

## Chapitre 11

# VARIATION GENETIQUE BACTERIENNE ET RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES, ENJEU MAJEUR DU XXI<sup>è</sup> S

Comment expliquer le maintien de certains allèles de bactéries résistantes aux antibiotiques pour comprendre et agir sur le le préoccupant problème actuel auquel l'Humanité est confrontée en terme de santé mondiale ?

## I / LES ANTIBIOTIQUES SAUVENT DES VIES MAIS SONT AUSSI DES ESPOIRS DECHUS D'ERADICATION DES BACTERIES PATHOGENES POUR SAPIENS

Une **bactérie** est un être vivant unicellulaire limité par une membrane cytoplasmique doublée d'une **paroi** (double membrane de composition chimique lipido-protéique différente selon les groupes) , dont l'apparition est datée d'au moins - 3,5 Ga, à un **seul chromosome circulaire d'ADN (nucléotide)** non protégé par une enveloppe nucléaire, libre dans le cytoplasme, ce dernier contenant aussi des **fragments d'ADN circulaires** appelés **plasmides**, extra-chromosomiques, capables de réplication indépendante de l'ADN chromosomique. Les gènes qu'ils portent ne sont pas indispensables à la bactérie, au contraire du chromosome mais lui sont souvent avantageux, comme les **gènes de résistance aux antibiotiques**. De nombreux **ribosomes** utiles à la traduction des ARNm en protéines et parfois un **flagelle (pilus)** ponctuent sa forme.

remarque : l'Humain ouvre les plasmides pour faire des OGM en y insérant des gènes d'intérêt et de sélection

Certaines nous sont **pathogènes** (vient du grec pathos « maladie, infection » et de genês « engendrer » = donc qui peut-être responsable d'un trouble de santé pour l'hôte), d'autres **symbiotiques (mutualisme des microbiotes cutanés, gastro-intestinal, vaginal, bronchique, cérébral, mammaire)**

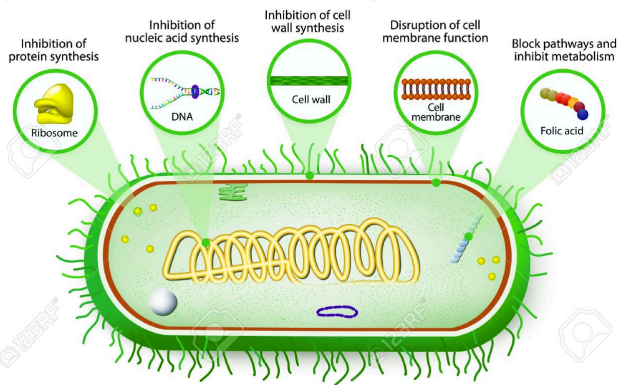
### A/ Définition & découverte il y a 95 ans

Les antibiotiques sont des molécules d'origine naturelle ou de synthèse à action spécifique antibactérienne (bactéricides, les tuant ou bactériostatiques, inhibant leur reproduction), agissant à faible dose, sans effet sur les Virus ou les Champignons. Synthétisés par des micro-organismes (champignons ou bactéries), ils leur permettent d'éliminer les bactéries concurrentes avec lesquelles ils sont en compétition dans leur milieu (voir l'auréole d'inhibition de production autour de la colonie de Pénicillium ayant contaminé ses cultures bactériennes, boîtes historiques de Fleming, 1928). Ils ne provoquent pas, contrairement aux idées reçues, de fatigue.

1928 : 1er antibiotique, la pénicilline découvert par Alexander Fleming chez le champignon *Penicillium notatum*. La pénicilline a été ensuite **produite industriellement à partir de 1944** et a rapidement permis de vaincre de graves infections. **Les antibiotiques ont ainsi fait progresser l'espérance de vie de plus de 10 ans au XX<sup>è</sup>S, soit plus qu'aucun autre médicament à tel point qu'ils ont rapidement été considérés comme des "médicaments miracles". L'efficacité des antibiotiques a conduit à développer leur usage non thérapeutique (en médecine vétérinaire, comme additifs dans l'alimentation animale pour les faire grossir ou dans le traitement des maladies bactériennes des plantes).**

Un même antibiotique n'agit pas sur toutes les bactéries. Pour déterminer l'antibiotique le plus efficace contre un germe donné, on réalise un **antibiogramme** : la bactérie est cultivée sur milieu gélosé dans un boîte de Pétri en présence de disques de buvard imprégnés d'antibiotiques : chacun diffuse à partir du disque et sa concentration est d'autant plus faible que l'on s'éloigne du disque : plus l'auréole d'inhibition est grande, plus l'antibiotique est efficace. Pour un antibiotique donné, une souche donnée est soit sensible S, résistante R ou intermédiaire I. C'est donc un moyen de mettre en évidence et de quantifier l'action d'antibiotiques sur une souche bactérienne : il est fréquemment réalisé à l'hôpital.

# MECHANISMS OF ANTIBIOTIC ACTION



## B/ Mode d'action

Chaque famille d'antibiotiques se fixe sur une cible spécifique et bloque une étape essentielle du développement de la bactérie : synthèse de la paroi (A : pénicillines, céphalosporine), de la membrane cytoplasmique (B : polymyxines), de l'ADN (C : quinolones), des protéines par les ribosomes (D : streptomycine, chloramphénicol, tétracyclines).

Cette action anti-fonctionnement des ribosomes bactériens est sélective car nulle sur ceux des Eucaryotes.

## Pourquoi les antibiotiques ne sont pas efficaces sur les virus ?

L'immense majorité des Virus ne possède pas de métabolisme propre : pour se multiplier, ils détournent les outils de la cellule qu'ils colonisent. Ne présentant pas les cibles sur lesquelles les antibiotiques sont actifs, les virus leur échappent. Seuls les antiviraux permettent éventuellement d'en venir à bout.

### **DOCUMENT 9** Cibles bactériennes des antibiotiques.

Tous les moyens qui permettent aux bactéries de s'opposer à l'action des antibiotiques résultent de la modification de leur génotype, donc de mutations. Celles-ci sont ensuite transmises à tous les descendants de la bactérie mutante.

## II / ORIGINE, MAINTIEN ET TRANSMISSION DE LA RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES

<https://www.youtube.com/watch?v=DyOsSJ8FeAs&feature=youtu.be>

<https://www.youtube.com/watch?v=yybsSqcB7mE>

### A/ Exemples de bactéries résistantes (échelle cellulaire de phénotype)

**Pour être actif, un antibiotique doit parvenir au contact de la bactérie, y pénétrer, ne pas être désactivé et se fixer sur sa cible. Si l'une de ces conditions n'est pas remplie, il est inefficace, c'est le phénomène de résistance.**

On distingue des **résistances naturelles** qui s'observent chez tous les individus d'une même espèce (par exemple, les bactéries productrices d'antibiotiques sont insensibles aux substances qu'elles produisent) et des **résistances acquises** qui ne s'observent que dans quelques souches d'une espèce normalement sensible (acquise par exemple par mutation spontanée ou transfert d'ADN dit horizontal d'ADN de résistance d'une autre bactérie)

### 1/ Escherichia Coli

E.Coli est une bactérie intestinale de Mammifères, très commune chez l'Humain. Commensale (à mode d'alimentation par les nutriments débris de repas de l'hôte humain, sans lui causer de tort, hôte, qui le laisse faire), mais à souches virulentes pathogènes possibles pouvant provoquer des gastroentérites, des infections urinaires (cystites, ..), des septicémies ...

Chez 2 malades atteints d'une infection à E.Coli, on recherche le (ou les) antibiotique(s) efficaces sur les souches responsables en réalisant un antibiogramme.

#### Principe :

- 1/ ensemencement d'un milieu gélosé d'une boîte de Pétri avec la souche à tester de bactéries
- 2/ dépôt de disques de papier filtre imbibé chacun d'un antibiotique différent
- 3/ placement du tout à l'étuve (37°C) 24h, l'antibiotique diffusant dans le milieu de culture
- 4/ appréciation des disques d'inhibition (absence de couleur blanche) de multiplication : plus le diamètre d'inhibition de contact est élevé, plus l'antibiotique est efficace / s'il n'y en a pas, on peut déclarer l'antibiotique inefficace (colonies de bactéries blanches non repoussées)

On administre aux patients 1 ou plusieurs antibiotiques différents, les plus efficaces contre la souche.

Les bêta-lactamases sont des protéines enzymatiques, naturellement présentes chez les bactéries, comme Escherichia coli qui est naturellement insensible à la pénicilline. Alors que les souches sauvages (bactéries SHV-1) sont sensibles aux antibiotiques de la famille des bêta-lactamides (exemple la céfotaxime qui agit en inhibant la synthèse de la paroi

bactérienne) des souches dérivées (bactéries SHV-2) sont résistantes. Elles possèdent en effet une enzyme légèrement différente qui leur permet de dégrader aussi ces antibiotiques.

## 2/ Staphylococcus aureus

C'est l'une des bactéries responsables d'infections. Présente sur les muqueuses, surtout le nez, il a un fort pouvoir pathogène : infections cutanées, de plaies, infections post-opératoires, infections nosocomiales graves (du grec « nosos » = maladie et « komein » soigner, = se dit de maladies contractées à l'hôpital)

voir planche : la résistance a d'abord été détectée chez quelques souches (par exemple à la pénicilline) puis elle se généralise au cours du temps (un effectif résistant comme tout autre double toutes les 20 min en conditions favorables). Après quelques années, la majorité des souches sont résistantes : le même phénomène se produit lorsqu'on utilise un nouvel antibiotique (comme la méticilline) : certaines souches de Staphylocoques sont devenues multirésistantes.

### Comment expliquer l'apparition de cette résistance et son expansion ?

#### B/ La cause naturelle interne : des modifications génomiques des bactéries (échelle génotypique et moléculaire de phénotype)

##### 1/ la mutation spontanée dans le génome (20% des cas)

Les mutations sont rares, spontanées avec des fréquences de l'ordre de  $10^{-6}$  à  $10^{-9}$ . Chez certaines bactéries, le taux de mutation peut être 1000 fois plus élevé en raison de mutations touchant les gènes mut du système de réparation de l'ADN bactérien : la sélection naturelle a ainsi sélectionné un processus de réplication moins fidèle, plus « risqué » mais à bénéfice potentiel de création de nouveauté génétique pouvant apporter survie, résistance, meilleure reproduction des individus au sein de l'espèce avec au passage beaucoup de mutants défavorisés qui disparaissent (meilleure valeur sélective ou fitness parmi les individus d'une population de bactéries dans son milieu). Ceci fonde leur adaptabilité à beaucoup de milieux que n'ont pas d'autres espèces terrestres

Les antibiotiques ne sont pas mutagènes mais sélectionnent les rares mutants résistants au sein d'une population car ils détruisent ou inhibent uniquement les bactéries sensibles. Cette résistance confère un avantage sélectif à la souche mutante qui lui permet de se multiplier en présence de l'antibiotique. Et cela d'autant plus qu'elle est débarrassée de la compétition avec la souche sauvage non mutante. La probabilité d'obtenir par mutation des bactéries résistantes à 2 antibiotiques (doubles mutants) est égale au produit de la probabilité d'apparition de chacune des mutations considérées indépendamment (soit  $10^{-12}$  à  $10^{-18}$ ). Cela devrait donc être exceptionnel. Pourtant, on observe souvent des souches résistantes à plusieurs antibiotiques.

=> hypothèse : un autre mécanisme intervient.

pour aller beaucoup plus loin :

##### 2/ le transfert de gène additionnel dans le génome bactérien (80% des cas)

**a/ le clonage ou mitose** avec 2 copies conformes bactéries filles issues d'une même bactérie mère ayant un gène de résistance au moins : en conditions favorables (pH, température, métabolites énergétiques ..), l'effectif de bactéries double en 20 à 30 min !

**b/ La conjugaison** est le mécanisme de transfert de gène le plus fréquent. Une bactérie donneuse A entre en contact avec une bactérie receveuse B. Un seul des 2 brins de l'ADN d'un plasmide est transféré puis, après séparation, chaque cellule synthétise le brin complémentaire. Un gène de résistance peut ainsi être transféré entre bactéries, même si elles appartiennent à des espèces différentes, c'est une transmission horizontale (THG).

**c/ la transformation**

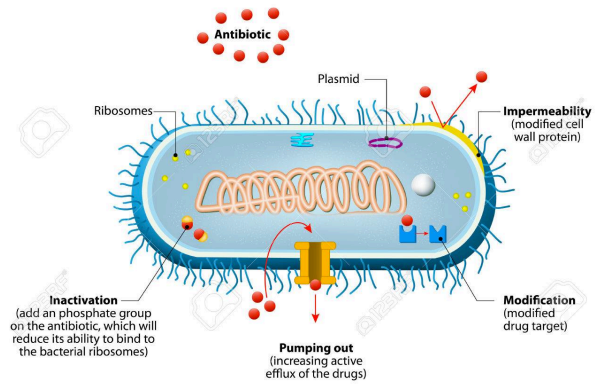
=> le processus est exponentiel : au cours de chaque transfert, l'information génétique responsable de la résistance est dupliquée, ce qui multiplie la prolifération résultant des divisions cellulaires. Une bactérie peut héberger plusieurs plasmides et il n'est pas rare qu'un même plasmide véhicule plusieurs gènes de résistance (jusqu'à 7). L'acquisition d'un tel plasmide par une bactérie lui permet d'être multirésistante en 1 seule étape.

## 3/ Les 3 modes de résistances

- 1/ **impermeabilité à leur pénétration ou en les rejetant**
- 2/ **modification de leurs cibles par expression génétique d'un allèle mutant apparu par hasard**
- 3/ **production d'enzymes neutralisantes (protéines de catalyse d'une réaction chimique sur l'antibiotique)**

C'est en France que la résistance des Pneumocoques est la plus élevée en 2005 avec un taux supérieur à 50% alors qu'ils étaient largement sensibles à cet antibiotique 15 ans plus tôt : cela est en relation avec la consommation d'antibiotiques. En

# MECHANISMS OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE



Europe, celle-ci peut être schématiquement divisée en 3 zones : Pays du Nord, faibles consommateurs d'antibiotiques, pays de l'Est, consommateurs modérés et pays du bassin méditerranéen, notamment la France, forts consommateurs. Toutefois, ces écarts tendent à se réduire, même s'ils demeurent importants. En France, la consommation totale d'antibiotiques a diminué de -16% au cours des 10 dernières années mais on observe à nouveau une tendance à la hausse depuis 2005. Les efforts conjoints de vaccination et de réduction des consommations d'antibiotiques, notamment chez les enfants, ont permis une réduction constante, depuis 2003, de la proportion de Pneumocoques résistants à la pénicilline pour atteindre 27 % en 2009.

**L'acquisition de la résistance à un antibiotique ne signifie pas l'augmentation de la virulence : les formes mutantes ne sont ni plus ni moins pathogènes que les formes non mutantes.**

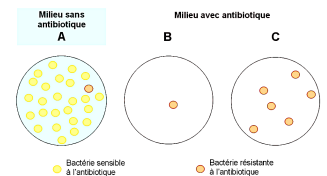
## C/ la cause environnementale externe : la sélection naturelle opérée par pression de sélection humaine : des pratiques inappropriées ont aggravé le développement de résistances

Depuis quelques décennies, l'utilisation trop systématique d'antibiotiques a accentué les phénomènes naturels de résistance en accentuant l'apparition des multi-résistances.

En cause :

- des traitements inappropriés (durée, mauvaise molécule, mauvais dosage, automédication, traitements préventifs ...)
- des traitements préventifs dans l'élevage animal (volailles, porcs)
- des utilisations en élevage pour faire grossir les animaux afin d'étendre les profits (détournement de son utilisation comme facteur de soin anti-bactérien)
- utilisation de biocides proches des antibiotiques dans des désinfectants (savons, nettoyants soins désinfectants hôpitaux)

Les bactéries développent des résistances plus vite que le temps mis à trouver de nouveaux antibiotiques. Parfois, il faut faire appel à d'anciens antibiotiques pour se débarrasser de certaines bactéries (voir la colistine par exemple)



## Bilan :

Les antibiotiques sont des molécules d'origine naturelle produites par des bactéries, des champignons ou HUMAINES de synthèse, à action spécifiquement antibactérienne et agissant à faible dose. Leur découverte (Fleming, 1928) et leur utilisation ont permis de vaincre un grand nombre d'infections dans la 2<sup>e</sup> moitié du XX<sup>e</sup> S. Certaines bactéries possèdent des résistances naturelles aux antibiotiques (par exemple, les bactéries productrices d'antibiotiques sont insensibles aux substances qu'elles produisent). Cependant, des mutations spontanées aléatoires dues aux agents mutagènes et à l'infidélité des ADN polymérase et des mécanismes de transfert de gènes provoquent une variation génétique dans les populations de bactéries. Parmi ELLES, certaines font systématiquement apparaître des résistances acquises à 1 ou plusieurs antibiotiques (bactéries multirésistantes). L'application d'un antibiotique sur une population bactérienne détruit les souches sensibles (sélection naturelle négative) mais opère une sélection naturelle positive sur les souches résistantes, permettant leur multiplication dans un environnement sans compétition : c'est un exemple d'évolution visible à l'échelle humaine. L'utilisation abusive des antibiotiques (trop ou à contre-emploi comme faire grossir les animaux d'élevage) favorise donc le développement des souches résistantes, ce qui rend inefficace à moyen terme l'utilisation du médicament et pose des problèmes de santé publique très préoccupants.

L'apparition de souches résistantes et leur expansion s'explique par des mécanismes de l'évolution : mutation due au hasard, pression sélective par l'antibiotique. L'utilisation systématique de traitements antibiotiques augmente la fréquence de souches résistantes.

La diffusion dans la population humaine est possible par transmission entre individus (contagion).

**NB : il existe des alternatives comme l'utilisation de sprays à base de bactériophages, virus détruisant les bactéries que l'on trouve dans différents milieux terrestres et inoffensifs chez l'Homme.**

<https://www.futura-sciences.com/sante/actualites/medecine-antibiotiques-meme-faible-dose-induit-resistance-bacterienne-45853/>

<https://www.youtube.com/watch?v=DyOsSj8FeAs>

<https://www.youtube.com/watch?v=LIDBmyT3YfA> : DIRTY BIOLOGY

[https://www.nouvelobs.com/2049/20191227\\_OBS22814/Les-eligobiotiques-ces-antibiotiques-francais-du-futur-qui-ciblent-les-bacteries-resistantes.html?fbclid=IwAR0Qc5xPOVtDqvP\\_QT91XkDhB2M0\\_uR6W9ZwKjegQ2nn1i7luHBqkOgOouA](https://www.nouvelobs.com/2049/20191227_OBS22814/Les-eligobiotiques-ces-antibiotiques-francais-du-futur-qui-ciblent-les-bacteries-resistantes.html?fbclid=IwAR0Qc5xPOVtDqvP_QT91XkDhB2M0_uR6W9ZwKjegQ2nn1i7luHBqkOgOouA)

<https://planet-vie.ens.fr/thematiques/microbiologie/bacteriologie/la-resistance-aux-antibiotiques>