

Coût biologique et évolution de la résistance aux antibiotiques

Isabelle Kempf (isabelle.kempf@anses.fr), Eric Jouy
Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, France

Résumé

La résistance aux antibiotiques chez les bactéries initialement sensibles est liée à la présence de mutations chromosomiques ou à l'acquisition de gènes de résistance, souvent portés par des éléments génétiques mobiles, qui permettent à la bactérie de survivre voire de se multiplier malgré la présence d'un antimicrobien particulier. Ces modifications du patrimoine génétique s'accompagnent souvent d'un coût biologique pour la bactérie, qui peut se traduire par une moindre croissance *in vitro* ou des capacités de colonisation, de transmission ou un pouvoir pathogène réduit. Mais les bactéries développent fréquemment des mutations compensatoires ou des stratégies qui leur permettent de réduire ce fardeau et de retrouver leur compétitivité. Cette capacité d'adaptation, ainsi que d'autres phénomènes de sélection croisée ou de co-sélection, doivent nous faire redouter la persistance des bactéries résistantes même après l'abandon de l'utilisation de certains antibiotiques et nous inciter à un usage raisonné des antibiotiques.

Mots clés

Antibiorésistance, coût biologique, compensation

Abstract

Biological cost and evolution of antibiotic resistance

Antimicrobial resistance in originally susceptible bacteria is due to chromosomal mutations or acquisition of resistance genes, often borne by mobile genetic elements, which enable the bacteria to survive or even to multiply in the presence of an antimicrobial. These modifications of the genetic luggage often impose a biological cost for the bacteria, including reduced *in vitro* growth rate, colonization, transmission or virulence. But bacteria frequently develop compensatory mutations or strategies to reduce this burden and recover their fitness. This capacity of adaptation, as well as other phenomena such as cross resistance or co-selection, suggests that resistant bacteria may persist after the ban of certain antimicrobials, highlighting the need for a responsible use of antimicrobials.

Keywords

Antimicrobial resistance, biological cost, compensation

L'impact d'un antibiotique sur une population bactérienne sensible se traduit par la mort ou l'arrêt de certains métabolismes pour la majeure partie des bactéries. Mais une infime proportion de bactéries peut parfois survivre du fait de mutations aléatoires bénéfiques en présence de l'antibiotique ou encore grâce à l'acquisition de gènes de résistance libres dans le milieu ou plus souvent portés par des plasmides, phages, transposons. Ces modifications du patrimoine génétique bactérien sont alors favorables puisqu'elles permettent aux bactéries de persister, voire de continuer à se multiplier malgré la présence de l'antibiotique. Ces altérations génétiques surviennent le plus souvent dans les gènes cibles des antibiotiques tels que des gènes responsables de fonctions basiques comme la synthèse de protéines (macrolides, tétracyclines, chloramphénicol...), la construction de la paroi (pénicillines, céphalosporines...), la composition membranaire (colistine), certaines voies métaboliques (triméthoprime, sulfamides...) ou encore la réplication de l'ADN (fluoroquinolones). Des gènes supplémentaires apportés par des éléments génétiques mobiles peuvent également permettre à la bactérie de synthétiser des enzymes capables de dégrader les antibiotiques (bêta-lactamases, enzymes d'inactivation des aminosides...), de protéger certaines cibles (méthylases, gènes *qnr* de protection des gyrases ou gènes *tet* de protection du ribosome) ou permettant de nouvelles voies métaboliques (opéron *vanA*), ou encore la synthèse de protéines de substitution (gène *mecA*...). Ces modifications génétiques peuvent constituer un fardeau, appelé coût biologique, pour la cellule du fait d'une synthèse supplémentaire de protéines *a priori* non essentielles (par exemple protéines nécessaires à la réplication du plasmide ou autres gènes codés par le plasmide) en absence d'antimicrobiens. La levée de la pression de sélection antibiotique devrait donc permettre aux bactéries sensibles de coloniser à nouveau la niche écologique au détriment des bactéries mutantes ou ayant acquis un plasmide, *a priori* moins compétitives. Néanmoins, d'autres paramètres peuvent interférer avec cette évolution qui semble la plus logique.

Les bactéries résistantes persistent-elles quand la pression de sélection d'un antibiotique est suspendue ?

Pour évaluer *in vitro* la stabilité d'une résistance acquise, des cultures successives en série d'une souche résistante peuvent être effectuées dans un milieu sans antibiotique. La sensibilité de la souche est analysée aux différents passages. Parfois la résistance n'est pas stable et un phénotype sensible est retrouvé après quelques subcultures. Mais le retour à la sensibilité n'est pas toujours le phénomène le plus fréquent : ainsi, parmi 81 lignées indépendantes d'une souche de *Salmonella Typhimurium* résistante à la streptomycine par mutation chromosomique, cultivées en l'absence d'antibiotique, seulement quatre lignées montrent une réversion et un retour vers la sensibilité (Andersson and Hughes, 2010). Par ailleurs, le plasmide pB1000 codant pour une bêta-lactamase persiste chez *Haemophilus influenzae* après plus de 60 générations dans un milieu sans antibiotique (Millan *et al.*, 2010).

In vivo, van Boven *et al.* montrent que des souches de *Campylobacter jejuni* résistantes aux fluoroquinolones persistent en grand nombre pendant plusieurs semaines chez des poulets placés en cages individuelles et non soumis à une pression antibiotique (van Boven *et al.*, 2003). Dans la nature, les phénomènes sont généralement plus complexes puisque les animaux peuvent être ré-infectés à partir de leurs congénères (traités ou non) ou de l'environnement. Par exemple, des souches d'*E. coli* résistantes au triméthoprime et à la streptomycine peuvent persister pendant plusieurs semaines dans un élevage de poulets en l'absence de pression de sélection (Chaslus-Dancla *et al.*, 1987). Inversement, l'administration de fluoroquinolones à des truies entraîne une sélection de souches d'*E. coli* commensaux résistants, mais deux mois après l'arrêt du traitement, la sensibilité des souches est restaurée (Belloc *et al.*, 2005).

Il est aussi instructif d'observer, à une plus large échelle, l'évolution de la résistance après l'arrêt de l'utilisation de certains antibiotiques.

En Europe, la suspension de l'avoparcine comme facteur de croissance chez les volailles ou chez les porcs a été suivie d'une forte réduction du taux de résistance des entérocoques aux glycopeptides mais le réservoir de gènes de résistance *vanA* n'a pas disparu (Kempf *et al.*, 2008). Aux Etats-Unis, trois ans après l'interdiction d'utilisation des fluoroquinolones en aviculture, la proportion de souches de *Campylobacter jejuni* résistantes à la ciprofloxacine dans les produits de découpe de poulet restait toujours stable, aux alentours de 15 %⁽¹⁾.

Au travers des exemples présentés ci-dessus, il est évident que l'arrêt de l'utilisation des antibiotiques ne signifie pas nécessairement la disparition de la résistance. Différents phénomènes peuvent jouer un rôle : ainsi, lorsqu'un plasmide comprend des gènes de résistance pour différentes familles d'antibiotiques ou d'autres antimicrobiens (métaux, anticoccidiens...), l'utilisation d'un de ces inhibiteurs contribue à co-sélectionner des bactéries multi-résistantes (Dheilly *et al.*, 2012; Hasman *et al.*, 2006; Nilsson *et al.*, 2012). Différentes familles d'antibiotiques peuvent également devenir inactives du fait de la présence d'un seul et même gène de résistance (résistance croisée). Ainsi, dans le cas du gène *cfr* qui code pour la résistance vis-à-vis des phénicolés, lincosamides, oxazolidinones, pleuromutilines, streptogramines et une réduction de sensibilité pour certains macrolides, l'utilisation d'un antibiotique appartenant à une de ces familles permettra de perpétuer la sélection vis-à-vis des autres familles (sélection croisée). Mais en dehors de ces situations, il peut arriver que la résistance persiste chez l'animal ou dans une population, simplement parce qu'elle n'est pas défavorable pour la bactérie qui la porte. Des études visant à comparer, dans des conditions contrôlées, la compétitivité (« fitness ») de souches sensibles et de leurs mutants résistants permettent de mieux comprendre l'impact de la résistance sur différentes caractéristiques bactériennes, pour tenter de prévoir l'évolution de la résistance dans la population bactérienne.

La notion de coût biologique et son analyse *in vitro*

Quand la pression de sélection liée à un antibiotique a disparu, les modifications du bagage génétique de la bactérie ayant conduit à une résistance à l'antibiotique peuvent entraîner pour la bactérie un coût biologique, c'est à dire une réduction de sa compétitivité, et donc de sa « fitness ». En effet, les mutations provoquent des modifications des molécules essentielles à la bactérie et l'acquisition de gènes de résistance suppose qu'une partie du métabolisme de la bactérie soit détournée au profit du portage ou de la multiplication de l'élément génétique supplémentaire (plasmides, transposons, intégrons...). L'analyse du coût biologique *in vitro* consiste souvent à évaluer cette réduction de compétitivité en absence de l'antibiotique en comparant d'abord la croissance d'une souche sensible à celle de son (ses) mutant(s) isogénique(s) résistant(s). Ainsi les taux de croissance de souches d'*E. coli* uropathogènes, résistantes à la fosfomycine sont diminués de 10 à 25 % en comparaison des souches sensibles isogéniques (Andersson and Hughes, 2010). Selon Giraud *et al.* (2003) des mutants de *S. Typhimurium* résistants aux fluoroquinolones ont un temps de génération 1,4 à 2 fois plus long que la souche parentale sensible et ils forment des colonies de taille réduite. Une souche de *S. aureus* rendue résistante à la méticilline par transformation à l'aide de la cassette *SCCmec* de type I, a un temps de génération de 40 ±1 minutes comparé à 29 ±1 minutes pour la souche sensible (Ender *et al.*, 2004). A contrario, certains mutants d'*Enterococcus faecium* résistants à la rifampicine ont des taux de croissance supérieurs à ceux des souches parentales (Enne *et al.*, 2004).

Pour mettre en évidence de faibles différences de croissance entre une souche sensible et son mutant résistant, il est possible de les co-cultiver avec une concentration identique au départ, puis d'effectuer des subcultures. Périodiquement, le titre total de la culture est déterminé sur milieu sans antibiotique et celui des bactéries résistantes est obtenu sur milieux sélectifs. Le nombre des

bactéries sensibles est déduit par différence. Ainsi, pour les différents mutants d'*Enterococcus faecium* résistants à la rifampicine, le coût par génération est estimé entre +2,5 % et -10 %, les doubles mutants présentant le coût le plus élevé (Enne *et al.*, 2004). Pour *Chlamydia psittacci*, les mutations en position 1 191 ou 1 193 dans l'ARNr 16S, responsables de la résistance à la spectinomycine, entraînent un coût élevé et en co-culture la souche sensible surpasse rapidement les mutants résistants. Inversement une mutation en position 1 192 ne modifie pas fortement la compétitivité de la souche (Binet and Maurelli, 2005). Des compétitions entre souches sensibles et souches ayant acquis des gènes de résistance ont également été réalisées. Ainsi la co-culture en milieu sans antibiotique d'une souche de *S. aureus* ayant ou non le gène *mecA* de résistance à la méticilline aboutit à la disparition de la souche résistante en quelques jours (Ender *et al.*, 2004). Enfin, les travaux rapportés par Michon *et al.* (2011), montrent que l'introduction du gène *qnrA3* (qui confère une faible niveau de résistance aux fluoroquinolones) au sein de petits plasmides d'*E. coli* améliore leur croissance. Les auteurs suggèrent que la régulation des liaisons protéines-ADN exercée par le gène *qnrA3* constituerait un avantage sélectif pour les bactéries ayant acquis ce gène, ce qui aurait contribué initialement à leur émergence. Toutefois le gène *qnrA3* porté sur un large plasmide conjugatif induit un coût biologique retardant la croissance de la souche qui le porte et donc vraisemblablement sa dissémination.

Il est également possible d'évaluer *in vitro* l'impact d'une résistance sur certaines propriétés bactériennes indispensables à leur pouvoir pathogène (production de biofilms ou de protéases par exemples) ou à la capacité de transmission directe ou indirecte (survie dans l'eau, dans l'environnement ou résistance au choc thermique). Ainsi, la résistance aux fluoroquinolones ou aux macrolides chez *Campylobacter jejuni* ou *Campylobacter coli* réduit fortement la persistance sur matrice alimentaire lorsque les souches sont en compétition avec leurs mutants respectifs (Zeitouni and Kempf, 2011; Zeitouni *et al.*, 2012). Chez *Salmonella Typhimurium*, la présence du gène *ampC*, responsable de la production de la bêta-lactamase *AmpC*, s'accompagne d'une réduction des capacités d'invasion cellulaire et de réplication intra-cellulaire (Morosini *et al.*, 2000).

Le coût biologique de la résistance : observations *in vivo*

Le coût biologique peut également être analysé *in vivo*, soit sur des modèles expérimentaux, soit chez l'hôte normal de la bactérie. Ainsi, lors de co-inoculations chez la souris avec des souches sensibles de *Salmonella Typhimurium* et leurs mutants résistants à la streptomycine, la rifampicine ou l'acide nalidixique, les titres des mutants isogéniques dans la rate ou le foie sont très inférieurs à ceux de la souche sensible (Andersson and Hughes, 2010). De même, dans un modèle d'infection urinaire chez la souris, des mutants d'*E. coli* résistants à la norfloxacine ont une compétitivité nettement diminuée (Lindgren *et al.*, 2005). Par contre, la résistance à la colistine chez *Salmonella enterica*, conséquence de mutations dans les gènes *pmrA* et *pmrB* induisant des modifications du core du LPS et du lipide A de la paroi, n'affecte pas sa croissance chez la souris (Sun *et al.*, 2009). Enfin, des mutations du répresseur transcriptionnel de la pompe d'efflux MtrC-MtrD-MtrE de *Neisseria gonorrhoeae* permettent à cette bactérie d'expulser plus efficacement les macrolides et la pénicilline, mais peut-être aussi certains peptides antimicrobiens effecteurs de l'immunité innée, ce qui expliquerait l'augmentation de la survie et de l'infectiosité du mutant résistant (Warner *et al.*, 2008).

La résistance de *Campylobacter* aux fluoroquinolones est un problème important de santé publique. Plusieurs auteurs ont analysé le coût biologique de cette résistance aux fluoroquinolones. Lors de compétition *in vivo* chez le poulet, les mutants résistants porteurs de la mutation la plus fréquente Thr86Ile dans le gène *gyrA* présentent des titres inférieurs à ceux de la souche sauvage. Néanmoins, pour

(1) (<http://www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/SafetyHealth/AntimicrobialResistance/NationalAntimicrobialResistanceMonitoringSystem/UCM253270.pdf>)

C. coli, si le mutant résistant est inoculé avant la souche sensible, il persiste à des titres similaires à ceux de la souche sensible (Zeitouni and Kempf, 2011). De plus, il a été décrit que certains mutants de *C. jejuni* résistants aux fluoroquinolones présentent une meilleure compétitivité que la souche sauvage isogénique, ce qui conduit à l'exclusion de la souche sensible après quelques jours chez le poulet (Luo *et al.*, 2007). En ce qui concerne la résistance aux macrolides chez *C. coli*, un mutant à haut niveau de résistance, du fait de la présence de la mutation A2075G dans les trois copies du gène codant l'ARN23S, présente des niveaux d'implantation chez le poulet et de diffusion entre animaux tout à fait comparables à ceux de la souche sauvage. Mais pour *C. jejuni*, le mutant résistant aux macrolides voit ses capacités de colonisation et de diffusion fortement diminuées (Zeitouni *et al.*, 2012).

Compensation du coût biologique : mise en évidence, mécanismes et conséquences

Quand l'acquisition d'une résistance est obtenue d'emblée sans coût biologique, voire dans certains cas, avec un avantage sur la souche sauvage, il semble logique qu'à l'arrêt de la pression sélective, les mutants résistants soient maintenus dans la population microbienne. Mais, quand la résistance induit initialement une perte de compétitivité, il est rare qu'une réversion de la mutation survienne, et le coût biologique causé par la résistance peut parfois être atténué lors de passages successifs *in vitro* ou *in vivo*, dans un environnement sans antibiotique. Ainsi, chez des mutants de *Pseudomonas aeruginosa* résistants aux quinolones cultivés *in vitro*, des mutations compensatoires apparaissent avec une fréquence élevée et permettent de restaurer la compétitivité (Andersson and Hughes, 2010). Pour des mutants de *S. aureus* résistants à la rifampicine, la compétitivité d'un mutant présentant la substitution H481N dans la sous unité β de l'ARN polymérase est de 80 %, mais une seconde mutation dans le même gène (S529L) permet d'atteindre une compétitivité de 99 % tout en augmentant le niveau de résistance (O'Neill *et al.*, 2006). Enfin, nous avons montré qu'un mutant de *Campylobacter jejuni* résistant aux macrolides sélectionné *in vitro* possède une faible compétitivité lorsqu'il est inoculé au poulet. Cette même souche, ré-isolée après quelques jours de présence chez l'animal, présente alors des capacités de colonisation du poulet similaires à celles de la souche sauvage sensible (Zeitouni *et al.*, 2012).

Les mutations compensatoires qui permettent de diminuer le coût biologique d'une résistance peuvent se révéler différentes selon l'environnement dans lequel s'opère l'évolution : ainsi, chez *Salmonella Typhimurium* présentant une résistance à la streptomycine liée à une mutation dans le gène *rpsL*, l'adaptation *in vitro* conduit à des mutations compensatoires dans d'autres gènes (*rpsD* ou *rpsE*), alors que les mutants obtenus après évolution chez la souris présentent une mutation compensatoire dans le même gène initial *rpsL* (Andersson and Hughes, 2010). Inversement pour *Salmonella Typhimurium* résistant à l'acide fusidique, l'adaptation amène préférentiellement des mutations intragéniques *in vitro*, mais souvent une vraie réversion chez la souris (Andersson and Hughes, 2010). Différents mécanismes peuvent être mis en œuvre par les bactéries pour réduire le coût biologique d'une résistance. Ainsi, chez *Salmonella Typhimurium*, la résistance à la mupirocine liée à des mutations dans le gène de l'isoleucyl-tRNA synthétase (*ileS*) peut être compensée soit par des mutations intragéniques, soit par une augmentation du nombre de copies du gène *ileS*, les deux phénomènes entraînant une amélioration de la cinétique d'aminocyclation de l'isoleucine et donc de la synthèse des protéines (Andersson and Hughes, 2010). Enfin une évolution remarquable est décrite dans le cadre de la résistance à l'isoniazide des souches de *Mycobacterium tuberculosis* : la résistance est liée à une mutation dans le gène *katG* qui aboutit à la perte de l'activité catalase et à l'absence de virulence des souches. Toutefois la majorité des isolats

résistants portant cette mutation contiennent également une mutation au niveau du promoteur du gène *ahpC*, conduisant à une élévation de la production de l'alkylhydroxyperoxydase-réductase, ce qui compense la perte de la catalase et restaure la virulence (Andersson and Hughes, 2010).

Dans le cas des résistances amenées par des éléments génétiques mobiles (EGM), des modifications adaptatives de la relation bactérie – plasmide, par exemple, peuvent survenir pour réduire le coût du portage de l'élément génétique supplémentaire (Bouma and Lenski, 1988). C'est par exemple le cas de la régulation fine de l'expression du gène plasmidique de résistance vis-à-vis de la tétracycline porté par le transposon Tn10 (Lenski *et al.*, 1994). Le mode inductible permet de réduire le coût de cette résistance en absence de sélection ; toutefois lors de la transition absence-présence de tétracycline, les souches inductibles sont défavorisées par rapport aux souches présentant une expression constitutive, du fait du délai nécessaire pour l'induction de la résistance. Chez *E. coli*, certaines cellules peuvent empêcher l'expression des gènes de résistance portés par un plasmide qu'elles hébergent : cette « réduction au silence » est réversible et, si le plasmide est transmis à une autre bactérie, les gènes pourront être de nouveau exprimés (Enne *et al.*, 2006). Il a été montré que, chez *Salmonella Typhimurium*, la production de céphalosporinases de type AmpC résultant de la présence du seul gène *blaCMY-7* s'accompagne d'une réduction de la croissance de la souche et de sa capacité d'invasion cellulaire, mais ces propriétés sont restaurées par certaines fonctions du plasmide porteur de *blaCMY-7* indiquant ainsi l'aptitude de *Salmonella* à conserver sa virulence tout en acquérant une résistance inquiétante (Hossain *et al.*, 2004). Plus récemment, l'analyse du transcriptome du plasmide IncA/C, responsable de la diffusion de nombreuses résistances chez *E. coli* et *Salmonella* aux USA, indique que certains gènes plasmidiques sont différemment transcrits en présence ou en absence d'antibiotiques : en milieu sans antibiotique, la plupart des gènes de base du plasmide sont inactifs, y compris ceux codant pour le transfert. Toutefois, le système toxine-antitoxine (responsable de la mort des cellules bactériennes ayant perdu leur plasmide), ainsi que les gènes de résistance aux florfenicol, céphalosporines et aminosides sont fortement transcrits. En présence de florfenicol, le gène *floR* et de nombreux gènes chromosomiques sont sur-exprimés. Tous ces systèmes de régulation de l'expression permettent à la bactérie de réduire le coût du portage des EGM.

Mais parfois l'adaptation peut s'orienter vers la réduction ou la perte de la résistance, voire vers l'hypersensibilité. Ainsi, pour des résistances aux macrolides ou au linézolide, les mutations touchant les gènes d'ARNr, qui sont présents en multiples copies chez une même bactérie, peuvent être éliminées après conversion génique (échange) entre les copies sensibles et les copies résistantes du gène (Andersson and Hughes, 2010). Par ailleurs, McCallum *et al.* décrivent un mutant de *S. aureus* résistant aux glycopeptides ayant une croissance ralentie, une paroi bactérienne épaissie, une augmentation de l'hémolyse et une répression de certains gènes de virulence. Chez la souris, ce mutant est éliminé dans trois cas sur sept. Lorsqu'il persiste, il récupère en partie les caractéristiques de la souche sauvage mais devient hypersensible à la teicoplanine, suggérant ainsi que la résistance à ce glycopeptide constitue un fardeau pour *S. aureus*, et est contre-sélectionnée *in vivo* (McCallum *et al.*, 2006). Enfin pour *Salmonella*, la compensation permettant de réduire le coût de la résistance à l'acide fusidique s'accompagne parfois d'une augmentation de la sensibilité vis-à-vis d'autres classes d'antibiotiques (Macvanin and Hughes, 2005).

Coût biologique, compensation et autres éléments affectant l'évolution de la résistance

La notion de coût biologique doit être prise en compte pour éclairer l'évolution d'une résistance. Dans bien des cas, une fois les mutations compensatoires acquises, le retour vers la sensibilité est peu probable. En effet, la souche adaptée, résistante, devient

plus compétitive que la même souche adaptée révertante. Ainsi les mutations compensatoires empêchent le retour vers la sensibilité comme le suggère la persistance de la résistance d'*E. coli* vis-à-vis de la streptomycine dans certaines lignées ayant plus de 10 000 générations *in vitro* dans un milieu sans antibiotique (Schrag *et al.*, 1997).

Dans le cas d'EGM, un gène de résistance conférant un coût biologique élevé mais pour lequel des mutations compensatoires seraient facilement sélectionnées, sera probablement maintenu dans une population bactérienne (Martinez, 2012). Toutefois, si les mutations compensatoires surviennent sur le chromosome et non sur l'EGM, la diffusion du déterminant de résistance sera compromise, car elle entraînera un coût biologique chez chaque nouvel hôte. Inversement la probabilité de diffusion sera accrue si les mutations compensatoires sont situées sur l'EGM. De plus, la présence d'autres éléments sur l'EGM, tels que des gènes de résistance aux métaux, ou des gènes codant pour des sidérophores, des toxines, des bactériocines, ou d'autres gènes non identifiés (Khachatryan *et al.*, 2006) peut se révéler avantageuse dans certains environnements et participer à la co-sélection de la résistance en absence d'antibiotiques.

La taille ou l'évolution des populations bactériennes sont également des éléments importants à considérer. Les expérimentations et la modélisation suggèrent que, dans une population bactérienne soumise à des goulots d'étranglement (expérience de passages en série *in vitro* ou lors de transmission d'hôte à hôte par exemple), ou située dans certains compartiments tissulaires, des mutants de moindre compétitivité peuvent dominer si leur taux d'apparition est plus élevé que celui de révertants sensibles de compétitivité optimale (Andersson and Hughes, 2010; Levin *et al.*, 2000). Mais au sein d'une large population, les mutants les plus compétitifs seront sélectionnés. Ce phénomène pourrait peut-être parfois expliquer les phénomènes de sélection clonale chez certains pathogènes, pour lesquels on assiste parfois au remplacement d'un clone épidémique par un autre présentant d'autres caractères de résistance. Il est alors à craindre que l'absence de coût ou la réduction du coût biologique d'une résistance puissent être telles qu'une fois établie dans une population, cette résistance soit maintenue pendant très longtemps après l'arrêt de l'utilisation de l'antibiotique (Bean *et al.*, 2009; Johnsen *et al.*, 2002).

La notion de coût biologique de la résistance permet de mieux comprendre, voire de tenter de prévoir, certaines observations cliniques au niveau individuel ou populationnel. Par exemple, un modèle mathématique prenant en compte la fréquence de mutation d'*E. coli* vis-à-vis de la fosfomycine, la vitesse de croissance du mutant et les variations de la quantité d'urine présente dans la vessie permet d'expliquer la rareté de l'émergence de souches résistantes dans les infections urinaires à *E. coli* (Andersson and Hughes, 2010). A l'échelle populationnelle, il est fréquent d'observer que les souches cliniques résistantes les plus fréquentes sont celles qui portent les mutations dont le coût paraît le plus faible, qu'il s'agisse, par exemple de *S. aureus* (O'Neill *et al.*, 2006) ou encore de *M. tuberculosis* (Comas *et al.*, 2012). De même, le coût de la mutation A2058G entraînant la résistance aux macrolides est lié à la nature des bases constituant la paire 2057-2611 de l'ARN23S. Ce coût est insignifiant pour les mycobactéries et la mutation A2058 est fréquemment retrouvée chez ces agents pathogènes, mais il est substantiel pour *Helicobacter pylori*, chez lequel une autre mutation, A2059, prédomine (Pfister *et al.*, 2005).

Enfin, la notion de coût biologique est aussi prise en compte pour expliquer l'évolution passée de certaines résistances, comme par exemple, le déclin de la première épidémie de *S. aureus* résistant à la méticilline (SARM), dans les années 1970 au Danemark. Une modélisation mathématique confirme que le coût biologique supporté par ces SARM a pu conduire à leur disparition dans un laps de temps identique à ce qui a été observé (Nielsen *et al.*, 2012). Enfin, les estimations de compétitivité de deux mutants de *Streptococcus pneumoniae* résistants à l'azithromycine permettent de développer

un modèle probabiliste de transmission des souches résistantes et de prévoir que les pneumocoques résistants disparaîtront cinq ans après l'arrêt de l'utilisation de cet antibiotique dans le cadre de la lutte contre le trachome chez l'Homme (Maher *et al.*, 2012).

Conclusion

Si la résistance aux antibiotiques s'accompagne souvent d'un coût biologique pour la bactérie, cette dernière développe très fréquemment des mutations ou stratégies permettant de réduire ce fardeau et de retrouver sa compétitivité. L'évolution de la résistance dans une population dépendra donc très fortement de l'utilisation des antibiotiques et de la vitesse d'émergence de mutants résistants, mais des facteurs externes (utilisation ou présence d'autres antimicrobiens, métaux, biocides...) ou propres à la bactérie (coût biologique et possibilités de compensation de ce coût, présence d'autres gènes avantageux sur un élément génétique mobile) sont des éléments primordiaux pour la stabilisation et la persistance de la résistance. Ces phénomènes doivent nous convaincre que l'arrêt de l'utilisation de certains antibiotiques, surtout s'il est tardif, ne signifie pas toujours la disparition des souches résistantes. En conséquence, il est indispensable de promouvoir au plus vite une politique d'utilisation raisonnée des antibiotiques.

Références bibliographiques

- Andersson, D.I., Hughes, D., 2010, Antibiotic resistance and its cost: Is it possible to reverse resistance? *Nature Reviews Microbiology* 8, 260-271.
- Bean, D.C., Livermore, D.M., Hall, L.M.C., 2009, Plasmids imparting sulfonamide resistance in *Escherichia coli*: Implications for persistence. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 53, 1088-1093.
- Belloc, C., Lam, D.N., Pellerin, J.L., Beaudou, F., Laval, A., 2005, Effect of quinolone treatment on selection and persistence of quinolone-resistant *Escherichia coli* in swine faecal flora. *J. Appl. Microbiol.* 99, 954-959.
- Binet, R., Maurelli, A.T., 2005, Fitness cost due to mutations in the 16S rRNA associated with spectinomycin resistance in *Chlamydia psittaci* 6BC. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 49, 4455-4464.
- Bouma, J.E., Lenski, R.E., 1988, Evolution of a bacteria/plasmid association. *Nature* 335, 351-352.
- Chaslus-Dancla, E., Gerbaud, G., Lagorce, M., Lafont, J.P., Courvalin, P., 1987, Persistence of an antibiotic resistance plasmid in intestinal *Escherichia coli* of chickens in the absence of selective pressure. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 31, 784-788.
- Comas, I., Borrell, S., Roetzer, A., Rose, G., Malla, B., Kato-Maeda, M., Galagan, J., Niemann, S., Gagneux, S., 2012, Whole-genome sequencing of rifampicin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains identifies compensatory mutations in RNA polymerase genes. *Nature Genetics* 44, 106-110.
- Dheilly, A., Le Devendec, L., Mourand, G., Boudier, A., Jouy, E., Kempf, I., 2012, Resistance gene transfer during treatments for experimental avian colibacillosis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 56, 189-196.
- Ender, M., McCallum, N., Adhikari, R., Berger-Bächi, B., 2004, Fitness cost of SCCmec and methicillin resistance levels in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 48, 2295-2297.
- Enne, V.I., Delsol, A.A., Roe, J.M., Bennett, P.M., 2004, Rifampicin resistance and its fitness cost in *Enterococcus faecium*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 53, 203-207.
- Enne, V.I., Delsol, A.A., Roe, J.M., Bennett, P.M., 2006, Evidence of antibiotic resistance gene silencing in *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 50, 3003-3010.
- Giraud, E., Cloeckaert, A., Baucheron, S., Mouline, C., Chaslus-Dancla, E., 2003, Fitness cost of fluoroquinolone resistance in *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium*. *Journal of Medical Microbiology* 52, 697-703.
- Hasman, H., Kempf, I., Chidaine, B., Cariolet, R., Ersboll, A.K., Houe, H., Hansen, H.C.B., Aarestrup, F.M., 2006, Copper resistance in *Enterococcus faecium*, mediated by the *tcrB* gene, is selected by supplementation of pig feed with copper sulfate. *Applied and Environmental Microbiology* 72, 5784-5789.
- Hossain, A., Reisbig, M.D., Hanson, N.D., 2004, Plasmid-encoded functions compensate for the biological cost of AmpC overexpression in a clinical isolate of *Salmonella typhimurium*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 53, 964-970.
- Johnsen, P.J., Simonsen, G.S., Olsvik, Å., Midtvedt, T., Sundsfjord, A., 2002, Stability, persistence, and evolution of plasmid-encoded VanA glycopeptide resistance in enterococci in the absence of antibiotic selection *in vitro* and

- in gnotobiotic mice. *Microbial Drug Resistance* 8, 161-170.
- Kempf, I., Hellard, G., Perrin-Guyomard, A., Gicquel-Bruneau, M., Sanders, P., Leclercq, R., 2008, Prevalence of high-level vancomycin-resistant enterococci in French broilers and pigs. *Int J. Antimicrob. Agents* 32, 463-464.
- Khachatryan, A.R., Besser, T.E., Hancock, D.D., Call, D.R., 2006, Use of a nonmedicated dietary supplement correlates with increased prevalence of streptomycin-sulfa-tetracycline-resistant *Escherichia coli* on a dairy farm. *Applied and Environmental Microbiology* 72, 4583-4588.
- Lenski, R.E., Souza, V., Duong, L.P., Phan, Q.G., Nguyen, T.N.M., Bertrand, K.P., 1994, Epistatic effects of promoter and repressor functions of the Tn10 tetracycline-resistance operon on the fitness of *Escherichia coli*. *Molecular Ecology* 3, 127-135.
- Levin, B.R., Perrot, V., Walker, N., 2000, Compensatory mutations, antibiotic resistance and the population genetics of adaptive evolution in bacteria. *Genetics* 154, 985-997.
- Lindgren, P.K., Marcusson, L.L., Sandvang, D., Frimodt-Moller, N., Hughes, D., 2005, Biological cost of single and multiple norfloxacin resistance mutations in *Escherichia coli* implicated in urinary tract infections. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 49, 2343-2351.
- Luo, N., Zhang, Q., Naidan, L., Sonia, P., Orhan, S., 2007, Enhanced *in vivo* fitness of fluoroquinolone-resistant *Campylobacter jejuni* in the absence of antibiotic selection pressure. *Proceedings National Academy of Sciences USA* 102 (3), 541-546
- Macvanin, M., Hughes, D., 2005, Hyper-susceptibility of a fusidic acid-resistant mutant of *Salmonella* to different classes of antibiotics. *FEMS Microbiology Letters* 247, 215-220.
- Maher, M.C., Alemayehu, W., Lakew, T., Gaynor, B.D., Haug, S., Cevallos, V., Keenan, J.D., Lietman, T.M., Porco, T.C., 2012, The fitness cost of antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae*: Insight from the field. *PLoS ONE* 7.
- Martinez, J.L., 2012, Bottlenecks in the Transferability of Antibiotic Resistance from Natural Ecosystems to Human Bacterial Pathogens. *Frontiers in Microbiology | Antimicrobials, Resistance and Chemotherapy* 2, 1-5.
- McCallum, N., Karauzum, H., Getzmann, R., Bischoff, M., Majcherzyk, P., Berger-Bachi, B., Landmann, R., 2006, *In vivo* survival of teicoplanin-resistant *Staphylococcus aureus* and fitness cost of teicoplanin resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 50, 2352-2360.
- Michon, A., Allou, N., Chau, F., Podglajen, I., Fantin, B., Cambau, E., 2011, Plasmidic qnrA3 enhances *Escherichia coli* fitness in absence of antibiotic exposure. *PLoS ONE* 6.
- Millan, A.S., Garcia-Cobos, S., Escudero, J.A., Hidalgo, L., Gutierrez, B., Carrilero, L., Campos, J., Gonzalez-Zorn, B., 2010, *Haemophilus influenzae* clinical isolates with plasmid pB1000 bearing *bla* ROB-1: Fitness cost and interspecies dissemination. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 54, 1506-1511.
- Morosini, M.I., Ayala, J.A., Baquero, F., Martinez, J.L., Blazquez, J., 2000, Biological cost of AmpC production for *Salmonella enterica* serotype typhimurium. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 44, 3137-3143.
- Nielsen, K.L., Pedersen, T.M., Udekwu, K.I., Petersen, A., Skov, R.L., Hansen, L.H., Hughes, D., Frimodt-Moller, N., 2012, Fitness cost: a bacteriological explanation for the demise of the first international methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* epidemic. *J. Antimicrob. Chemother* 67, 1325-1332.
- Nilsson, O., Greko, C., Bengtsson, B., Englund, S., 2012, Genetic diversity among VRE isolates from Swedish broilers with the coincidental finding of transferrable decreased susceptibility to narasin. *Journal of Applied Microbiology* 112, 716-722.
- O'Neill, A.J., Huovinen, T., Fishwick, C.W.G., Chopra, I., 2006, Molecular genetic and structural modeling studies of *Staphylococcus aureus* RNA polymerase and the fitness of rifampin resistance genotypes in relation to clinical prevalence. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 50, 298-309.
- Pfister, P., Corti, N., Hobbie, S., Bruell, C., Zarivach, R., Yonath, A., Bottger, E.C., 2005, 23S rRNA base pair 2057-2611 determines ketolide susceptibility and fitness cost of the macrolide resistance mutation 2058A-G. *Proceedings National Academy of Sciences USA* 102, 5180-5185.
- Schrag, S.J., Perrot, V., Levin, B.R., 1997, Adaptation to the fitness costs of antibiotic resistance in *Escherichia coli*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 264, 1287-1291.
- Sun, S., Negrea, A., Rhen, M., Andersson, D.I., 2009, Genetic analysis of colistin resistance in *Salmonella enterica serovar typhimurium*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 53, 2298-2305.
- van Boven, M., Veldman, K.T., de Jong, M.C., Mevius, D.J., 2003, Rapid selection of quinolone resistance in *Campylobacter jejuni* but not in *Escherichia coli* in individually housed broilers. *J. Antimicrob. Chemother* 52, 719-723.
- Warner, D.M., Shafer, W.M., Jerse, A.E., 2008, Clinically relevant mutations that cause derepression of the *Neisseria gonorrhoeae* MtrC-MtrD-MtrE Efflux pump system confer different levels of antimicrobial resistance and *in vivo* fitness. *Molecular Microbiology* 70, 462-478.
- Zeitouni, S., Collin, O., Andraud, M., Ermel, G., Kempf, I., 2012, Fitness of macrolide resistant *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni*. *Microbial Drug Resistance* 18, 101-108.
- Zeitouni, S., Kempf, I., 2011, Fitness cost of fluoroquinolone resistance in *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni*. *Microbial Drug Resistance* 17, 171-179.