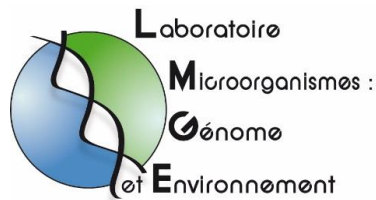


J-02 : Évaluation de l'action d'un stress physique associé à un stress chimique sur un biofilm de *Klebsiella pneumoniae* formé dans un matériau d'endoscopes.

AC. Cholley^{1,2}, O. Traoré^{1,2}, FZ. Houfaf Khoufaf^{1,2}, C. Aumeran^{1,2}

¹ Université Clermont Auvergne, CNRS, Laboratoire "Microorganismes : Génome et Environnement", F-63000 Clermont-Ferrand, France

² Service d'Hygiène Hospitalière, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France



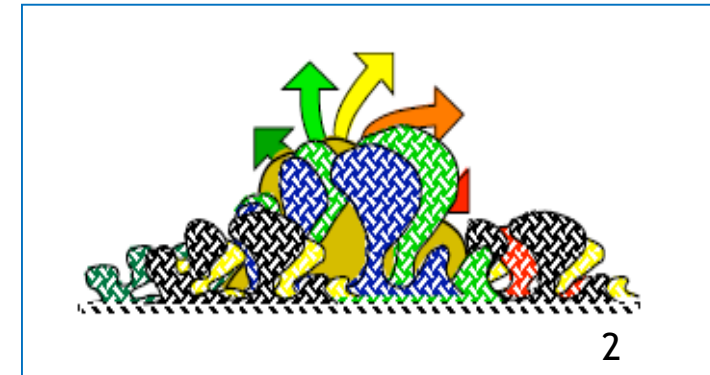
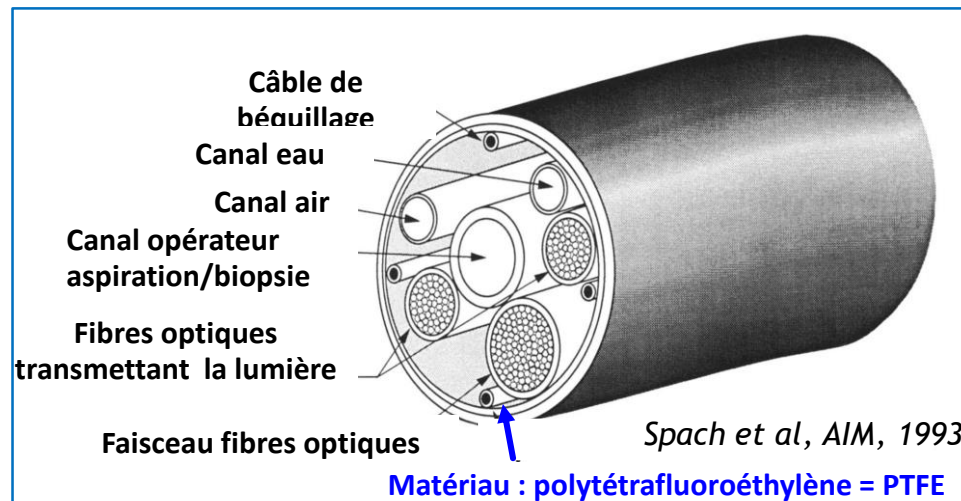
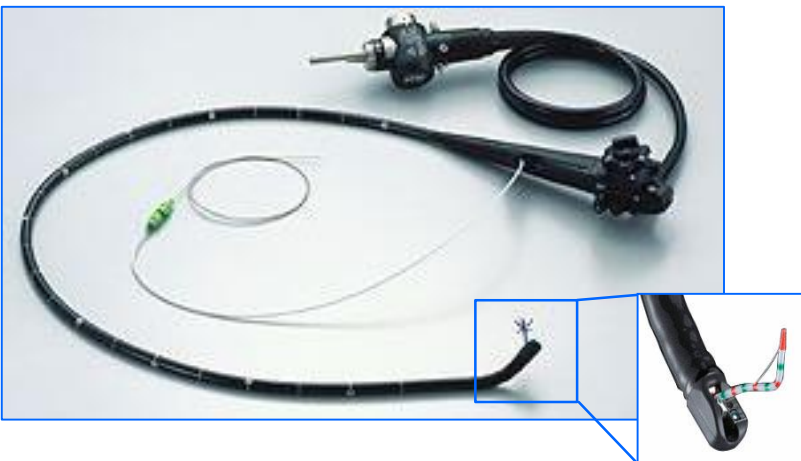
I. Introduction

Endoscopes impliqués dans les infections nosocomiales

Cas d'infections associées aux endoscopes depuis les années 70 *Greene et al, 1974*

Duodénoscopes

- ▶ Cholangiopancréatographie rétrograde endoscopique (CPRE)
- ▶ 16 épidémies associées aux duodénoscopes de 2000 à 2018 *Rahman et al, 2018*
 - ▶ Epidémie CHU Clermont-Ferrand : *Klebsiella pneumoniae* BLSE CTX-M-15 *Aumeran et al, 2010*
 - ▶ Associées à un défaut dans le processus de nettoyage/désinfection



I. Introduction

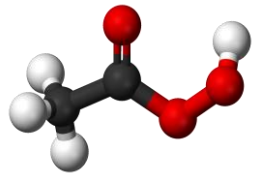
Biofilm *(Donlan et Costerton, 2002)*

Communauté de bactéries adhérant à une surface biotique ou abiotique et entre elles et enchâssées dans une matrice extra-cellulaire autoproduite

- ▶ « Persisters » : bactéries en dormance
- ▶ Protection vis-à-vis des agressions



Désinfectants utilisés en endoscopie



Acide peracétique

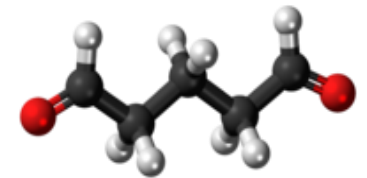
Agent oxydant

[C] efficace : 1500 - 3500 ppm

Glutaraldéhyde

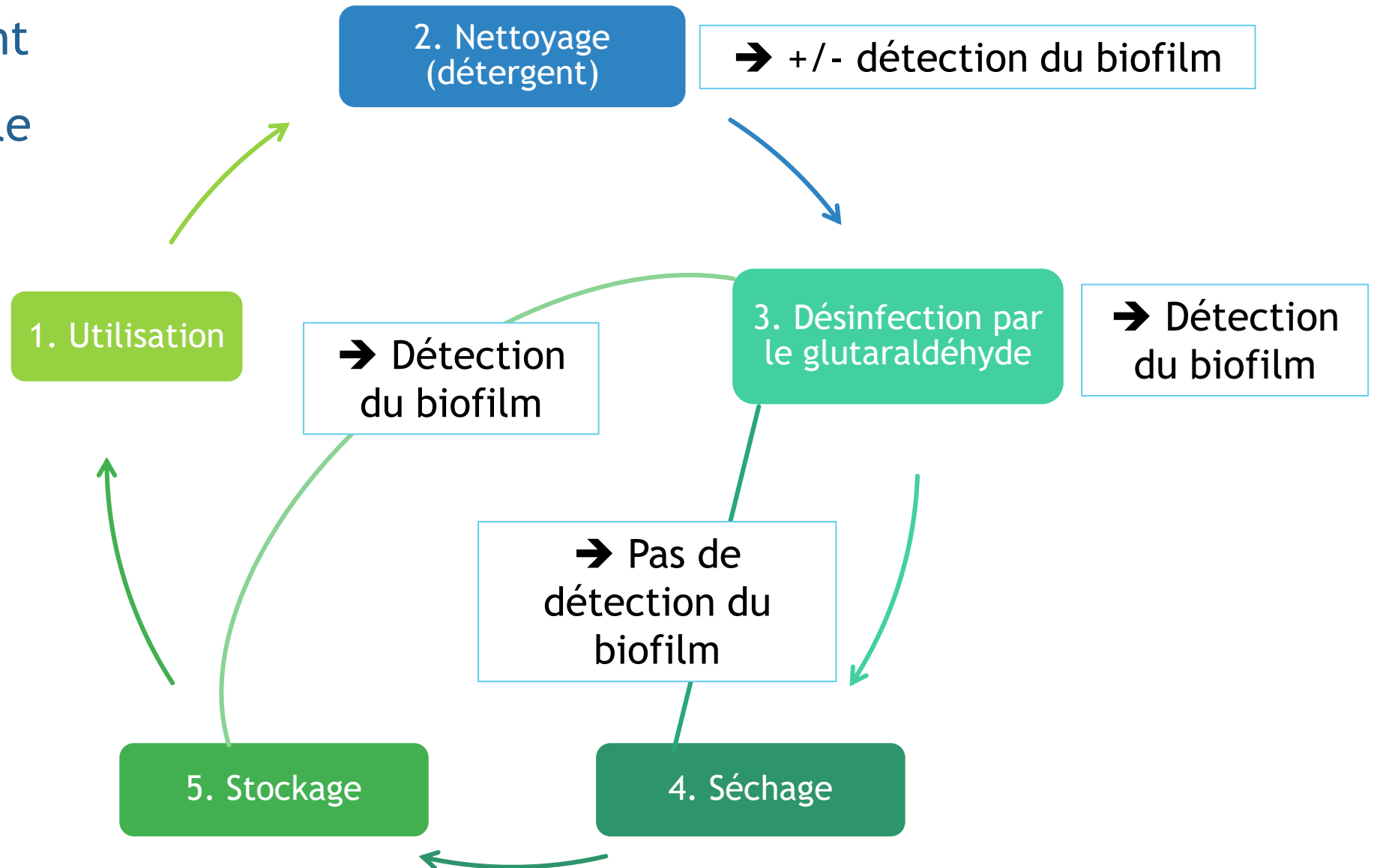
Agent alkylant

[C] efficace : 2 %



I. Introduction


Impact du traitement
des endoscopes sur le
biofilm : données
bibliographiques



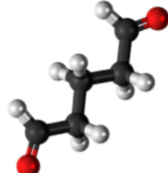
Vickery, AJIC, 2004
Vickery, AJIC, 2009
Stigt, Respiration, 2015
Neves, GE, 2016
Alfa, GE, 2017

II. Objectifs

Etude d'un biofilm de 72h de *Klebsiella pneumoniae* CTX-M-15 (Kp206)
Hennequin et al, 2012



Dessiccation
15 jours
Conditions de stockage



Glutaraldéhyde (GTA)
Concentration 1% : 5 min de contact
Concentration suboptimale GTA

Capacité de survie de Kp206

Capacité de recolonisation de Kp206

III. Méthodes et résultats

- ▶ Evaluation de la capacité de survie bactérienne en biofilm :

Formation biofilm Kp206 de 72h en système dynamique sur polytétrafluoroéthylène (PTFE)

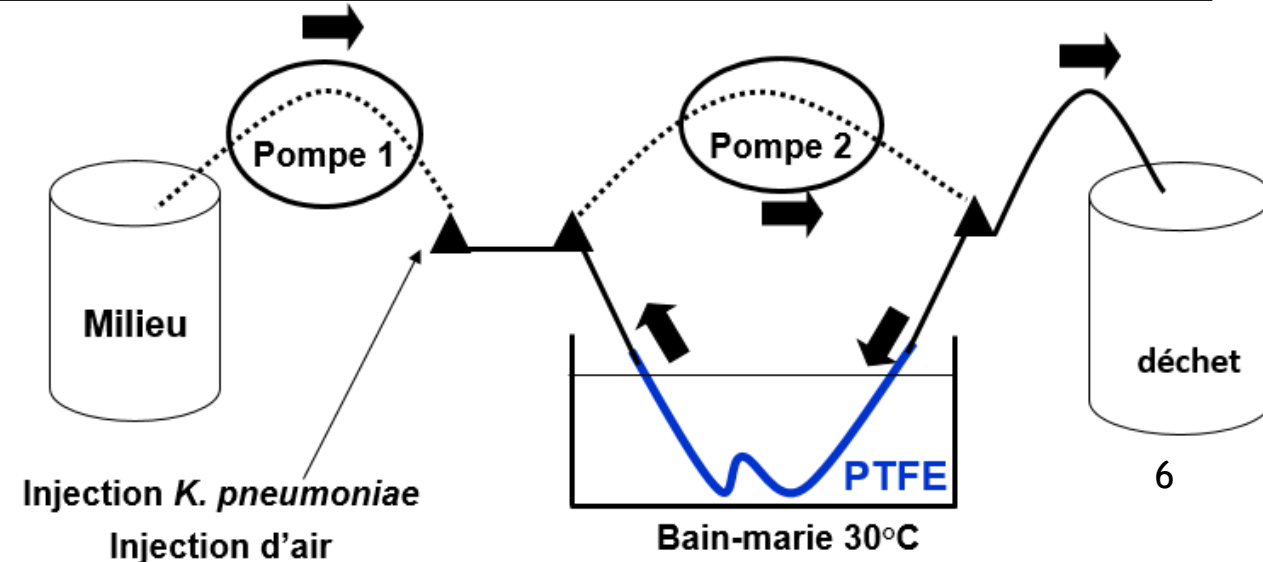
Biofilm : 1 partie sans dessiccation
1 partie avec 15 jours de dessiccation

Echantillons témoins (3 cm)
Sans et après 15 jours de dessiccation

Echantillons (3cm) soumis au glutaraldéhyde 1% (5 min)
Sans et après 15 jours de dessiccation

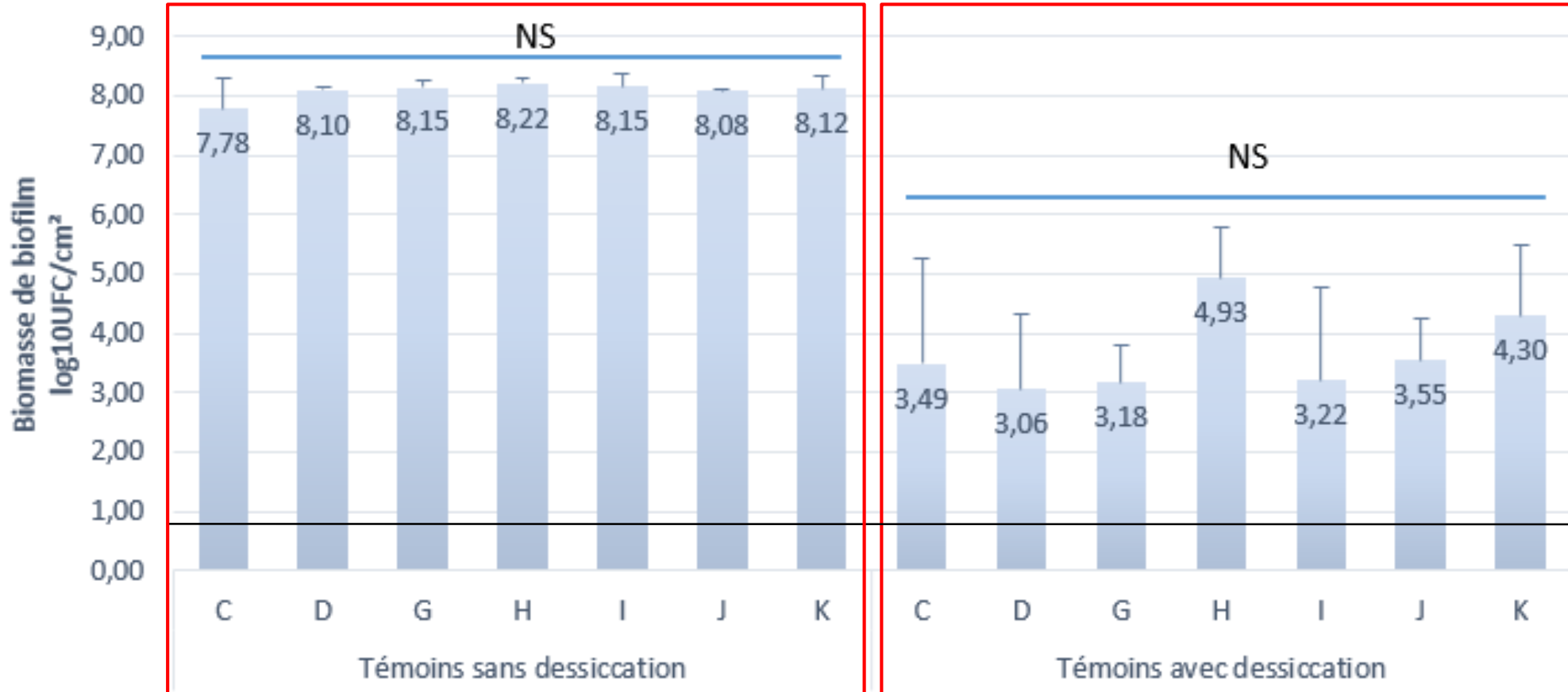
Flush de solution tensio-active
Récupération mécanique du biofilm
(Aumeran et al, 2012)

Dénombrement (\log_{10} UFC/cm²)



III. Méthodes et résultats

- ▶ Validation de la méthode de formation de biofilm et de sa récupération



Sans dessiccation : biomasse du biofilm homogène, reproductibilité des essais

Après dessiccation : biomasse du biofilm hétérogène MAIS reproductibilité des essais

III. Méthodes et résultats

- ▶ Evaluation de la capacité de survie bactérienne en biofilm

Effet du glutaraldéhyde 1% sans et après 15 jours de dessiccation

	Sans dessiccation (n = 33)		Après 15 jours de dessiccation (n = 36)	
	Dénombrement	Ratio logarithmique	Dénombrement	Ratio logarithmique
Moyenne ± Ecart type	3,34 ± 1,20	0,41 ± 0,15	1,51 ± 1,00	0,41 ± 0,27
% Survivants	2,01.10 ⁻⁴		6,82.10 ⁻³	

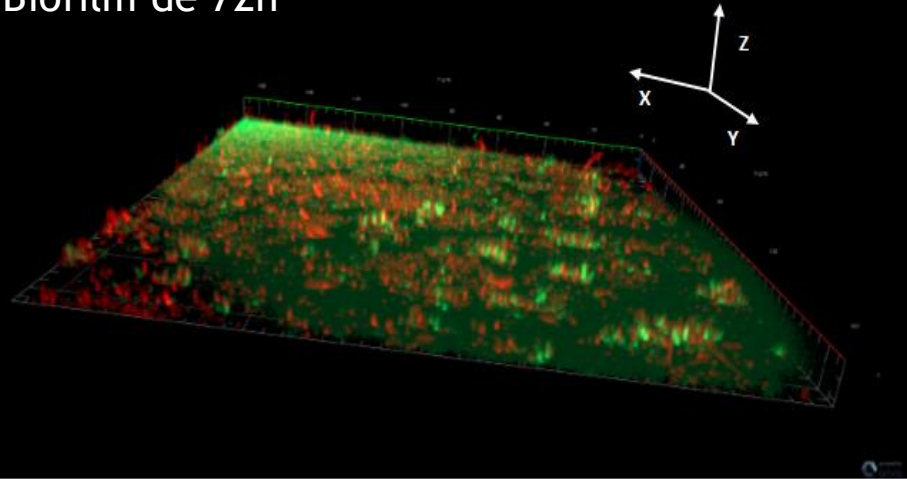
Tendance à une meilleure survie après action de la dessiccation et du GTA

Tolérance ?

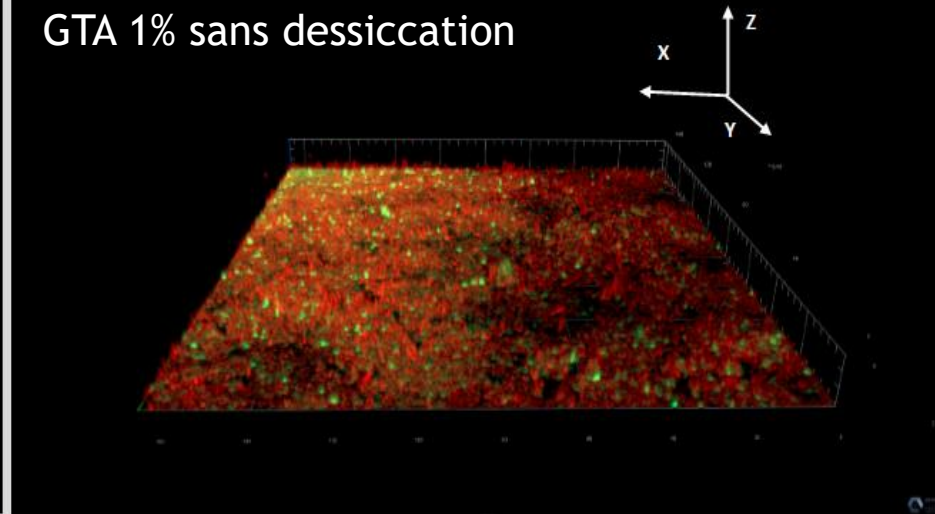
III. Méthodes et résultats

- Evaluation de la capacité de survie bactérienne en biofilm par microscopie confocale

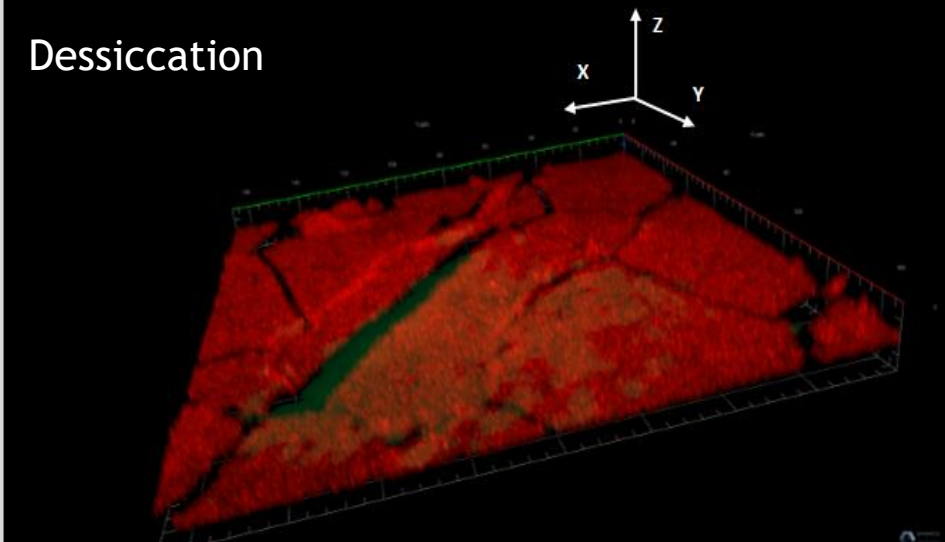
Biofilm de 72h



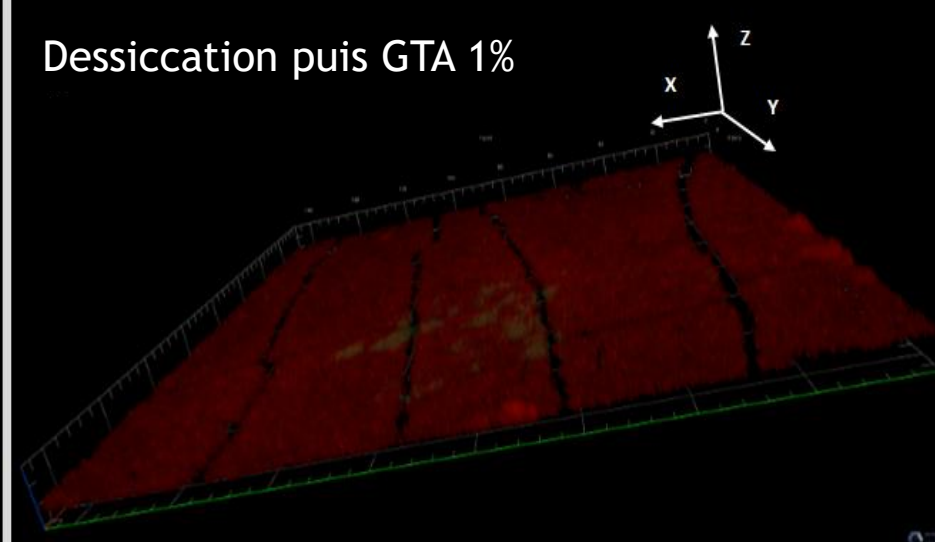
GTA 1% sans dessiccation



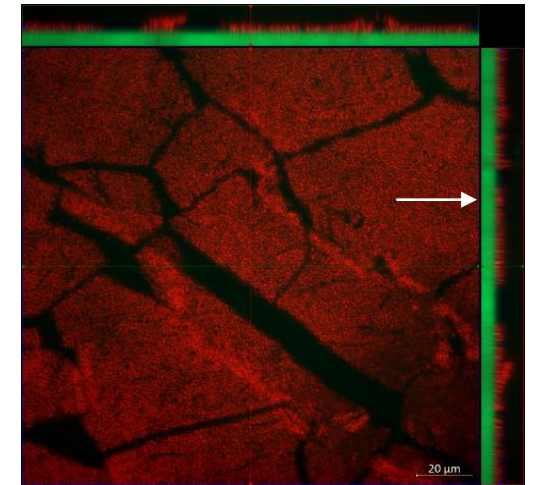
Dessiccation



Dessiccation puis GTA 1%



Sans dessiccation
Bactéries survivantes



Après dessiccation
Pas de visualisation
de bactéries
survivantes

III. Méthodes et résultats

- ▶ Evaluation de la capacité de recolonisation bactérienne

Formation biofilm Kp206 de 72h en système dynamique sur polytétrafluoroéthylène (PTFE)

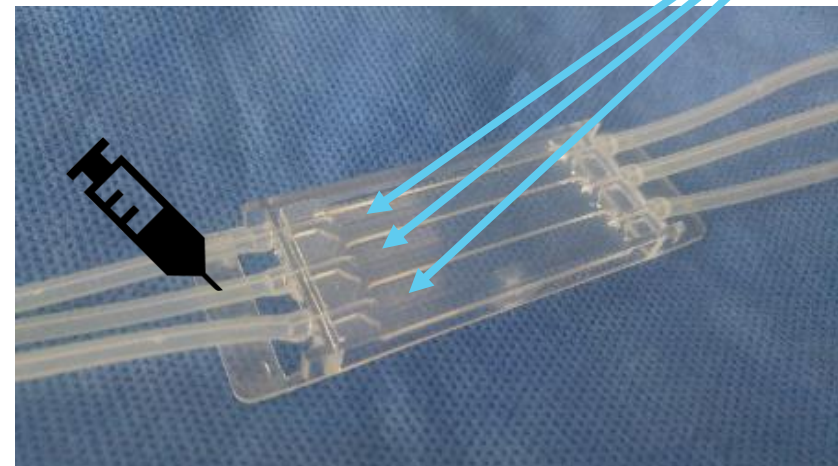
Biofilm : 1 partie sans dessiccation + 1 partie avec 15 jours de dessiccation

1 échantillon sans dessiccation
1 échantillon après 15 jours de dessiccation
1 échantillon après 15 jours dessiccation soumis au GTA 1% (5 min)

Récupération du biofilm

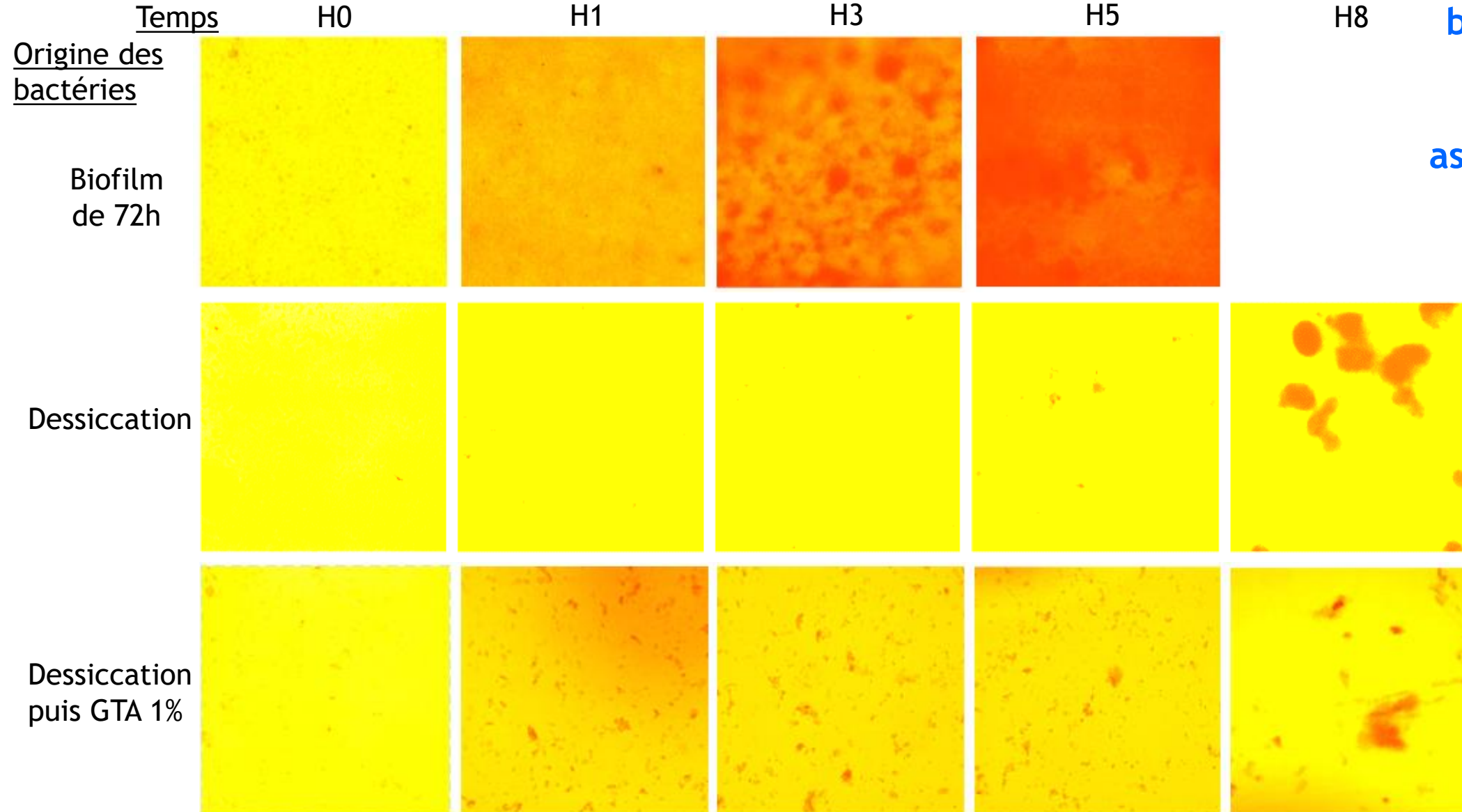
Dénombrement
(\log_{10} UFC/cm²)

Injection en cellule de
flowcell



III. Méthodes et résultats

► Evaluation de la capacité de survie bactérienne en biofilm :



Formation de biofilm malgré un stress physique associé ou non à un stress chimique

IV. Conclusion

Klebsiella pneumoniae 206

- Capacité de survie face à la dessiccation qui confère une probable tolérance à l'action du glutaraldéhyde
- Capacité de recolonisation : persisters ?



Résultats expérimentaux qui confirment de manière objective les **recommandations actuelles** sur le traitement des endoscopes



Importance du nettoyage



Importance du séchage avant stockage



Importance du retraitement après stockage prolongé et avant utilisation

V. Perspectives

A court terme

Modification de l'expression génique face au stress ?

Capsule K2

Gènes de la réponse SOS

Dessiccation

A des temps différents

Glutaraldéhyde

Expositions répétées

A long terme

**Evaluation de la survie après
action du glutaraldéhyde suivi
d'une dessiccation**

**Evaluation de la capacité de survie
du biofilm de *K. pneumoniae* 206
à l'acide peracétique**

Merci de votre attention