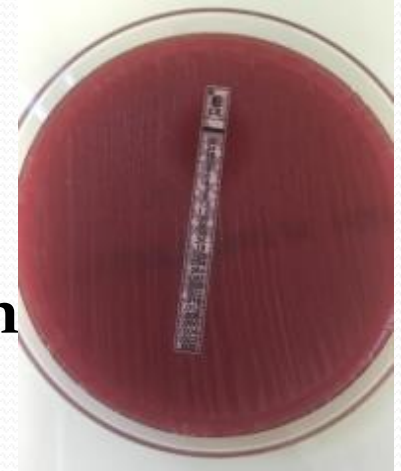


- ✓ Inoculum 1 McF souche *C. acnes* ATCC 11827  
=  $10^8$  bactéries/mL
- ✓ Incubation à  $37^\circ\text{C}$ , pendant 7 jours en anaérobiose
- ✓ CMI LEV = 0,25 mg/L



## 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*



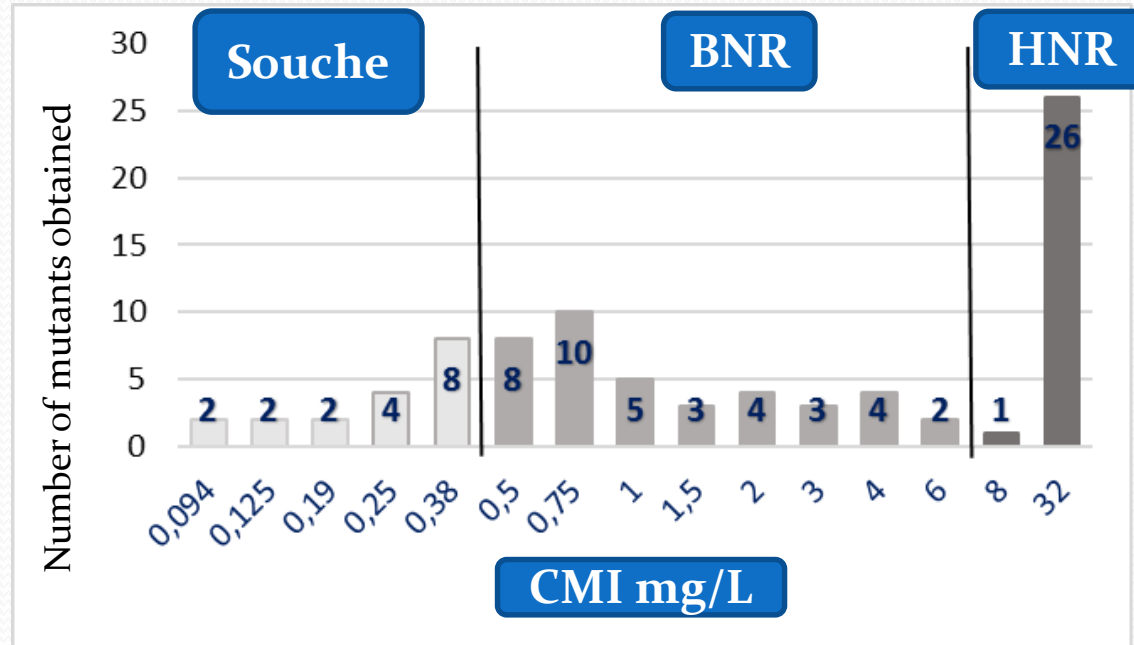
<u><i>GyrA C. acnes</i></u> <u>ATCC 11827</u>	SRVVG	D	V	M	G	K	Y	H	P	H	C	D	<sup>101</sup> S	A	I	Y	<sup>105</sup> D	T	L	V	R	L	A	Q	P	W	A	M	R	Y	K	L	V	Q	G	Q				
<u><i>ParC C. acnes</i></u> <u>ATCC 11827</u>	A	R	V	V	G	Q	V	M	G	Q	L	H	P	H	G	D	<sup>89</sup> A	A	I	Y	<sup>93</sup> D	A	L	V	R	T	A	Q	P	W	A	M	R	L	P	L	V	D	G	H

# 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)	$1.6 \times 10^{-7}$
Lévoﬂoxacine (8xCMI)	$3.8 \times 10^{-8}$

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





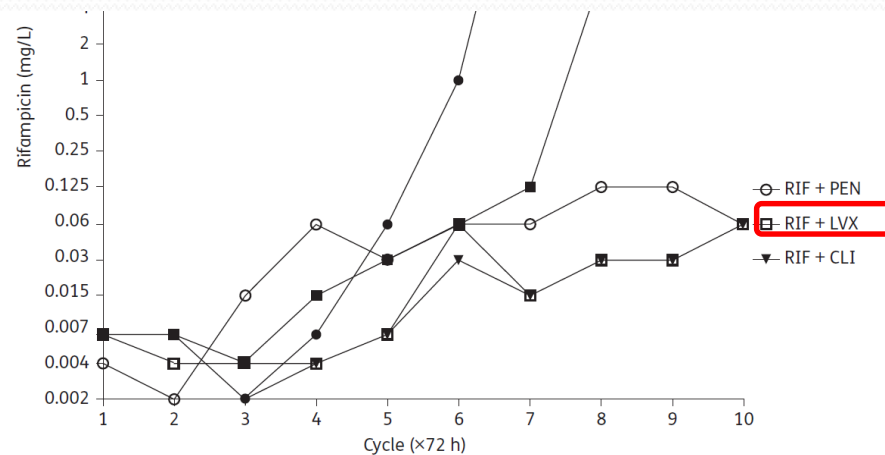
## RESULTATS (2)

✓ 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

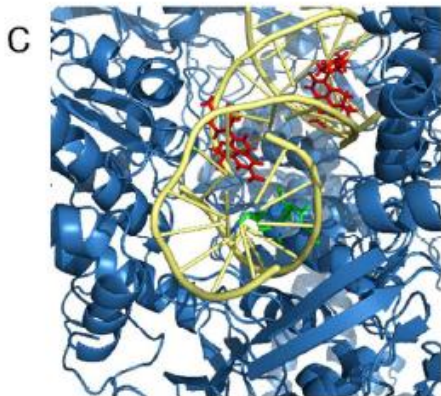
- ✓ **Hot spot Ser101Leu *cf.* *E. coli***

*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](http://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<sup>a</sup>, Aurélie Guillouzouic<sup>a</sup>, Stanimir Kambarev<sup>b</sup>, Frédéric Pecorari<sup>b</sup>, Stéphane Corvec<sup>a, c, d, \*</sup>

<sup>a</sup>Service de Bactériologie-Hygiène Hospitalière, CHU NANTES, Nantes, France  
<sup>b</sup>CRCINA, INSERM, CNRS, Université d'Angers, Université de Nantes, Nantes, France  
<sup>c</sup>CRCINA, INSERM, Université d'Angers, Université de Nantes, Nantes, France  
<sup>d</sup>Nantes Study Group Member of CRUOGO (Centre de Référence des Infections Ostéo-articulaires du Grand Ouest), Nantes, France





MERCI!

