

Impact de la pression de sélection sur l'incidence de la résistance aux antimicrobiens

Période : février 2010 à août 2010

Anne JOLIVET- GOUGEON

Université de Rennes 1 – EA 1254 Microbiologie – Rennes

Mots clés : Intégron, Résistance antibiotique

L'utilisation fréquente et répétée d'antibiotiques pose toujours le problème de la pression de sélection, qui s'ajoute au transfert simultané ou successif de différents facteurs de résistance, conduisant à un risque d'évolution vers la multi-résistance. Les bactéries possèdent des mécanismes de résistance vis-à-vis d'antimicrobiens de différentes classes acquis, soit par mutations chromosomiques, soit par acquisition de gènes de résistance portés par des plasmides. Ils peuvent également faire intervenir des éléments génétiques mobiles qui vont s'insérer dans l'ADN, tels que les transposons ou les intégrons (Gu *et al.*, 2008; Partridge *et al.*, 2009; Labbate *et al.*, 2009). Leur rôle a été largement reconnu dans l'acquisition et la dissémination de gènes de résistance (Dolejská *et al.*, 2009). L'accumulation de différents gènes de résistance (aux antibiotiques, aux désinfectants, aux métaux lourds...) peut conduire à des phénomènes de multi-résistances (souches MDR⁽¹⁾) chez de nombreuses espèces bactériennes (Rosewarne *et al.*, 2010).

Chen *et al.* (2010) ont analysé le profil de résistance de souches résistantes aux bêta-lactamines par production de Bêta-Lactamases à Spectre Élargi (BLSE⁽²⁾) véhiculées par des intégrons, au sein d'*E. coli* isolés de l'environnement (rivière). Brolund *et al.* (2010) ont étudié l'impact d'une réduction de l'utilisation du triméthopime sur la dissémination de gènes *dfr*⁽³⁾ de résistance à cet antibiotique, gènes portés sur un intégron. Li *et al.* (2010) ont caractérisé les populations bactériennes dans les effluents d'une usine fabriquant de l'oxytétracycline et cherché à évaluer le rôle des intégrons.

Le profil de résistance aux antibiotiques et intégrons chez des coliformes thermotolérants producteurs de bêta-lactamases à spectre élargi isolés du bassin du Yangtze à Chongqing

Chen H, Shu W, Chang X, Chen JA, Guo Y, Tan Y. The profile of antibiotics resistance and integrons of extended-spectrum beta-lactamase producing thermotolerant coliforms isolated from the Yangtze River basin in Chongqing. *Environ Pollut.* 2010; 158: 2459-2464.

Analyse

Les auteurs ont cherché à analyser la dissémination des intégrons dans l'eau de la rivière Yangtze. Des échantillons d'eau ont été prélevés à 50 cm sous la surface et 1914 coliformes ont été isolés sur Mc Conkey⁽⁴⁾. Après sélection sur Mc Conkey additionné de céfotaxime, 319 souches (16,7 %) étaient retrouvées productrices de BLSE, avec souvent des résistances associées au cotrimoxazole, et aux fluoroquinolones. Ces résultats concernant la détection de résistances aux bêta-lactamines ont été confirmés par la présence de gènes *bla*, codant diverses bêta-lactamases (TEM, CTX-M, SHV...). Parmi les 319 souches étudiées, 208 (65,2 %) étaient porteuses d'intégrons de classe 1, 3 de classe 2 et aucune de classe 3. Le séquençage des intégrons a permis la mise en évidence de gènes de résistance au triméthopime (*dfr*), aux aminosides (*aad*, *aac*) au chloramphénicol (*cmI*) et à la rifampicine (*arr*).

Commentaire

À ce jour, plus de 70 gènes ont été caractérisés sur des intégrons, incluant les gènes codant des BLSE. La prévalence des intégrons dans cette rivière a été retrouvée plus importante (65,2 % d'intégrons de type 1) que ce que des auteurs avaient précédemment décrit dans l'eau (15 %, Dolejska *et al.*, 2009) ou à partir d'échantillons humains (59,9 %, Gu *et al.*, 2008). Les auteurs suggèrent donc que les intégrons sont plus facilement transférables entre souches productrices de BLSE. La présence de cassettes de résistance contenant un gène de résistance à la streptomycine, aminoside dont l'usage est très limité aujourd'hui (souches multirésistantes, agronomie) montre que ces gènes sont préservés, en dehors de toute pression antibiotique. Considérant la multi-résistance de ces souches, les auteurs ont émis l'hypothèse que l'insertion d'un gène *bla* ou *qac* (gène de résistance aux ammoniums quaternaires, largement utilisés pour la désinfection) dans un intégron, favorise la dissémination de l'ensemble des gènes codés par l'intégron.

La caractérisation moléculaire de la résistance au triméthoprim chez *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* lors d'une interruption d'usage de cet antibiotique pendant deux ans

Brolund A, Sundqvist M, Kahlmeter G, Grape M. Molecular characterisation of trimethoprim resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* during a two year intervention on trimethoprim use. PLoS ONE. 2010; 5: e9233.

Analyse

Le triméthoprim (Tmp) est un antibiotique fréquemment utilisé dans le monde entier, en particulier pour traiter les infections du tractus urinaire. La résistance est due à une modification de la cible de cet antimicrobien, la dihydrofolate réductase (codée par le gène *dfr*). Plus de 30 gènes *dfr* différents ont été décrits et le plus souvent sur des intégrons. Les auteurs ont eu pour objectif d'étudier, sur une période prospective de 2 ans, l'évolution de la résistance au Tmp, ainsi que la prévalence des différents gènes *dfr* et des gènes caractéristiques des intégrons, après une réduction de 85 % de l'usage du Tmp dans un hôpital suédois (remplacement par nitrofurantoïne, pivmécilline ou ciprofloxacine). Sur les 320 souches d'*E. coli* résistantes au Tmp, la prévalence des 13 gènes *dfr* les plus fréquemment retrouvés dans la littérature, était de 96 % (308 souches) et celle des intégrons de classe I et II, de 85 % (273 souches). Sur 54 souches de *K. pneumoniae* résistantes au Tmp, la prévalence des gènes *dfr* était de 69 % (38 souches) et celle des intégrons de 57 % (31 souches). Malgré cette différence de prévalence significative ($p < 0,001$), aucune différence n'a pu être observée dans la distribution des différents gènes *dfr* au cours de ces 2 années d'étude.

Commentaire

Malgré une réduction importante de la prescription du Tmp, l'effet sur le nombre de souches résistantes à cet antibiotique a été très mineur. Les auteurs s'appuient sur des travaux antérieurs (Sundqvist *et al.*, 2010), pour mettre en cause un faible coût biologique conféré par les isolats résistants au Tmp mesuré, *in vitro*, chez des souches cliniques d'*E. coli*. Le fait de retrouver des gènes de résistance *dfr*, comme des gènes caractéristiques d'intégrons, plus fréquemment chez *E. coli* que chez *K. pneumoniae* laisse suggérer que le mode de dissémination n'est pas commun. Les auteurs ont émis l'hypothèse que les gènes *dfr* seraient portés par des plasmides avec un spectre d'hôte étroit ou même par l'ADN chromosomique ou encore que le coût biologique soit différent entre les 2 espèces. Ils réfutent la co-sélection de la résistance au Tmp avec d'autres antibiotiques car, lors de cette étude, ils n'ont observé aucune différence significative dans la distribution des autres déterminants de résistance, en relation avec les gènes *dfr*. Ils suggèrent cependant d'ouvrir la voie vers d'autres investigations pour mieux connaître la localisation et les modes de dissémination des gènes *dfr*.

Les caractéristiques de résistance aux antibiotiques des bactéries dans l'environnement d'une usine de production d'oxytétracycline (eaux usées et rivière de réception)

Li D, Yu T, Zhang Y, Yang M, Li Z, Liu M, Qi R. Antibiotic resistance characteristics of environmental bacteria from an oxytetracycline production wastewater treatment plant and the receiving river. Appl Environ Microbiol. 2010; 76: 3444-3451.

Analyse

L'acquisition de gènes de résistance par transfert horizontal (plasmides, transposons, bactériophages, intégrons, éléments d'insertion...) est largement reconnue, en particulier pour expliquer les phénomènes de multi-résistance (MDR). Les bactéries de l'environnement (eaux usées, eaux agricoles, aquaculture...) peuvent servir de réservoir pour la résistance aux antibiotiques, avant d'être une nouvelle source potentielle de souches résistantes chez l'Homme. Les auteurs ont étudié le profil de résistance aux antibiotiques, ainsi que la prévalence des intégrons et des gènes de résistance aux tétracyclines (*tet*), dans 3 situations: (1) dans l'eau de la rivière en amont (RWU⁽⁵⁾) d'une usine de fabrication d'oxytétracycline (OTC⁽⁶⁾) (2) l'eau de rivière en aval de cette usine (RWD⁽⁷⁾) et (3) dans l'eau d'épuration de cette usine (WW⁽⁸⁾). Les effluents de cette usine chinoise sont déversés directement dans la rivière sans désinfection. Les concentrations de résidus d'OTC mesurées dans WW et RWD avoisinent les concentrations sériques chez l'Homme après administration et des concentrations de $377 \pm 142 \mu\text{g/L}$ sont retrouvées à 20 km en aval du point de décharge. Le nombre de souches environnementales non pathogènes étudiées a été de 189 (WW), 87 (RWD) et 65 (RWU). Parallèlement, la prévalence de la multi-résistance aux antibiotiques testés était plus élevée pour ces deux types d'échantillons (96 %) par rapport aux échantillons RWU (27,7 %). La prévalence des gènes *tet*, identifiés par PCR, n'était pas significativement différente entre les isolats de WW et RWD. En considérant les taux résiduels d'OTC dans les différents sites, les auteurs concluent que la majorité des souches isolées de WW et RWD ont des CMI⁽⁹⁾ d'OTC supérieures à celles observées pour RWU, et suggèrent que les résidus d'OTC pourraient favoriser des taux de résistance plus élevés chez les bactéries de l'environnement. Le nombre d'intégrons portés par les souches isolées dans les 3 sites est significativement plus élevé dans les cas de WW (97,4 %) et RWD (86,2 %) que RWU (2 souches).

Commentaire

Les taux de résistance aux cyclines (tétracycline, chlortétracycline, doxycycline, minocycline, et glycylicyclines) rapportés dans cette étude font état de taux plus élevés que ce qui a été décrit précédemment dans la littérature, concernant des souches environnementales. Malgré des concentrations d'OTC différentes entre les sites WW et RWD, la prévalence de résistance aux antibiotiques n'était pas significativement différente, suggérant que les caractères de résistance ne sont pas affectés par les

concentrations d'OTC testées. Les souches porteuses de multi-résistance fréquemment isolées pourraient être la conséquence d'une longue exposition des bactéries à de hautes concentrations d'OTC, ce qui est associé à une distribution homogène et une dissémination des intégrons dans WW et RWD. Pourtant, aucun gène *tet* n'a pu être retrouvé sur un intégron, ce qui laisse à penser que, dans cette étude, les intégrons jouent un rôle mineur dans la multi-résistance. Les auteurs pensent que cette dissémination pourraient se faire *via* des plasmides ou transposons, et mettent en cause d'autres mécanismes de résistance non portés par des intégrons, comme la surexpression de pompes à efflux capables d'expulser plusieurs antimicrobiens de différentes classes de la bactérie. La haute concentration résiduelle d'OTC dans l'eau pourrait participer à la sélection de souches résistantes à l'OTC porteuses d'autres gènes de résistance qui seraient transférés en même temps par transfert horizontal dans l'environnement puis, après absorption, dans l'intestin de l'Homme. Cela soulève le risque potentiel des bactéries MDR en termes de santé publique et montre que la compréhension de ces phénomènes de transfert de gènes est nécessaire.

CONCLUSION GÉNÉRALE

L'utilisation d'une classe d'antibiotique peut théoriquement conduire à la sélection de souches résistantes à d'autres antimicrobiens grâce au co-transfert, *via* divers éléments génétiques mobiles, de divers gènes de résistance. Cependant, selon les éléments mobiles considérés et les molécules antibiotiques étudiées, les résultats peuvent apparaître contradictoires (ex: Brolund *et al.*, 2010 et Li *et al.*, 2010). Les intégrons, par l'acquisition de nouveaux gènes, permettent d'améliorer la survie des bactéries, dont la croissance est alors favorisée, en particulier dans les environnements hostiles. Cependant, la dissémination des facteurs de résistance aux antibiotiques est avant tout assurée par des plasmides qui assurent la propagation des gènes de résistance. Il serait donc utile d'évaluer cette capacité de mobilisation, afin d'aider à prévenir la propagation potentielle de la résistance aux agents pathogènes d'importance pour la santé humaine et animale. L'utilisation des antibiotiques et leurs résidus devraient idéalement être mieux contrôlée, et remplacée par l'utilisation de la vaccination le cas échéant.

Lexique

- (1) MDR: « Multi Drug Resistant »: terme utilisé pour caractériser une souche multi-résistante aux antimicrobiens.
- (2) BLSE: Béta-Lactamase à Spectre Elargi: enzyme responsable de l'inactivation des bêta-lactamines et en particulier celles réputées les plus actives (Céphalosporines de 3^e génération, aztréonam).
- (3) Gène *dfp*: gène codant la dihydrofolate réductase: l'inactivation de cet enzyme conduit à une résistance au triméthoprim.
- (4) Mac Conkey: milieu sélectif destiné à la sélection des bactéries à coloration de Gram négative. L'addition de céfotaxime permet de détecter les BLSE.
- (5) RWU: l'eau de la rivière en amont.
- (6) OTC: oxytétracycline, antibiotique à large spectre de la classe des tétracyclines.
- (7) RWD: l'eau de rivière en aval.
- (8) WW: l'eau d'épuration.
- (9) CMI: Concentration Minimale Inhibitrice.

Publications de référence

- Cambray G, Guerout AM, Mazel D.** Integrons Annu Rev Genet. 2010; 44: 141-166.
- Nagachinta S, Chen J.** Transfer of class 1 integron-mediated antibiotic resistance genes from shiga toxin-producing *Escherichia coli* to a susceptible *E. coli* K-12 strain in storm water and bovine feces. Appl Environ Microbiol. 2008; 74: 5063-5067.
- Sobecky PA, Hazen TH.** Horizontal gene transfer and mobile genetic elements in marine systems. Methods Mol Biol. 2009; 532: 435-543.
- Sundqvist M, Geli P, Andersson DI et al.** Little evidence for reversibility of trimethoprim resistance after a drastic reduction in trimethoprim use. J Antimicrob Chemother. 2010; 65: 350-360.
- Xu Z, Shi L, Zhang C et al.** Nosocomial infection caused by class 1 integron-carrying *Staphylococcus aureus* in a hospital in South China. Clin Microbiol Infect. 2007; 13: 980-984.

Revue de la littérature

- Dolejská M, Bierosová B, Kohoutová L et al.** Antibiotic-resistant *Salmonella* and *Escherichia coli* isolates with integrons and extended-spectrum beta-lactamases in surface water and sympatric black-headed gulls. J Appl Microbiol. 2009; 106: 1941-1950.
- Gu B, Pan S, Wang T et al.** Novel cassette arrays of integrons in clinical strains of *Enterobacteriaceae* in China. Int J Antimicrob Agents. 2008; 32: 529-533.
- Labbate M, Case RJ, Stokes HW.** The integron/gene cassette system: an active player in bacterial adaptation. Methods Mol Biol. 2009; 532: 103-125.
- Partridge SR, Tsafnat G, Coiera E et al.** Gene cassettes and cassette arrays in mobile resistance integrons. FEMS Microbiol Rev. 2009; 33: 757-784.
- Rosewarne CP, Pettigrove V, Stokes HW et al.** Class 1 integrons in benthic bacterial communities: abundance, association with Tn402-like transposition modules and evidence for coselection with heavy-metal resistance. FEMS Microbiol Ecol. 2010; 72: 35-46.

Autres publications identifiées

Chen J, Su Z, Liu Y et al. Identification and characterization of class 1 integrons among *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients in Zhenjiang, China Int J Infect Dis. 2009 ; 13 : 717-721.

Le rôle des intégrons dans la propagation de la résistance aux antibiotiques a été bien établi. L'objectif de cette étude était d'étudier les profils de résistance de Pseudomonas aeruginosa isolés chez les patients à Zhenjiang (Chine) à 13 antibiotiques et d'identifier la structure et la diffusion des intégrons de classe 1. Les intégrons de classe 1 ont été amplifiés par PCR à partir des isolats multirésistants, et leurs produits de PCR ont été séquencés. La prévalence des intégrons de classe 1 était de 38 %. Ces intégrons comprenaient cinq cassettes de gènes (aadB, aac6-II, blaPSE-1, dfrA17 et aadA5).

Cette publication montre que les intégrons de classe 1 sont également très répandus chez les P. aeruginosa, isolés à partir d'échantillons cliniques à Zhenjiang. Le typage des souches a également montré une circulation des souches chez les patients.

Hegstad K, Langsrud S, Lunestad BT et al. Does the wide use of quaternary ammonium compounds enhance the selection and spread of antimicrobial resistance and thus threaten our health? Microb Drug Resist. 2010 ; 16 : 91-104.

Les ammoniums quaternaires (QACs) sont largement utilisés comme biocides et à des fins industrielles, pour le traitement de l'eau, le traitement antifongique en horticulture, ainsi que dans les produits pharmaceutiques et de consommation courante (agents conservateurs, boosters de mousse, détergents). Il y a des preuves croissantes de co-résistance et de résistance croisée entre QACs et une série d'autres antibiotiques cliniquement importants et les autres désinfectants. L'utilisation de QACS peut avoir entraîné la sélection et la propagation de certaines cassettes de résistance (intégrons de classe 1), actuellement responsables de la majeure partie des résistances aux antimicrobiens des bactéries à coloration de Gram négative. Une utilisation plus systématique des QACs (dans les produits cosmétiques, par exemple) peut participer à la persistance et la propagation de la résistance aux antimicrobiens et donc limiter les options de traitement pour les infections microbiennes.

Hradecka H, Karasova D, Rychlik I. Characterization of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium conjugative plasmids transferring resistance to antibiotics and their interaction with the virulence plasmid. J Antimicrob Chemother. 2008 ; 62 : 938-941.

Dans cette étude, 23 souches de Salmonella enterica sérotype Typhimurium ont été analysées pour la présence de R-plasmides (plasmides conjuguatifs) codant pour le transfert de résistances aux antibiotiques. La conjugaison et le transfert de la résistance aux antibiotiques ont été observés chez 12 souches. Dans deux cas, la résistance à la tétracycline et/ou l'ampicilline n'a pas été transférée par conjugaison à environ 10 % de transconjugants. Deux plasmides dans cette collection ont été capables de recombinaison avec le plasmide de virulence de Salmonella Typhimurium. Cela montre la possibilité de recombinaison de gènes de résistance aux antibiotiques avec des gènes de virulence.

Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Antibiotic, Integron, Resistance.