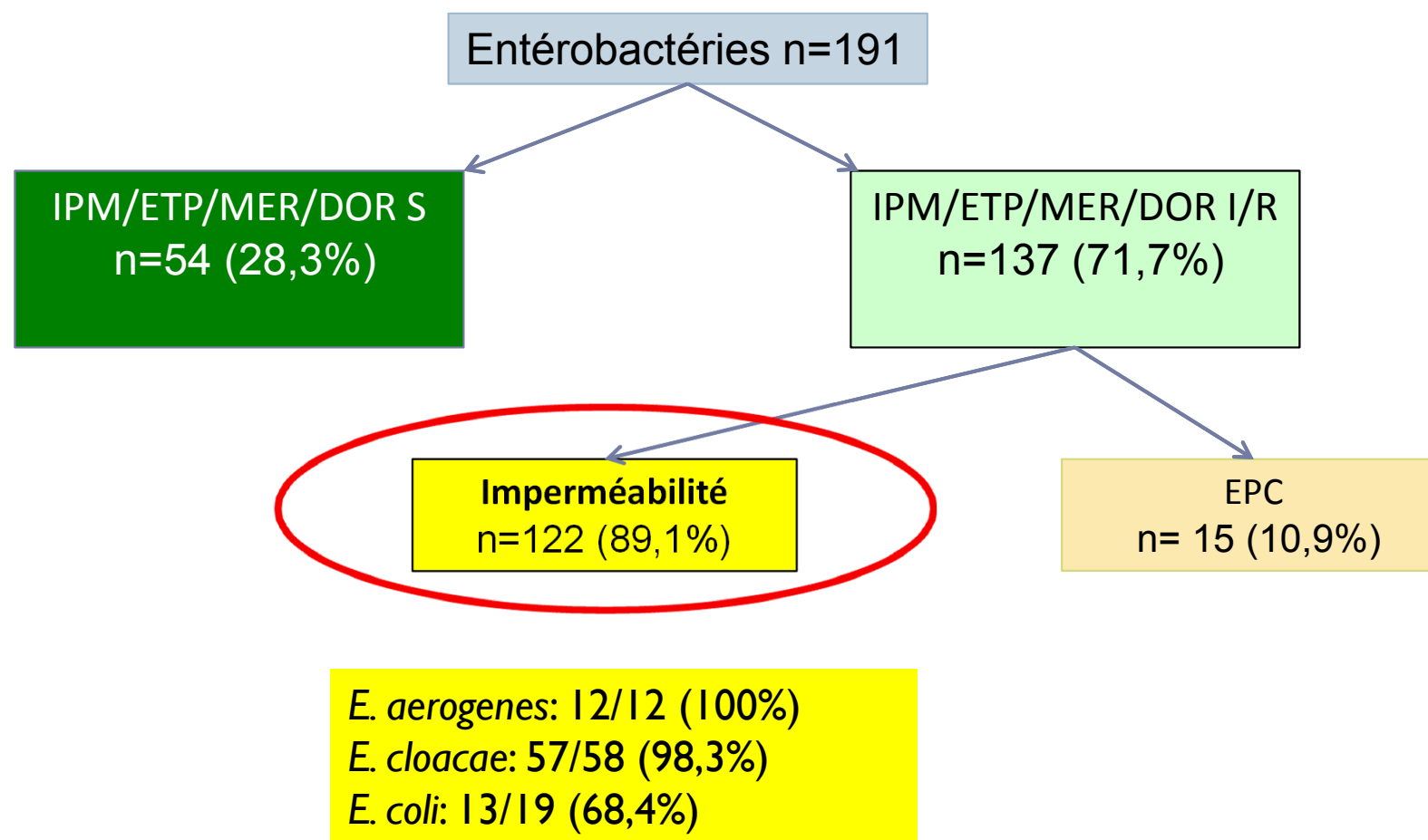


## Not to be: Mécanismes?

Entérobactéries résistantes aux carbapénèmes:  
to be or not to be carbapénémase – Pr JP Lavigne

# Etudes récentes: Données Région LR 2011-2012

---



# Imperméabilité ?

---

## Exemple des *Enterobacter aerogenes*

- Quel mécanisme?
- Quelles conséquences pour la bactérie?
- Quelles conséquences pour le patient ?
- Comment la détecter?



# Définition imperméabilité

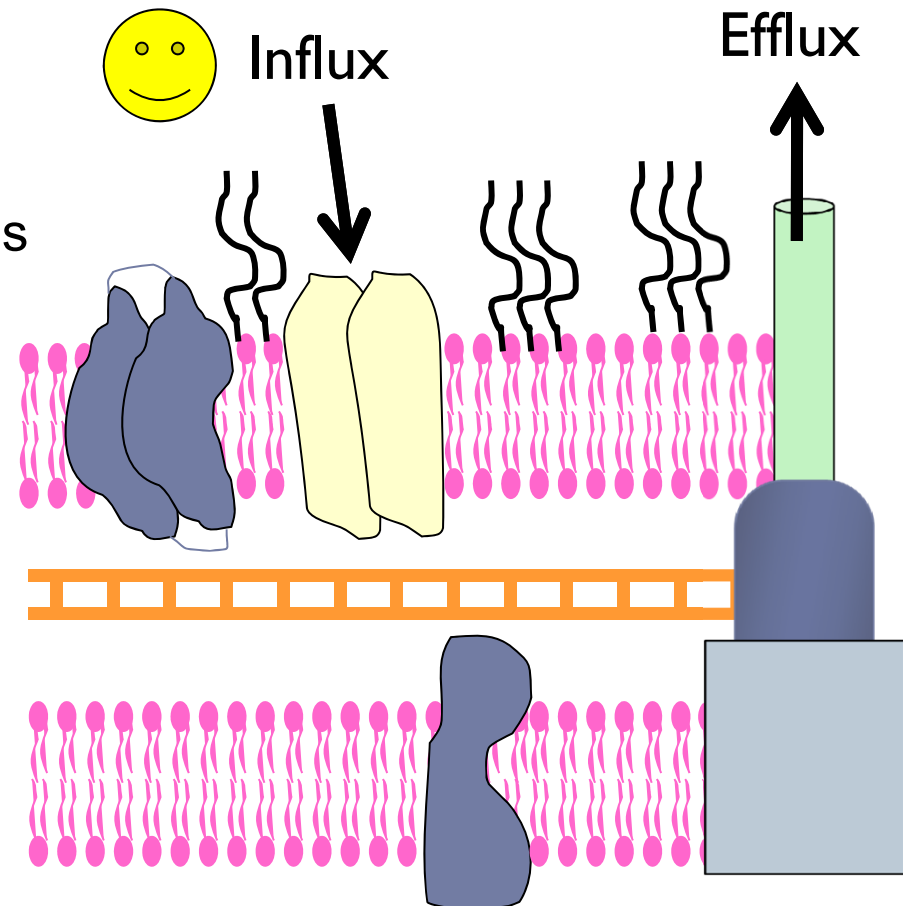
- **MDR = MultiDrug Resistance** ( $\geq 3$  familles d'antibiotiques)

## Mécanismes membranaires:

association efflux + modification des porines au niveau de la membrane externe de la bactérie

- **Nombreuses résistances associées:**

- Fluoroquinolones
- Cotrimoxazole
- Chloramphénicol



# Définition imperméabilité

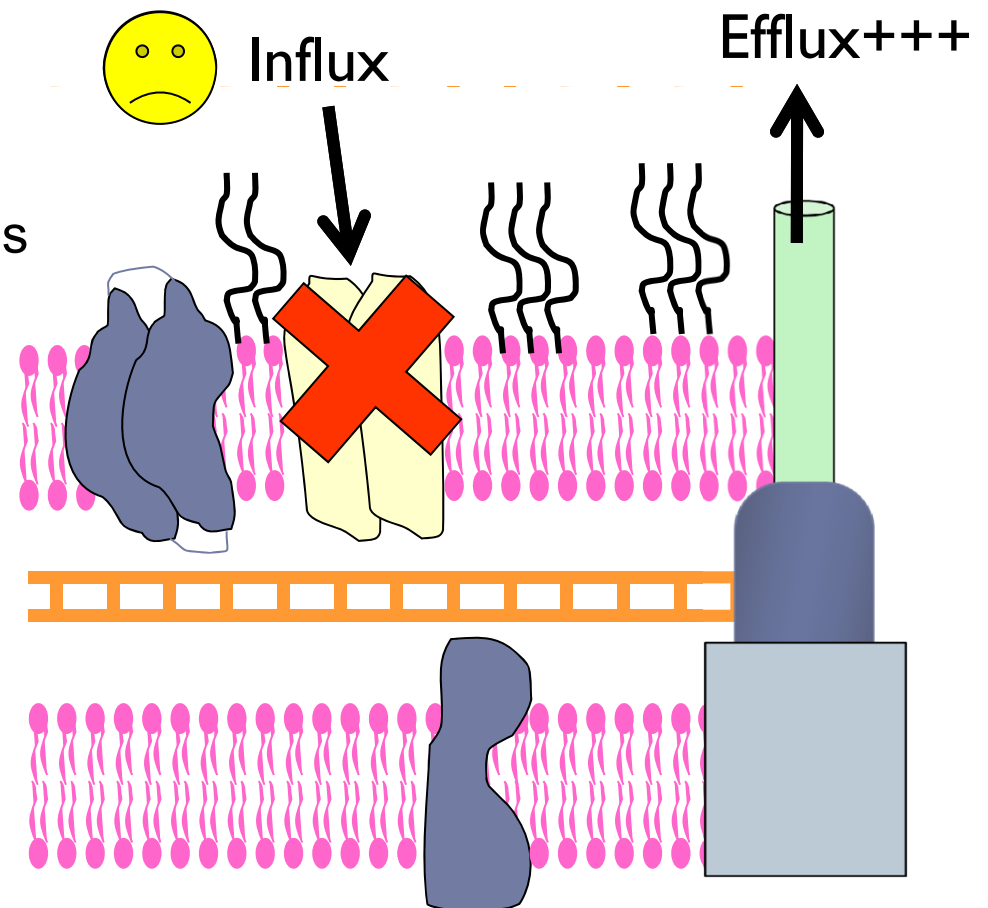
- **MDR = MultiDrug Resistance** ( $\geq 3$  familles d'antibiotiques)

## Mécanismes membranaires:

association efflux + modification des porines au niveau de la membrane externe de la bactérie

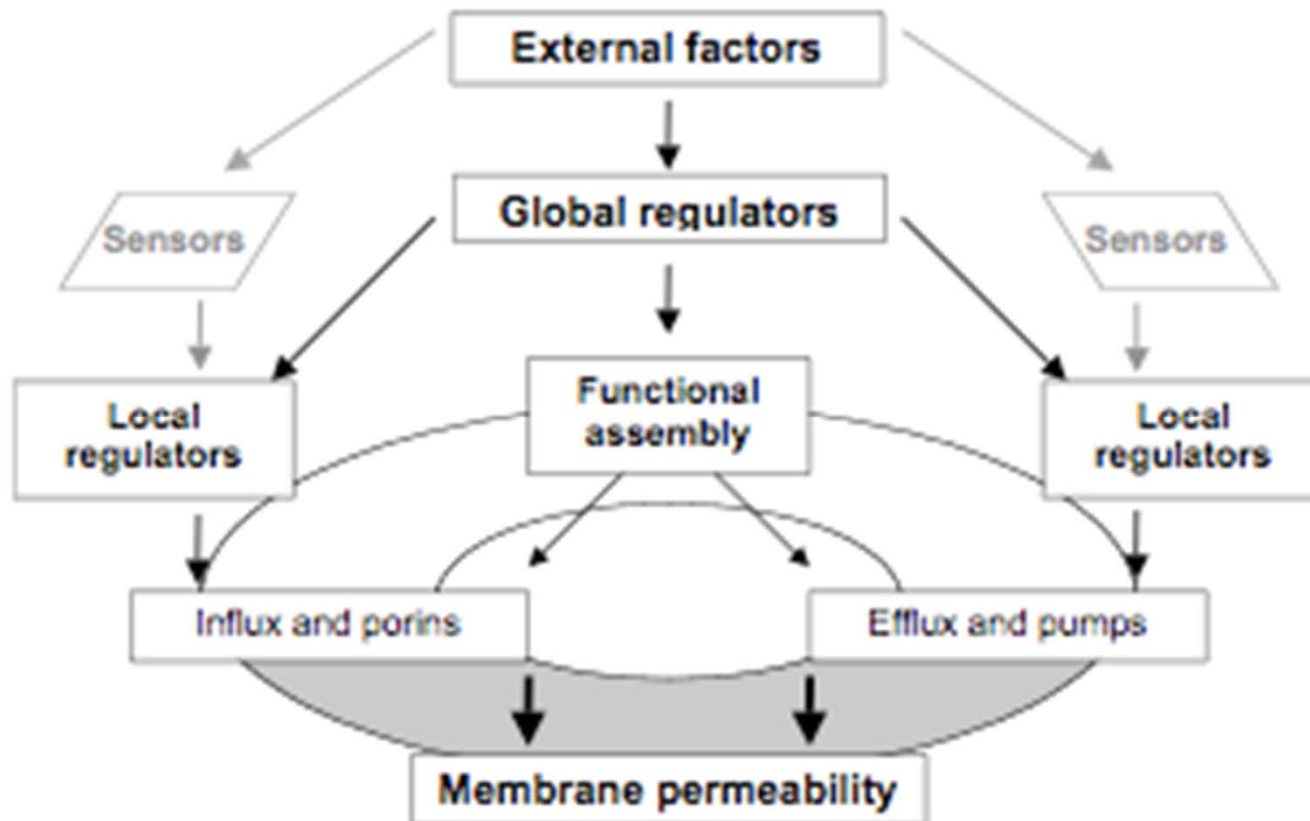
- **Nombreuses résistances associées:**

- Fluoroquinolones
- Cotrimoxazole
- Chloramphénicol



# Régulation de la perméabilité membranaire

---



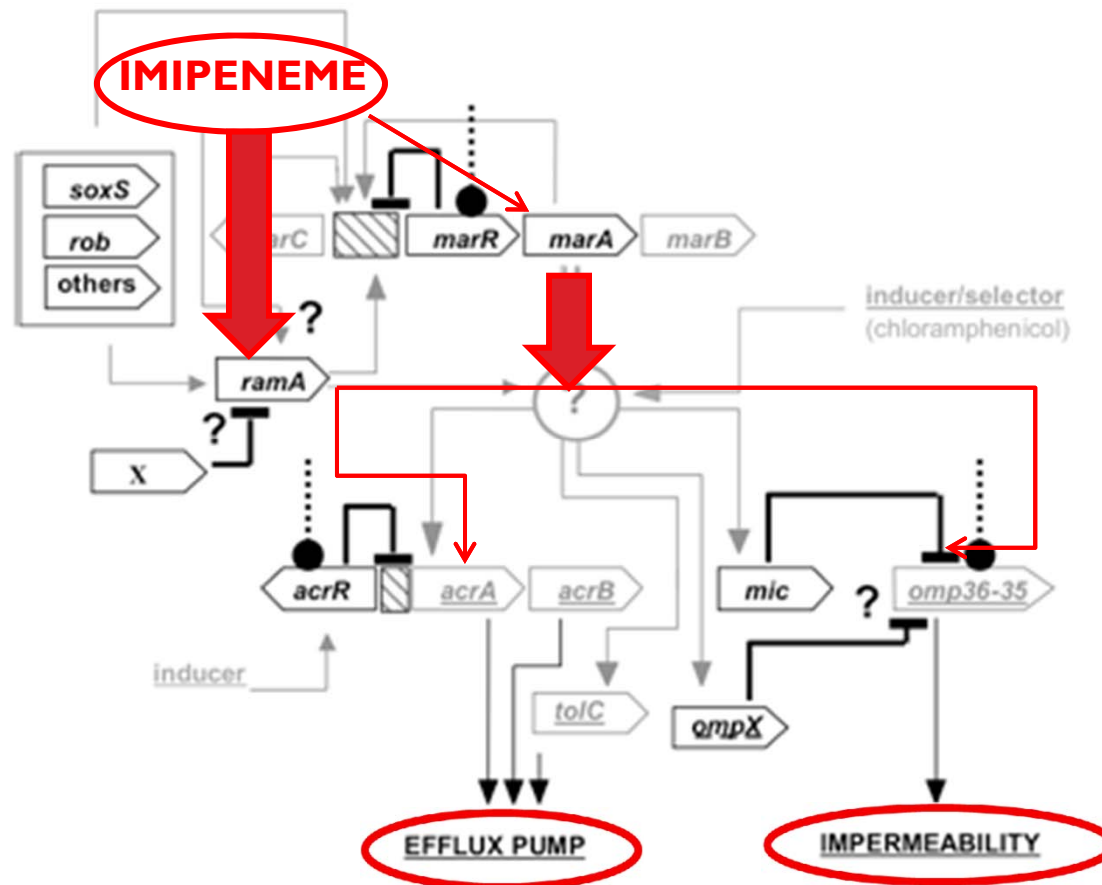
# Régulation de la perméabilité membranaire

**Table 2. Transcriptional Regulators Controlling Expression of Porins and Efflux Pumps in *Enterobacteriaceae***

Protein	Regulator Family	Function	Species
MarA	AraC	Global activator	<i>E. coli</i> , <i>S. flexneri</i> , <i>S. Typhimurium</i> , <i>S. enterica</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>E. gergoviae</i> , <i>Y. pestis</i>
SoxS	AraC	Global activator of the oxydative stress response	<i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. typhimurium</i>
Rob	AraC	Global activator	<i>E. coli</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>S. typhimurium</i> , <i>Y. pestis</i>
RamA	AraC	Regulator of MDR	<i>K. pneumoniae</i> , <i>S. enterica</i> serovar Typhimurium, <i>S. enterica</i> serovar paratyphi
PqrA	AraC	Regulator of MDR	<i>P. vulgaris</i>
AarP	AraC	Regulator of MDR	<i>P. stuartii</i>
MarR	MarR	Repressor of MarA	<i>E. coli</i> , <i>S. flexneri</i> , <i>S. typhimurium</i> , <i>S. enterica</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>E. gergoviae</i>
SoxR	MarR	Regulator of the oxydative stress response	<i>E. coli</i> , <i>S. enterica</i>
AcrR	TetR	Repressor of AcrAB	<i>E. coli</i> , <i>E. aerogenes</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>S. enterica</i>
EmrR	MarR	Repressor of EmrAB	<i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i>



# Cascade de la perméabilité membranaire



# Imperméabilité ?

---

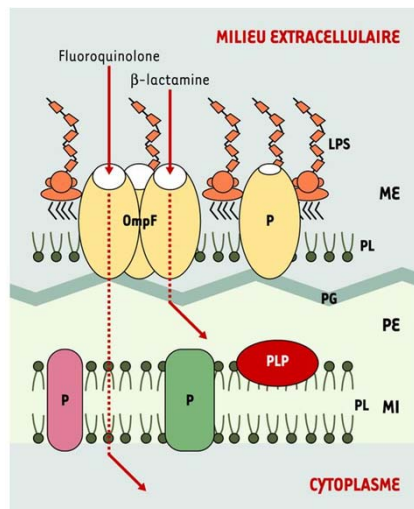
## Exemple des *Enterobacter aerogenes*

- Quel mécanisme?
- Quelles conséquences pour la bactérie?
- Quelles conséquences pour le patient ?
- Comment la détecter?

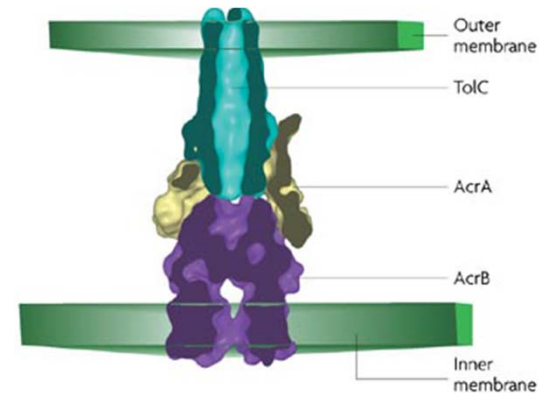


# Quelles conséquences pour la bactérie?

## INFLUX



## EFFLUX



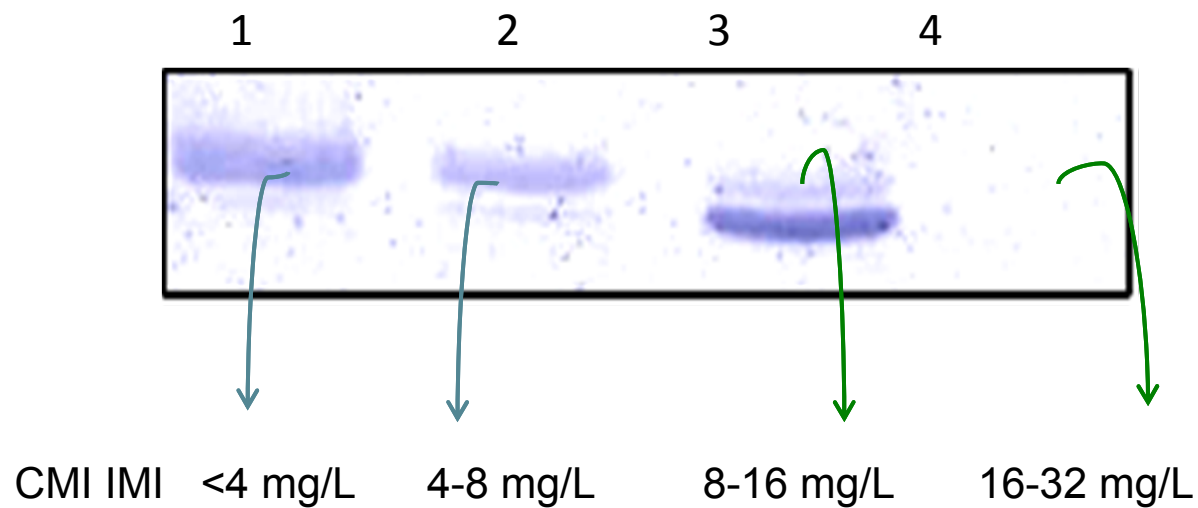
<b>Porines</b>	Omp35	} ATB
	Omp36	
	OmpA	} Prot. structurales
	OmpX	

**Pompe** AcrAB-TolC



# Au niveau des porines

## Détection Omp35



Diminution de production Omp35

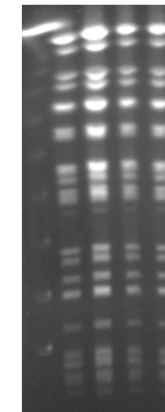
Patient 17 traité par IMI

1: souche IMI S et ETP S

2: souche IMI I et ETP R

3: souche IMI R1 et ETP R

4: souche IMI R2 et ETP R

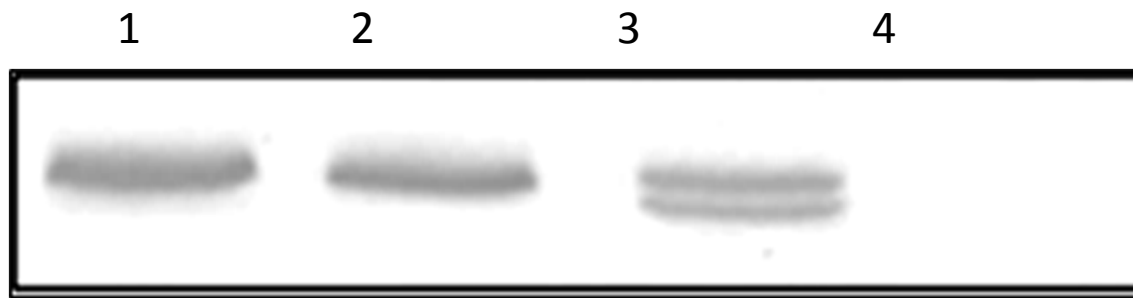


# Au niveau des porines

---

## Détection Omp36

Patient 17



- 1: souche IMI S et ETP S
- 2: souche IMI I et ETP R
- 3: souche IMI R1 et ETP R
- 4: souche IMI R2 et ETP R

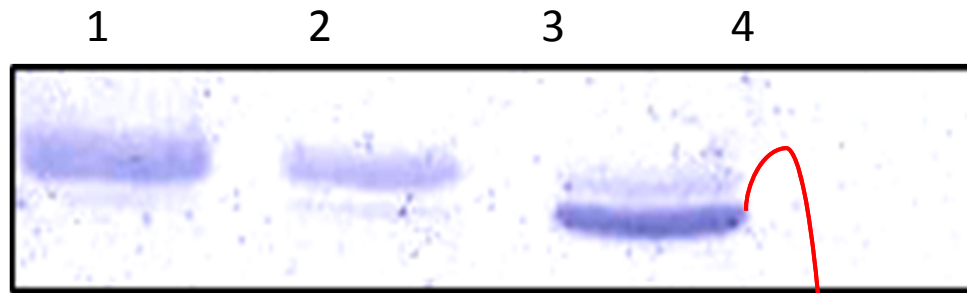
CMI IMI <4 mg/L    4-8 mg/L    8-16 mg/L    16-32 mg/L



Diminution de production Omp36

# Au niveau des porines

---

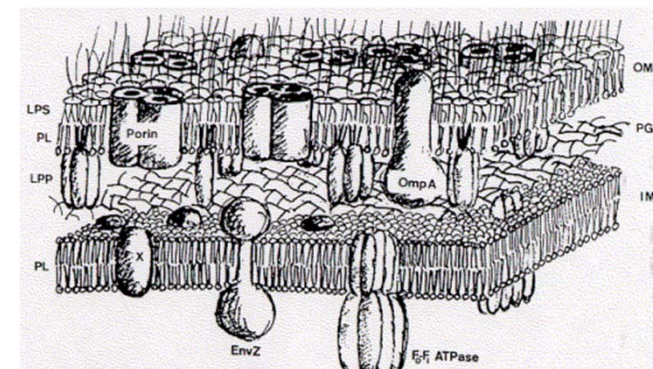


Patient 17

- 1: souche IMI S et ETP S
- 2: souche IMI I et ETP R
- 3: souche IMI R1 et ETP R
- 4: souche IMI R2 et ETP R

**Extraction – Spectrométrie de Masse:**

**OmpA like protein**



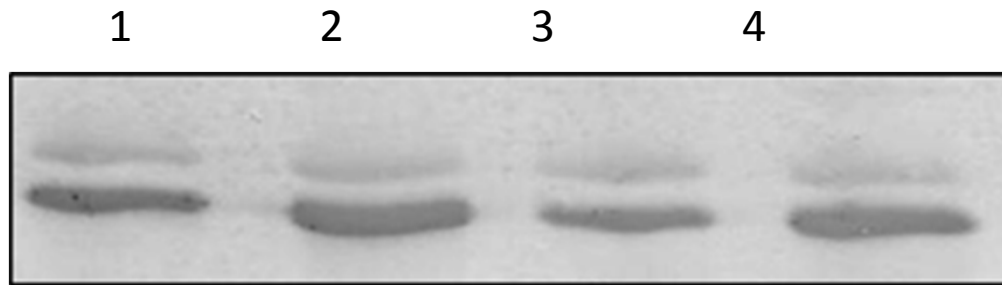
# Au niveau des porines

---

## Détection OmpA

Patient 17

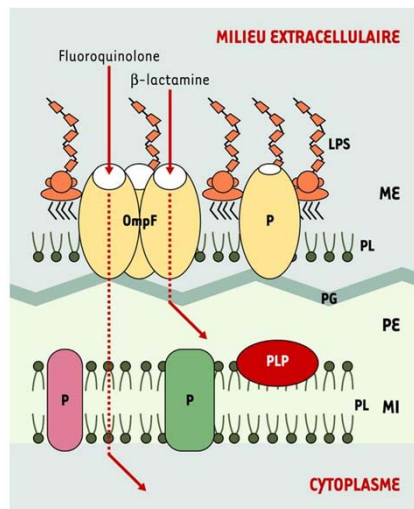
- 1: souche IMI S et ETP S
- 2: souche IMI I et ETP R
- 3: souche IMI R1 et ETP R
- 4: souche IMI R2 et ETP R



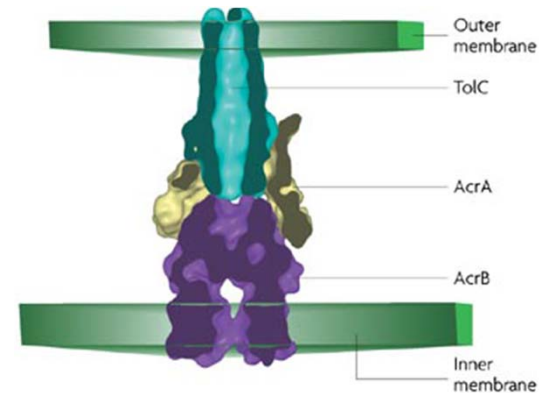
CMI IMI <4 mg/L      4-8 mg/L      8-16 mg/L      16-32 mg/L


# Quelles conséquences pour la bactérie?

## INFLUX



## EFFLUX



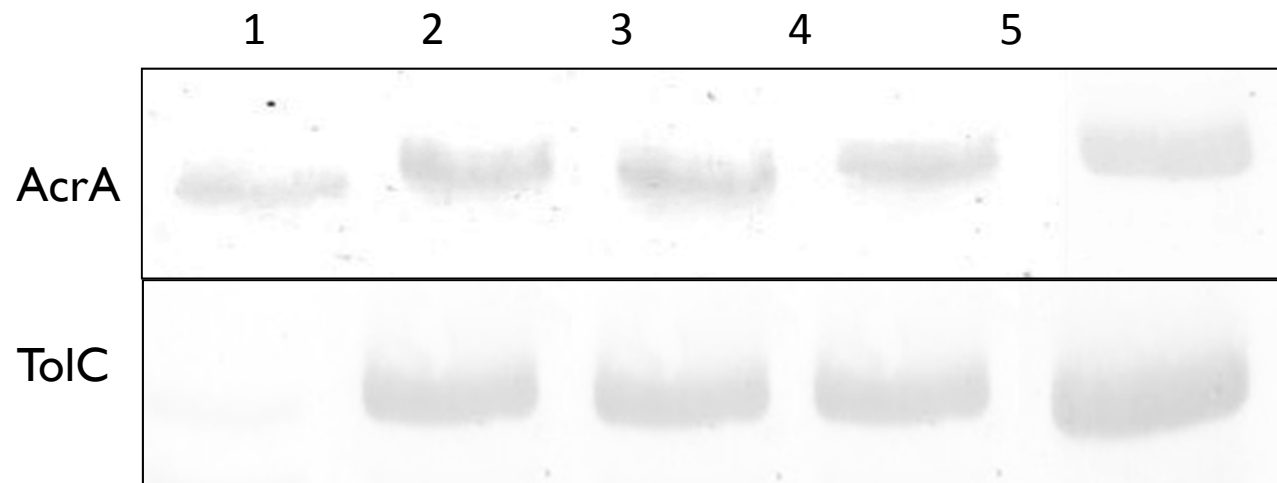
IMI  Porines Omp35 :  $\downarrow$  en 1<sup>er</sup> puis  $\emptyset$   
Omp36:  $\downarrow$  en 2<sup>e</sup> puis  $\emptyset$   
OmpA: pas de modification

Pompe AcrAB-TolC

# Au niveau de la pompe à efflux

Patient 17

## Détection AcrA et TolC



1: ATCC

2: souche IMI S et ETP S

3: souche IMI I et ETP R

4: souche IMI R1 et ETP R

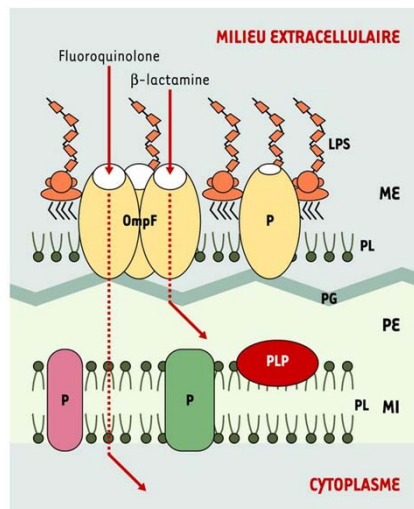
5: souche IMI R2 et ETP R

CMI IMI <4 mg/L <4 mg/L 4-8 mg/L 8-16 mg/L 16-32 mg/L

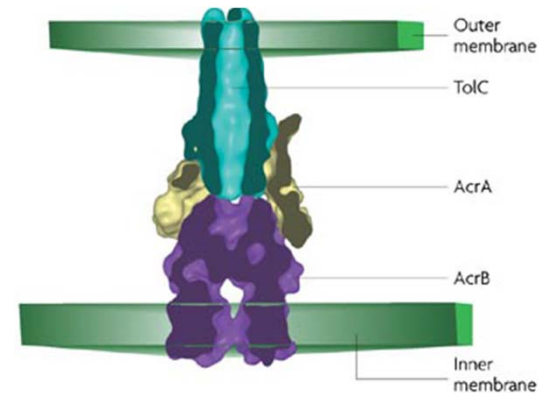
MDR Non Oui Oui Oui Oui

# Quelles conséquences pour la bactérie?

## INFLUX



## EFFLUX



IMI ⚡ Porines Omp35 : ↓ en 1<sup>er</sup> puis Ø  
 Omp36: ↓ en 2<sup>e</sup> puis Ø  
 OmpA: pas de modification

IMI ⚡ Pompe AcrAB-TolC: ++++

➡ Phénomène réversible+++

▶ Lavigne et al, Clin Microbiol Infect, 2012; Borner et al, J Clin Microbiol, 2000

# Au niveau de la virulence

Modification  
de  
l'expression  
des  
répresseurs  
dans souches  
cliniques



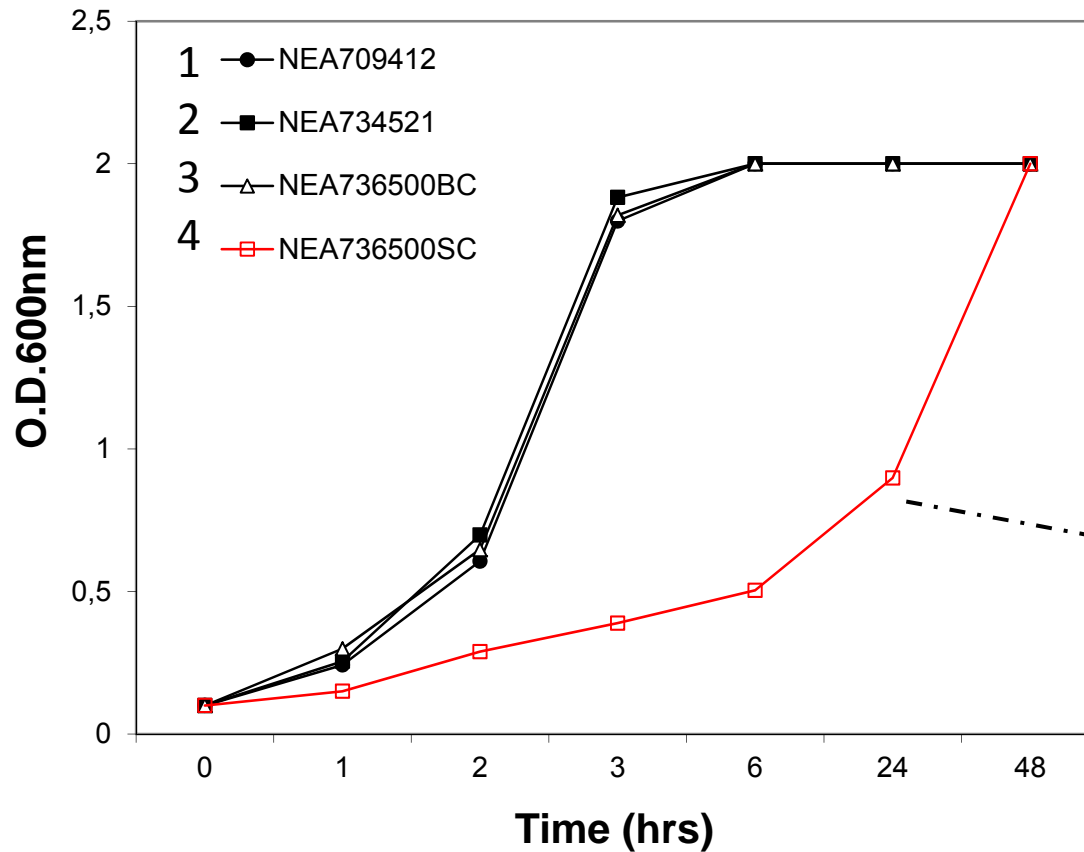
↗ Résistance  
↘ Virulence

marA  
soxS  
rob  
marR  
ramR  
acrR

Table 2. Transcriptional Regulators Controlling Expression of Porins and Efflux Pumps in *Enterobacteriaceae*

Protein	Regulator Family	Function	Species
MarA	AraC	Global activator	<i>E. coli</i> , <i>S. flexneri</i> , <i>S. Typhimurium</i> , <i>S. enterica</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>E. gergoviae</i> , <i>Y. pestis</i>
SoxS	AraC	Global activator of the oxydative stress response	<i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. typhimurium</i>
Rob	AraC	Global activator	<i>E. coli</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>S. typhimurium</i> , <i>Y. pestis</i>
RamA	AraC	Regulator of MDR	<i>K. pneumoniae</i> , <i>S. enterica</i> serovar Typhimurium, <i>S. enterica</i> serovar paratyphi
PqrA	AraC	Regulator of MDR	<i>P. vulgaris</i>
AarP	AraC	Regulator of MDR	<i>P. stuartii</i>
MarR	MarR	Repressor of MarA	<i>E. coli</i> , <i>S. flexneri</i> , <i>S. typhimurium</i> , <i>S. enterica</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>E. gergoviae</i>
SoxR	MarR	Regulator of the oxydative stress response	<i>E. coli</i> , <i>S. enterica</i>
AcrR	TetR	Repressor of AcrAB	<i>E. coli</i> , <i>E. aerogenes</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>S. enterica</i>
EmrR	MarR	Repressor of EmrAB	<i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i>

# Ralentissement du métabolisme bactérien



## Aspect des colonies

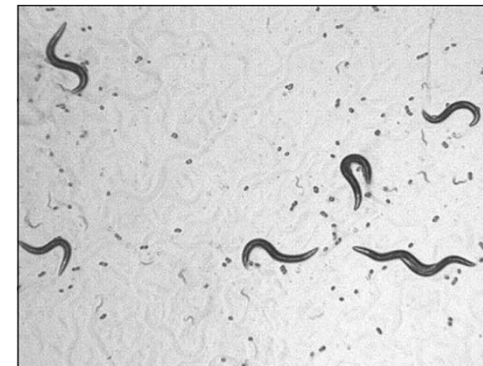
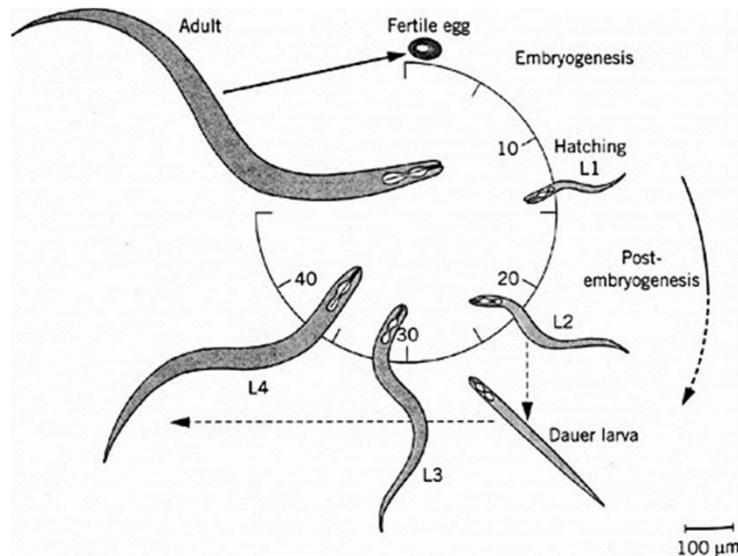


Petites colonies

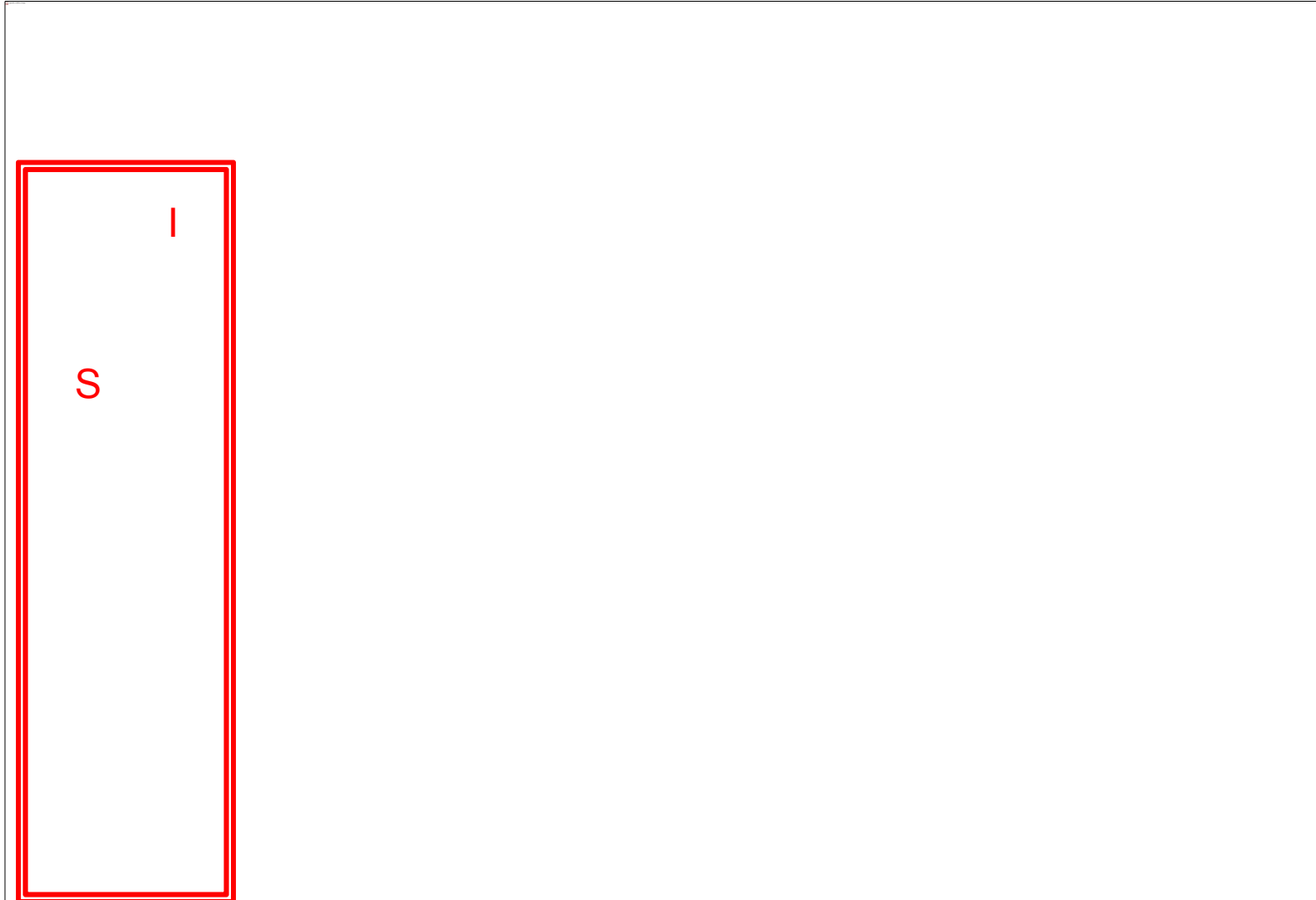
- 1: souche IMI S et ETP S
- 2: souche IMI L et ETP R
- 3: souche IMI R1 et ETP R
- 4: souche IMI R2 et ETP R

# Impact de l'imperméabilité sur la virulence

## Modèle *C. elegans*

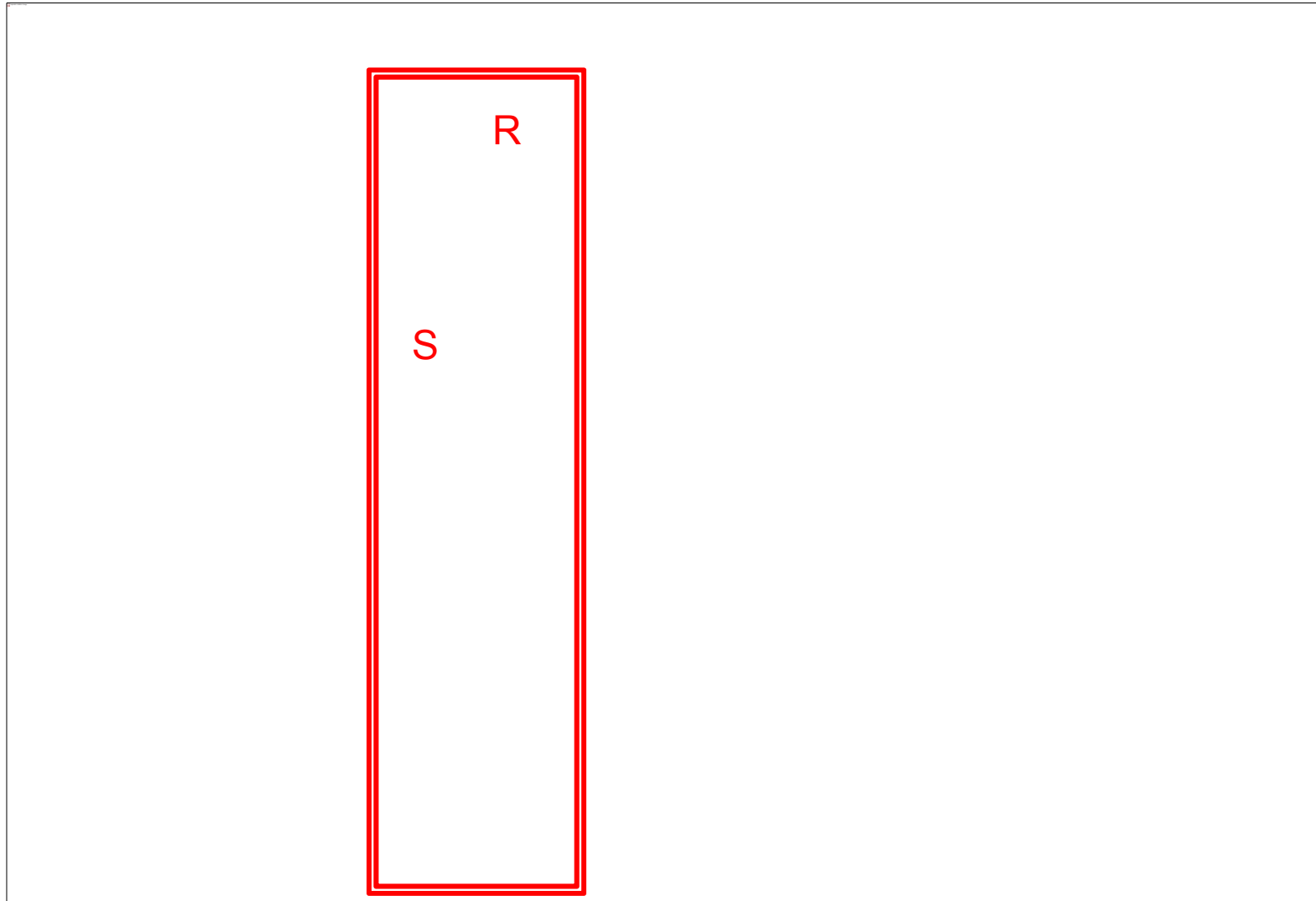


Mise en contact de souches bactériennes et de vers Fer-15 au stade L4, incubés à 25°C avec un décompte chaque jour des vers vivants au stéréomicroscope

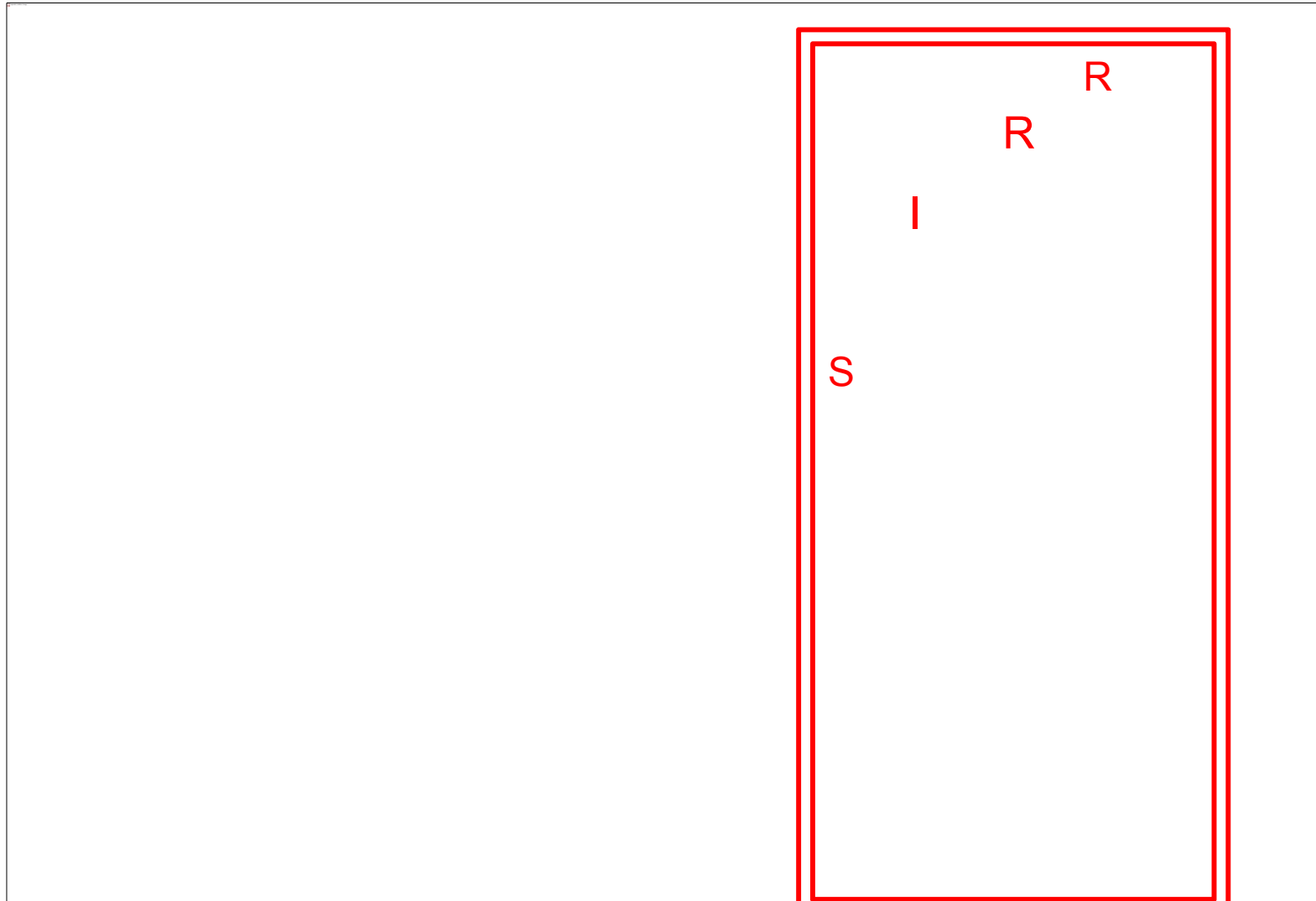


$p < 0.001$

CFU par souche dans nématode après 72h:  $0.5 \cdot 10^6$  -  $7.1 \cdot 10^6$  (médiane)

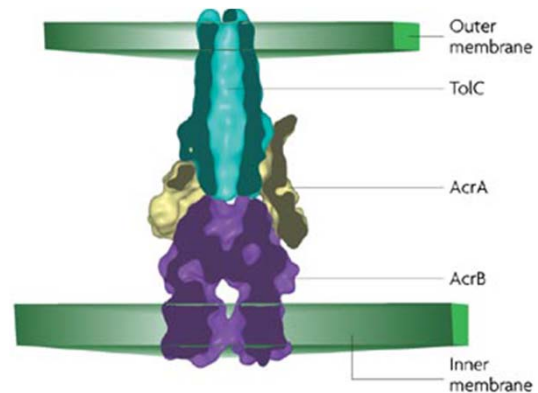
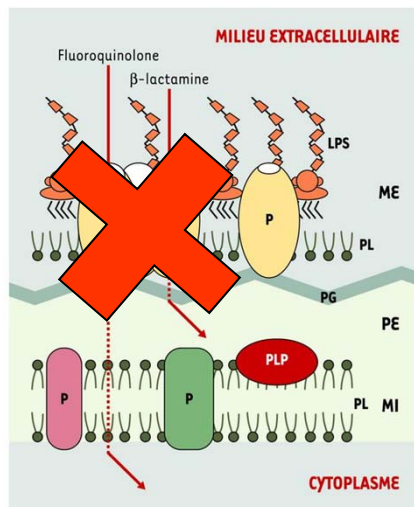
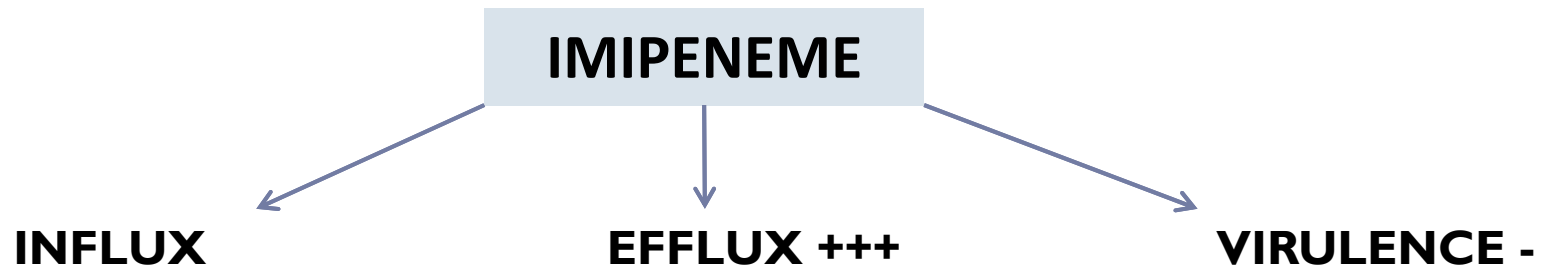


$p < 0.001$



$p < 0.001$

# Quelles conséquences pour la bactérie?



# Imperméabilité ?

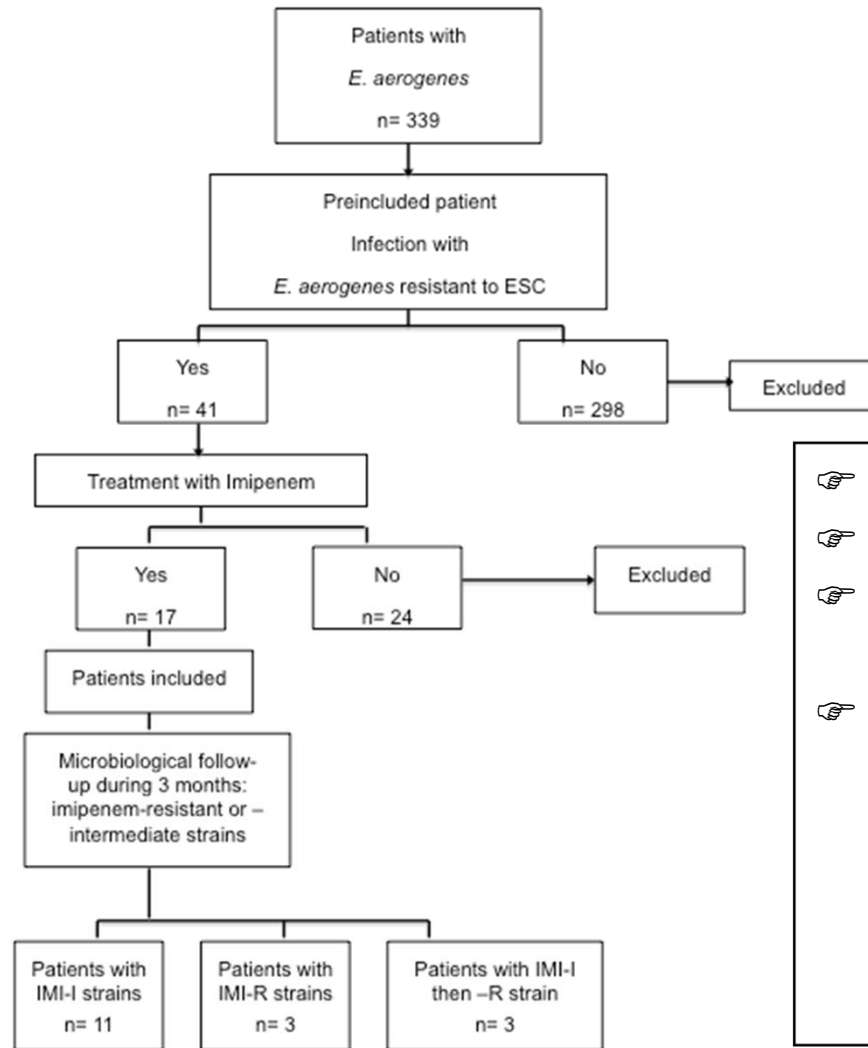
---

## Exemple des *Enterobacter aerogenes*

- Quel mécanisme?
- Quelles conséquences pour la bactérie?
- Quelles conséquences pour le patient ?
- Comment la détecter?



# Quelles conséquences pour le patient?



Etude du 1/09/05 au 31/08/07  
CHU Nîmes

- 17 patients
- 9 hommes, 8 femmes
- Médiane: 71 ans (0-90)
- Comorbidités:
  - Pathologies vasculaires chroniques 47%
  - Pathologies cardiovasculaires 41%
  - Diabète sucré 35%
  - Insuffisance rénale 41%

# Quelles conséquences pour le patient?

---

## Services:

- Réanimations: 53%

## Origine:

- Urinaire: 35%
- Sang: 18%
- Pus: 18%

## Facteurs associés:

- VVC: 65% VVP: 47%
- Sonde urinaire: 53%
- Ventil. Mécanique: 47%

Score de MacCabe  $\geq 1$  : 82%

Score de Charlson  $\geq 7$  : 77%

## Antécédents:

- hospitalisation <1 an: 29%
- USI <1 an: 41%
- Transfert: 12%
- Chirurgie: 47%

ATCD d'ATB <1 mois: 82%

FQ: 59%

$\beta$ -lactamines: 77%

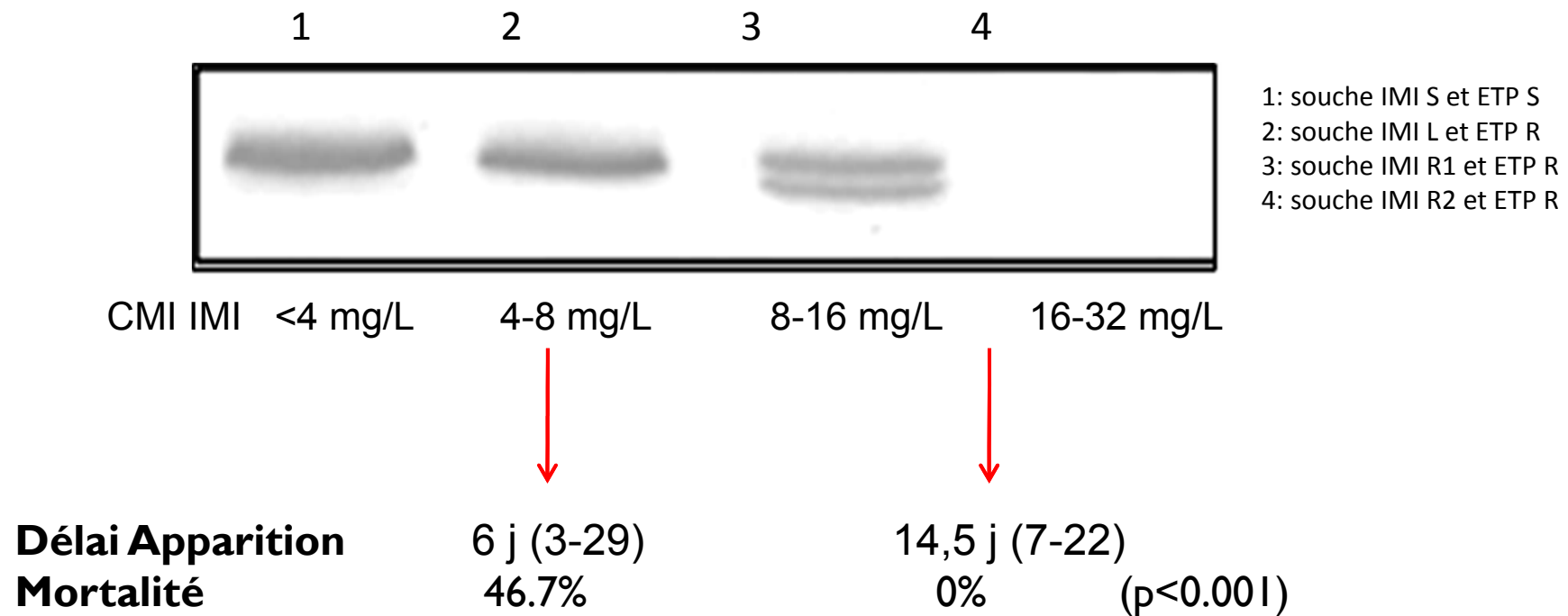
Aminosides: 29%

Infections polymicrob.: 41%

Infections associées aux soins: 82%

# Quelles conséquences pour le patient?

**Délai d'acquisition** inf. *E. aerogenes* C3G R : 7 j (1-86)



Durée d'hospitalisation: 60 j (6-303)

# Imperméabilité ?

---

Exemple des *Enterobacter aerogenes*

- Quel mécanisme?
- Quelles conséquences pour la bactérie?
- Quelles conséquences pour le patient ?
- Comment la détecter?



# Moyens de détection

---

- Formel: Western blot !!!!
  
- Suspicion:
  - Histoire clinique (mise sous carbapénème, abs. voyage...)
  - Antibiogramme
  - Absence de carbapénémase:
    - Hodge modifié négatif
    - Pas d'action de l'acide boronique, EDTA
    - PCR spécifiques négatives
  
- Avenir: Spectrométrie de masse ?

Cai JC et al, J Clin Microbiol, 2012



# Conclusion: not to be carbapenemase...

---

- Quel mécanisme?  
→ Imperméabilité
- Quelles conséquences pour la bactérie?
  - Perte de porine après remaniement membranaire (Omp35 puis Omp36)
  - Efflux +++
  - Modification du métabolisme
  - Colonisation
  - Phénomène réversible
- Quelles conséquences pour le patient ?  
→ Peu virulent mais terrain fragilisé
- Comment la détecter?  
→ Pas de moyen formel en routine (ETP R puis IMI R)



# Remerciements

---

**Inserm**

Institut national  
de la santé et de la recherche médicale

**UM1**

Université Montpellier 1



- **ONERBA**
  - Marie-Hélène Nicolas-Chanoine
  - Jérôme Robert
  
- **Equipe UMR-MD1 (Marseille)**
  - Jean-Marie Pagès
  - Anne Davin-Regli
  
- **Equipe INSERM U1047 (Nîmes)**
  - Albert Sotto
  - Alix Pantel

