



# Multirésistance & Virulence : Quid de *Pseudomonas aeruginosa* ?

**P. Plésiat**

Centre National de Référence  
Laboratoire associé *P. aeruginosa*  
CHU Jean Minjoz  
25030 Besançon, France

**ABSENCE DE CONFLITS D'INTERET**



Pneumonie aiguë postgrippale  
communautaire

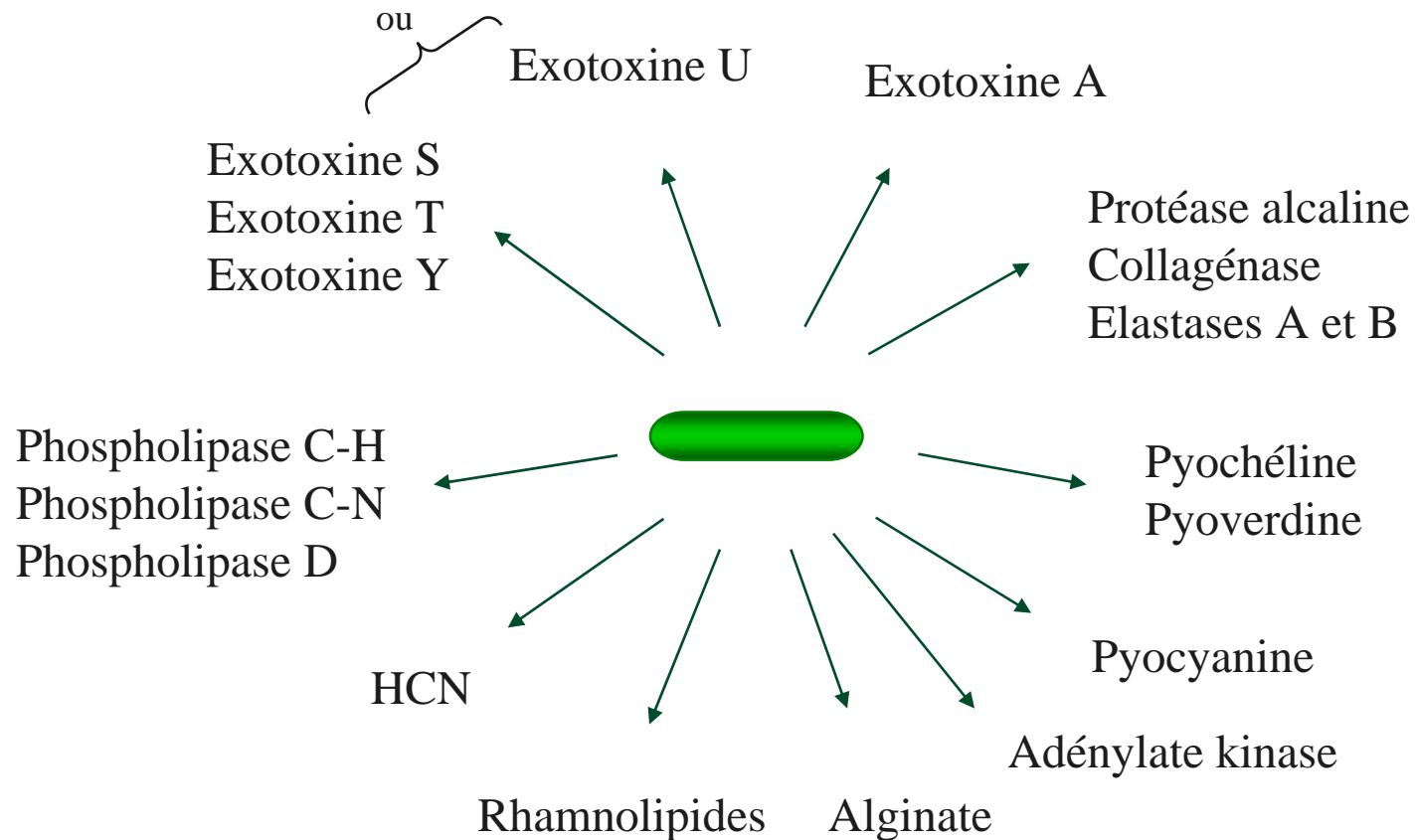


Bactériémie nosocomiale chez  
un patient de réanimation

## *P. aeruginosa* et virulence

- ✓ Existe-t-il des souches plus pathogènes que d'autres ?
- ✓ Comment évaluer la virulence de *P. aeruginosa* ?
- ✓ Certains mécanismes de résistance ont-ils un impact sur la virulence des souches ?
- ✓ L'accumulation des mécanismes de résistance rend-elle les souches toto-résistantes moins virulentes ?
- ✓ Quelle attitude avoir devant une colonisation par une bactérie toto-résistante ?

# Répertoire des facteurs de *P. aeruginosa*



Effets complémentaires

# Quorum sensing et signalisation intercellulaire

Système LasI : LasR  
3-céto-C<sub>12</sub>-HSL



*élastase A*  
*élastase B*  
*exotoxine A*  
*protéase alcaline*  
*structure du biofilm...*

2-heptyl-3-OH-4-quinolone (PQS)

Système RhlI : RhlR  
C<sub>4</sub>-HSL

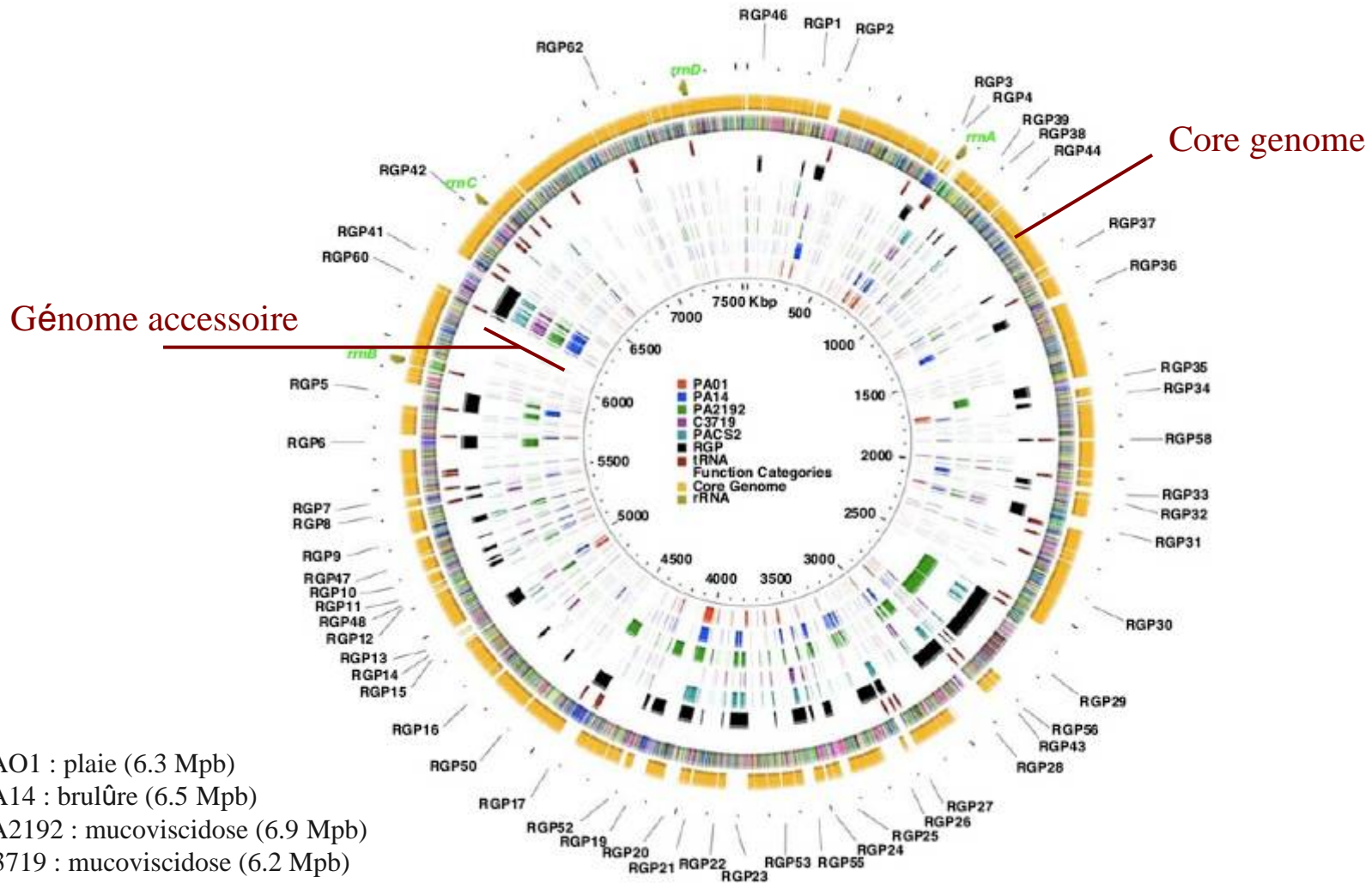


*rhamnolipides*  
*HCN*  
*pyocyanine*  
*lectines PA-IL, PA-IIL*  
*twitching motility...*



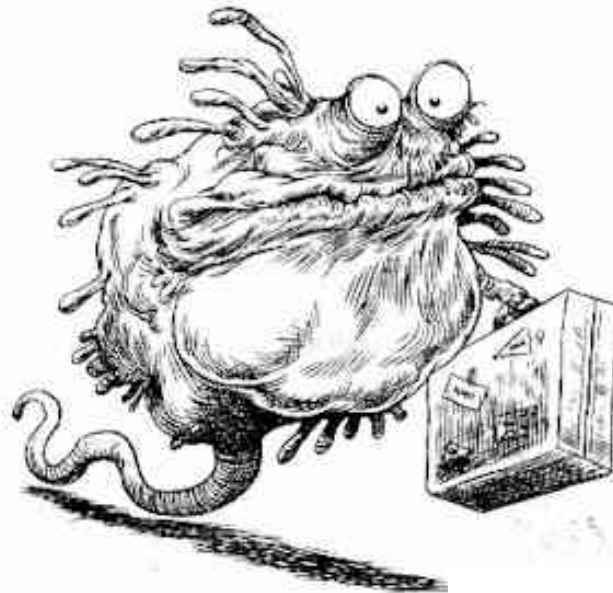
QS regulon : 315 gènes activés et 38 réprimés (6% du génome)

# Ilots de pathogénicité chez *P. aeruginosa*





# Un modèle d'infection pour *P. aeruginosa*



# Mutants résistants et virulence

- ✓ **Résistance aux fluoroquinolones par altération des QRDR**
  - Diminution du fitness mais apparition rapide de mutations compensatoires (Kugelberg E. JAC 2005, 55: 22)
- ✓ **Résistance à la fosfomycine**
  - Pas d'impact sur le fitness ou la virulence (souris) (Rodriguez-Rojas A. PLoS One 2010, 5: 4)
- ✓ **Dérépression de la céphalosporinase AmpC**
  - L'inactivation du gène régulateur *ampD* n'a pas d'impact sur le fitness ou la virulence (souris) (Moya B. AAC 2008, 52: 3694)
  - L'inactivation du gène *dacB* (PLP4) a été identifiée chez des souches cliniques (Moya B. PLoS Pathogens 2009, 5: e1000353)
  - La dérépression complète de AmpC pourrait avoir un effet délétère sur la virulence (souris) (Moya B. AAC 2008, 52: 3694)



# Mutants résistants et virulence

## ✓ Dérépression des systèmes d'efflux

- MexAB-OprM, MexCD-OprJ : baisse de la production d'élastase, de pyocyanine, de la virulence (*C. elegans*) et du SST3 (Sanchez P., JAC 2002, 50: 657 ; Linares J. F., J. Bacteriol 2005, 187: 1384)
- MexXY/OprM : mutants *agrW* plus cytotoxiques (Muller E. in preparation)
- MexEF-OprN : diminution de la production d'élastase, de pyocyanine, de rhamnolipides, du PQS, du SST3 et de la virulence (souris, rat) (Kohler T., J. Bacteriol. 2001, 183: 5213 ; Linares J. F., J. Bacteriol 2005, 187: 1384)

## ✓ Résistance à la colistine

- Le senseur PhoQ contrôle la formation de biofilm, la cytotoxicité, la virulence (laitue) et le fitness in vivo (rat) (Gooderham W.J., Microbiol. 2009, 155: 699)

# Phénotype sauvage



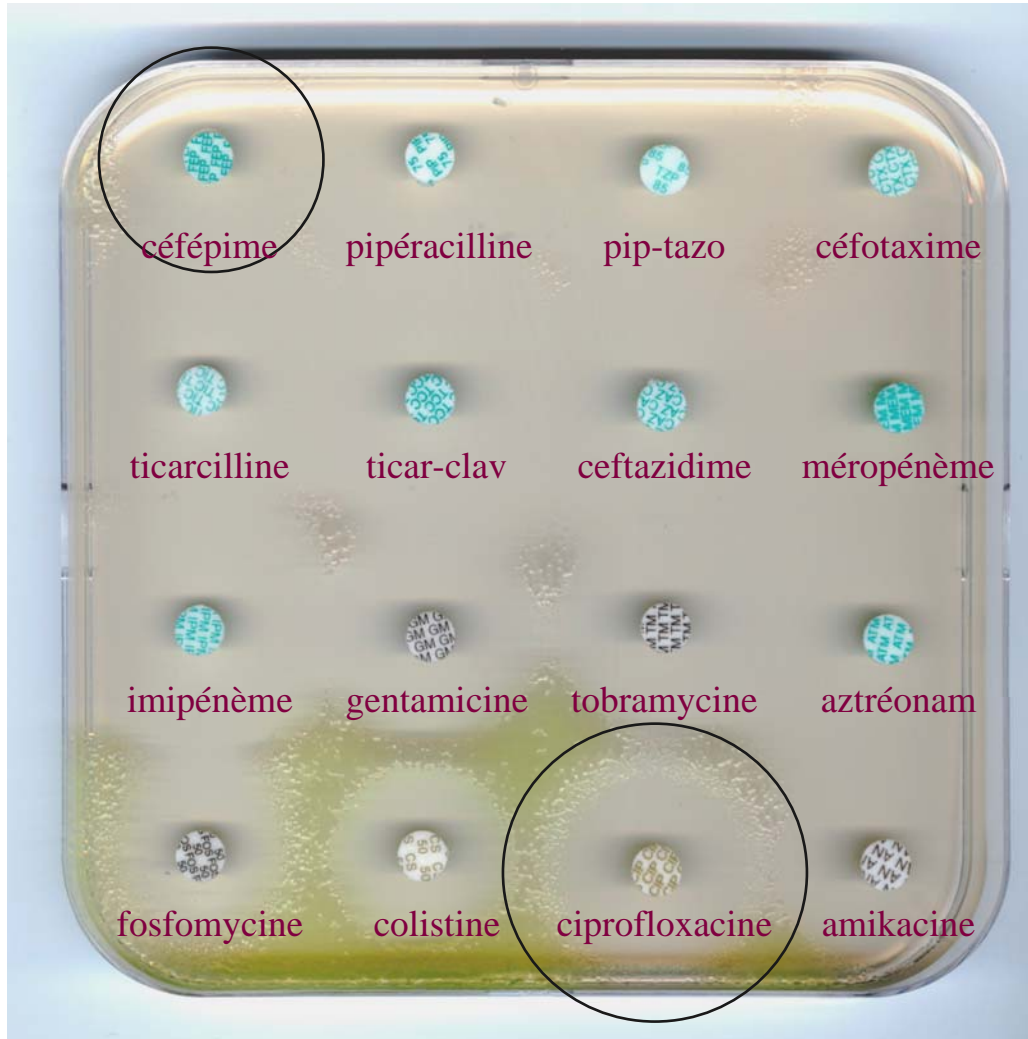
# Mutant MexAB-OprM



# Mutant MexXY(OprM)



# Mutant MexCD-OprJ



# Mutant MexEF-OprN



# Bas niveaux de résistance à la ciprofloxacine

Mécanismes				# souches		(n = 86)	CMI (µg/ml) ciprofloxacine
Pompes d'efflux				QRDR			
ABM	XY	CDJ	EFN	GyrA	GyrB		
+	-	-	-	-	-	<b>21</b>	0.25 - 2
+	-	-	-	-	S466F	1	2
+	+	-	-	-	-	<b>7</b>	0.5 - 1
+	(+)	-	+	-	-	1	1
+	-	+	-	-	-	1	0.5
-	+	-	-	-	-	<b>32</b>	0.25 - 2
-	-	⊕	-	-	-	⊕ <b>1</b>	2
-	-	-	+	-	-	<b>10</b>	0.5 - 2
-	-	-	-	D87N/T83I	-	<b>4</b>	0.5 - 2
-	-	-	-	-	S466Y/S466F	2	1 - 2
-	-	-	-	-	-	<b>6</b>	0.25 - 2

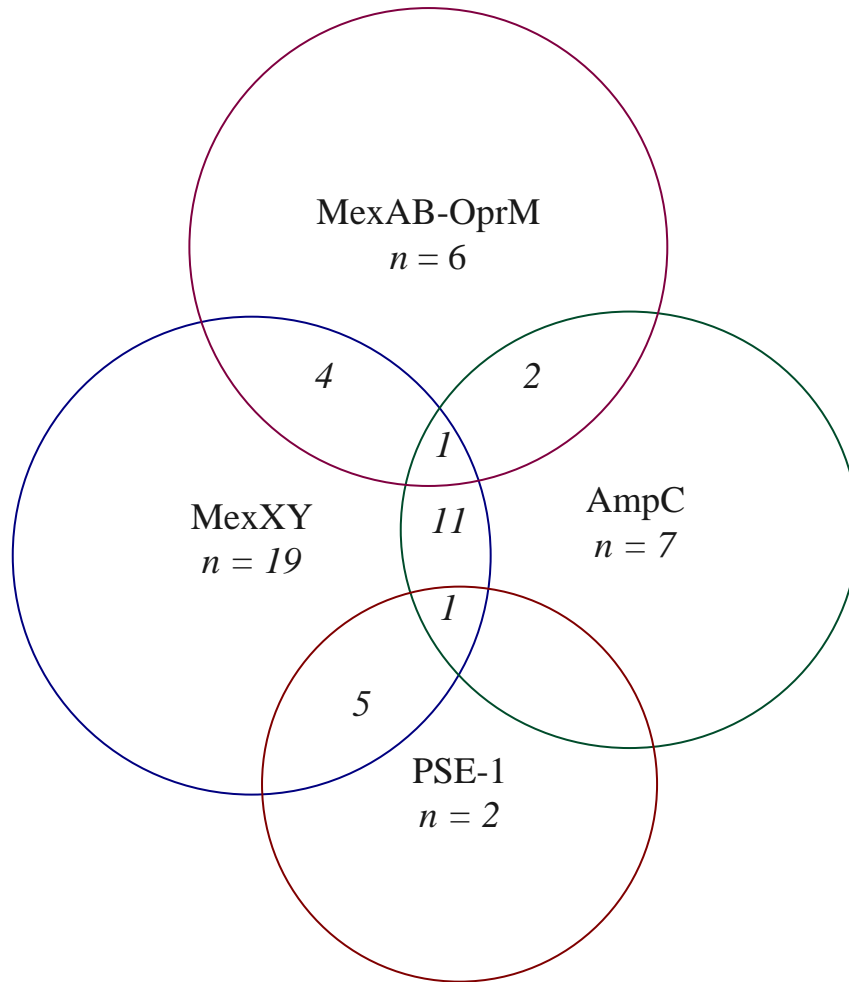


# Impact de la surexpression de MexCD-OprJ sur la virulence

Souches	Rhamno - lipides	Elastase	Phos pho - lipase C	Pyocya nine	SST3		Taille des colonies
					Génotype	Cytotoxicité	
PAO1 EryR	++	100	100	100	<i>exoS</i>	79 ± 5	100
	+	<b>60 ± 4</b>	125 ± 16	<b>57 ± 8</b>	<i>exoS</i>	72 ± 16	<b>35 ± 9</b>
PA14 KJ0707	++	296 ± 28	156 ± 26	89 ± 12	<i>exoU</i>	79 ± 4	73 ± 11
	+	<b>222 ± 21</b>	<b>11 ± 4</b>	<b>36 ± 2</b>	<i>exoU</i>	75 ± 3	<b>32 ± 7</b>
4.2 KJ0705	++	160 ± 13	87 ± 6	148 ± 22	<i>exoS</i>	39 ± 3	107 ± 21
	++	<b>31 ± 2</b>	78 ± 10	<b>33 ± 6</b>	<i>exoS</i>	33 ± 5	<b>23 ± 5</b>
19.1 KJ0711	++	191 ± 16	45 ± 12	152 ± 36	<i>exoS, exoU</i>	77 ± 5	210 ± 37
	±	198 ± 7	55 ± 6	<b>87 ± 7</b>	<i>exoS, exoU</i>	76 ± 2	<b>49 ± 12</b>

# Accumulation de mécanismes de rce aux $\beta$ -lactamines

(69 souches bactériémiques 1999-2004)



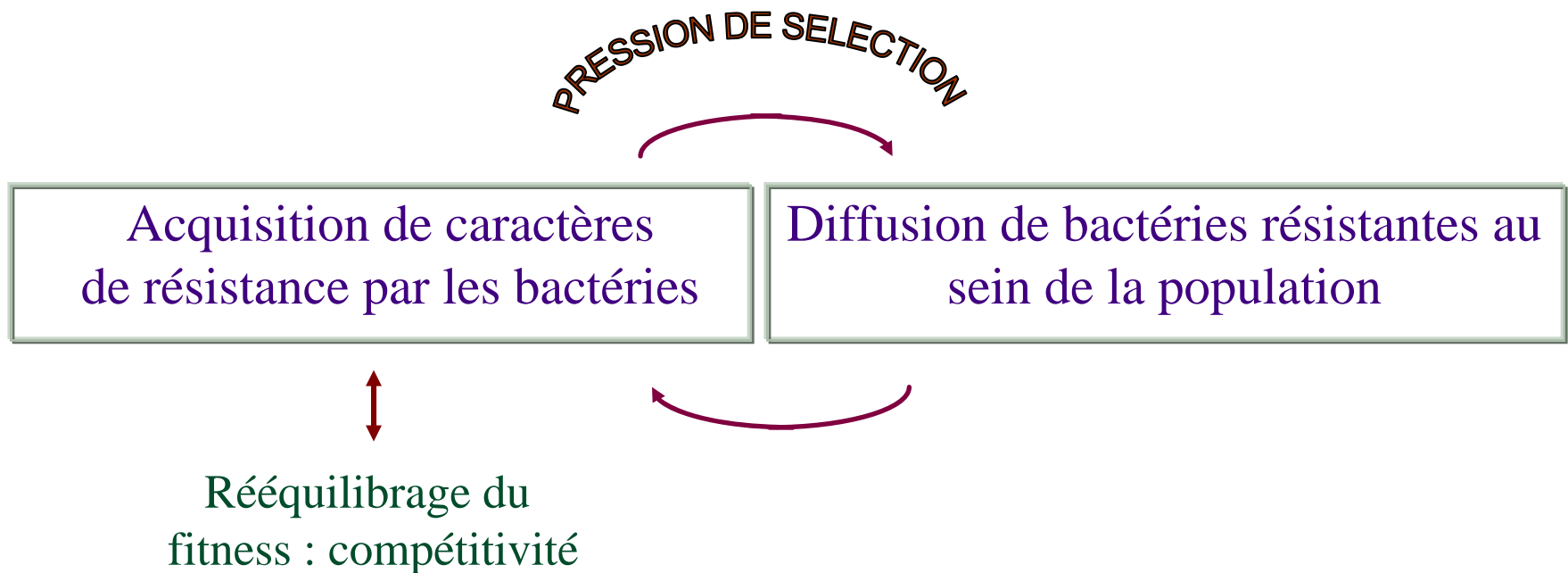
Mécanismes identifiés :

- 1 ( $n=37$ )
- 2 ( $n=22$ )
- 3 ( $n=10$ )

Mécanismes supplémentaires :

- OprD ( $n=21$ )
- PSE-1 ( $n=7$ )
- TEM-2 ( $n=2$ )

# Développement de la multirésistance





## Besançon

Cédric Muller  
Sophie Guénard  
Emeline Muller  
Damien Fournier  
Didier Hocquet  
Catherine Llanes  
Katy Jeannot  
Marjorie Robert-Nicoud  
Justine Guérin

## Geneva

Thilo Köhler  
Christian vanDelden

## Grenoble

Ina Attree  
Sylvie Elsen

## Study groups

GERPA  
GESPA  
GESPAR  
GDR CNRS Pseudomonas

## Paris

Arnaud Ducruix  
Isabelle Broutin  
Gilles Phan