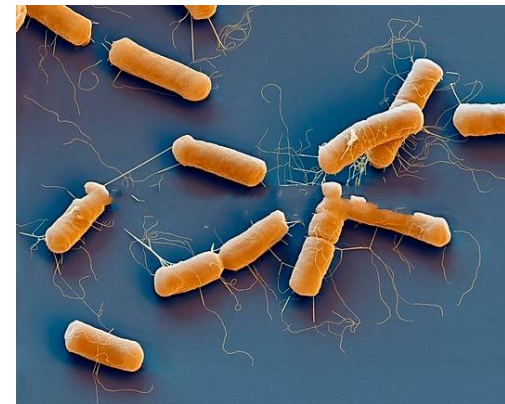


ADLF, 9 decembre 2016

Infections néonatales à bacillus Cereus

JC Picaud, Lyon



Bacillus cereus

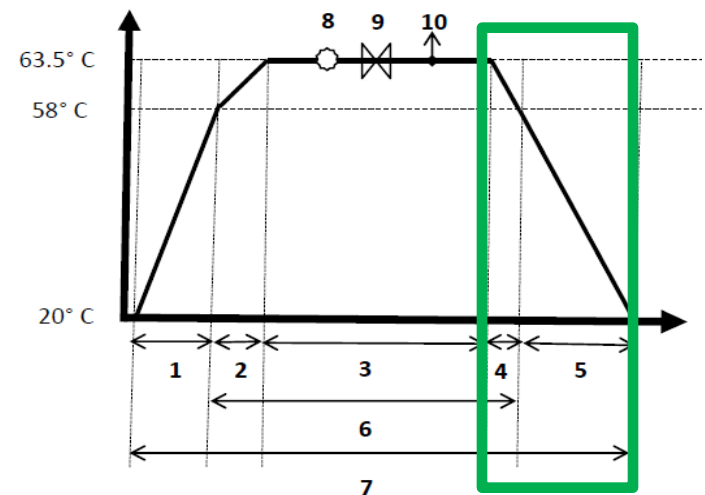
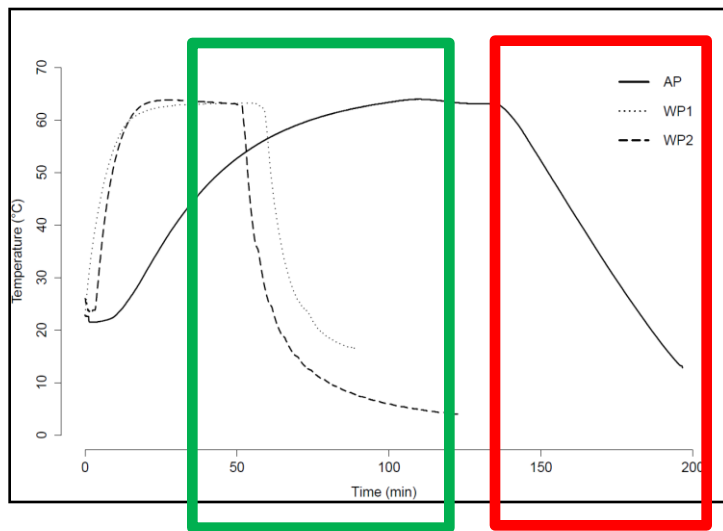
Bacille **gram** $\oplus$, mobile (ciliature péritriche), aéro-anaérobie
Sensible à Vancomycine, Aminosides, Erythromycine

Sporulé

- ✓ Résistance aux procédures de nettoyage habituelles surfaces, résistant à l'alcool (SHA)
- ✓ Forte capacité d'adhésion des spores aux surfaces en acier inoxydable (équipements peuvent devenir des réservoirs de spores).
- ✓ Résistance dans le sol → germe ubiquitaire dans le sol → contamination des aliments (végétaux++) → transmission à l'Homme par voie alimentaire. Aliments non réfrigérés après cuisson et après une première consommation (riz cuit par exemple).
- ✓ Les spores de *B. cereus* sont très résistantes à la pression. Elles peuvent être inactivées par la combinaison d'un traitement thermique (60-70 °C) et de hautes pressions (550-600 MPa).

ANSES, Septembre 2011, Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments

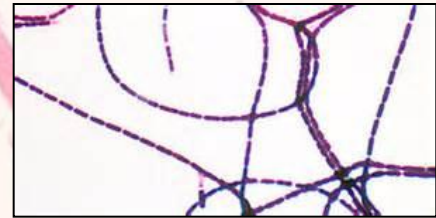
« Tout particulièrement en restauration collective, il est important de *refroidir rapidement les aliments cuisinés pour empêcher la germination des spores et la multiplication des cellules végétatives.* Les aliments non consommés immédiatement après préparation et dans lesquels *B. cereus* peut être présent et se développer, doivent être maintenus au-dessus de 63 °C ou surgelés pour inhiber sa croissance, ou réfrigérés pour la ralentir. »



Bacillus cereus

Fait partie d'un ensemble d'espèces apparentées, regroupées sous le terme «**Bacillus cereus sensu lato**» :

- **Bacillus cereus** sensu stricto hémolytique
- Bacillus thuringiensis
- Bacillus anthracis (maladie du charbon)
- Bacillus weihenstephanensis
- Bacillus mycoides et Bacillus pseudomycoides



Synthèse de toxine thermostable et de toxine thermolabile.

Trois **entérotoxines** :

- ✓ hemolysin BL (**Hbl**)
- ✓ nonhemolytic enterotoxin (**Nhe**)
- ✓ cytotoxin K (**CytK**)

Certaines souches rares (<1%) produisent une toxine émétique: la cereulide synthetase (ces).

Bacillus cereus

Responsable de toxi-infections alimentaires :

- Forme émétique: incubation=1-5 h
 - Forme diarrhéique, avec douleurs abdominales: incubation=6-24 h
- 4^e cause de TIAC en France (1766 cas, soit 3,5% des foyers de TIAC).
80% des cas en restauration collective

NB: Autres portes entrée: contaminations de plaie ou de cathéter ou via les injections pratiquées par les toxicomanes

Infection opportuniste

- **Le plus souvent bénigne** : résolution spontanée en 24 heures.
- Parfois **grave** (méningite, endocardite...) chez **sujet immunodéprimé**

Formes graves d'infections à *Bacillus Cereus*

Pathologies sévères

- septicémie,
 - entérocolite nécrosante,
 - hépatite fulminante,
 - encéphalopathie, abcès cérébral,
- ± décès

Chez des sujets immunodéprimés

- prématurés, nouveau-nés,
- hémopathie maligne
- cirrhose
- maladie de Crohn traitée par immunosuppresseurs.

Lien avec la consommation d'aliment non démontré pour ces infections

Infections chez l'enfant prématuré

- ✓ Septicémies
(Tuladhar R 2000, *Hilliard NJ 2003*)
- ✓ Pathologies pulmonaires
- ✓ Pathologies neurologiques: méningites, abcès cérébraux
(*Manickam N 2008*, *Lebessi E 2009*,)
- ✓ Pathologies intestinales
(*Decousser JW 2013*)

Sources de contamination /origine du BC

- **Linges de l'hôpital**

(Sasahara T 2011, Balm 2012, Hosein IK 2013)

- **Couches**

- **Pièces du ventilateur /circuit réutilisables**

(Bryce EA 1993, Gray J 1999, Kalpoe JS 2008, *Turabelidze G 2013*)

- **Insufflateurs manuels**

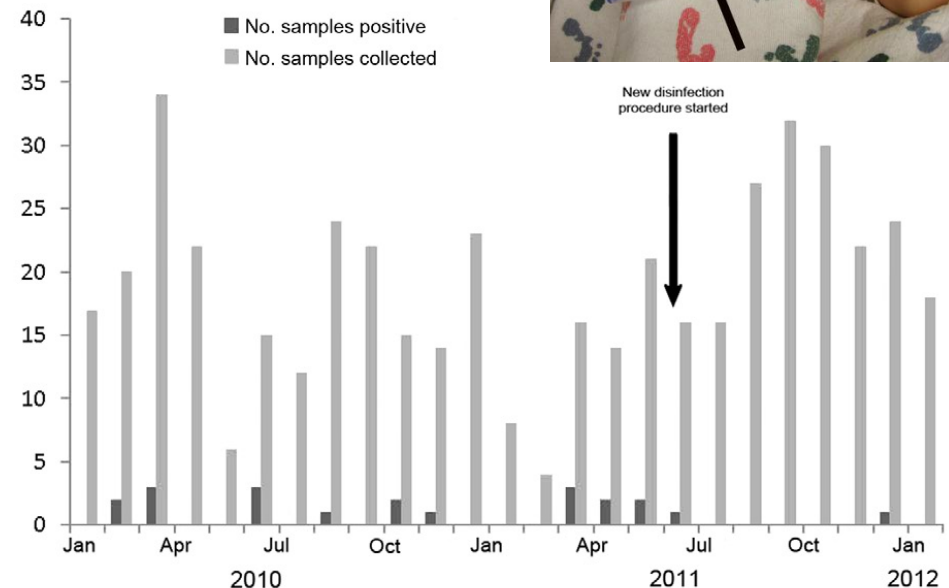
(Van Der Zwet WC 2000)

- **Solutés d'alimentation parentérale**

(Torjesen I, BMJ 2014)

- **Tampons alcool pré-préparés**

(Dolan 2012)



Epidemiologic curve of *Bacillus* spp.–positive tracheal aspirates from newborns on ventilators, January 2010–January 2012.

Sources de contamination / origine du BC

Summertime *Bacillus cereus* colonization of hospital newborns traced to contaminated, laundered linen

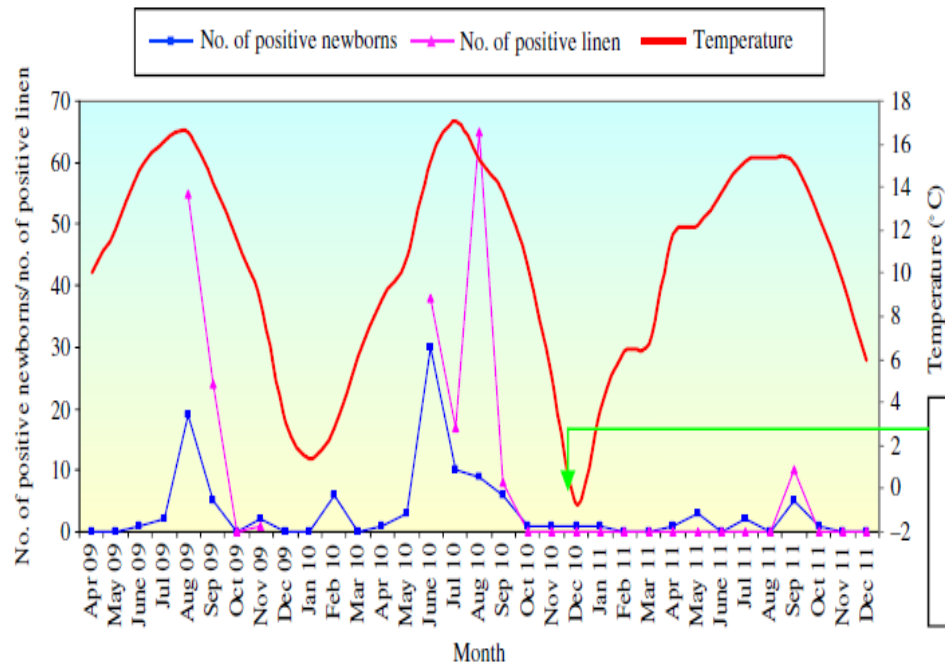
Hosein IK, J Hosp Inf 2013

Londres, Eté 2009

65% N-nés contaminés

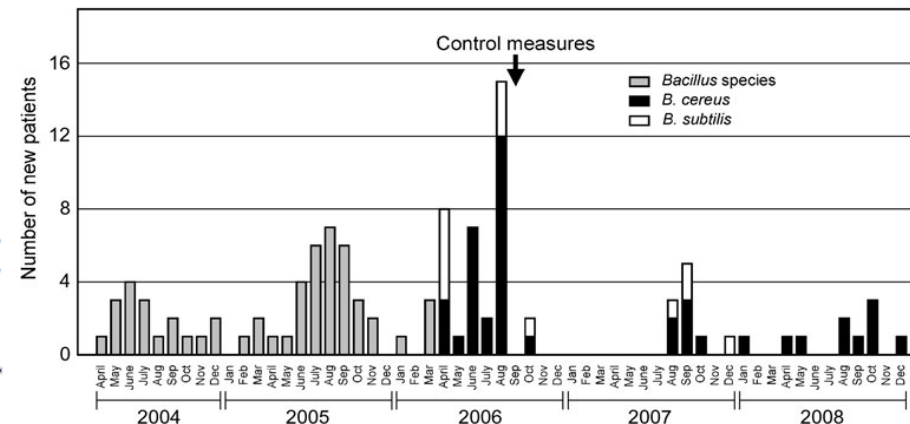
(écouvillonnage systématique)

> 85% des linges positifs



Periode estivale

Bacillus cereus bacteremia outbreak due to contaminated hospital linens
Sasahara T 2011



Nov 2010

Use of washer-extractor for labour ward linen

Hot and steamy: outbreak of *Bacillus cereus* in Singapore associated with construction work and laundry practices

M.N.D. Balm^{a,b,*}, R. Jureen^b, C. Teo^a, A.E.J. Yeoh^c, R.T.P. Lin^{a,b}, S.J. Dancer^d, D.A. Fisher^{a,e}

Journal of Hospital Infection 81 (2012) 224–230

Travaux ➔ Poussières ➔ Linges

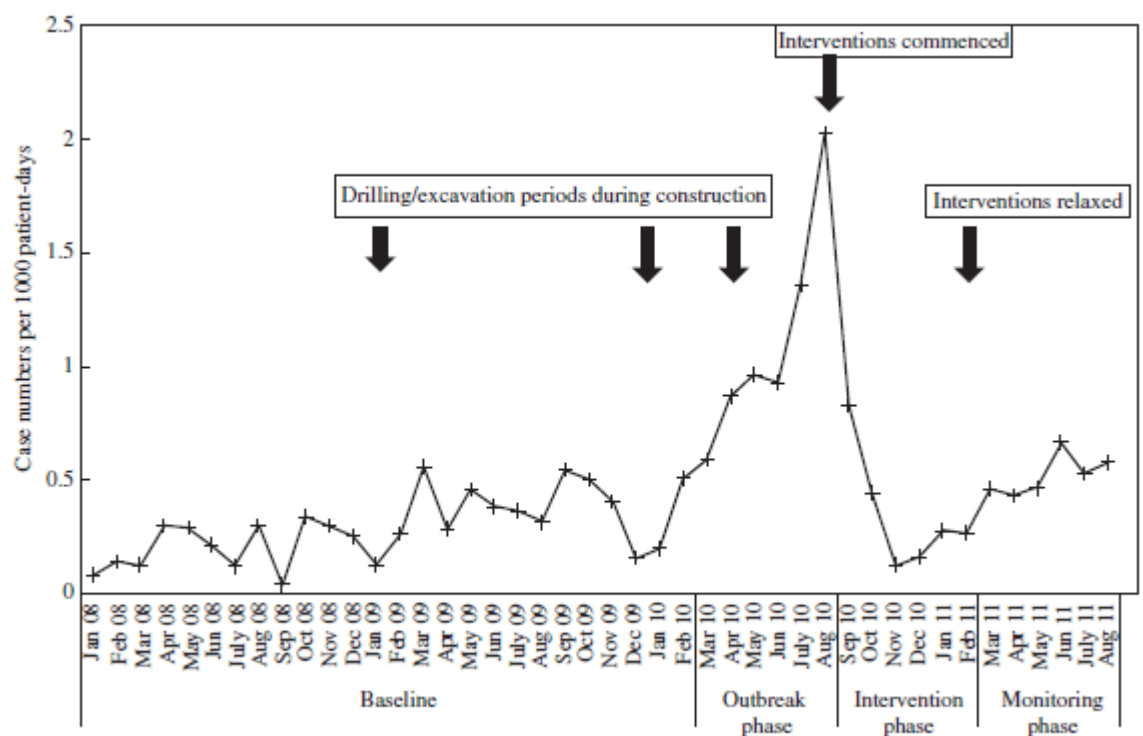


Figure 1. Epidemic curve for new cases of *Bacillus cereus* group per 1000 patient-days, January 2008 to August 2011.

Strasbourg, Aout 2011

Ramarao N, Am J Inf Contr 2014

Réanimation néonatale, CHU Strasbourg

2 prématurés avec septicémie à BC

- 24SA, 650g, J32, Hemoc + (KT artériel, CRP=93mg/L, CFTX+VANCO+AMKL 10 jours, evolution favorable
- 26 SA, 615g, J5 signes infection, CRP=107mg/L, 2 hémocs+ à BC, abcès cérébraux et pulmonaires, DCD à J6 (défaillance multi-viscérale)

Deux souches de BC génétiquement différentes, mais toutes deux sécrétrices de la toxine Nhe (non hemolytic enterotoxin) et avec cytotoxicité élevée vis à vis des cellules épithéliales → virulence élevée

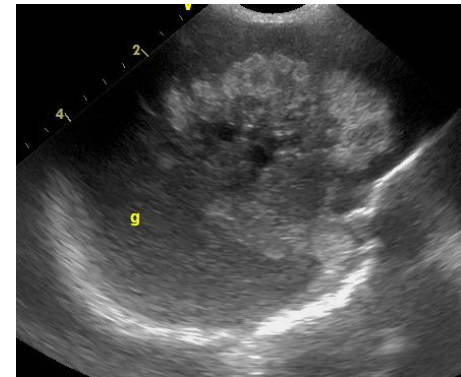
Hypothèse: contamination du KTVO

Nice, Sept 2013

Herissé AL, poster RICA 2014

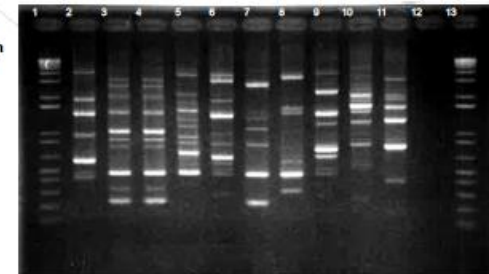
Réanimation néonatale, CHU de Nice, Sept. 2013

- 27 SA, 800g: J4 signes infection, CRP=88 mg/L, CFTX+GENTA+VANCO puis VANCO 15 jrs puis Quinolone
Sécrétions trachéales + (hémoc. -), nécrose pulmonaire
Hypoxie réfractaire, DC à J26



- 29 SA, 1480g: J4 signes infection, Hémoc.+, KT+, CFTX+GENTA+VANCO

1. DNA Ladder
2. Tracheobronchial aspiration – 1st newborn
3. Blood culture – 2nd newborn
4. Catheter – 2nd newborn
5. Incubator's surface 1st newborn (1)
6. Incubator's surface 1st newborn (2)
7. Incubator's surface 1st newborn (3)
8. Ultrasonographic probe
9. Bench surface of Bottle feeding
10. Incubator's surface 2st newborn (1)
11. Incubator's surface 2st newborn (2)
12. Negative control
13. DNA Ladder



J5: abcès (+nécrose) cérébral, défaillance multi-viscérale, DC à J8

Environnement: KTVO, sonde échographie, incubateurs, surface préparation biberons (Négatif: Filtres air, ventilation, ballons, linge, LF mère et lactarium)

Toutes **souches** génétiquement # :

virulence élevée

Patients	Bacteriological samples	cytK1 gene	cytK2 gene	ces gene	hlyII gene	Phylogenetic group	Nhe (production Index)	Hbl (production Index)
1st newborn	Tracheobronchial aspiration	-	+	-	-	III (99,7%)	+++	-
2nd newborn	Blood culture	-	+	-	-	IV (100%)	+	+++
2nd newborn	Catheter	-	+	-	-	IV (100%)	+	+++

Grenoble, Juillet 2009

Réanimation néonatale

- 27 SA, 820 g, J7 Sd apnéique,

Hémoc+, CRP=13 mg/L, PCT=6,5 µg/L

Vanco puis VANCO +CLAF 3 semaines

Abcès cérébraux. Survie (séquelles?)

- 25 SA, 610 g, évolution simple,

ETF systématique J5: lésions nécrotiques cérébrales

Diffuses, Hemoc+ , CRP 49 mg/L

Hypoxie réfractaire, choc

Autopsie: méninges, poumons, ascite

DC à J7

Environnement

Surfaces dans chambres contaminées par BC

← Gaines de ventilation mal montées (travaux)



Pontoise, 2008 - 2016

- 6 infections à bacillus Cereus entre 2008 et 2016
- 4 décès
 - 2 très précoces (<H48)
 - 1 septicémie+ méningite
 - 1 lésions rénales majeures
- Enquête bactériologique dans l'environnement: souches différentes de celles trouvées chez les enfants
(incluant lait lactarium)

Marseille, Aout 2015

27 SA, 900 g

J3: syndrome infectieux

choc septique + méningo-encephalite

CRP 55 mg/L, Hémoc+, LCR+

Claforan-Clamoxyl-Amiklin

ETF: abcès cérébraux multiples

Défaillance multiviscérale

Décès à J5

Enquête bacterio environnement: négative

Paris, décembre 2010/ Janvier 2011

Decousser 2013

Réanimation A Béclère

- 29 SA, 960 g

J3 ECUN, CRP=40 mg/L

Gastrique+, CLAF/VANCO/FLAGYL, evolution favorable

- 30 SA, 1500 g

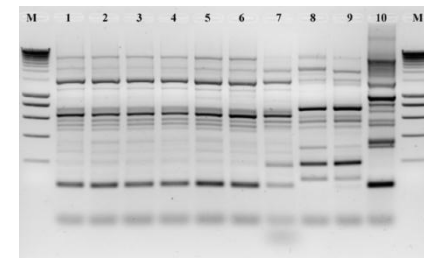
J3 ECUN, CRP=74 mg/L

Gastrique+ CLAF/VANCO/FLAGYL, evolution: pneumopéritoine,
chirurgie (liq. Perit. -)

Evolution favorable

Souches des deux enfants: Génétiquement identiques

Origine: Non identifiée (Lait lactarium?)



Paris, décembre 2010/ Janvier 2011

Aiming at reproducing real-life conditions (ie, milk stagnation in the gastric tube), PBM was introduced inside sterile neonatal gastric tubes from the same batch used by the infected patients and incubated 1, 4, and 24 hours at 37C. At the end of each incubation period, the milk was removed from the gastric tubes and cultured. However, after at least 4 hours of incubation in the gastric tube, the PBM cultures yield 15,000 CFU/mL *B. cereus*; 7 phenotypically different colonies were individualized for subsequent analysis.

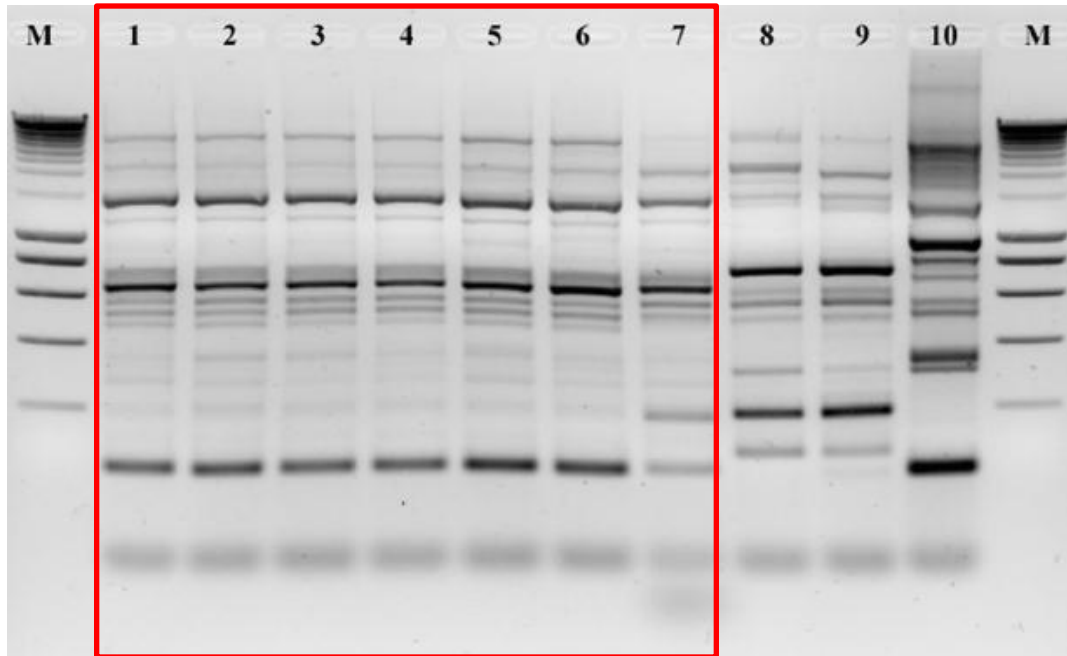


Fig 1. M13-polymerase chain reaction patterns of *Bacillus cereus* strains originating from milk and patients. Columns 1-7: strains 1-7 (pooled breast milk set p63), column 8: clinical strain A, column 9: clinical strain B, column 10: control strain (unrelated isolate). M, molecular weight marker.

Bacillus cereus and severe intestinal infections in preterm neonates: Putative role of pooled breast milk. Decousser JW Am J Inf Contr 2013

Background: *Bacillus cereus* is an environmental pathogen whose spores resist the usual cleaning procedure applied by the food industry and hospitals. We reported a cluster of severe intestinal infections due to *B cereus* in 2 very low birth weight neonates from a neonatal intensive care unit.

Methods: Environmental sampling and bacteriological analysis of pooled breast milk (PBM) were performed. Practices for preparation and administration of milk were observed and additional laboratory experiments performed. Strains were typed using M13-polymerase chain reaction and their virulence tested using cellular and insect models.

Results: *B cereus* strains were exclusively isolated from intestinal tracts and PBM. No environmental culture yielded any viable *B cereus*. Although genotypically diverse, both clinical and food strains exhibited high virulence potency. These findings pointed out the pathogenic potency of *B cereus* in neonates; the putative role of PBM as a reservoir for pathogenic *B cereus* and the triggered effect of a defective care procedure, which allowed the growth of bacteria in pasteurized PBM. Well described from dried formula, the presence of pathogenic *B cereus* strains in PBM was not previously reported.

Conclusions: Careful monitoring of conditions during collection, conservation, and administration of PBM should be implemented in high-risk populations such as premature neonates.

***Bacillus cereus* produces most emetic toxin at lower temperatures. Finlay 2000**

7 souches: mesure de la production de toxines dans lait écrémé entre 10 et 50°C

Production de **toxine émétique**

- significative entre 12-15°C et 37°C

- (production dans l'intestin: peu probable)

- non corrélée avec la production de spores

- (la toxine n'est pas un composant des spores)

Pas de croissance au-delà de 46°C

Sporulation augmente avec la température

Pas de corrélation entre niveau de sporulation et production de toxines

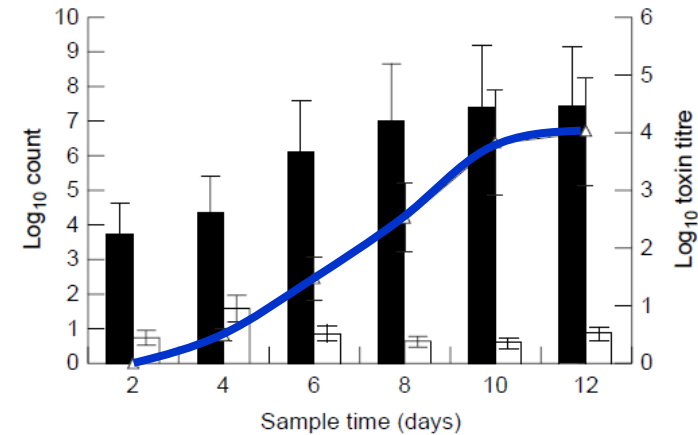


Fig.1 Mean log₁₀ count and emetic toxin production by six strains of *Bacillus cereus* at 12 °C over 12 days. (■), Viable count; (□), spore count; (△), toxin titre

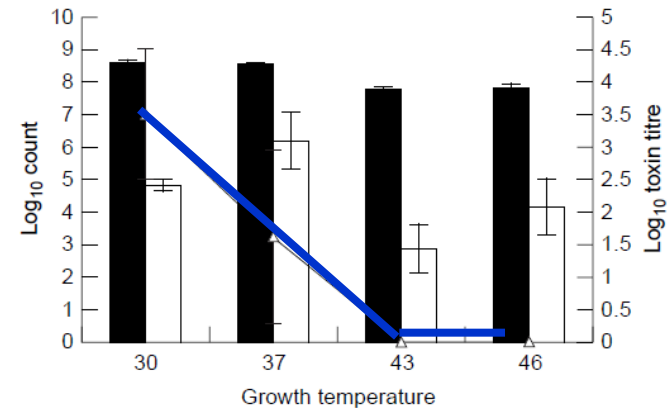


Fig.3 Mean log₁₀ count for seven strains of *Bacillus cereus*, and toxin titre for producing strains, after 24 h, at 30, 37, 43 and 46 °C. (■), Viable count; (□), spore count; (△), toxin titre

Bacillus cereus in pasteurized human milk

Spores of *B. cereus* can survive holder pasteurisation.

Landers 2010

93% of milk samples submitted to holder pasteurization showed no bacterial growth. *Bacillus* was the predominant contaminant

Gomes de Segura 2012

A negative result for *Bacillus* in a post-pasteurisation culture does not mean that this micro-organism is absent but only that it is under the detection limit of the technique (eg, 10^2 CFU/mL if 10mL of milk were cultured).

Because the counts of *Bacillus* were low, the actual presence of the toxins in the donors' milk is extremely improbable.

B. cereus strains isolated from pasteurised milk did not possess a high virulence potential.

Paris, Aout 2016

Trois n-nés prématurés

- Né le 6 Aout à Antoine Béclère

J3: Hemoc +, J6: décès

- Né le 24 Aout à Port Royal

J6: Hemoc +, J11: décès

- Né 15 Aout à Antoine Béclère

16/8: colonisation BC, va bien

Point communs:

- Lait du lactarium IDF
→ suspension distribution
- Solutés d'AP

Un N-né à terme à Necker

Hémoc+, bonne santé

Enquête environnement: Bac cereus dans environnement, dans AP, au lactarium mais aucune n'est commune avec les souches ayant infecté les enfants

Hypothèse

Emergence d'un contexte clonal dans un contexte particulier (Néonatalogie)

Autres exemples:

- Clone ST17 du strepto B
- Clone NRCS-A du staphylocoque capitis

En somme

Bacillus cereus ne doit pas être considéré comme un germe banal en néonatalogie (bacille gram positif!): risque de retard au traitement.

Les flacons d'hémocultures ne sont plus contaminés

Infections graves chez l'enfant prématuré

Début précoce, évolution brutale,

Tableau septicémique et/ou neurologique++

Sensible aux ATB utilisés en néonatalogie (Penicilline G, vanco,...)

Sources démontrées: environnement, matériel

Attention aux circonstances: empoussièrement (travaux), période estivale

Y penser face à infection précoce et brutale

Faire les prélèvements de TOUT l'environnement: couveuse/lit, matériel ventilatoire, linges, sondes écho, appareil radio, soluté d'alimentation parentérale, lait, etc.... (enquête service hygiène)