

Les antibiotiques induisent la capture de gènes de résistance par les bactéries

Émilie Guerin, Guillaume Cambray, Sandra da Re, Didier Mazel, Marie-Cécile
Ploy

► **To cite this version:**

Émilie Guerin, Guillaume Cambray, Sandra da Re, Didier Mazel, Marie-Cécile Ploy. Les antibiotiques induisent la capture de gènes de résistance par les bactéries. médecine/sciences, EDP Sciences, inPress, 26 (1), pp.28-30. 10.1051/medsci/201026128 . hal-02949731

HAL Id: hal-02949731

<https://hal.inrae.fr/hal-02949731>

Submitted on 25 Sep 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.

organotypiques de tissus transgéniques. Parmi ces signaux, seule la Ntn-1 s'est avérée capable de provoquer l'effet répulsif recherché (Figure 1D). Ntn-1 est reconnue pour son rôle majeur dans le guidage axonal au cours du développement neural. Plus récemment, de nouvelles fonctions lui ont été attribuées dans l'expression de diverses propriétés, adhérence, motilité, prolifération, différenciation, survie cellulaires et angiogénèse et, plus récemment, migration des CSN [11].

Ntn-1 s'est révélée être l'élément clé de la migration des CSN puisque son inhibition, à elle seule, freine la formation du chemin de migration des cellules, latéral au PP. Serait-il possible que Ntn-1, dont l'expression augmente au site de la lésion lors d'une hémisection de la ME, participe à la migration des CSN hors du site de la lésion [12] ? Notre modèle *in vitro* de tranches organotypiques préparées à partir de la ME lésée de souris adultes et mises en coculture avec des CSN de la ME reproduit le comportement observé *in vivo*, migrant hors de la région lésée. Si l'on diminue

l'expression de Ntn-1 ou si l'on bloque la fonction de l'un de ses récepteurs, les CSN restent au niveau du site de la lésion démontrant une action directe de Ntn-1 (Figure 2B).

Ces résultats établissent clairement le rôle de Ntn-1 en tant qu'agent répulsif des CSN. Nous proposons donc une approche novatrice pour remodeler le centre de la lésion chez les souris : bloquer l'expression de Ntn-1 afin de permettre aux CSN de demeurer au site de la lésion. Le centre de la lésion serait alors occupé par des CSN ayant la capacité de se différencier en cellules gliales créant un microenvironnement favorable à la survie neuronale et à la régénération axonale. Dans l'ensemble, nos travaux contribuent à mieux comprendre les mécanismes d'action des molécules de signalisation endogène qui affectent la mobilité des CSN adultes dans le SNC sain ou lésé. ♦

Netrin-1 and stem cells, attraction or repulsion?

CONFLIT D'INTÉRÊTS

L'auteur déclare n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

- Schwab JM, Bregtel K, Mueller CA, et al. Experimental strategies to promote spinal cord regeneration—an integrative perspective. *Prog Neurobiol* 2006 ; 78 : 91-116.
- Silver J, Miller JH. Regeneration beyond the glial scar. *Nat Rev Neurosci* 2004 ; 5 : 146-56.
- Eftekharpour E, Karimi-Abdolrezaee S, Fehlings MG. Current status of experimental cell replacement approaches to spinal cord injury. *Neurosurg Focus* 2008 ; 24 : E19.
- Weiss S, Dunne C, Hewson J, et al. Multipotent CNS stem cells are present in the adult mammalian spinal cord and ventricular neuroaxis. *J Neurosci* 1996 ; 16 : 7599-609.
- Dromard C, Guillon H, Rigau V, et al. Adult human spinal cord harbors neural precursor cells that generate neurons and glial cells *in vitro*. *J Neurosci Res* 2008 ; 86 : 1916-26.
- Ke Y, Chi L, Xu R, et al. Early response of endogenous adult neural progenitor cells to acute spinal cord injury in mice. *Stem Cells* 2006 ; 24 : 1011-9.
- Hagg T. Molecular regulation of adult CNS neurogenesis: an integrated view. *Trends Neurosci* 2005 ; 28 : 589-95.
- Tessier-Lavigne M, Goodman CS. The molecular biology of axon guidance. *Science* 1996 ; 274 : 1123-33.
- Chedotal A, Renaud J. Nucleus translocation in migrating neurons: key control by Sema6A and plexin A2. *Med Sci (Paris)* 2008 ; 24 : 797-8.
- Petit A, Sellers DL, Liebl DJ, et al. Adult spinal cord progenitor cells are repelled by netrin-1 in the embryonic and injured adult spinal cord. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007 ; 104 : 17837-42.
- Mehlen P, Rama N. Netrin-1 and axonal guidance: signaling and asymmetrical translation. *Med Sci (Paris)* 2007 ; 23 : 311-5.
- Wehrle R, Camand E, Chedotal A, et al. Expression of netrin-1, slit-1 and slit-3 but not of slit-2 after cerebellar and spinal cord lesions. *Eur J Neurosci* 2005 ; 22 : 2134-44.

NOUVELLE

Les antibiotiques induisent la capture de gènes de résistance par les bactéries

Émilie Guérin, Guillaume Cambray, Sandra Da Re, Didier Mazel, Marie-Cécile Ploy

E. Guérin, S. Da Re : Université de Limoges, EA3175 ; Inserm, équipe Avenir Inserm, faculté de médecine, Limoges, France.
G. Cambray, D. Mazel : Institut Pasteur, unité Plasticité du génome bactérien, Paris, 28, rue du Docteur Roux, 75015 Paris, France.
M.C. Ploy : Université de Limoges, EA3175, Équipe Avenir Inserm, Limoges, France.
marie-cecile.ploy@unilim.fr

Les bactéries multirésistantes (BMR) aux antibiotiques ont été découvertes dans les années 1950 avec la mise en évidence des plasmides, vecteurs génétiques hébergeant plusieurs gènes de résistance aux antibiotiques et pouvant diffuser entre bactéries. Pendant de nombreuses années, la découverte régulière de nouvelles molécules anti-

biotiques a permis de contrôler ce phénomène. Nous connaissons aujourd'hui une période plus critique avec l'augmentation de la résistance des bactéries à de nombreux antibiotiques, avec parfois de véritables « monstres » résistants à toutes les molécules disponibles, conduisant les cliniciens dans de véritables impasses thérapeutiques [1]. Ce

phénomène de multirésistance est donc désormais un véritable enjeu de santé publique. Pour lutter contre ce fléau, les mesures d'hygiène et des règles de bon usage d'utilisation des antibiotiques sont nécessaires pour limiter la sélection de ces BMR et leur dissémination. Cependant, compte tenu du faible nombre de molécules antibiotiques innovantes pour



les prochaines années, une autre voie de recherche s'est ouverte dont l'objectif est de mieux comprendre les mécanismes d'acquisition des résistances aux antibiotiques dans le but de les prévenir.

La multirésistance bactérienne est majoritairement associée à l'acquisition d'ADN étranger *via* des supports génétiques mobiles : les plasmides, les transposons et les intégrons.

Les intégrons : support de résistance aux antibiotiques

Les intégrons sont des systèmes génétiques de capture et d'expression de régions codantes exogènes généralement sans promoteur connus sous le nom de « cassettes ». Décrits pour la première fois vers la fin des années 1980, ils sont composés de trois éléments fonctionnels essentiels : un gène (*intl*) codant une intégrase responsable de l'acquisition des cassettes par recombinaison spécifique de site, un site de recombinaison (*attI*) et un promoteur *Pc* (Figure 1A). L'intégrase est capable de catalyser l'intégration ou l'excision d'une cassette. L'intégration se fait généralement au site *attI*, en aval du promoteur *Pc*, permettant ainsi l'expression du gène nouvellement inséré [2].

On distingue deux types d'intégrons : les intégrons de multirésistance (MRI) généralement portés par des plasmides ou des transposons, et les intégrons chromosomiques, appelés aussi super-intégrons (SI) car ils contiennent un grand nombre de cassettes (entre 20 et 200 cassettes aux fonctions pour la plupart inconnues) [3].

Les MRI contiennent un nombre limité de cassettes (jusqu'à 8 cassettes) qui codent pour des résistances vis-à-vis de la plupart des antibiotiques connus (plus de 130 cassettes identifiées à ce jour) [4]. Les MRI sont trouvés majoritairement chez des bactéries à Gram négatif. Cinq classes de MRI ont été identifiées selon la séquence de l'intégrase, la classe 1 étant la plus fréquente.

Régulation de l'acquisition des cassettes de résistance

De nombreuses études ont montré que les MRI jouaient un rôle prépondérant dans la dissémination et l'acquisition des résistances aux antibiotiques par les bactéries à Gram négatif

chez l'homme comme chez l'animal, ou dans l'environnement. De plus, un lien entre multirésistance et intégrons a été établi, identifiant les intégrons comme un marqueur pertinent de multirésistance. Cependant, les mécanismes de régulation de recombinaison et d'acquisition des cassettes étaient encore inconnus jusqu'à très récemment. En effet, si le mécanisme de la recombinaison catalysée par l'intégrase *IntI1* des MRI de classe 1 commence à être bien caractérisé [5], la régulation de l'expression des intégrases d'intégrons est, en revanche, peu documentée. Malgré les formidables possibilités d'échanges de cassettes, certaines observations suggéraient que les rangées de cassettes étaient assez stables. En effet, des intégrons ayant un arrangement de cassettes identique ont été décrits dans des espèces bactériennes très différentes. De même, certaines cassettes codent des résistances à des antibiotiques qui ne sont, dans la pratique, plus utilisés en médecine humaine, tels que la streptomycine et la spectinomycine. Cette stabilité pourrait avoir plusieurs causes et, parmi celles-ci, il est probable que la faible activité de l'intégrase et/ou sa faible expression jouent un rôle majeur. Une des hypothèses est qu'il pourrait exister des stimulus capables d'induire l'expression de l'intégrase et donc l'acquisition de cassettes. Nous avons effectué une analyse détaillée des régions promotrices du gène *intl* de différents MRI et SI, ce qui nous a permis d'identifier une région conservée identifiée comme un site de fixation de la protéine LexA impliquée dans la réponse SOS des bactéries lors d'un stress [6].

Induction de l'acquisition de résistance *via* la réponse SOS

La protéine LexA est le répresseur transcriptionnel de la réponse SOS bactérienne qui est impliquée dans la réparation des dommages que l'ADN subit lors de différents stress. LexA réprime les gènes du régulon SOS en se fixant sur un site spécifique dans la région promotrice de ces gènes. Lors d'un stress, différentes

voies vont conduire à la formation d'ADN simple brin qui sera reconnu par la protéine RecA (qui procure un filament protéique) pour former un filament nucléoprotéique qui sera recruté par LexA. La formation de ce complexe LexA/filament nucléoprotéique va activer la capacité autoprotéolytique de LexA (Figure 1B), entraînant son clivage et la libération de ses sites de fixation, permettant ainsi l'expression des gènes du régulon SOS [7]. La réponse SOS est impliquée dans l'activation et la dissémination de facteurs de virulence et il a été établi que certains antibiotiques étaient capables de l'activer, directement ou indirectement [8].

La présence d'un site de fixation potentiel de LexA chevauchant l'élément -10 du promoteur du gène *intl* (Figure 1A), conservé à la fois dans les SI et les MRI, suggère donc fortement une régulation de l'expression des intégrases d'intégrons par la réponse SOS *via* LexA. Nous avons vérifié la fonctionnalité des sites de fixation de LexA dans les MRI de classe 1 et dans le SI de *Vibrio cholerae*, dans un premier temps *in vitro*, puis dans un deuxième temps, nous avons analysé l'expression de l'intégrase des deux types d'intégrons *in vivo* chez la bactérie en culture planctonique [6]. Nous avons ainsi pu montrer que l'expression de l'intégrase était spécifiquement et aussi directement induite en réponse à des agents chimiques connus pour induire la réponse SOS comme la mitomycine C ou encore certains antibiotiques (ciprofloxacine, triméthoprime et ampicilline). Enfin, nous avons aussi vérifié que l'induction de la synthèse de l'intégrase corrélait bien avec une augmentation de l'activité recombinase de cette protéine *in vivo*.

Mouvements de cassettes et prescription antibiotique

Aujourd'hui nous savons donc que le système MRI est régulé. L'acquisition de nouvelles cassettes de résistance ou le réarrangement de ces cassettes au sein d'un intégron ne pourra se produire qu'en conditions d'activation de la réponse SOS et donc de production d'intégrase. La régulation négative de l'expression de l'intégrase d'intégrons offre plusieurs avantages à la bactérie. D'une part, une économie énergétique - l'intégrase n'étant produite que lorsqu'elle est

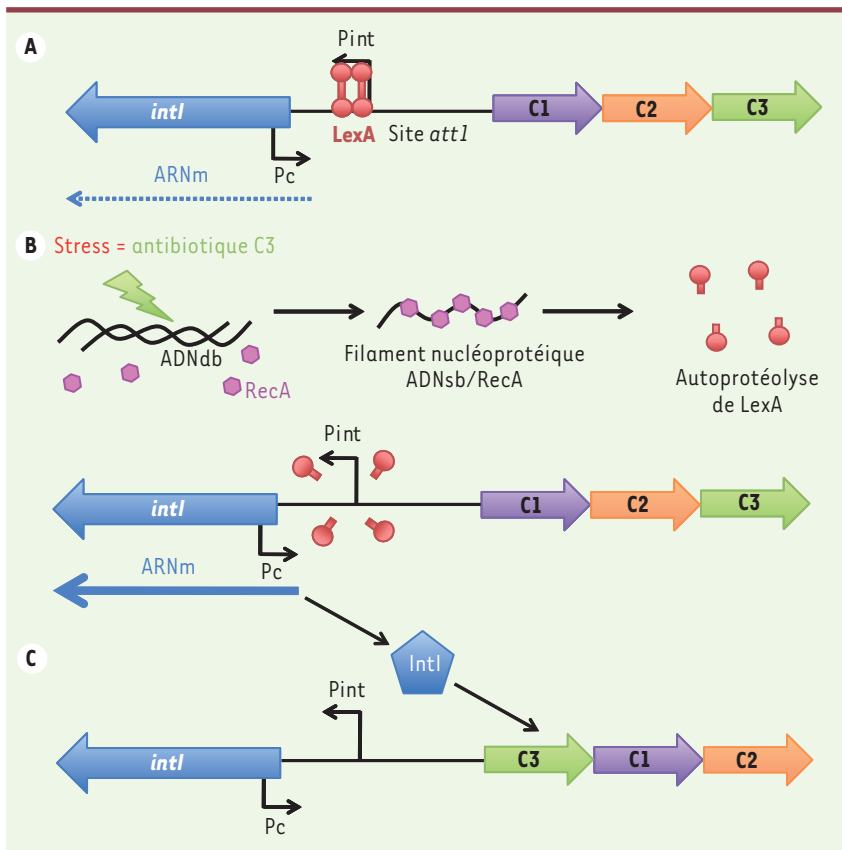


Figure 1. Schéma d'un intégron et de la régulation exercée par LexA. **A.** schéma de la plate-forme fonctionnelle d'un intégron, la protéine LexA chevauche le promoteur de l'intégrase (*Pint*). **B.** Lors d'un stress conduisant à la formation d'ADNsb, par exemple par un antibiotique dont la résistance est codée par la 3^e cassette, le filament nucléoprotéique ADNsb/RecA conduit à l'autoprotéolyse de LexA et donc à l'activation de la réponse SOS. Le promoteur de l'intégrase est alors libéré. **C.** L'intégrase alors produite effectue un réarrangement des cassettes, ramenant la 3^e cassette en première position, pour permettre à la bactérie de résister au stress antibiotique qu'elle subit.

ces exemples car des résultats récents ont aussi démontré l'implication de la réponse SOS dans la résistance aux quinolones via le gène *qnrB2*, avec induction de son expression par les quinolones elles-mêmes [9]. Ces découvertes font de la protéine LexA un candidat de choix pour le développement de molécules permettant de lutter contre la résistance. ♦

The SOS response controls antibiotic resistance by regulating the integrase of integrons

CONFLIT D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

- Zahar JR, Lanterrier F, Lortholary O, et al. Les Entérobactéries sécrétrices de β -lactamase à spectre élargi (EBLSE) sont désormais aussi communautaires. *Med Sci (Paris)* 2009 ; 25 : 939-44.
- Mazel D. Integrons: agents of bacterial evolution. *Nat Rev Microbiol* 2006 ; 4 : 608-20.
- Rowe-Magnus DA, Guerout AM, Ploncard P, et al. The evolutionary history of chromosomal super-integrons provides an ancestry for multiresistant integrons. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001 ; 98 : 652-7.
- Partridge SR, Tsafnat G, Coiera E, Iredell JR. Gene cassettes and cassette arrays in mobile resistance integrons. *FEMS Microbiol Rev* 2009 ; 33 : 757-84.
- Bouvier M, Demarre G, Mazel D. Integron cassette insertion: a recombination process involving a folded single strand substrate. *EMBO J* 2005 ; 24 : 4356-67.
- Guerin E, Cambray G, Sanchez-Alberola N, et al. The SOS response controls integron recombination. *Science* 2009 ; 324 : 1034.
- Erill I, Campoy S, Barbe J. Aeons of distress: an evolutionary perspective on the bacterial SOS response. *FEMS Microbiol Rev* 2007 ; 31 : 637-56.
- Kelley WL. Lex marks the spot: the virulent side of SOS and a closer look at the LexA regulon. *Mol Microbiol* 2006 ; 62 : 1228-38.
- Da Re S, Garnier F, Guerin E, et al. The SOS response promotes *qnrB* quinolone-resistance determinant expression. *EMBO Rep* 2009 ; 10 : 929-33.

nécessaire à la bactérie pour s'adapter au stress - et d'autre part, une stabilité du nombre de cassettes présentes dans l'intégron et de leur arrangement. Ce système permet ainsi à la bactérie de garder plusieurs gènes de résistance aux antibiotiques pour la plupart de façon silencieuse. En effet, plus une cassette est éloignée du promoteur *Pc* moins elle sera exprimée. Les modèles actuels sur la résistance aux antibiotiques considèrent que les mécanismes de résistance ont un coût énergétique pour la bactérie et que en l'absence d'exposition antibiotique, la résistance serait perdue. Or dans le système MRI, un gène de résistance peut être présent sans s'exprimer s'il est éloigné de *Pc* et la bactérie apparaîtra alors sensible. Dans des conditions de stress, l'activation de l'intégrase permettra le réarrangement interne des cassettes au sein de l'intégron pour rapprocher un gène silencieux du promoteur *Pc* permettant ainsi un niveau d'expression supérieur (Figure 1C).

Nos résultats montrent que non seulement il existe une régulation de l'expression de l'intégrase par la réponse SOS et que celle-ci peut être induite par certains antibiotiques, mais aussi que le taux d'intégrase alors produit pourrait entraîner des mouvements de cassettes pouvant potentiellement conduire la bactérie à s'adapter au stress auquel elle fait face. Ainsi, lors de la prescription d'antibiotiques, l'antibiotique induit lui-même, en agissant sur l'expression de l'intégrase via la réponse SOS, l'acquisition ou l'expression de la résistance.

Conclusion et perspectives

La réponse SOS est un formidable outil d'adaptabilité pour la bactérie. Si son rôle dans l'activation et la dissémination de facteurs de virulence était déjà connu, nous savons maintenant que cette réponse SOS régule aussi l'expression de l'intégrase des intégrons et peut donc modifier la capacité de résistance des bactéries. Ce rôle ne se limite pas à