

Structure de population mondiale du clone épidémique *Pseudomonas aeruginosa* ST235

Panisa Treepong, Veronica N. Kos, Christophe Guyeux, Dominique Blanc,
Xavier Bertrand, Benoît Valot, Didier Hocquet

Université de Bourgogne Franche-Comté (FEMTO-ST, UMR Chrono-environnement)

CRB - Filière Microbiologique de Besançon

Faculty of Technology and Environment, Prince of Songkla University, Phuket, Thailand

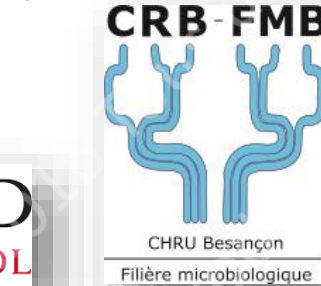
AstraZeneca R&D Boston, Waltham, Massachusetts, USA

Lausanne University Hospital, Lausanne, Switzerland

CHU de Besançon



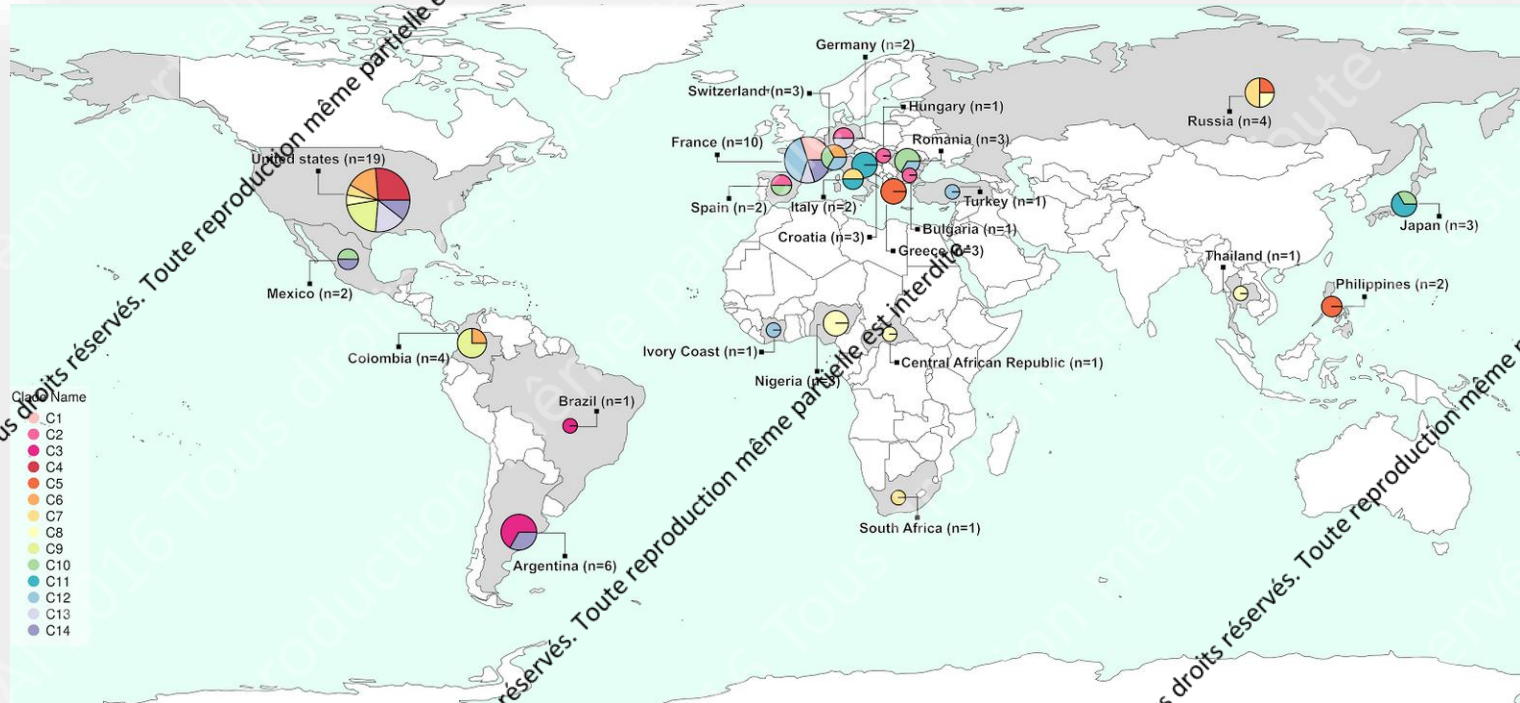
© RICAI 2016 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.



Structure de population *P. aeruginosa*

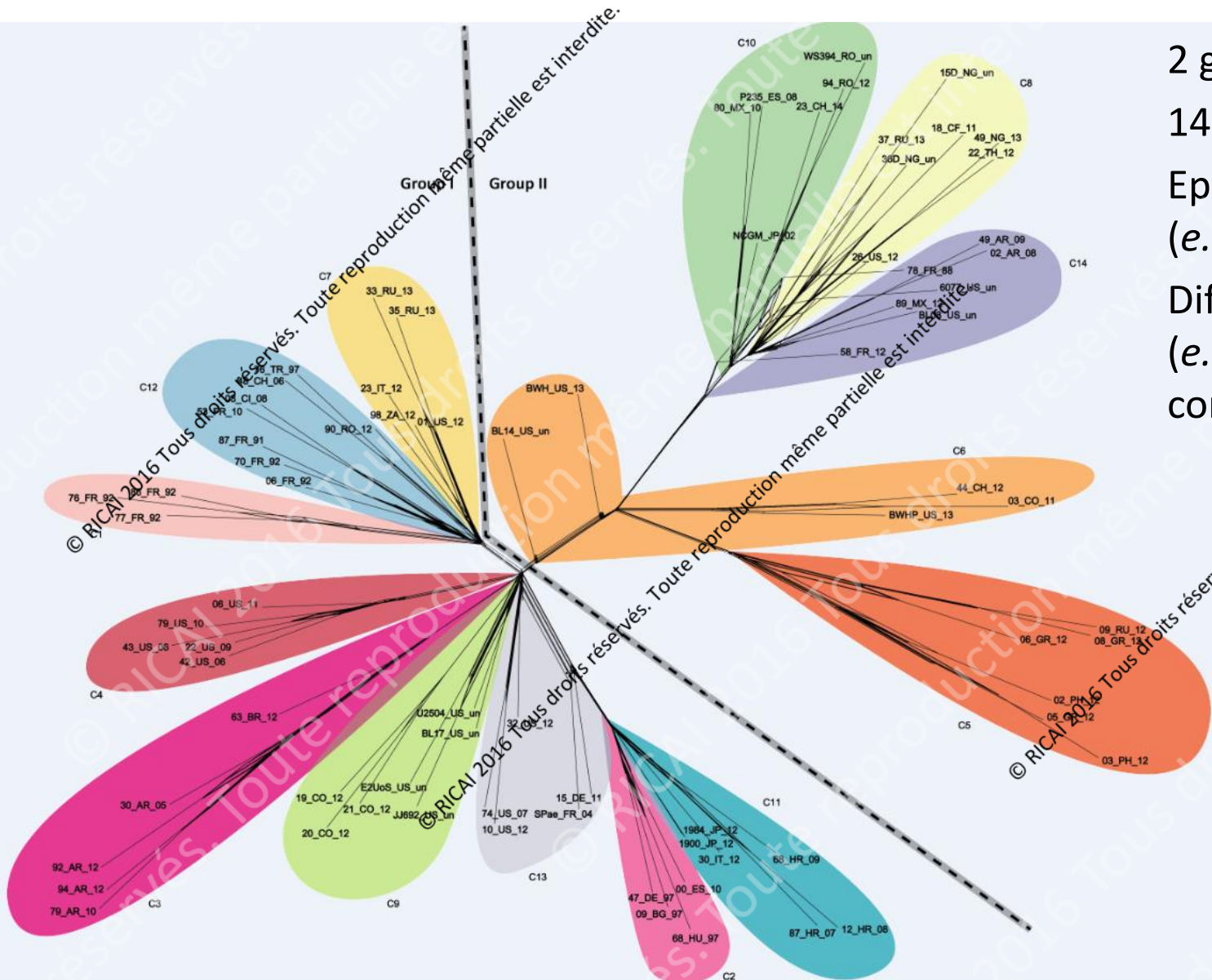
- Non clonale épidémique
- Mais présence internationale de clones 'à haut risque'
- ST111, ST175, ST235, ST395, ST244
- ST235
 - Infections graves
 - > 100 gènes de résistance acquis
- *Relation entre les souches reparties mondialement ?*
- *Origine spatiotemporelle du clone ST235 ?*
- *Base moléculaire de son succès ?*

- 79 génomes de ST235 (NCBI, Collections CRB-FMB)
- 5 continents, 27 ans (1988 – 2014)



- Gènes de résistance acquis (ResFinder)
- Phylogénie (*core genome*)
- Mutations conférant une résistance (QRDR, rég. AmpC, *oprD*)
- Gènes de virulence (VFDB)
- Gènes spécifiques de ST235

Phylogénie du clone ST235



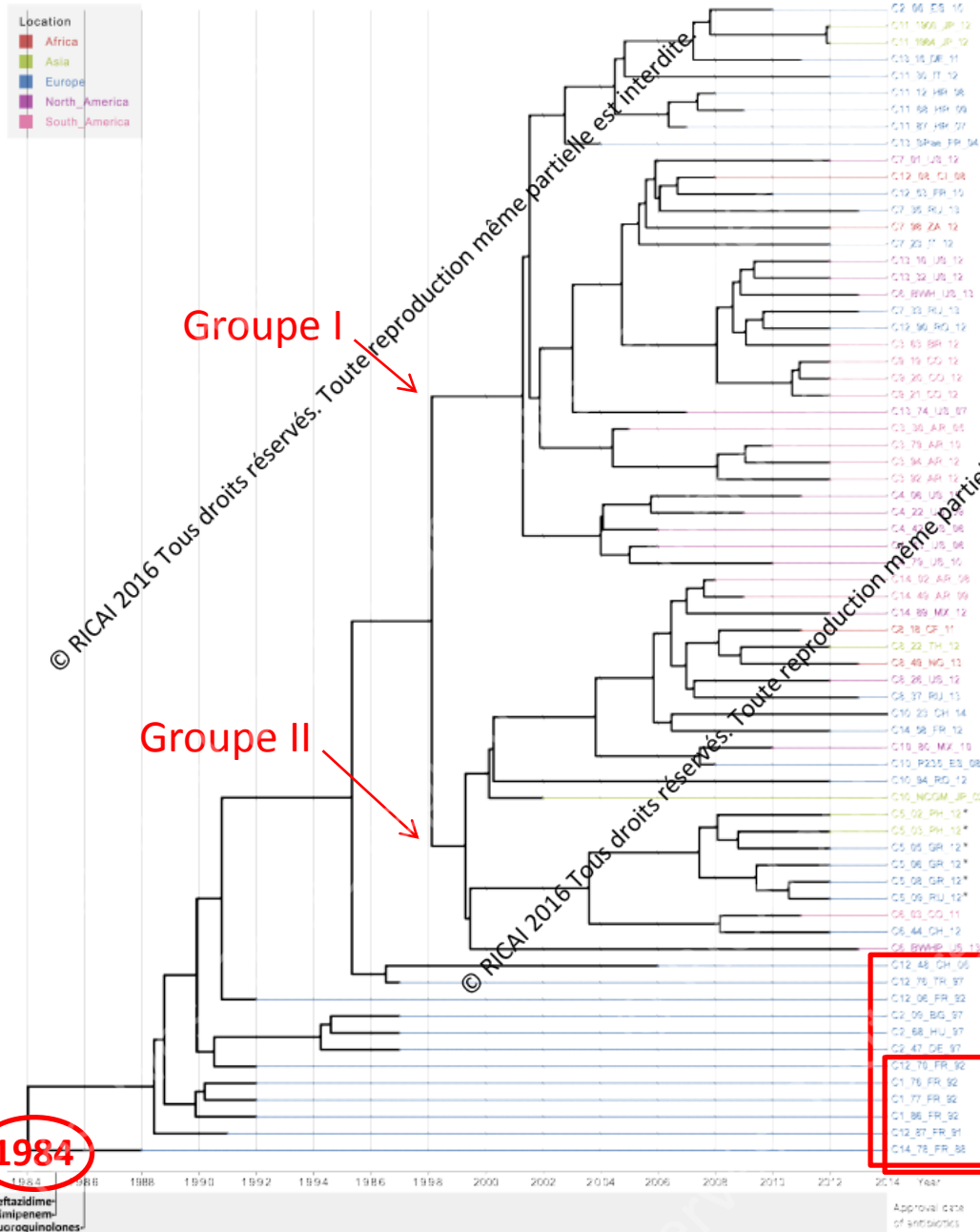
2 groupes

14 clades

Epidémies régionales
(e.g. C3, C4)

Diffusion mondiale
(e.g. C8 sur 4 continents en 2 ans)

Origine spatiotemporelle du ST235



Bayes: ancêtre commun 1984 (± 1 an)

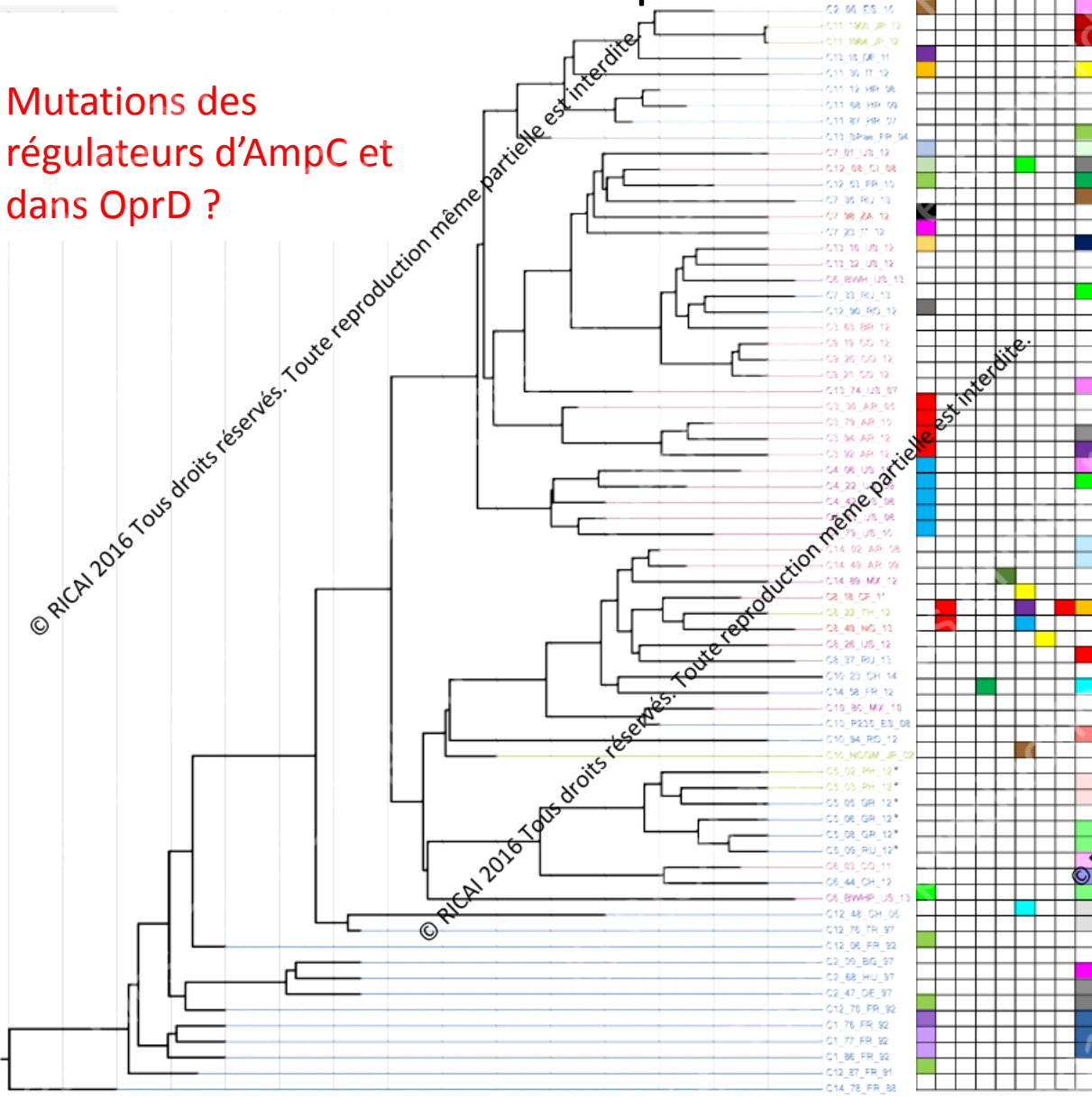
Origine Europe (France)

Diffusion en 2 groupes

© RICA1 2016 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Mutations conférant une résistance aux C3G et carbapénèmes

Mutations des régulateurs d'AmpC et dans OprD ?



Régulateurs AmpC
 36/79 ont ≥ 1 rég. muté
 Surtout AmpD (15 variants)

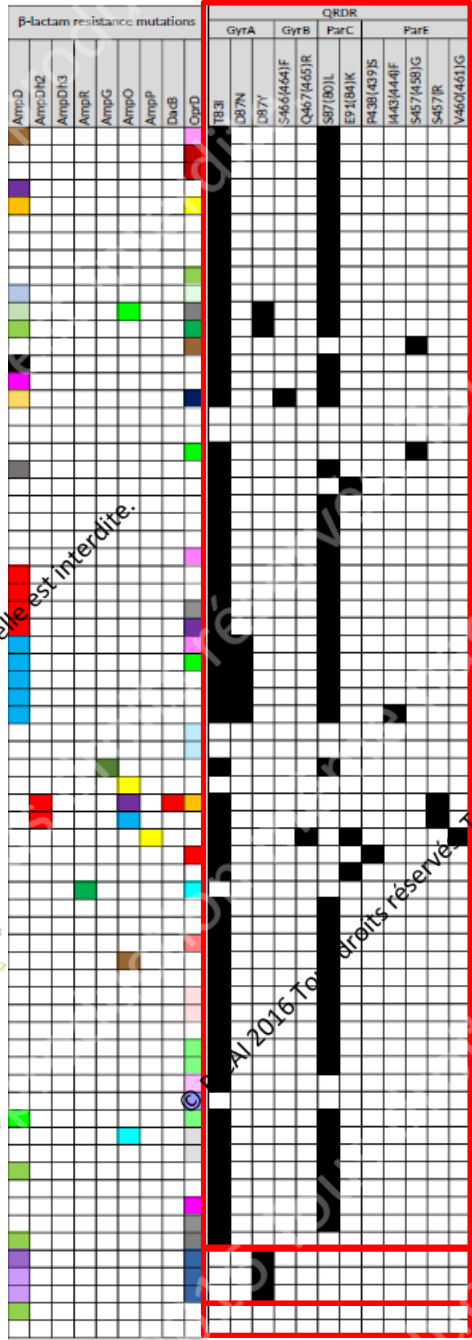
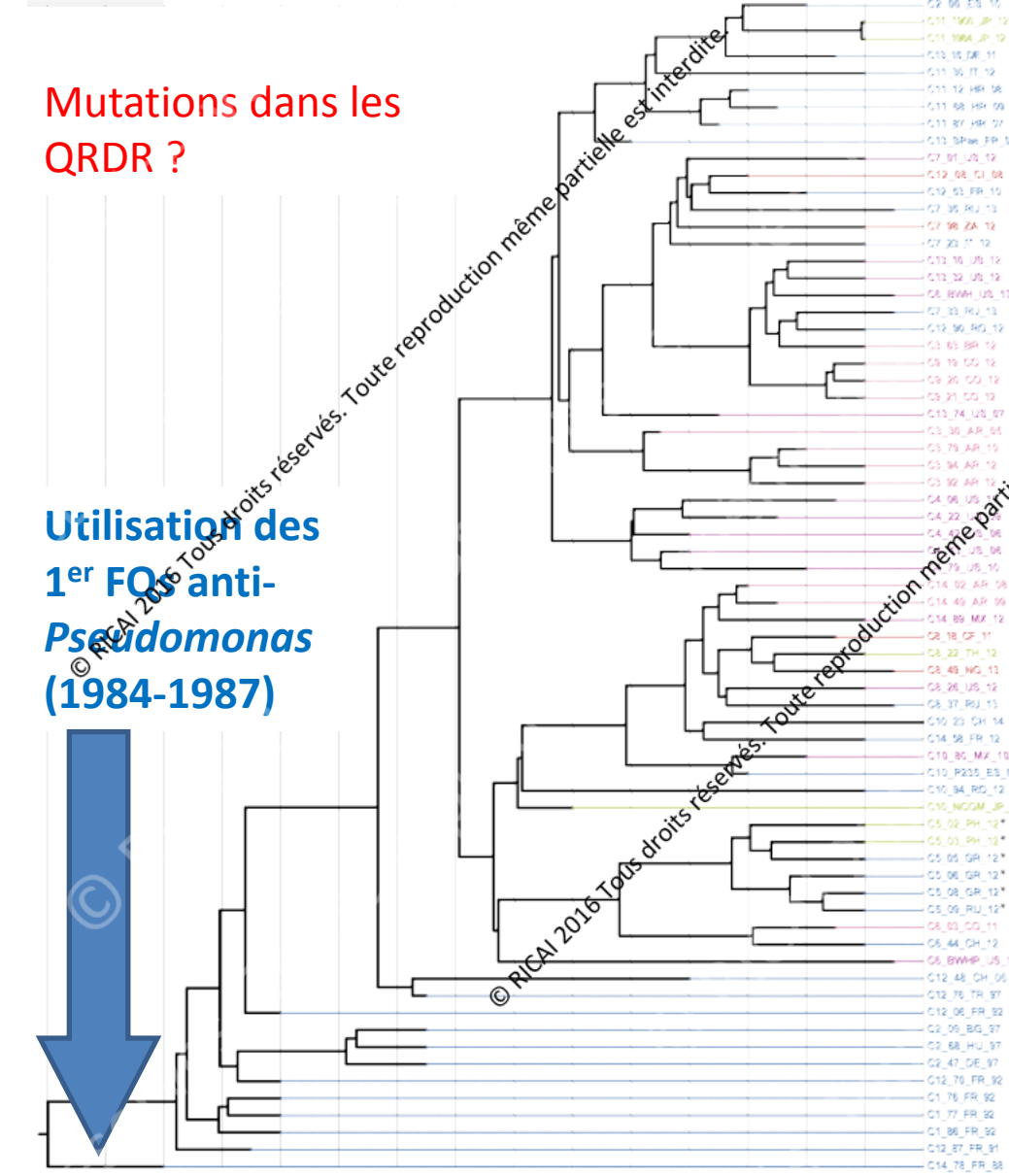
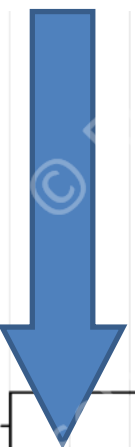
Porine OprD
 39/79 ont OprD muté
 29 variants

Quelques diffusions régionales
Grande diversité

Mutations conférant une résistance aux fluoroquinolones

Mutations dans les QRDR ?

Utilisation des 1^{er} FOQ anti-*Pseudomonas* (1984-1987)



Souches ancestrales (→ 1991) : WT

...Puis (1992) GyrA (D87Y)

...Puis (1997 →) GyrA (T83I), ParC (S87L)

Tendance à l'accumulation

© RICAI 2016 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

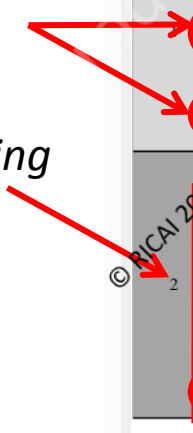
Gènes 'signature' de ST235

- Pas de gènes 'signature' des clones à haut risque (ST111, ST175, ST235...)
- **ExoU** toujours présent dans ST235 mais pas spécifique (+ chez 18/65 non-ST235)
 - La plus virulente des 4 exotoxines sécrétées par SST3
 - Corrélation à gravité des infections (Oliver *et al.* Drug Resist Updat 2015)
- 22 gènes spécifiques de ST235 en 3 blocs
 - Absents de 242 génomes de *Pseudomonas* sp.

Block number	Gene symbol in strain NCGM2.S1	Domain	Additional description	Accession no. of the closest homolog (Name, bacterial species, % identity)
	NCGM2_1826	Transposase	-	-
	NCGM2_1828	Alpha/beta hydrolase family protein	-	-
	NCGM2_1829	Pirin-related protein	Putative transcriptional regulation	-
	NCGM2_1830	Putative RND outer membrane protein (TolC family)	-	NP_417507 (TolC, <i>E. coli</i> , 22%)
	NCGM2_1831	Putative RND membrane fusion protein (ErmA family)	-	NP_417170.1 (EmrA, <i>E. coli</i> , 50%)
	NCGM2_1832	Putative MFS multidrug efflux transporter (EmrB family)	-	NP_418166.1 (EmrB, <i>E. coli</i> , 24%)
	NCGM2_1833	Putative transporter membrane protein	-	WP_058142560.1 (<i>P. aeruginosa</i> , 99%)
	NCGM2_1837	Putative RND membrane fusion protein (HlyD/EmrA family)	-	-
	NCGM2_1838	PucR C-terminal helix-turn-helix	Probable transcriptional regulator	NP_391122.1 (<i>B. subtilis</i> , 45%)
	NCGM2_3761	Hypothetical protein	-	-
	NCGM2_3762	P-loop NTPase	Involved in replication	WP_025991883.1 (<i>P. aeruginosa</i> , 99%)
	NCGM2_3765	Type-I restriction endonuclease HsdR	Restriction-modification system	-
	NCGM2_3766	Type-I restriction endonuclease HsdS	Restriction-modification system	-
2	NCGM2_3767	UvrD/REP helicase	-	-
	NCGM2_3768	SMC domain-containing protein	Replication, recombination and DNA repair	-
	NCGM2_3769	N-6 DNA methylase	-	-
	NCGM2_3770	N-7 DNA methylase	-	-
	<i>dprA</i>	DNA protection protein	Dedicated to natural bacterial transformation	-
	<i>recQ</i>	ATP-dependent DNA helicase	Involved in genome maintenance	-
	<i>leuS</i>	Leucyl-tRNA synthetase	-	-
3	NCGM2_6332	Hypothetical protein	-	-
	NCGM2_6333	DEAD/DEAH box helicase	-	-

2 systèmes d'efflux

9 gènes de *processing* de l'ADN



Gènes 'signature' de ST235

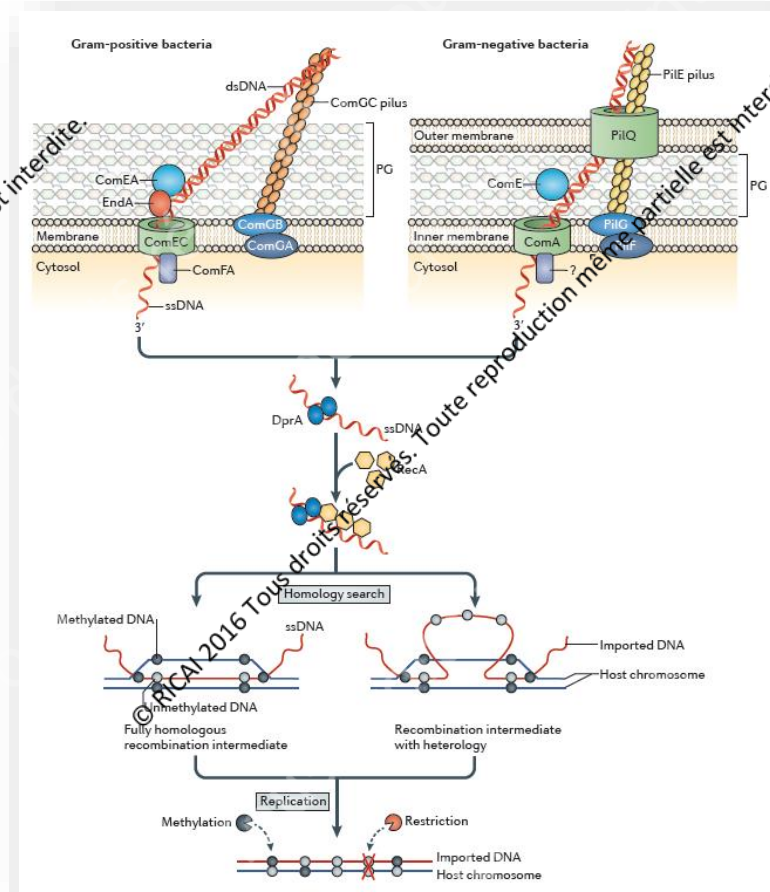
DprA : Protection de l'ADNsb entrant

RecA (*core* de *P. ae*) : recombinaison homologue dans chromosome

RecQ : helicase, rôle dans transformation

DprA → signature des bactéries transformables

Intégration + facile d'ADN étranger chez ST235 ?



Block number	Gene symbol in strain NCGM2.S1
	NCGM2_1826
	NCGM2_1828
	NCGM2_1829
	NCGM2_1830
	NCGM2_1831
	NCGM2_1832
	NCGM2_1833
	NCGM2_1834
	NCGM2_1837
	NCGM2_1838
	NCGM2_3761
	NCGM2_3762
	NCGM2_3765
	NCGM2_3766
	NCGM2_3767
	NCGM2_3768
	NCGM2_3769
	NCGM2_3770
	<i>dprA</i>
	<i>recQ</i>
	<i>leis</i>
3	NCGM2_6332
	NCGM2_6333

2 systèmes d'efflux

9 gènes de *processing* de l'ADN

ST235

- Emergence ~ 1984 depuis d'Europe, puis diffusion en 2 groupes
- Les C3G et carbapénèmes
 - Acquisition locale (et indépendante) des gènes mobiles de R
 - Mosaïque de mutations chromosomiques (régulateurs, OprD)
 - Rôles mineurs dans la diffusion mondiale de ST235
- Les fluoroquinolones
 - Date d'émergence ~ 1984
 - Chronologie d'apparition des mutations QRDR
 - Rôle majeur dans la diffusion mondiale de ST235
- Gènes spécifiques : transport, DNA *processing*, transformation
- **Scénario : ST235 arrive dans une région, acquiert des résistances aux aminosides, β -lactamines et carbapénèmes → épidémie locale d'infections graves (ExoU)**

Merci pour votre attention

