

**Effet des phtalates sur la physiologie des bactéries
pathogènes**
Sylvie Chevalier

► **To cite this version:**

Sylvie Chevalier. Effet des phtalates sur la physiologie des bactéries pathogènes : Impact des perturbateurs endocriniens sur la virulence de *Pseudomonas aeruginosa* et *Legionella pneumophila*, bactéries environnementales pathogènes pour l'homme. Les cahiers de la Recherche. Santé, Environnement, Travail, ANSES, 2019, Les perturbateurs endocriniens, pp.40-42. anses-02445174

HAL Id: anses-02445174

<https://hal-anses.archives-ouvertes.fr/anses-02445174>

Submitted on 14 Feb 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Effet des phtalates sur la physiologie des bactéries pathogènes

Impact des perturbateurs endocriniens sur la virulence de *Pseudomonas aeruginosa* et *Legionella pneumophila*, bactéries environnementales pathogènes pour l'homme

Sylvie CHEVALIER, Université de Rouen Normandie, Laboratoire de Microbiologie Signaux et Microenvironnement, LMSM EA4312, Centre de Sécurité Sanitaire de Normandie CCSN, Evreux

Jocelyne Caillon, Université de Nantes, Faculté de Médecine EA3826 / **Jean-Marc Berjeaud**, Université de Poitiers, EBI CNRS UMR 7267 / **Alain Dufour**, Université de Bretagne Sud, Laboratoire de Biotechnologie et Chimie Marines, Lorient

Projet de recherche en cours depuis 2018 (durée : 42 mois) – Financement : 199.878€ – Contact : sylvie.chevalier@univ-rouen.fr

Mots-clés : *Pseudomonas aeruginosa*, *Legionella pneumophila*, bactérie, pathogène, phtalate, perturbateur endocrinien, antibiorésistance, biofilm, *Acanthamoeba castellanii*, *Caenorhabditis elegans*

Les phtalates sont des composés chimiques, couramment utilisés comme plastifiants des matières plastiques (PVC). Ils entrent dans la composition de nombreux produits issus de l'industrie agro-alimentaire, cosmétique et automobile, jouets ou dispositifs médicaux, et sont libérés dans l'environnement alors que certains sont des perturbateurs endocriniens (PE).

Les PE peuvent exacerber les maladies infectieuses, et en augmenter la gravité, mais les mécanismes moléculaires sous-jacents n'ont pas encore été décryptés. Ils pourraient inhiber l'action des macrophages¹¹⁰, affaiblissant ainsi le système immunitaire. Ils pourraient également agir directement sur la

physiologie des bactéries pathogènes, modifiant ainsi leur virulence.

Des bactéries présentes dans l'environnement

Pseudomonas aeruginosa (*Pa*) est une bactérie capable de s'adapter à tous types d'environnements. C'est une bactérie opportuniste, qui peut donc devenir pathogène lorsqu'elle infecte des patients immunodéprimés. Cette faculté est liée à la présence de nombreux systèmes de perception des signaux, les senseurs, qui lui permettent d'engager une réponse moléculaire complexe à l'origine du déclenchement d'infections aiguës ou chroniques. *Pa* peut provoquer en effet chez des individus immunodéprimés des infections difficiles à endiguer du fait de sa capacité à produire des facteurs de virulence ou encore un biofilm¹¹¹ qui va la protéger et d'échapper au système immunitaire de l'hôte.

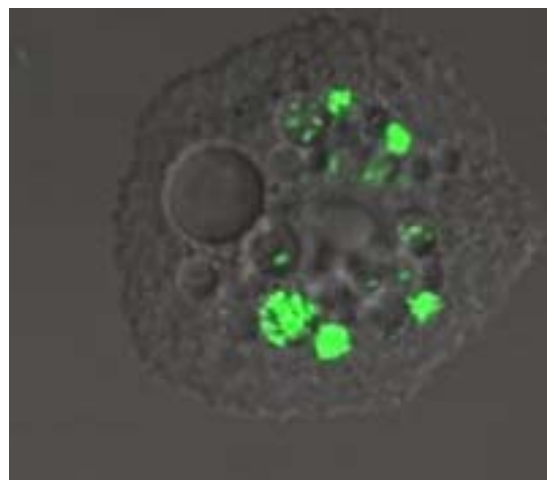


Illustration 20 : Amibe infectée par *Legionella pneumophila* marquée par la protéine fluorescente verte (Auteurs : Drs Alexandre Crépin et Julien Verdon, EBI, UMR 7267, Univ. Poitiers)

À l'origine de la légionellose (maladie du légionnaire), *Legionella pneumophila* (*Lp*) est une bactérie opportuniste qui peut coloniser les amibes et survivre dans les milieux aquatiques (eaux douces) sous forme de biofilm. On la retrouve aussi parfois dans les tours aéro-

¹¹⁰ Cellules du système immunitaire.

¹¹¹ Population organisée de micro-organismes fixée sur une surface vivante ou non.

réfrigérantes et les circuits d'eau chaude. Sa virulence se traduit par son degré d'infectiosité vis-à-vis de ses hôtes (ex. amibes, macrophages), sa résistance aux antibiotiques (ATB) et sa persistance (biofilm).

Une interaction potentielle

Dans les cellules dites « eucaryotes »¹¹², les phtalates sont capables de se fixer et activer les récepteurs nucléaires PPAR *alpha* et *gamma* impliqués dans l'inflammation. Mais, PPAR *gamma* est également le récepteur d'une molécule de communication bactérienne : la 3 oxo-C₁₂ homosérine lactone (3OC₁₂HSL). Cette interaction pourrait donc entraîner l'inactivation du récepteur nucléaire PPAR et augmenter l'inflammation au cours d'une infection :

- Chez *P. aeruginosa*, la 3OC₁₂HSL cible le régulateur de virulence LasR, conduisant à l'activation de tous les systèmes de communication entre ces bactéries (*Quorum sensing*) et à la production synchronisée des facteurs de virulence et/ou d'adhésion ;
- La 3OC₁₂HSL module également la prolifération de *L. pneumophila* et sa capacité à former des biofilms, le récepteur restant à identifier.

Toutes ces données suggèrent que les phtalates pourraient avoir des effets (in)directs sur les infections bactériennes, en modulant la physiologie des bactéries.

Le projet de recherche : IMPERIAL

L'objectif de ce projet de recherche est d'étudier l'impact de PE sur la virulence, la formation de biofilms et l'antibiorésistance de deux bactéries environnementales pathogènes opportunistes de l'homme : *Pseudomonas aeruginosa* (*Pa*) et *Legionella pneumophila*

¹¹² Qui présentent un véritable noyau, telles que les cellules humaines.

(*Lp*). Ce projet innovant et original vise à évaluer pour la première fois les effets des PE sur l'antibiorésistance de ces deux bactéries et à décrypter leurs modes d'action.

Les résultats permettront d'évaluer de nouveaux risques sanitaires liés aux PE :

- Sur le développement d'infections aiguës (planctoniques) et chroniques (biofilms) dans le cas de *Pa* ;
- Sur l'invasion, la persistance et le développement d'infections dans le cas de *Lp*.

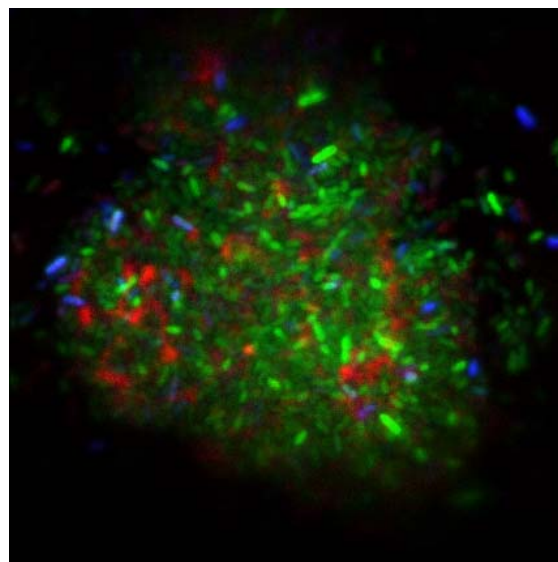


Illustration 21 : Biofilm de *Pseudomonas aeruginosa*. Les bactéries sont marquées en vert, les protéines matricielles en rouge et la matrice polysaccharidique en bleu. (Auteur : Dr Emeline Bouffartigues, LMSM, Univ. Rouen Normandie)

Méthodologie

1. Différents phtalates¹¹³ seront criblés, seuls ou en cocktails, pour leurs effets sur la

¹¹³ Phtalates de haut poids moléculaire (PM) : DEHP (Di(2-ethylhexyl) phtalate), DINP (phtalate de diisononyle) et DIDP (Diisodecyl phtalate) – Phtalates de bas PM : DEP (Phtalate de diéthyle), DMP (diméthyle phtalate) et DBP (phtalate de dibutyle) – Substitués aux phtalates : DINCH (cyclohexane-1,2-dicarboxylate de diisononyle), DEHTP (DEHT, téréphtalate de bis (2-éthylhexyle)), ATBC (acétylcitrate de tributyle) et TXIB (diisobutyrate de 2,2,4-triméthyl-1,3-pentanediol) – Molécules utilisées (pour lesquelles il existe peu

production de facteurs de virulence par *Pa* et sur l'infectiosité par *Lp* vis-à-vis de son hôte naturel *Acanthamoeba castellanii* (amibe). Les molécules présentant le plus d'impact seront ensuite testées pour leurs effets sur la virulence globale des bactéries sur cultures *in vitro* de cellules pulmonaires et de macrophages et sur l'antibiorésistance.

2. Différents phtalates¹¹⁴ seront testés sur la capacité de *Pa* et *Lp* à former un biofilm en microplaques. L'impact des molécules les plus actives sur le biofilm sera caractérisé par microscopie confocale à balayage laser.
3. Les phtalates, seuls ou en cocktails, ayant un impact significatif sur la virulence et/ou la formation de biofilms seront testés *in vivo* pour leurs effets sur la pathogénicité de *Pa* et *Lp* vis à vis du nématode *Caenorhabditis elegans*. Si ces effets sont confirmés, l'impact des molécules d'intérêt sur la virulence de *Pa* sera analysé *in vivo* sur un modèle murin d'infections chronique et aiguë¹¹⁵.

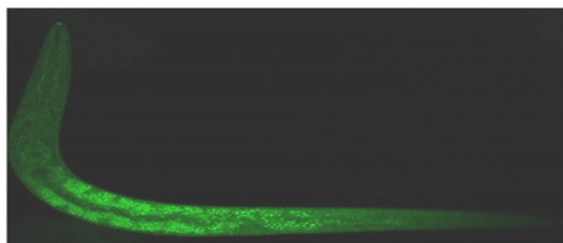


Illustration 22 : *Caenorhabditis elegans* infecté par *Pseudomonas aeruginosa* – PAO 1 contenant un plasmide portant le gène codant la GFP. Les bactéries qui ont envahi les tissus de *C. elegans* sont visibles en vert (Auteur : Pr. Olivier Lesouhaitier, LMSM, Univ. Rouen Normandie)

4. Les mécanismes d'action des phtalates les plus actifs seront décryptés par analyses globales et quantification des molécules

d'informations) : DOIP (di-2-éthylehexyle isophtalate) et DIOP (di-isooctylphtalate).

¹¹⁴ *Id.*

¹¹⁵ La souris n'étant pas un hôte naturel de *Lp*, sa virulence ne sera testée que sur le modèle *C. elegans*.

du *Quorum sensing* (QS). Les senseurs bactériens de ces molécules seront recherchés *in silico* et *in vivo*, puis identifiés et caractérisés.