

# **Colonisation digestive par une bactérie hautement résistante : Appports de l'étude expérimentale**

Pr Eric Batard

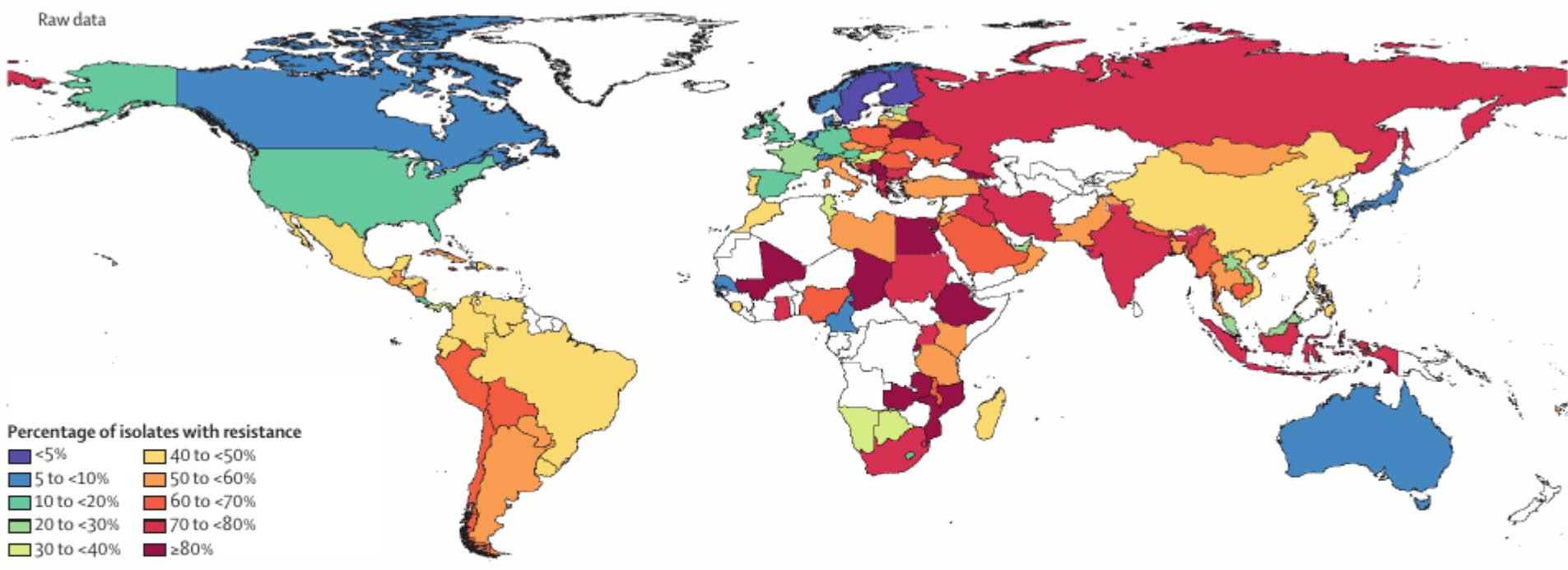
Cibles et médicaments des infections et de l'immunité, IICiMed, Nantes  
Université, <https://iicimed.univ-nantes.fr/fr/>

Urgences, CHU Nantes

eric.batard@univ-nantes.fr

G Third-generation cephalosporin-resistant *Klebsiella pneumoniae*

Raw data



there were an estimated 4·95 million (3·62–6·57) deaths associated with bacterial AMR in 2019, including 1·27 million (95% UI 0·911–1·71) deaths attributable to bacterial AMR.

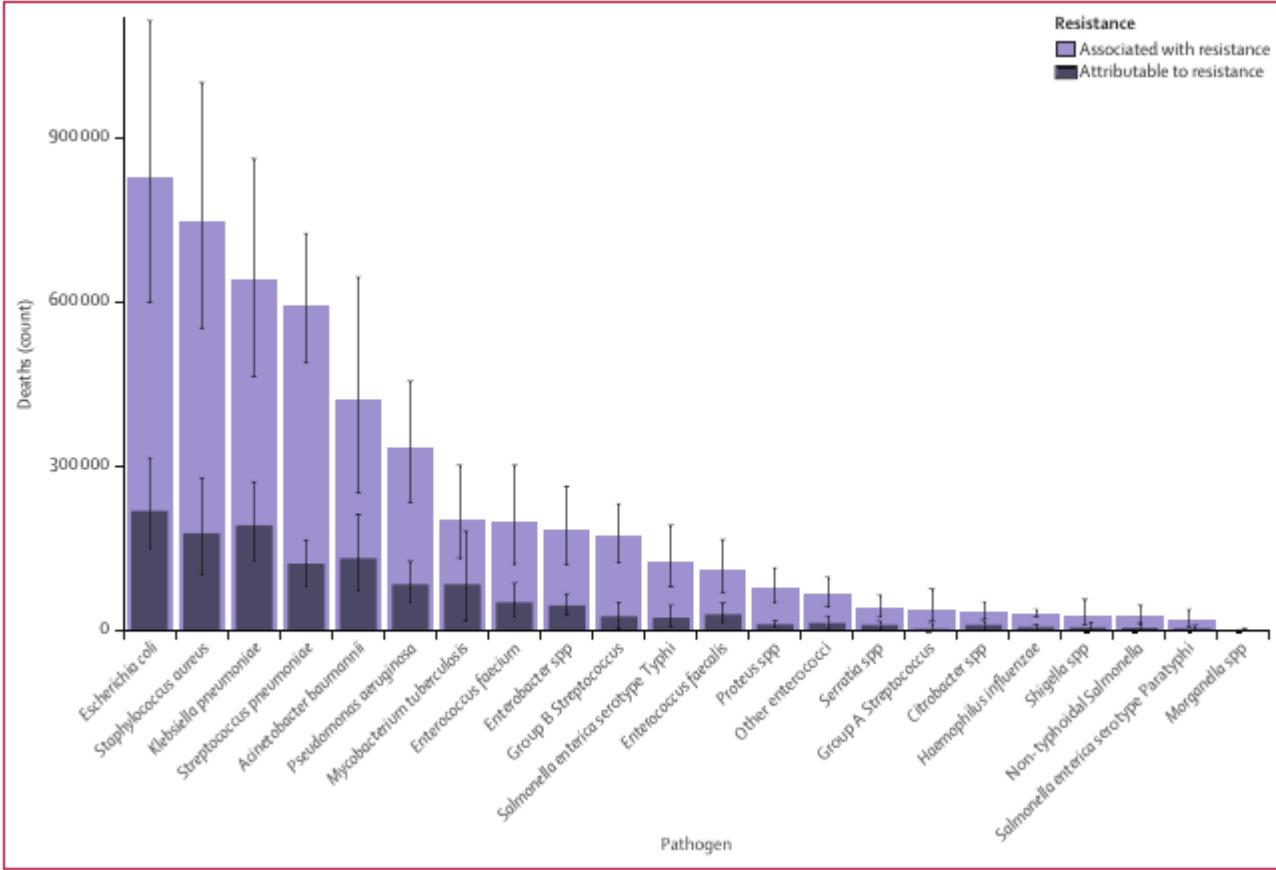


Figure 4: Global deaths (counts) attributable to and associated with bacterial antimicrobial resistance by pathogen, 2019

Estimates were aggregated across drugs, accounting for the co-occurrence of resistance to multiple drugs. Error bars show 95% uncertainty intervals.

- L'antibiorésistance chez les *Enterobacterales*, un problème de santé publique
- Le microbiote digestif est le réservoir d'Enterobactéries multirésistantes

BMR = bactérie multirésistante

MDRO = multidrug resistant organism

- *Enterobacteriales* (ex *Enterobactericeae*)
  - *Escherichia coli*
  - *Shigella flexnerii*
  - *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*
  - *Enterobacter cloacae*
  - etc

# Explorer la taxonomie : <https://lpsn.dsmz.de>

LPSN  
.dsmz.de

M  
S  
C

Browse by rank

Advanced search

Subscribe

Main

Navigation

Nomenclature

Etymology

Collections

Copyright

FAQ

Search taxonomy

Search icon

## Genus *Klebsiella*

parent « siblings » children

① **Name:** *Klebsiella* Trevisan 1885 (Approved Lists 1980)

① **Category:** Genus

① **Proposed as:** gen. nov.

① **Etymology:** Kleb.si.el'la. N.L. fem. dim. n. *Klebsiella*, named after Edwin Klebs (1834-1913), a German bacteriologist

① **Gender, pronunciation:** feminine (stem: Klebsiell-), kleb-si-EL-la

① **Type species:** *Klebsiella pneumoniae* (Schroeter 1886) Trevisan 1887 (Approved Lists 1980)

① Conduct genome-based taxonomy of genus at TYGS

TYGS

① **16S rRNA gene:** Analyse  FASTA 

# COMMENT UN MICROBIOTE PEUT IL DEVENIR COLONISE PAR UNE BMR ?

ingestion d'une Entérobactérie multirésistante

OU sélection dans la flore digestive d'une bactérie commensale résistante par mutation sous l'effet d'un antibiotique dont la résistance est liée à une mutation de la cible (ex. fluoroquinolone)

Perturbation de la flore (traitement antibiotique, autre traitement, dispositif médical, maladie aigue ou chronique...)

Translocation bactérienne, colonisation de l'arbre urinaire, colonisation des voies biliaires

...  
Ou transfert de gènes de résistance à des bactéries virulentes

Le microbiote digestif ne contient pas la BMR

Colonisation par la BMR qui reste présente en faible quantité (compétition avec les autres espèces bactériennes)

Le microbiote digestif contient la BMR en forte quantité (détectable par les méthodes usuelles)

Infection par une BMR

Contamination de l'environnement, d'un autre patient, d'un soignant

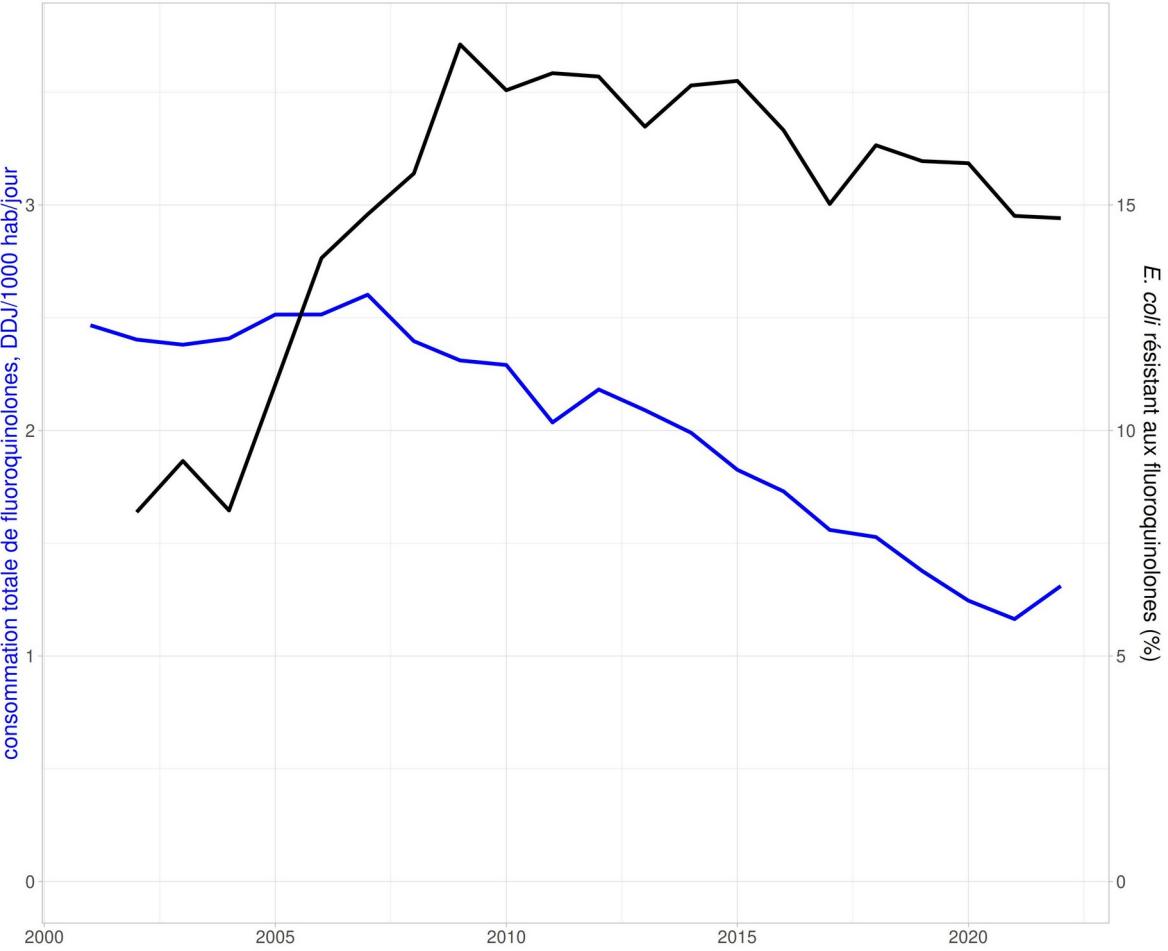
- Comment prévenir les infections causées par des Entérobactéries multirésistantes ?

# **Comment prévenir les infections causées par des Entérobactéries multirésistantes ?**

- **Limiter les infections causées par les Entérobactéries**
  - Hygiène dans les pays en voie de développement : péril fécal
  - Dans les pays développés : prévention des infections associées aux soins dues aux Entérobactéries
- **Limiter la résistance chez les Entérobactéries**
  - Limiter l'exposition des patients aux antibiotiques
    - Limiter quels antibiotiques ?
      - Choix des molécules
    - Limiter la durée de traitement
  - Limiter le risque de colonisation digestive par des BMR quand le traitement antibiotique doit être administré
    - Quels sont les facteurs de risque de colonisation digestive ?

# Le choix des antibiotiques





La maîtrise des consommations de fluoroquinolones semble diminuer la résistance aux fluoroquinolones, mais ça pourrait ne pas suffir

Données ECDC France, 2001-2022



43<sup>e</sup>  
RÉUNION  
INTERDISCIPLINAIRE  
DE CHIMIOTHÉRAPIE  
ANTI-INFECTIONNISTE



LUNDI 18 & MARDI 19  
DÉCEMBRE 2023

palais des congrès  
de paris

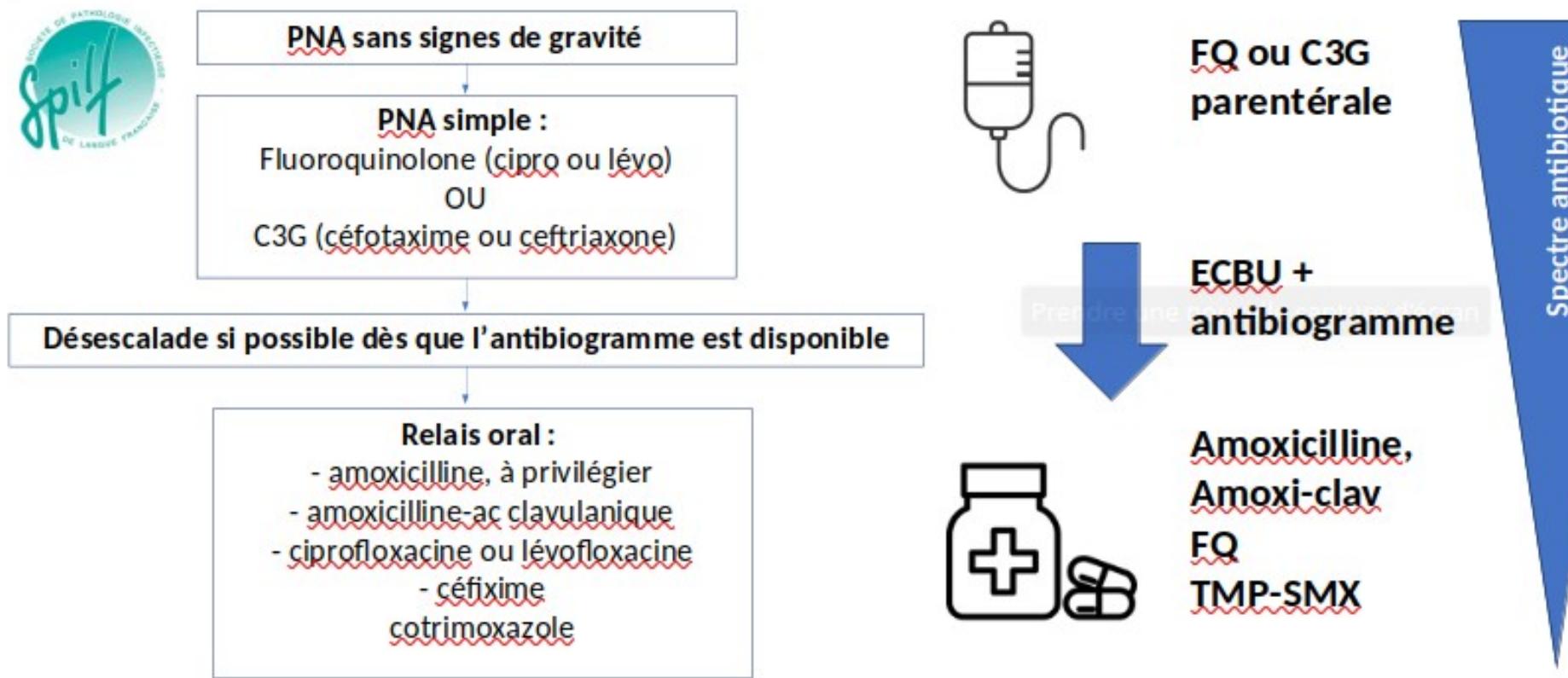


# Impact de la désescalade antibiotique sur l'acquisition d'une colonisation par une E-BLSE

*Etude de l'antibiothérapie des pyélonéphrites aiguës dans un modèle expérimental murin*

Q. LE BASTARD, M. GREGOIRE, E. MONTASSIER, E. BATARD

# Pyélonéphrite aiguë : recommandations

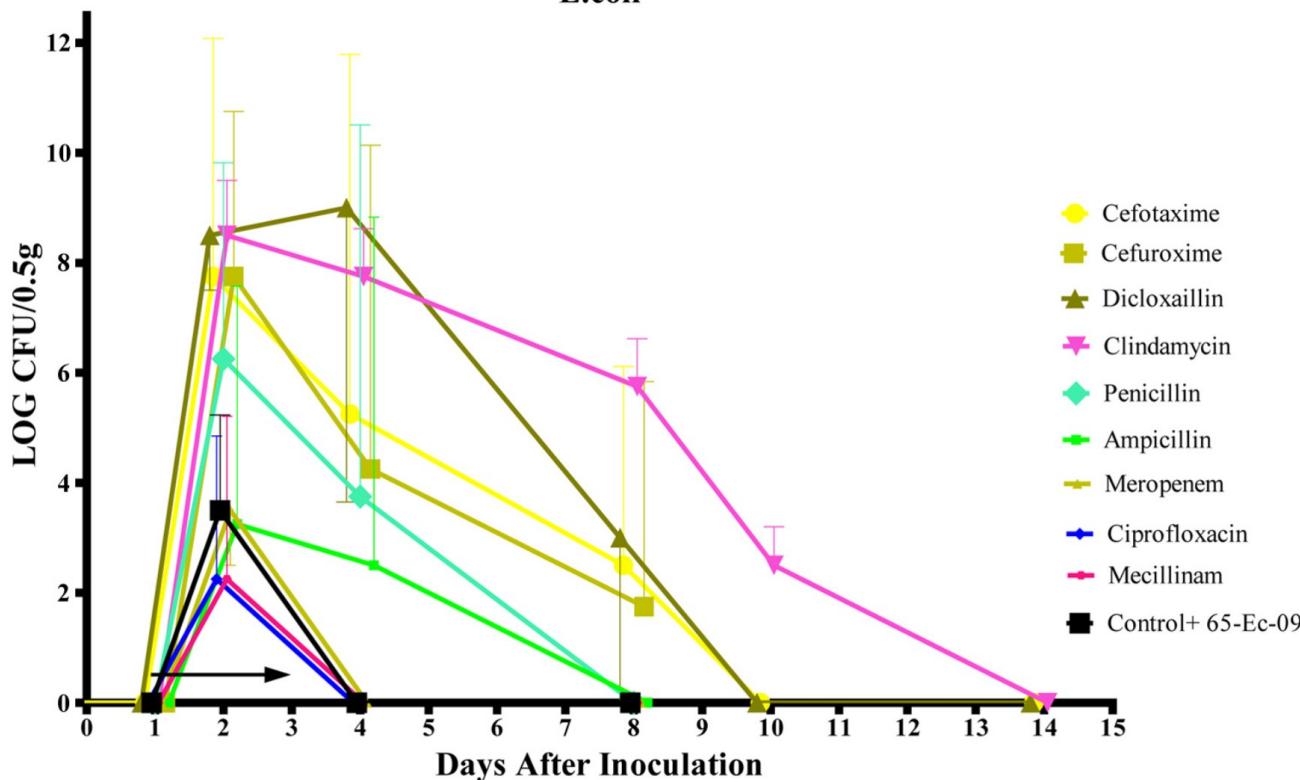


## Quelles preuves de l'efficacité de la désescalade de la ciprofloxacine vers amox / amox-clav / cotrimoxazole ?

- Pas d'étude humaine
- Pas d'étude animale

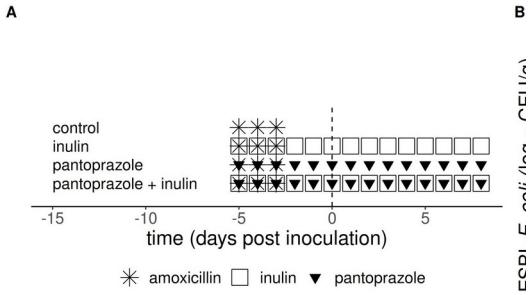
# *E. Coli* CTX-M-15 (BLSE) et FQ-R

Faible niveau de colonisation induit par la ciprofloxacine



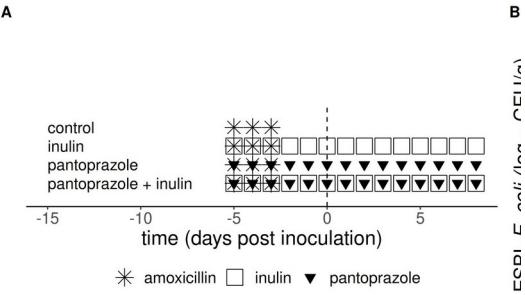
Titres féaux bactériens d'*E. coli* BLSE chez des animaux traités par différents antibiotiques, pendant 3 jours suivant l'inoculation gastrique

# le modèle murin de colonisation digestive



- Quelles sont les principales limites de ce type de modèle ?

# le modèle murin de colonisation digestive



- Quelles sont les principales limites de ce type de modèle ?
- Un microbiote murin, et non humain
- Pharmacocinétique des médicaments
  - Demi-vie des médicaments beaucoup plus courte chez les petits animaux que chez un grand animal comme l'Homme
  - Le choix de la dose des antibiotiques et de l'espacement des doses est un enjeu important pour avoir des concentrations similaires à celles obtenues chez l'Homme

**Table 1: Human equivalent dose calculation based on body surface area\***

Species	Reference body weight (kg)	Working weight range (kg)	Body surface area (m <sup>2</sup> )	To convert dose in mg/kg to dose in mg/m <sup>2</sup> , multiply by K <sub>m</sub>	To convert animal dose in mg/kg to HED in mg/kg, either	
					Divide animal dose by	Multiply animal dose by
Human	60	-	1.62	37	-	-
Mouse	0.02	0.011-0.034	0.007	3	12.3	0.081
Hamster	0.08	0.047-0.157	0.016	5	7.4	0.135
Rat	0.15	0.08-0.27	0.025	6	6.2	0.162
Ferret	0.30	0.16-0.54	0.043	7	5.3	0.189
Guinea pig	0.40	0.208-0.700	0.05	8	4.6	0.216
Rabbit	1.8	0.90-3.0	0.15	12	3.1	0.324
Dog	10	5-17	0.50	20	1.8	0.541
Monkeys (rhesus)	3	1.4-4.9	0.25	12	3.1	0.324
Marmoset	0.35	0.14-0.72	0.06	6	6.2	0.162
Squirrel monkey	0.60	0.29-0.97	0.09	7	5.3	0.189
Baboon	12	7-23	0.60	20	1.8	0.541
Micro pig	20	10-33	0.74	27	1.4	0.730
Mini pig	40	25-64	1.14	35	1.1	0.946

\*Data obtained from FDA draft guidelines.<sup>[7]</sup> FDA: Food and Drug Administration, HED: Human equivalent dose

Dose usuelle chez l'Homme = 3 g/jour, soit 50 mg/kg/jour

Amoxicilline dans l'eau de boisson à la concentration de 0.5 g/L

Une souris (20 g) boit en moyenne 6 mL par jour

En moyenne, une souris reçoit 150 mg/kg/jour

Conversion de la dose murine en dose équivalente humaine (HED)

150 mg/kg/jour en dose murine correspond à  $150/12.3 = 12$  mg/kg/jour HED

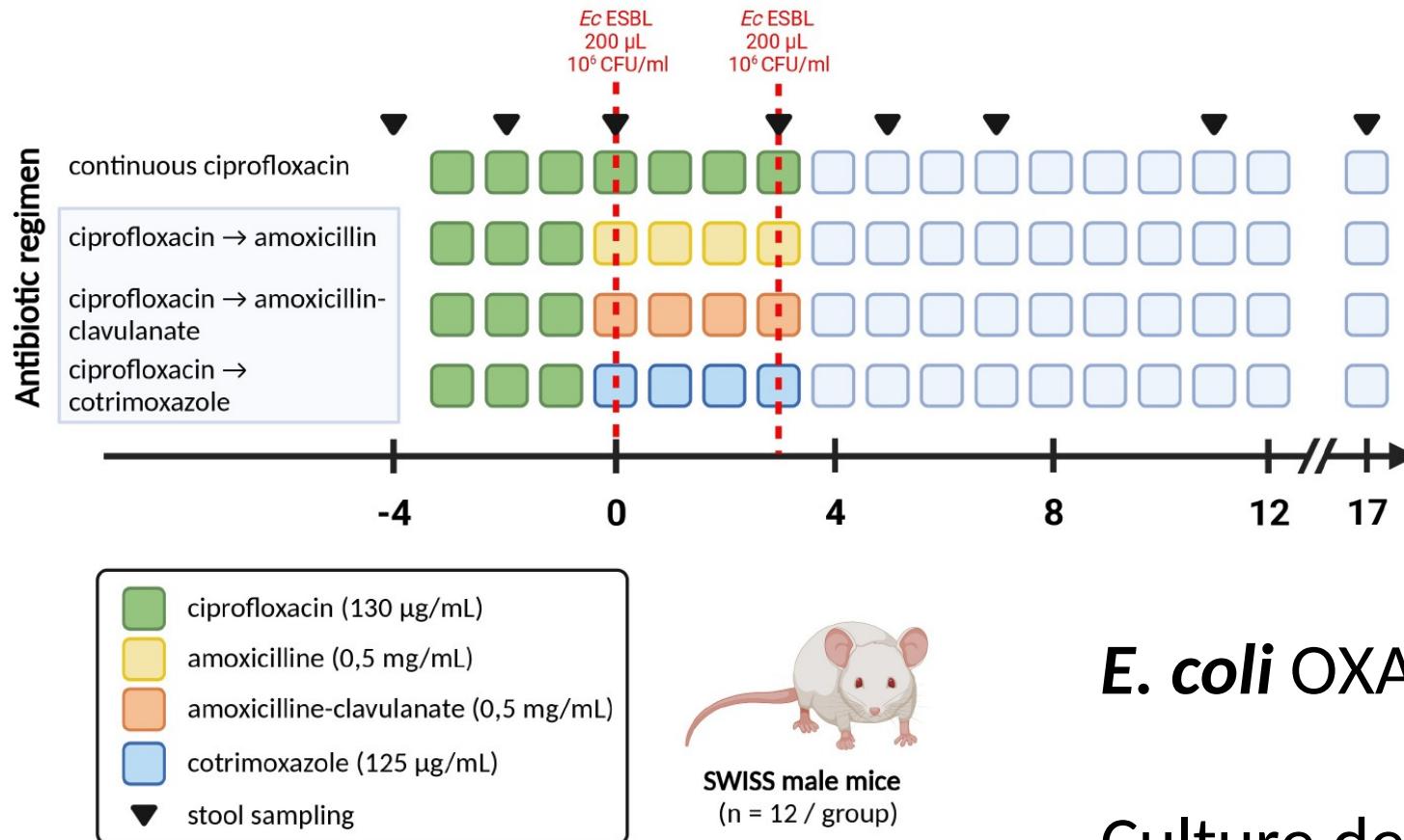
## Question de recherche

Les antibiotiques considérés à spectre étroit

- o **Ne sont pas dénués** d'effet sur le microbiote intestinal
- o **Favorisent** dans certaines conditions la colonisation par une E-BLSE

Une **désescalade** antibiotique de la ciprofloxacine vers de l'amoxicilline, de l'amoxicilline-clavulanate ou du cotrimoxazole, **limite-t-elle** la survenue d'une **colonisation intestinale par une souche** d'*E. coli* productrice de **BLSE**, par rapport à un traitement par ciprofloxacine **continu** ?

# Dessin expérimental



***E. coli* OXA-181 CTX-M-27**

Culture des échantillons sur gélose chromogène BLSE

# Concentrations fécales d'antibiotiques

## CIPROFLOXACINE

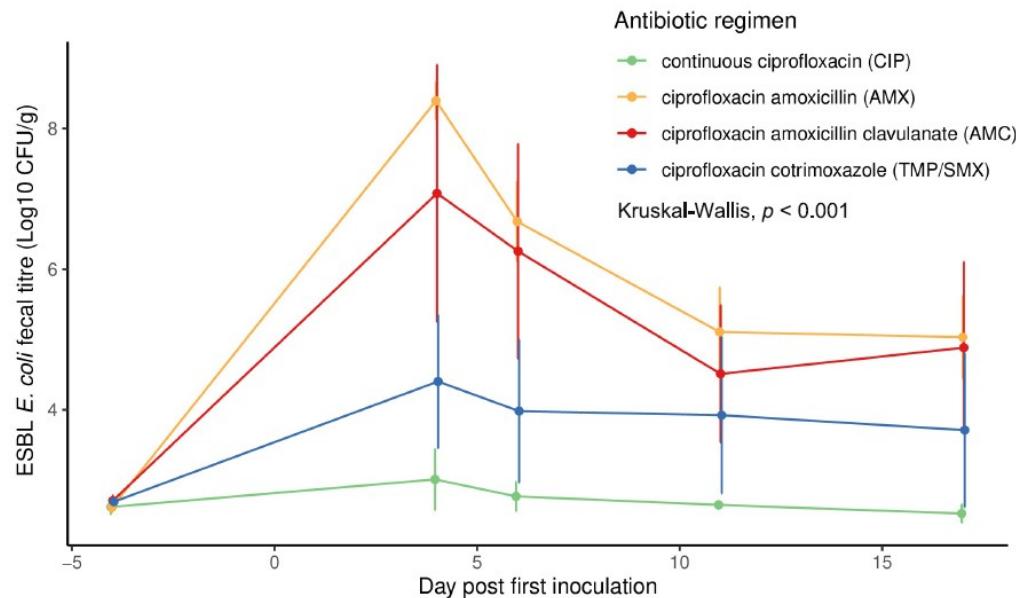
- Ciprofloxacine à 3 dpi : médiane (Q1-Q3) = 0.8 (0.4 – 3.0) mg/g
- En comparaison chez l'Homme (Brumfitt et al, 1984) : 1.2 (0.3 – 1.2) mg/g

## AMOXICILLINE

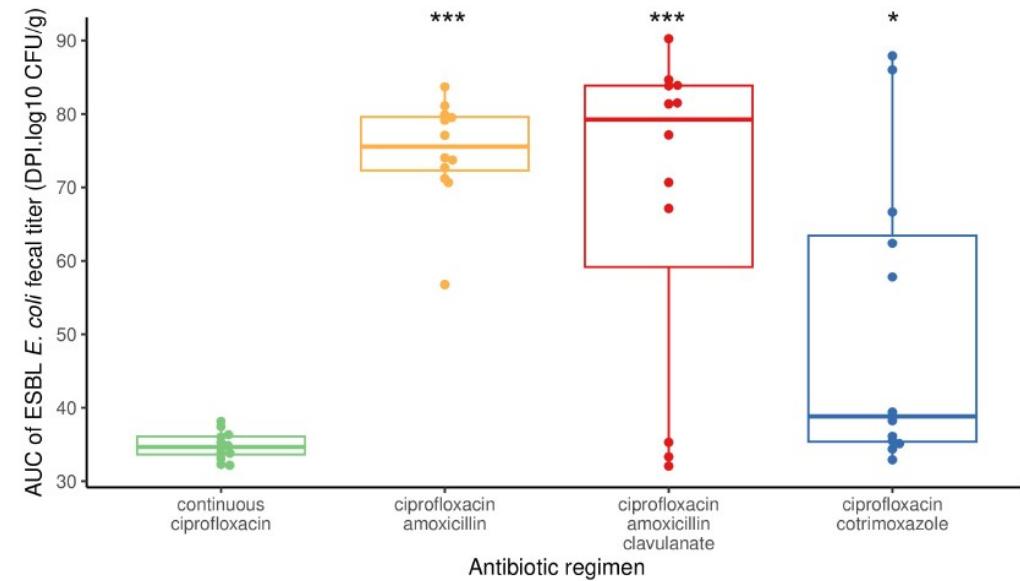
- Amoxicilline à 3 dpi : médiane (Q1-Q3) = 38 (24 – 62) µg/g
  - Extrêmes, 0 – 103 µg/g
- Pas de données chez l'Homme pour l'amoxicilline
- En comparaison chez l'Homme (Steinbakk et al, 1992, **ampicilline**) : 0.0 (0.0 – 0.0) µg/g
  - Extrêmes, 0 - 480 µg/g

# L'intensité de la colonisation est-elle différente selon le schéma antibiotique ?

## Titres fécaux d'*E. coli* BLSE moyens au cours du temps



## Aires sous la courbe des titres fécaux d'*E. coli* BLSE (4 à 17 DPI)



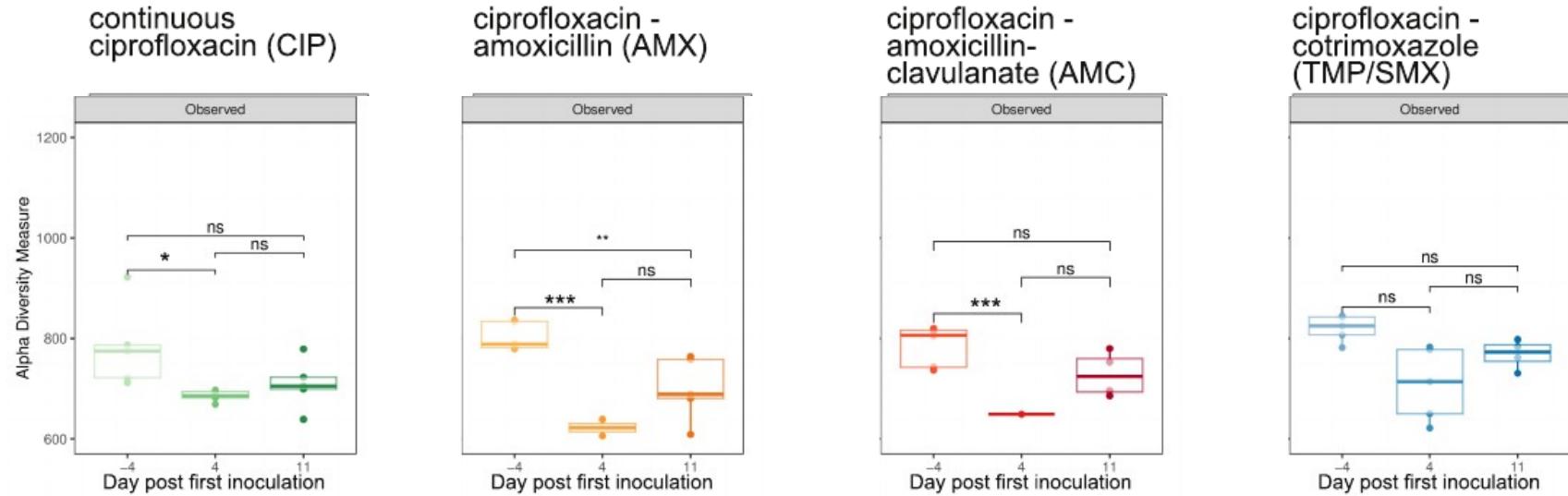
Post hoc Dunnett's test, control = ciprofloxacin  
 $*p < 0.05, *** p < 0.0001$

# Analyse du microbiote fécal

- **Echantillons analysés**
  - 5 échantillons par groupe
  - Aire sous la courbe du titre bactérien fécal
  - **Désescalade** : souris avec les **niveaux les plus élevés** de colonisation
  - **Cipro-continue** : souris avec **les niveaux les plus faibles** de colonisation
- **Whole genome sequencing « Shallow Shotgun »**
  - Illumina NovaSeq 6000
  - 2 x 140 pb
  - $6.99 \pm 1.41$  million read / sample
  - Assignation taxonomique : Kraken2 + Bracken / Base MGBC



# La diversité a-t-elle modifiée par tous les schémas antibiotiques ?

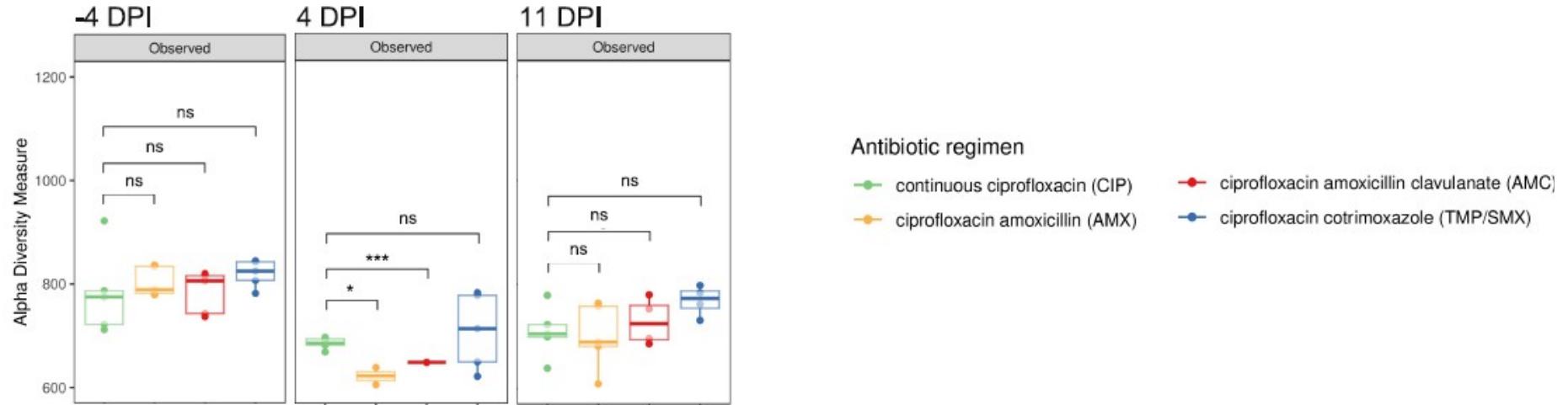


Diminution de la diversité et de la richesse par tous les schémas.

La diminution de la diversité est plus marquée pour les schémas de désescalade avec amoxicilline

L'a-diversité retrouve un niveau basal à distance du traitement : résilience

# La diversité a-t-elle modifiée par tous les schémas antibiotiques ?



Diminution de la diversité et de la richesse par tous les schémas.

La diminution de la diversité est plus marquée pour les schémas de désescalade avec amoxicilline

L'a-diversité retrouve un niveau basal à distance du traitement : résilience

**Quelles limites pour ce modèle  
en terme d'administration d'antibiotique ?**

## **Quelles limites pour ce modèle en terme d'administration d'antibiotique ?**

- Pas de données sur les concentrations fécales d'amoxicilline chez l'Homme
- La concentration fécale d'antibiotique ne reflète pas nécessairement la concentration dans les différents segments du tube digestif

## Conclusions et perspectives

Dans ce modèle murin, par rapport au traitement sans désescalade (ciprofloxacine continue), les désescalades de la ciprofloxacine vers amoxicilline / amoxicilline-clavulanate induisent :

- un plus haut niveau de colonisation par *E. coli* BSLE
- une plus grande proportion d'animaux colonisés
- une plus grande perturbation de l'architecture taxonomique du microbiote

## Qu'est-ce qu'un antibiotique à spectre antibiotique étroit ?

- S'intéresser seulement à l'activité de l'antibiotique sur les bactéries pathogènes chez l'Homme ?
- **S'intéresser aussi à l'activité de l'antibiotique sur les bactéries non pathogènes des microbiotes humains**

## Pour aller plus loin

- Confirmation de ces résultats sur des animaux avec un microbiote humanisé
- Confirmation de ces résultats chez l'Homme
  - on ne pourra que comparer l'acquisition d'une colonisation par une BMR entre divers groupes de traitement
  - l'acquisition d'une colonisation par une BMR est un évènement qui reste relativement rare (environ 10%) : beaucoup de sujets seront nécessaires

# Les antibiotiques sont-ils les seuls médicaments favorisant la colonisation digestive par une BMR ?

- **Les IPP**
  - sont très largement utilisés chez l'Homme (trop)
  - Perturbent le microbiote digestif humain
- **Les IPP favorisent-ils la colonisation digestive par une BMR ?**
  - Études observationnelles chez l'Homme : résultats contradictoires
  - Une étude animale chez des souris recevant de la clindamycine
    - Évaluation à 1 et 3 jours post-inoculation

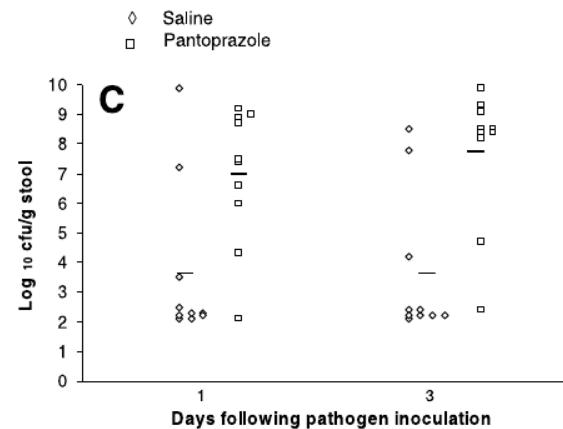


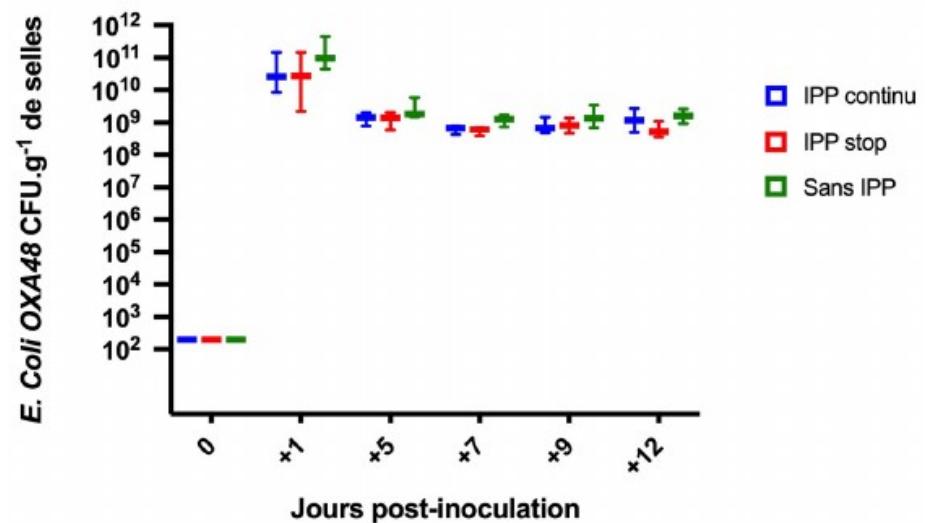
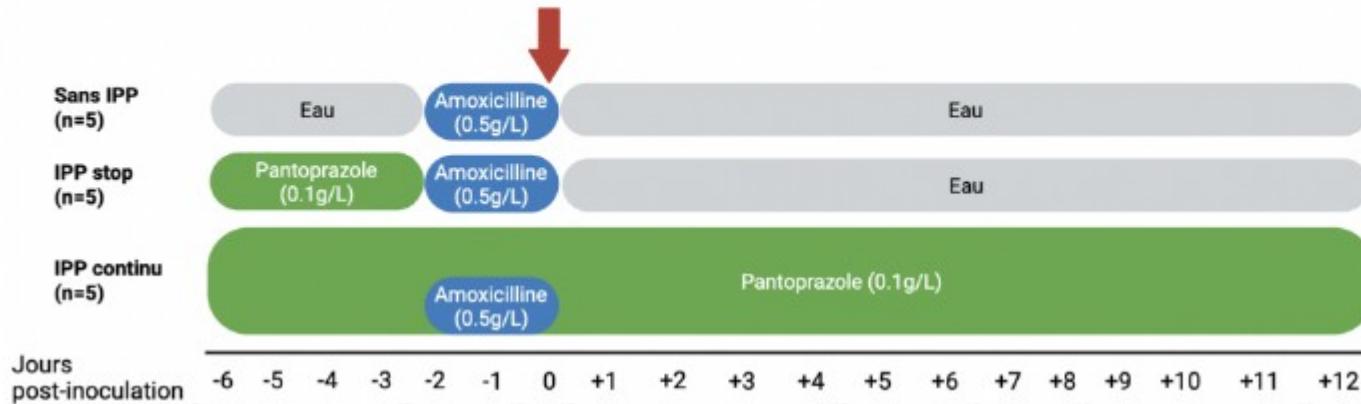
FIG. 1. Establishment of colonization of the large intestine after esophageal inoculation of 100 CFU of vancomycin-resistant enterococci (A and B) and extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* (C) in mice receiving pantoprazole treatment versus establishment of colonization in controls receiving saline. Data for individual mice and mean values (horizontal lines) are shown.

# **La pantoprazole favorise-t-il la colonisation digestive par un E. coli producteur de BLSE chez les souris exposées à l'amoxicilline ?**

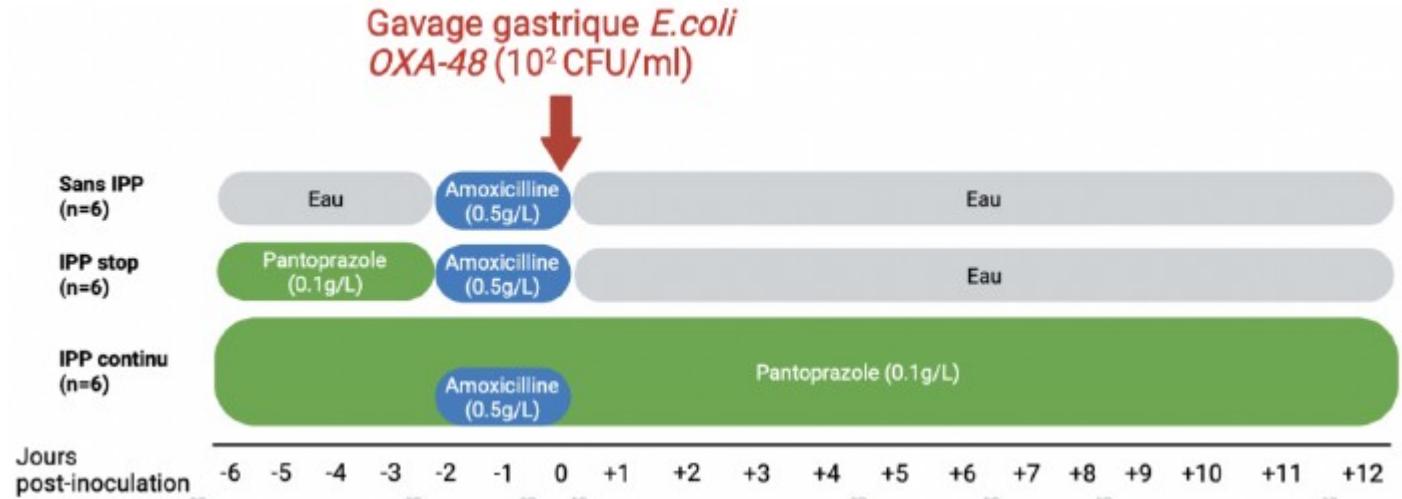
- Questions posées : Quand on doit commencer une antibiothérapie chez un patient traité par IPP au long cours
  - Le risque de colonisation digestive par une BMR au cours et au décours de l'antibiothérapie est-il augmenté par l'IPP ?
  - Diminue-t-on le risque si on arrête l'IPP au moment de débuter l'antibiotique ?
- Objectifs
  - Confirmer l'impact du pantoprazole sur la colonisation digestive par une BMR, avec un recul supérieur à 3 jours post-inoculation
  - Évaluer si l'impact de l'arrêt de l'IPP

# Modèle N°1

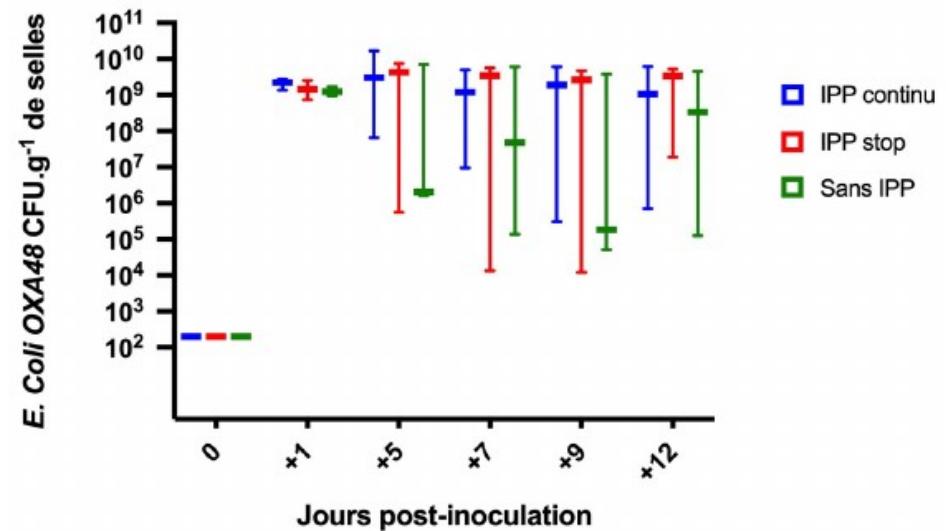
## Gavage gastrique *E.coli* OXA-48 ( $10^6$ CFU/ml)



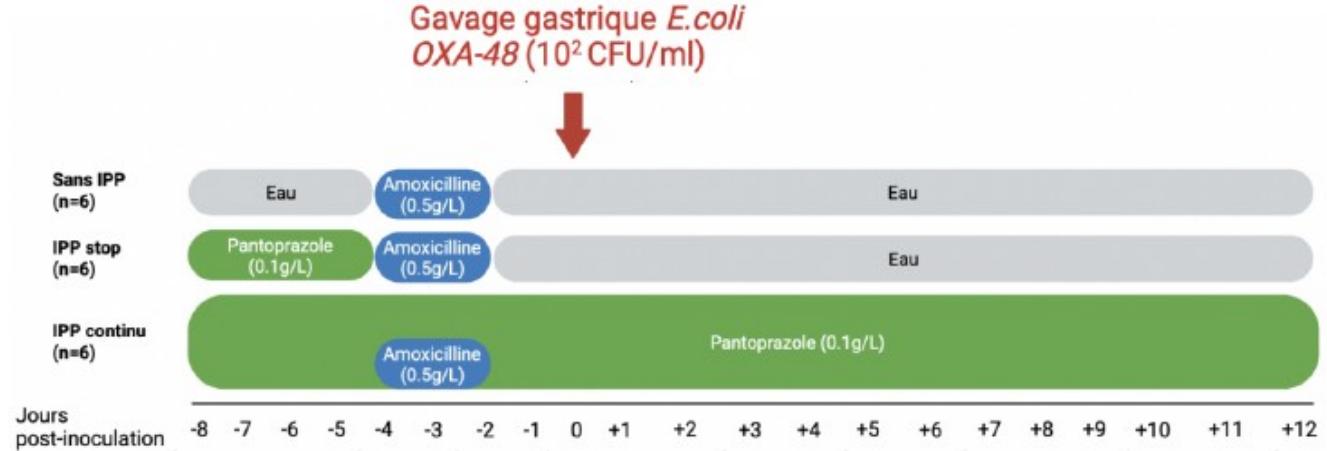
## Modèle N°2



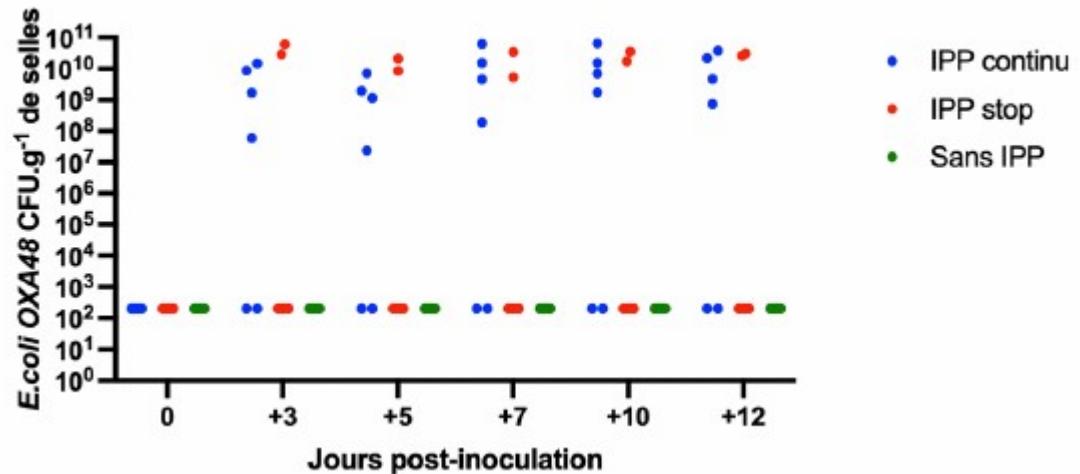
Les différences entre les groupes ne sont pas significatives



## Modèle N°3



- La pré-exposition au pantoprazole augmente le titre d'EBLSE (2/3 des souris IPP continu sont colonisées vs aucune souris sans IPP)
- Quid de l'arrêt du pantoprazole quand on commence l'amoxicilline ? 1/3 des souris sont colonisées

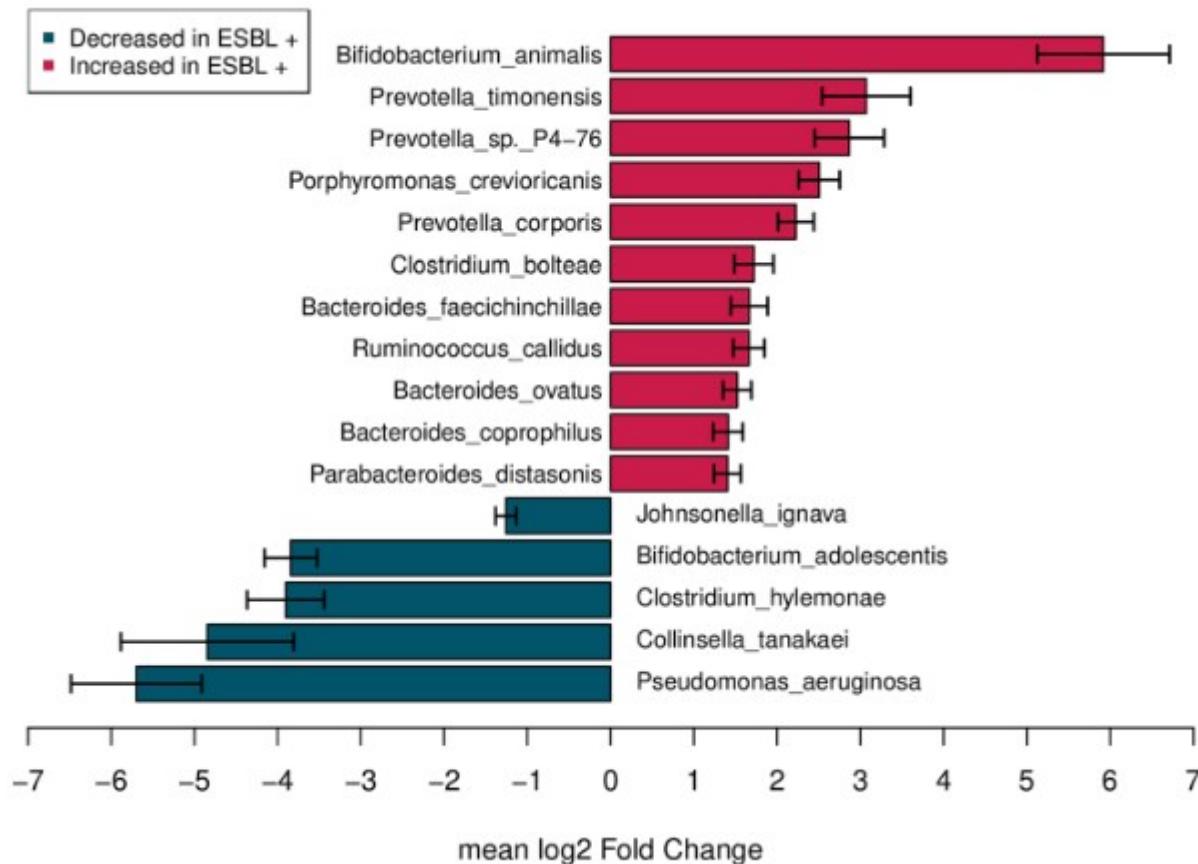


# Les leçons de cette étude

- Sur le modèle expérimental
  - Adapter le modèle à la question posée
  - Avoir une puissance statistique suffisante – comme dans les essais cliniques
- Sur le rôle des IPP
  - Ça fait maintenant deux études expérimentales, menées par 2 équipes différentes qui confirment que le prétraitement par pantoprazole favorise la colonisation par BMR (chez la souris secondairement traitée par antibiotique)
  - Faut-il arrêter le pantoprazole quand on débute l'antibiotique ?
    - À tester sur un nombre de souris adéquat (calcul préalable du nombre de souris nécessaires)

# La composition du microbiote est prédictive du risque de colonisation par une BMR

- Résidents d'EHPAD du CHU Nantes
- colonisés par Enterobactérie productrice de BLSE vs non colonisés



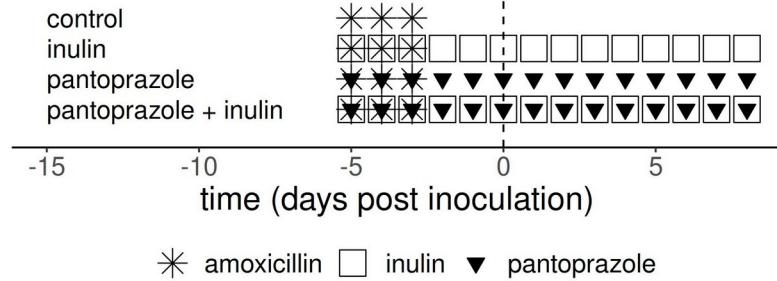
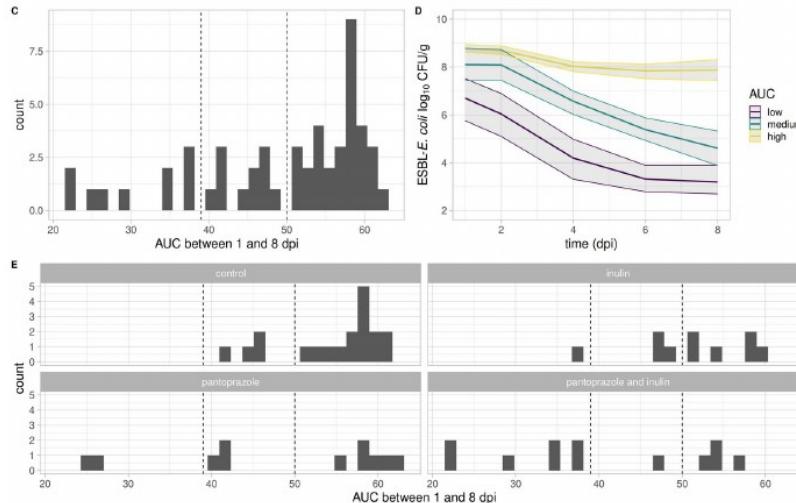
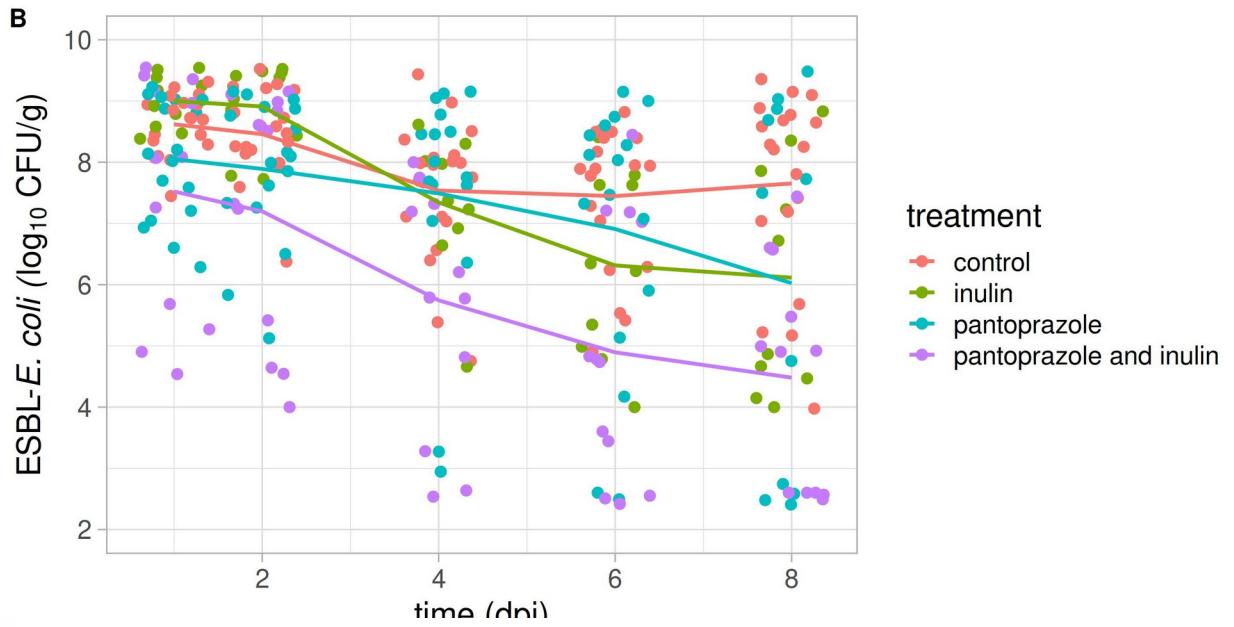
# Un traitement préventif de la colonisation digestive par BMR ?

## BACKGROUD

- Higher colonic content in short chain fatty acids (SCFAs) has been associated with protection against intestinal colonization by MDRE
- Inulin promotes intestinal growth of SCFA producers in humans, including genera of various families such as *Bifidobacteriaceae* (*Bifidobacterium*), *Lachnospiraceae* (*Anaerostipes*), *Oscillospiraceae* (*Faecalibacterium*) and *Lactobacillaceae* (*Lactobacillus*)
- in mice inulin promotes the intestinal growth *Lachnospiraceae* (*Blautia*, *Roseburia*), *Muribaculaceae* (*Duncaniella muris*), *Oscillospiraceae* (*Ruminococcus*) and *Akkermansiaceae* (*Akkermansia*) that are also associated with resistance to colonization by MDRE in antibiotic dysbiosed mice

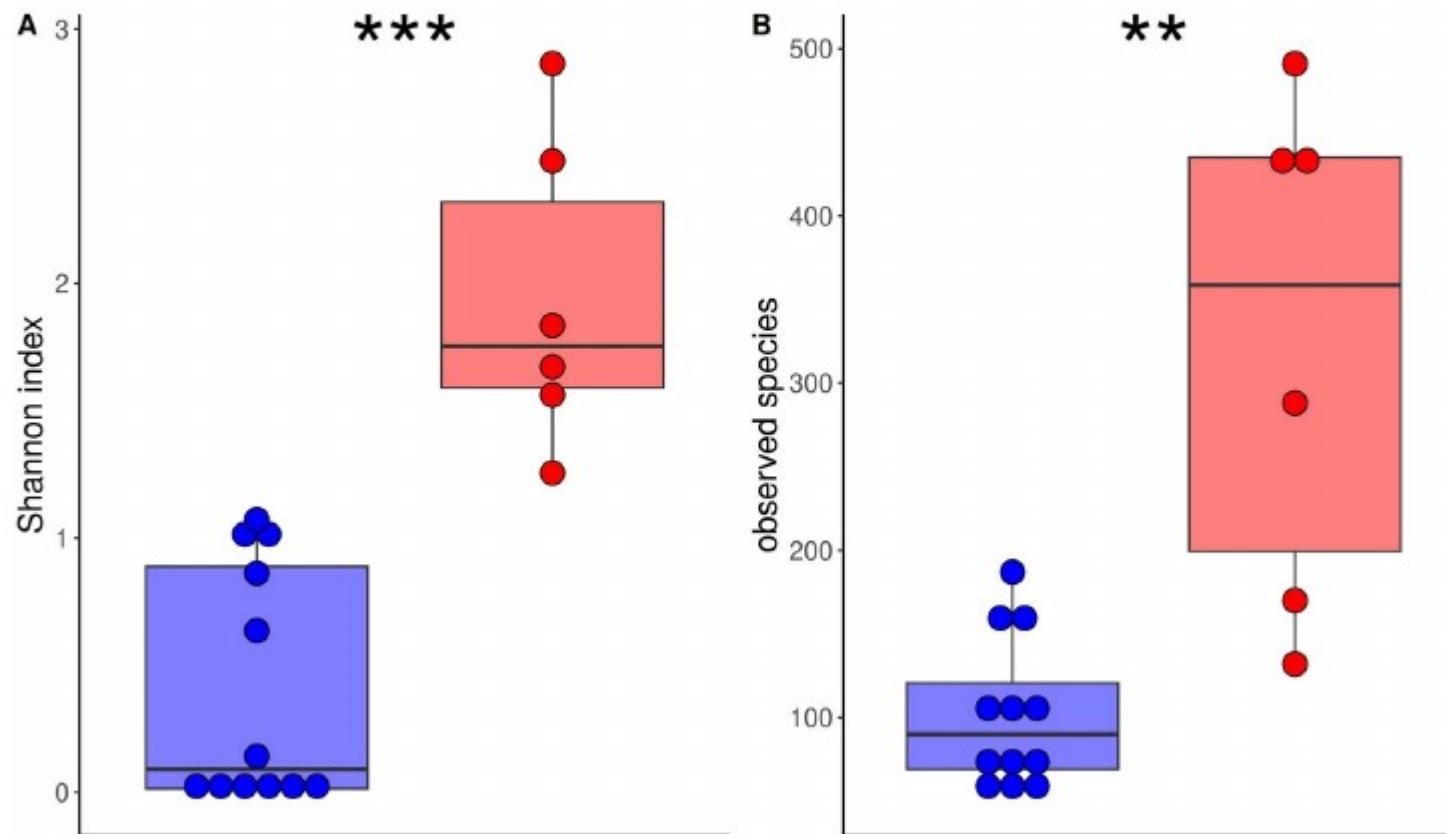
## OBJECTIVE

- To assess whether inulin prevents intestinal colonization by an ESBL-*E. coli* in mice with amoxicillin-induced intestinal dysbiosis

**A****B**

parameter	class	estimate	P-value of the estimate	estimate of the interaction with time	interaction P-value	proportion of mice with low level titers
intercept	-	8.6 (0.2)	< 0.0001			
time (dpi)	-	-0.2 (0.1)	0.025			
treatment	pantoprazole	-0.3 (0.3)	0.25	-0.1 (0.1)	0.61	2/11 (18%)
	inulin	0.9 (0.3)	0.005	-0.3 (0.1)	0.011	1/10 (10%)
	inulin + pantoprazole	-0.7 (0.3)	0.018	-0.3 (0.1)	0.007	7/12 (58%)

**6 Figure 2. Taxonomic diversity and architecture of fecal microbiome in mice effectively treated by inulin and pantoprazole in comparison with control or ineffectively treated mice**



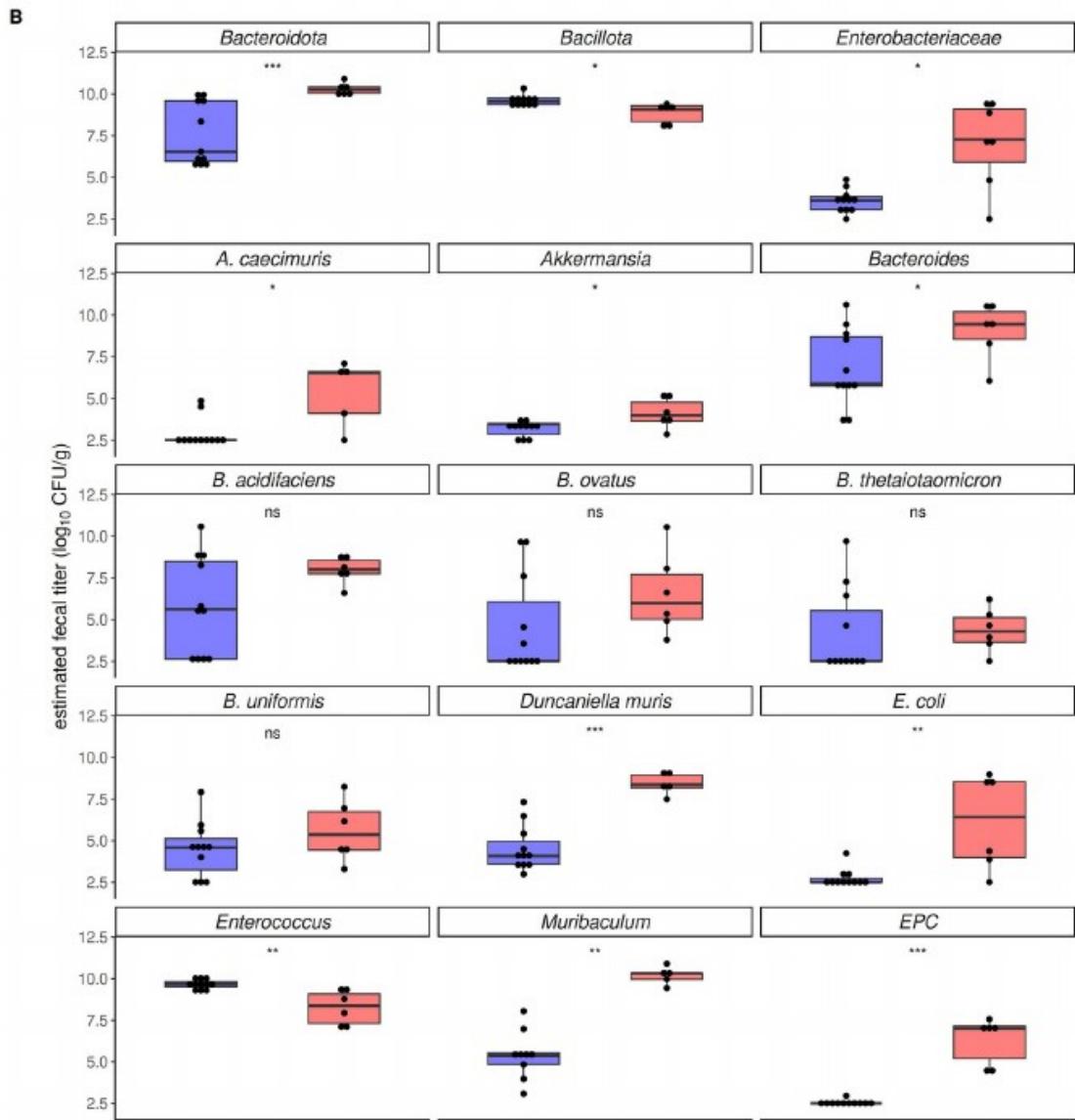
## Taxons prédictifs de l'activité de l'association inuline+pantoprazole (shotgun sequencing)

discriminated the 2 groups of mice (**Figure 2C**). Among 195 species, 74 were differentially abundant between the 2 groups, all being increased in effectively treated mice (**Extended data, Table S2**). Mice effectively treated with IP had higher titers of 28 species of the Muribaculaceae family (including *Duncaniella muris* and 2 other *Duncaniella* sp., *Muribaculum intestinale* and another *Muribaculum* sp., *Paramuribaculum intestinale* and 2 other *Paramuribaculum* species), 16 species of the Lachnospiraceae family, 6 species of order Enterobacterales (including *E. coli*, *Citrobacter A rodentium*, *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca* and *K. variicola*), 6 species of genus *Alistipes* (family Rikenellaceae), 3 species of the Coriobacteriia class and Eggerthellaceae family (*Adlercreutzia caecimuris*, *Adlercreutzia\_sp004793465* and a *Parvibacter* sp.), and 2 species of the Bacteroidaceae family (including one *Bacteroides*).

## 6 Table S2. Differences in microbiome composition between mice effectively treated by the combination inulin and pantoprazole and control or ineffectively treated mice.

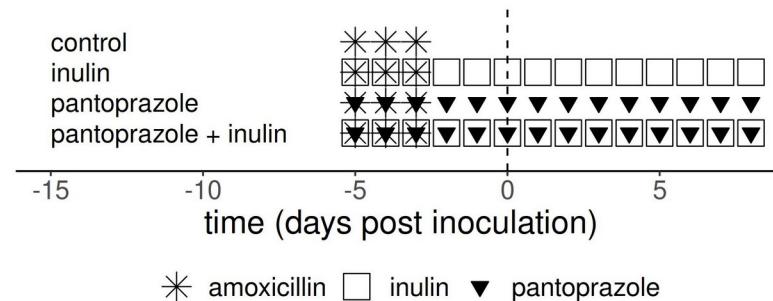
class	family	species	Relative abundance (geometric mean)				FDR corrected P-value
			control or ineffectivel y treated mice	effectively treated mice	generalized fold change (log <sub>10</sub> )		
Bacteroidia	Muribaculaceae	Muribaculum_intestinale	2e-05	5e-02	3.3	0.007	
Clostridia	Lachnospiraceae	UBA7160_sp003612585	6e-07	1e-03	2.9	0.007	
Gammaproteobacteri a	Enterobacteriaceae	Klebsiella_variicola	5e-06	5e-03	2.9	0.007	
Bacteroidia	Muribaculaceae	CAG-873_MGBC112867	2e-05	2e-02	2.9	0.007	
Gammaproteobacteri a	Enterobacteriaceae	Klebsiella_pneumoniae	2e-04	8e-02	2.8	0.010	
Bacteroidia	Muribaculaceae	Muribaculaceae_NOV_MGBC12899 1	7e-06	3e-03	2.8	0.008	
Bacteroidia	UBA932	RC9_sp002298075	2e-05	5e-03	2.5	0.015	
Bacteroidia	Muribaculaceae	UBA7173_sp002491305	6e-06	1e-03	2.4	0.010	
Bacteroidia	Rikenellaceae	Alistipes_sp002362235	1e-05	2e-03	2.3	0.012	
Bacteroidia	Muribaculaceae	CAG-873_MGBC111877	2e-07	1e-04	2.2	0.007	

# Taxons prédictifs de l'activité de l'association inuline+pantoprazole (qPCR)



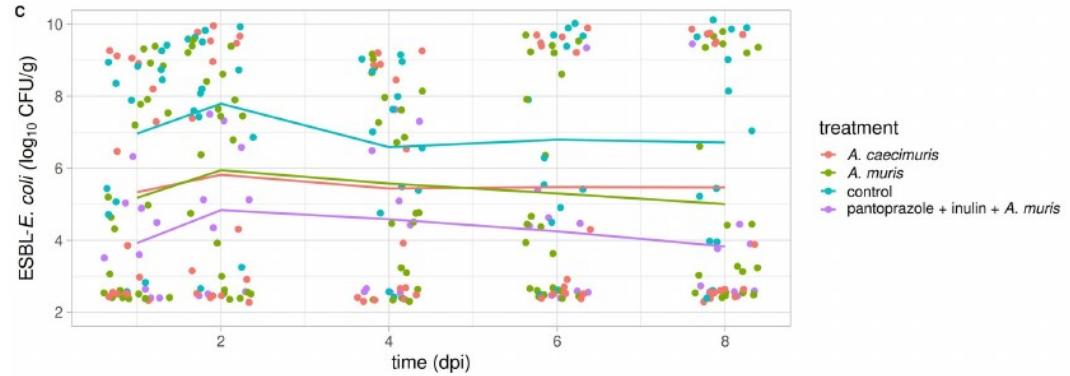
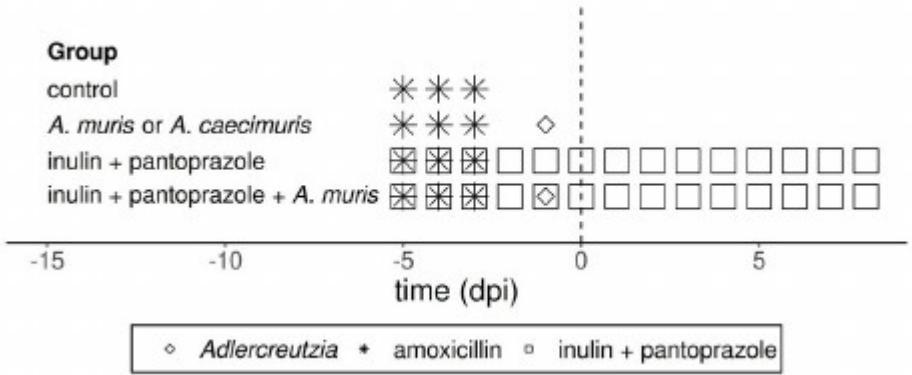
- Pourquoi considérer ces marqueurs comme prédictifs ?

- Pourquoi considérer ces marqueurs comme prédictifs ?
  - Association avec précession temporelle



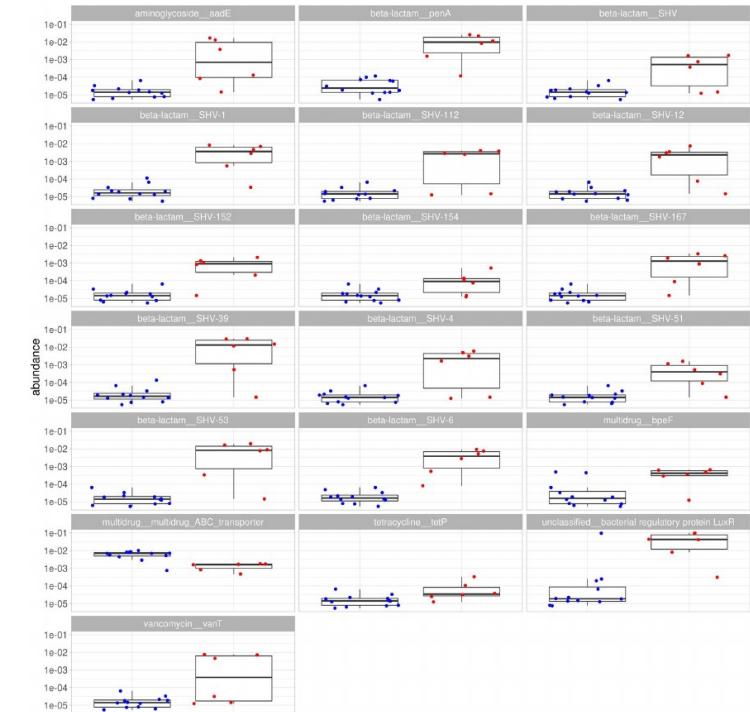
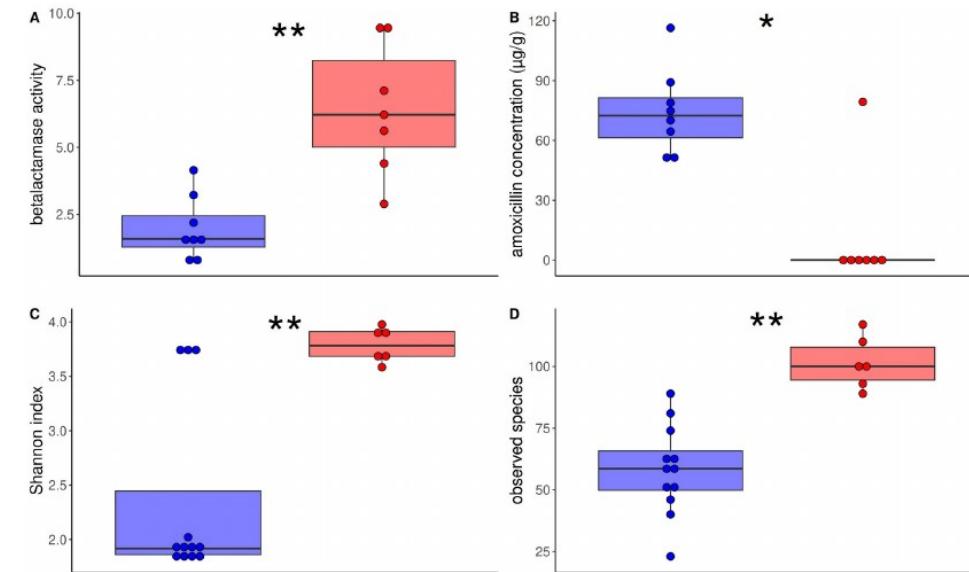
Quelle limite ?

- Pourquoi qualifier ces marqueurs de marqueurs prédictifs ?
  - Association avec précession temporelle
- Association n'est pas causalité
  - Association avec précession temporelle n'est pas causalité
  - Comment avancer ?



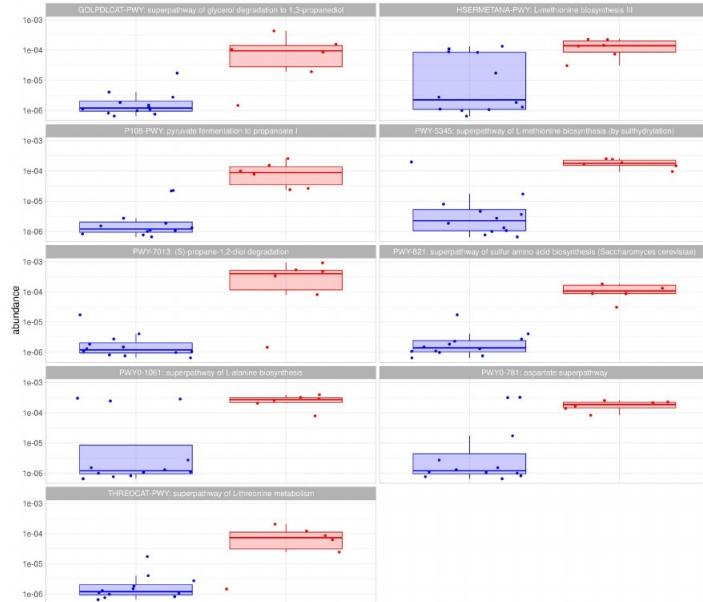
parameter	class	estimate	P-value of the estimate
intercept	-	7.2 (0.3)	< 0.0001
time (dpi)	-	-0.1 (0.2)	0.80
treatment	<i>A. caecimuris</i>	-1.6 (0.4)	< 0.001
	<i>A. muris</i>	-1.5 (0.4)	< 0.001
	Inulin + pantoprazole + <i>A. muris</i>	-2.7 (0.5)	< 0.0001

9 Figure 5. Fecal  $\beta$ -lactamase activity, amoxicillin concentration and resistome in mice effectively treated by inulin and pantoprazole and in control or ineffectively treated mice



or ineffectively treated mice (Extended data, Figure S4). Among these 19 ARG subtypes, 13 conferred resistance to betalactam antibiotics, 12 of them coding for a SHV beta-lactamase and being higher in effectively treated mice. Most of these beta-lactamase resistance genes code for enzymes that hydrolyze amoxicillin. Furthermore, abundance of beta-lactam ARG was correlated with fecal beta-lactamase activity (Spearman rho, 0.57, P-value, 0.04).

# Some genes with higher abundance in mice effectively treated with inulin+pantoprazole



9 genes involved in propionate synthesis

mice (**Extended data, Table S5**). Among those, gene abundance of fructan beta-fructosidase, that is involved in catabolism of inulin, was higher in feces of effectively treated mice than in control or ineffectively treated mice (**Figure 4G**).

## Pour conclure

- L'association inuline+pantoprazole réduit la colonisation intestinale par *E. coli* BLSE
  - Chez certaines souris
- Plusieurs mécanismes d'action potentiels
  - Favorise certains taxa qui pourraient être compétiteurs d'*E. coli* (nutriments, espace)
    - *Adlercreutzia muris* et *A. caecimuris* par exemple
  - Favorise la production d'acides gras à chaîne courte (et en particulier de propionate), qui participent à l'inhibition de la croissance des Enterobactéries dans le colon murin
  - Favorise, en cours de traitement par amoxicilline, des taxons producteurs de beta-lactamase
    - Qui vont hydrolyser l'amoxicilline, et donc limiter la dysbiose en cours de traitement par amoxicilline
    - Un peu de résistance aux betalactamines serait bénéfique...

# **Comment aller plus loin pour comprendre les mécanismes impliqués dans l'action de l'inuline-pantoprazole ?**

# **Comment aller plus loin pour comprendre les mécanismes impliqués dans l'action de l'inuline-pantoprazole ?**

- Dégradation de l'amoxicilline par des bactéries du microbiote ?
- Quelles bactéries sont responsables de la dégradation de l'amoxicilline dans la lumière intestinale ?
  - Bactéries
    - porteuses des gènes de beta-lactamase
    - Et prédictives de l'efficacité du traitement
- Dosage d'acides gras à chaîne courte

## **Nouvelle étude**

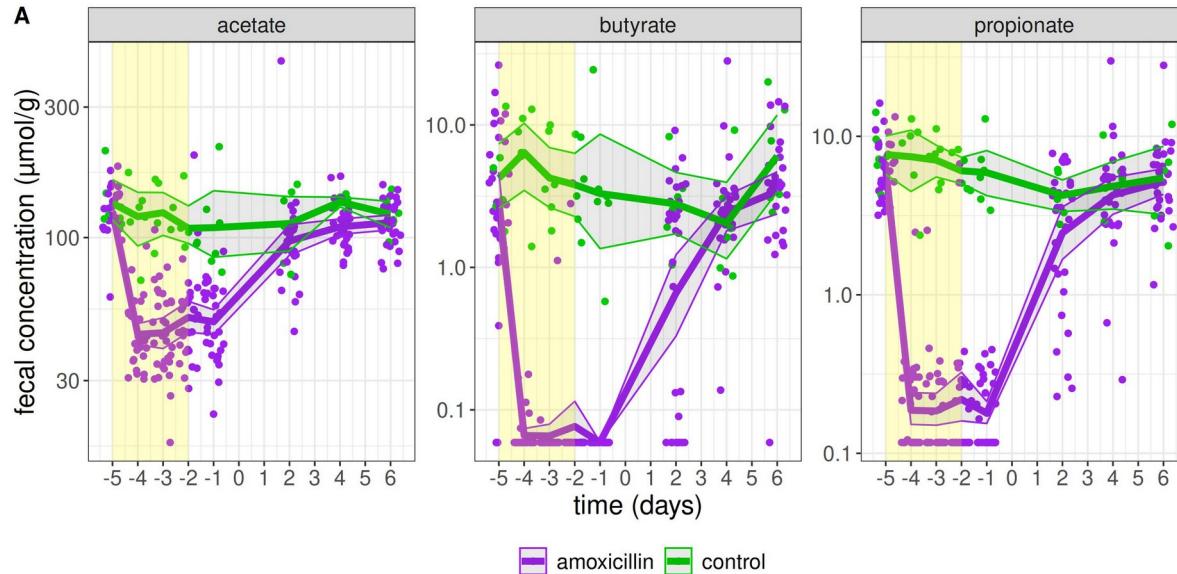
### **Objectif :**

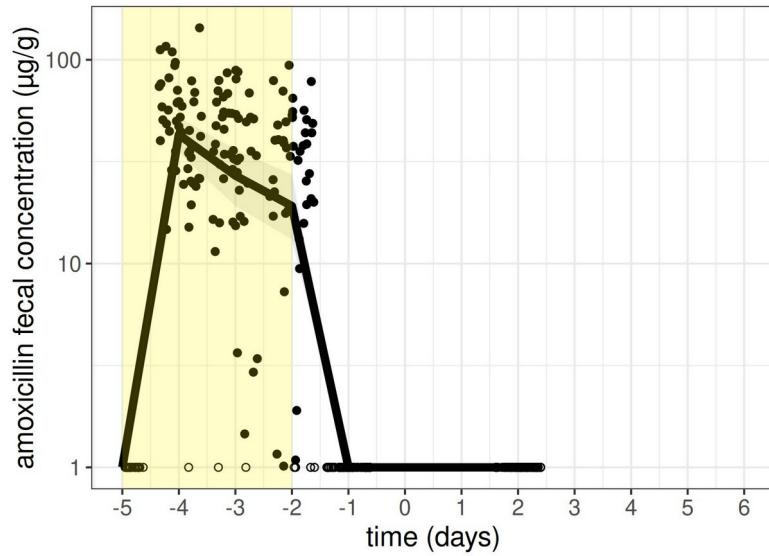
- Décrire l'impact de l'exposition à l'amoxicilline sur les concentrations fécales d'acides gras à chaîne courte
- Mesurer la fréquence et l'importance de la dégradation de l'amoxicilline par le microbiote intestinal

### **Méthodes**

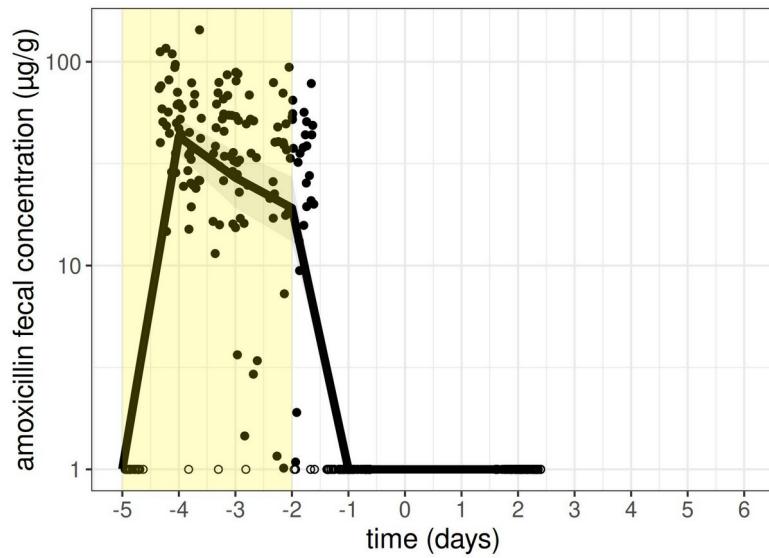
- 50 souris exposées à l'amoxicilline (3 jours)
- 10 souris contrôle non exposées à l'amoxicilline
- Pas d'inoculation par E. coli multirésistant pour que l'amoxicilline soit la seule perturbation du microbiote

# Impact de l'exposition à l'amoxicilline sur les concentrations fécales d'acides gras à chaîne courte

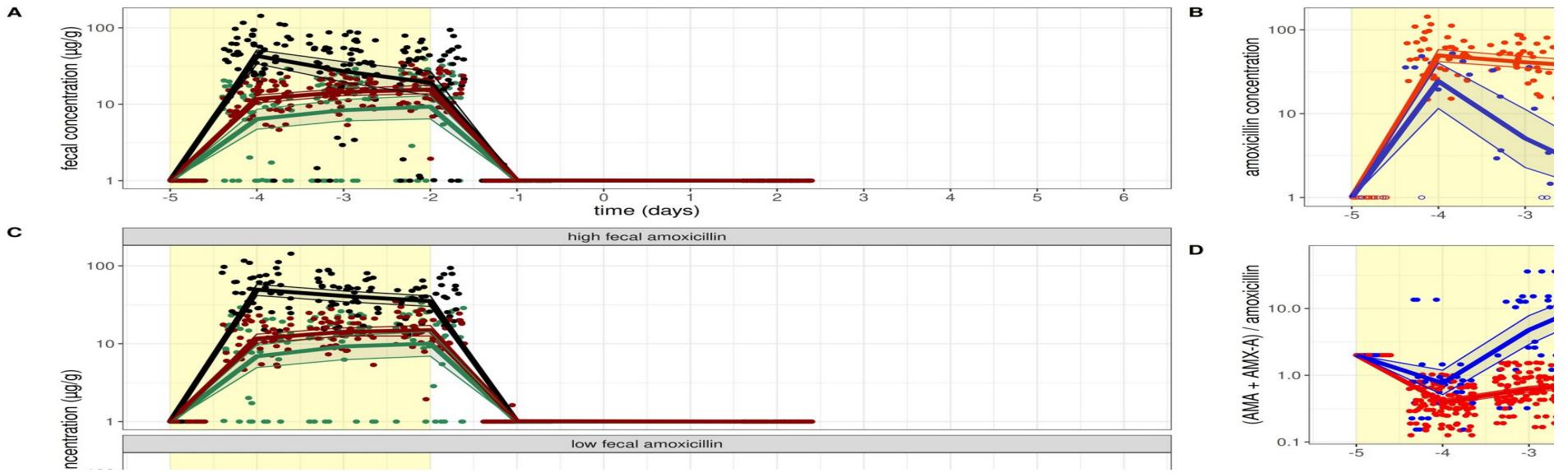




- Quelle est votre analyse ?

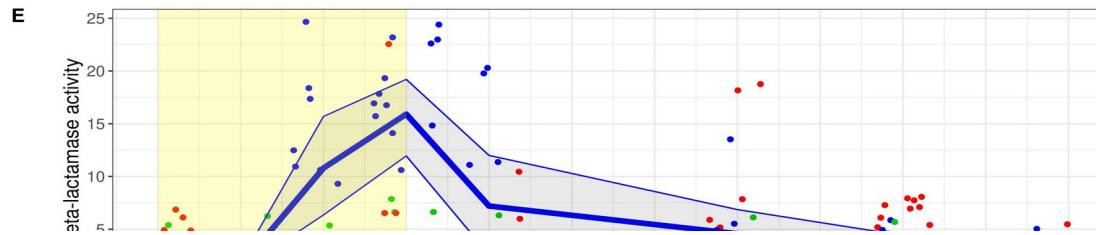
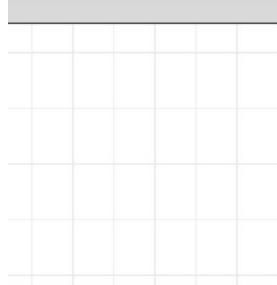
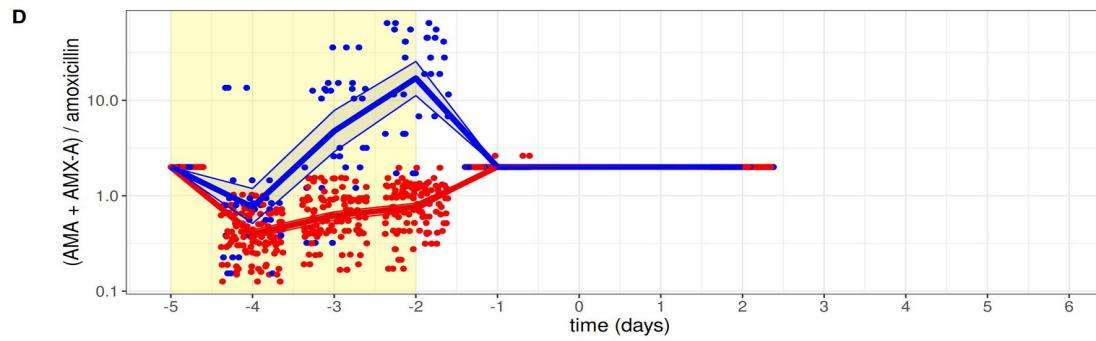
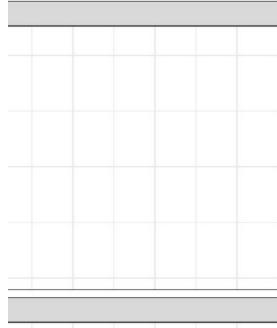
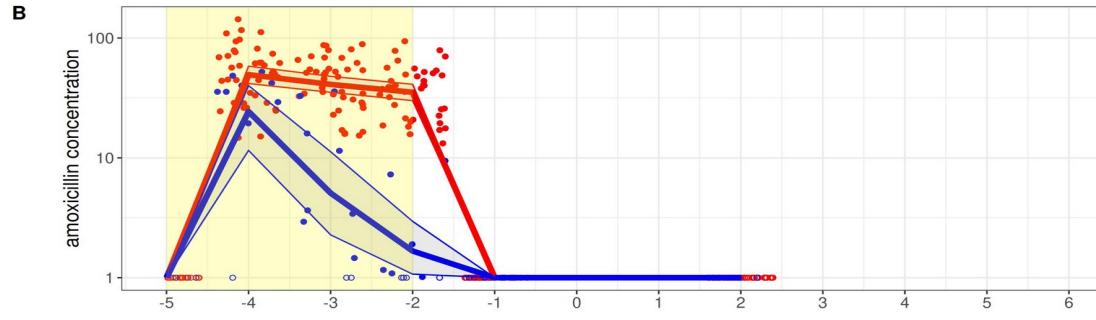
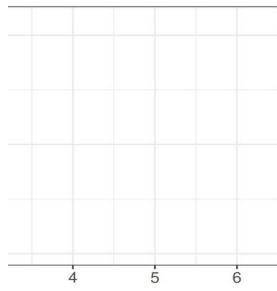


- Forte variation interindividuelle des concentrations fécales d'amoxicilline
- Diminution des concentrations fécales en cours de traitement



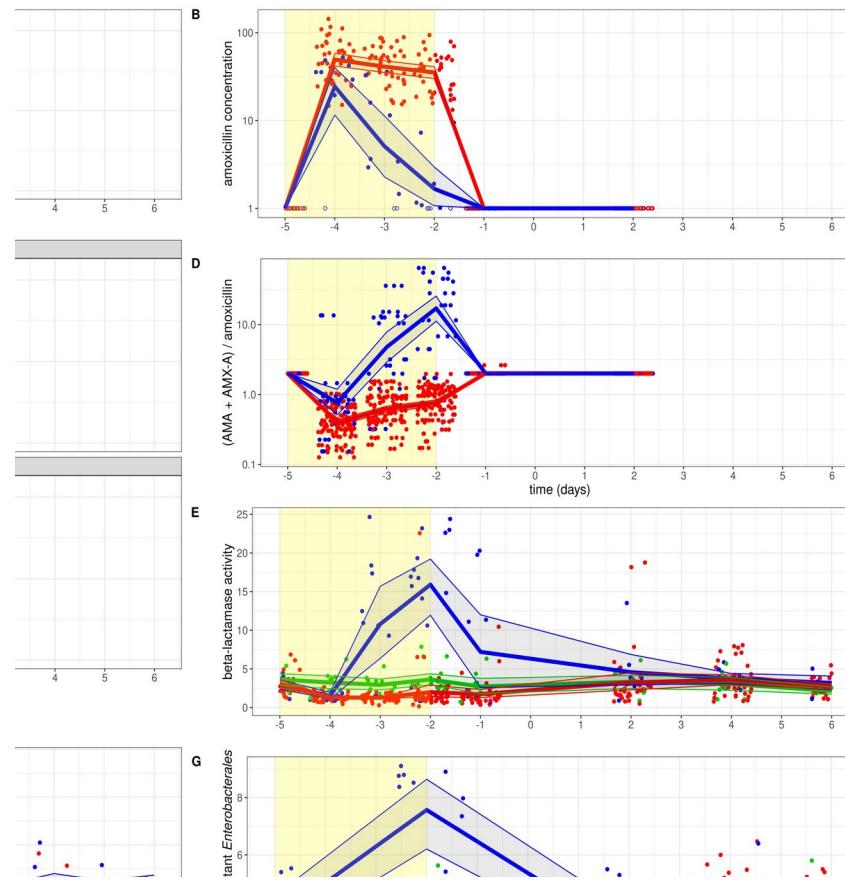
Calcul du rapport entre la somme des concentrations des 2 métabolites et la concentration de l'amoxicilline

- Distinction de 2 groupes de souris selon leur concentration fécale d'amoxicilline en fin de traitement
  - $< 10 \mu\text{g/g}$
  - $\geq 10 \mu\text{g/g}$



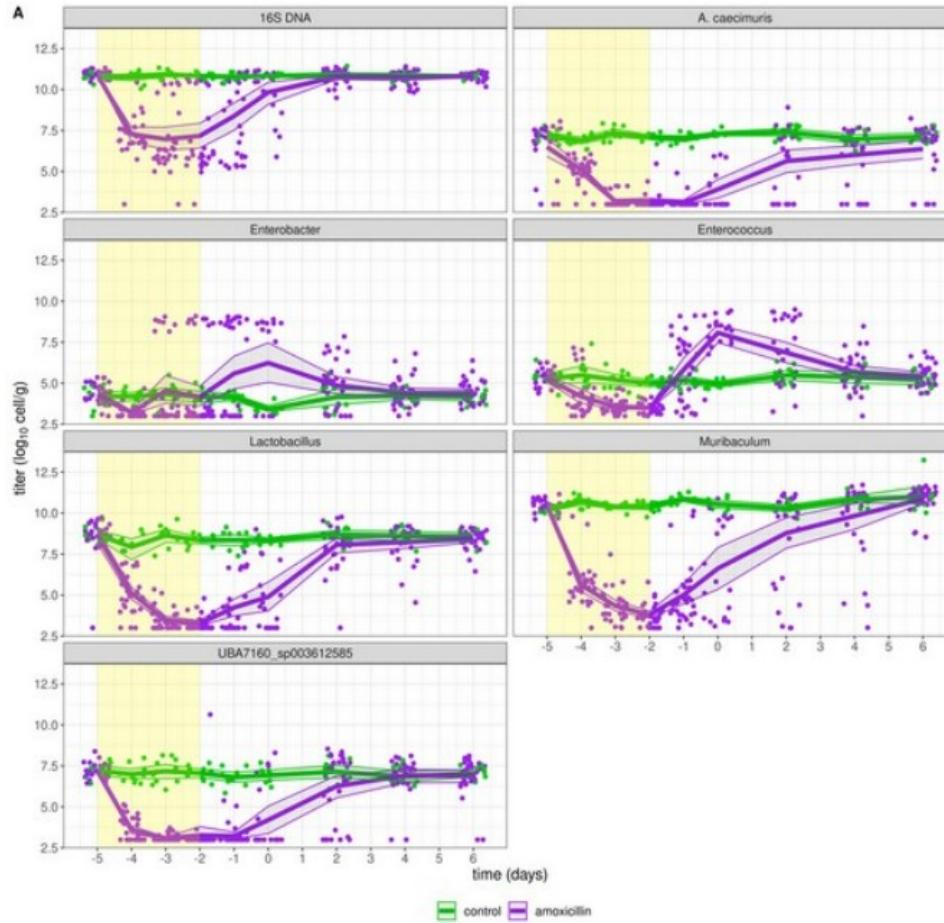
Deux groupes de souris

- Hydrolyseurs rapides (20 % des souris = 10/50)
- Hydrolyseurs lentes



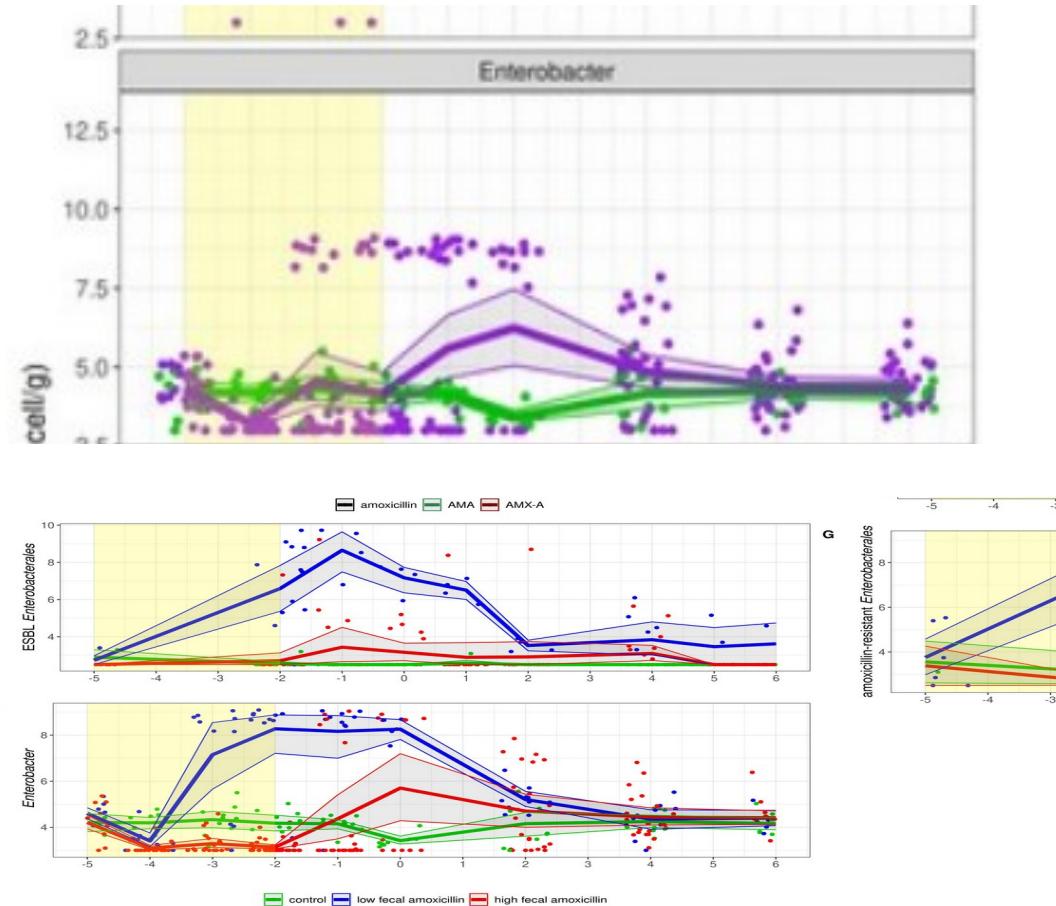
Test phénotypique de l'activité beta-lactamase fécale  
 L'activité beta-lactamase est augmentée chez les hydrolyseurs rapides

# Effet de l'amoxicilline sur la composition du microbiote (qPCR)



Quelle lecture avez vous des titres moyens d'Enterobacter ?

# Predictive factors of the level of colonisation by multidrug resistant *E. coli* in mice exposed to 3-day amoxicillin

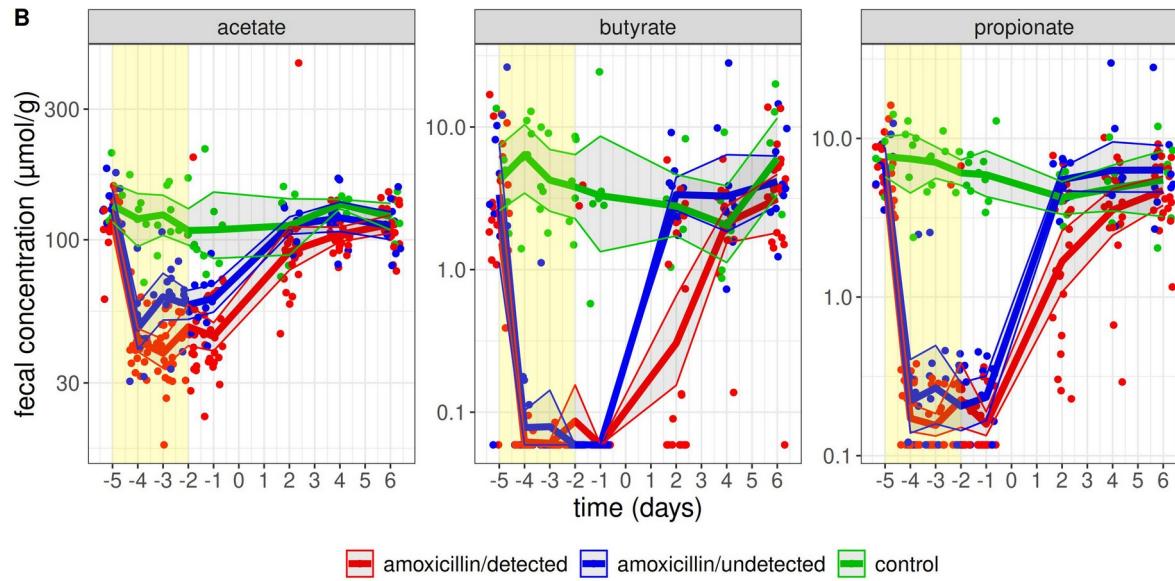


Quelle lecture avez vous des titres moyens d'Enterobacter ?

Forte hétérogénéité des souris

Des souches commensales d'Enterobacter productrices de bêta-lactamase pourrait être impliquées dans l'hydrolyse de l'amoxicilline

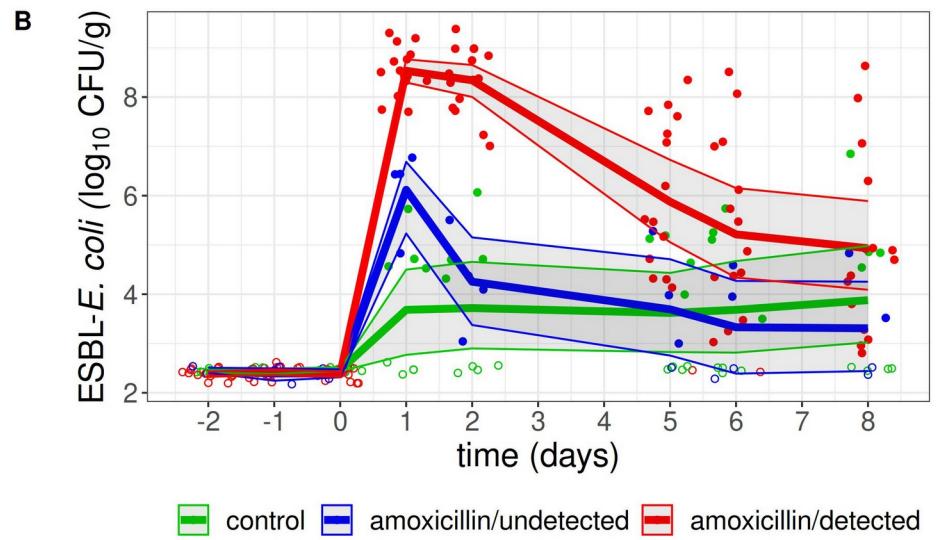
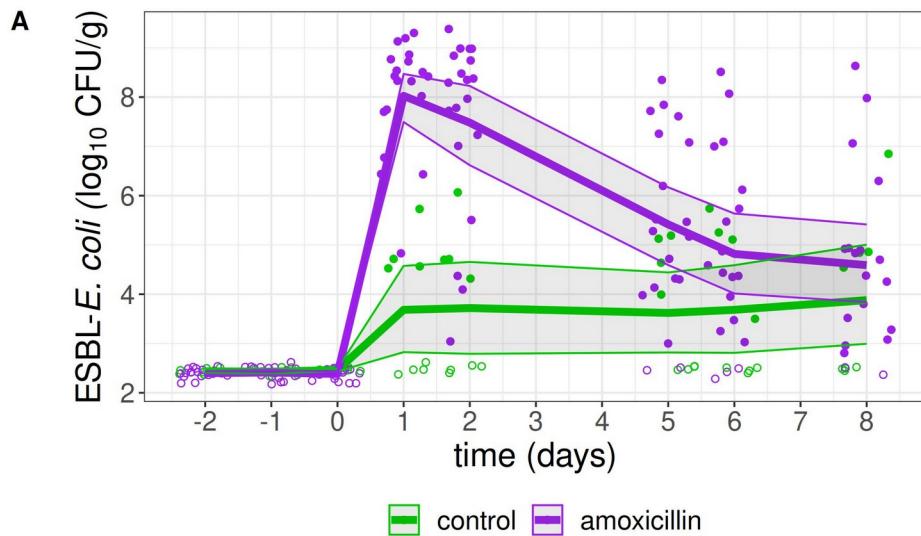
D'autres bactéries ? Etude métagénomique en cours



Les hydrolyseurs rapides récupèrent un peu plus vite des concentrations fécales d'acides gras à chaîne courte

Mais la diminution des concentrations en cours de traitement par amoxicilline reste très marquée, y compris chez les hydrolyseurs rapides

## Etude complémentaire : inoculation d'*E. coli* BLSE à J0



En cas d'inoculation par un *E. coli* multirésistant, les hydrolyseurs rapides sont moins colonisés

# Conclusion de cette étude

- 20 % des souris hydrolysent rapidement l'amoxicilline probablement par le biais de bactéries commensales productrices de beta-lactamase
- Cette hydrolyse rapide est associée à deux effets favorables
  - récupération un peu plus rapide des concentrations fécales d'AGCC
  - Moindre permissivité à la colonisation par un E. coli multirésistant inoculé
- Quelles sont les bactéries commensales productrices de beta-lactamase impliquées dans l'hydrolyse rapide de l'amoxicilline
  - Peut-être Enterobacter (et d'autres Entérobactéries)
  - Autrement dit, la colonisation par des Entérobactéries productrices de beta-lactamase **pendant le traitement par amoxicilline** pourrait s'avérer favorable !
  - Comment tester cette hypothèse ?

# Conclusions de ces travaux et perspectives

- L'amoxicilline perturbe profondément le microbiote et favorise la colonisation digestive par E. coli BLSE
  - Ceci questionne entre autres le bénéfice de remplacer la ciprofloxacine par l'amoxicilline (désescalade) dans les pyélonéphrites
- L'effet « dysbiosant » de l'amoxicilline chez la souris dépend de l'individu : il semble limité chez une souris sur 5
- Perspective n°1 : chez les individus traités par amoxicilline, identifier ceux qui sont à risque de dysbiose marquée et de permissivité à la colonisation par une bactérie MDR en cas de contact
  - Avant le traitement ?
  - Pendant le traitement ?
  - Quels marqueurs utiliser :
    - séquençage haut débit, ou quelques qPCR bien choisies ?
    - La concentration fécale d'amoxicilline en cours de traitement ?
    - L'activité beta-lactamase en cours de traitement ?
    - Le dosage d'un ou de plusieurs AGCC ?
    - Une combinaison de tout cela ?
- Perspective n°2 : chez les individus traités par antibiotiques, donner un traitement pour prévenir la dysbiose induite par l'antibiotique
  - Augmenter la proportion de souris/patients dégradant l'amoxicilline en favorisant les bactéries commensales capable de l'hydrolyser ?
  - Limiter l'effondrement des concentrations d'AGCC pendant le traitement par amoxicilline ?
  - Chez tous les patients traités ? Ou seulement chez les patients identifiés comme étant à risque de dysbiose ?