



RÉFÉRENCES

- Fenner F, Fantini B. *Biological control of vertebrate pests. The history of myxomatosis, an experiment in evolution*. Oxon : CABI Publishing, 1999 : 340 p.
- Woolhouse MEJ, Webster JP, Domingo E, et al. Biological and biomedical implications of the co-evolution of pathogens and their hosts. *Nat Genet* 2002 ; 32 : 569-77.
- Kerr PJ. Myxomatosis in Australia and Europe: a model for emerging infectious diseases. *Antiviral Res* 2012 ; 93 : 387-415.
- Kerr PJ, Cattadori IM, Liu J, et al. Next step in the ongoing arms race between myxoma virus and wild rabbits in Australia is a novel disease phenotype. *Proc Natl Acad Sci USA* 2017 ; 114 : 9397-402.
- Sobey WR, Conolly D. Myxomatosis: non-genetic aspects of resistance to myxomatosis in rabbits, *Oryctolagus cuniculus*. *Aust Wildl Res* 1986 ; 13 : 177-87.
- Alves JM, Carneiro M, Cheng JY, et al. Parallel adaptation of rabbit populations to myxoma virus. *Science* 2019 ; 363 : 1319-26.
- Manry J, Quintana-Murci L. Génétique des populations et immunité chez l'homme : le cas des interférons. *Med Sci (Paris)* 2012 ; 28 : 1095-101.
- Marshall ID, Fenner F. Studies in the epidemiology of infectious myxomatosis of rabbits. V. Changes in the innate resistance of Australian wild rabbits exposed to myxomatosis. *J Hyg* 1958 ; 56 : 288-302.
- Queney G, Ferrand N, Marchandau S, et al. Absence of a genetic bottleneck in a wild rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) population exposed to a severe viral epizootic. *Mol Ecol* 2000 ; 9 : 1253-64.

NOUVELLE

Un nouveau mécanisme de résistance aux antibiotiques

Le recyclage des ribosomes

Mélie Duval¹⁻³, Pascale Cossart¹⁻³

L'enjeu de la résistance aux antibiotiques

Chez les bactéries, résister aux antibiotiques est un enjeu majeur pour leur survie. Si ces agents anti-bactériens sont depuis les années 1950 largement utilisés dans des stratégies thérapeutiques, leur origine est bien plus ancienne. En effet, les microbes qui les produisent (les champignons, les bactéries) en font usage depuis toujours afin de coloniser des niches écologiques en inhibant, voire en tuant, leurs compétiteurs. Afin de résister à ces antibiotiques, les bactéries possèdent initialement, ou ont acquis par transfert, de nombreux gènes leur permettant de s'en protéger. Leurs capacités de résistance sont ainsi en fait soit intrinsèques, c'est-à-dire dues à des propriétés qui leur sont spécifiques, comme la présence d'une membrane externe qui les protège, soit acquises, provenant d'autres bactéries via des éléments génétiques mobiles et transmissibles, tels que les plasmides ou les transposons.

Les mécanismes de résistance les plus répandus permettent aux bactéries soit d'expulser les antibiotiques dès leur

pénétration, soit d'en empêcher l'entrée. Elles peuvent aussi les dégrader ou les modifier, les rendant ainsi inefficaces. Elles peuvent enfin transformer la cible de l'antibiotique, de sorte que celui-ci ne puisse plus agir (Figure 1).

Un nouveau mécanisme de résistance

Notre laboratoire étudie depuis de nombreuses années, la bactérie *Listeria monocytogenes* responsable de la listériose, et devenue un modèle pour la recherche en biologie des infections [1]. Cette bactérie pathogène possède une extraordinaire capacité à s'adapter aussi bien aux stress de l'environnement, ce qui lui permet, par exemple, de survivre et de se multiplier sur le sol, qu'aux différents traitements qu'elle rencontre dans la chaîne alimentaire (addition de sel, congélation, etc.). Cette adaptabilité résulte d'un arsenal de gènes qu'elle possède, et dont elle régule finement l'expression, grâce à différents mécanismes comme les *thermoswitches*¹, qui lui permettent de

¹Département de biologie cellulaire et infection, Unité des interactions bactéries-cellules, Institut Pasteur, 25-28, rue du Docteur Roux, 75015 Paris, France.

²Inserm, U604, F-75015 Paris, France.

³INRA, unité sous contrat H2020, F-75015 Paris, France.

pascale.cossart@pasteur.fr

détecter par la température son entrée dans un organisme, et ainsi d'exprimer des gènes critiques pour sa virulence [2].

Nos collaborateurs de l'Institut Weizmann (Israël), avec qui nous avons identifié les sites de démarrage de l'initiation de transcription de tous les gènes de *Listeria* exprimés après sa croissance dans différentes conditions de culture [3], ont récemment développé une technique, appelée « *term-seq* », permettant d'identifier précisément, non seulement les sites de fin de transcription, mais aussi la quantité de transcrits produits selon les conditions de culture. En effet, la transcription de certains gènes, après son démarrage, peut soit s'arrêter très rapidement, le gène n'est alors pas exprimé, soit continuer jusqu'à transcription complète du gène (Figure 2). La technique « *term-seq* » permet d'identifier les gènes qui sont soumis à cette régulation.

Nous avons étudié par cette méthode, le comportement de *Listeria* en l'absence ou en la présence de deux antibiotiques, la lincomycine et l'érythromycine [4].

¹ Interrupteurs thermiques.

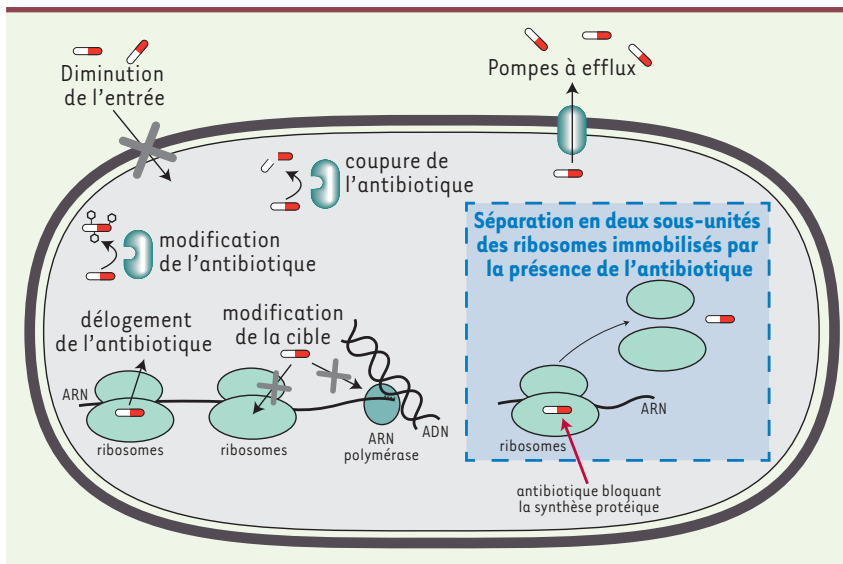


Figure 1. Différents types de résistance aux antibiotiques. Les mécanismes de résistance chez les bactéries sont variés. Les principaux permettent à la bactérie d'expulser l'antibiotique ou d'empêcher son entrée, de le dégrader ou le modifier afin de le rendre inactif, de le déloger ou de modifier la machinerie cible afin de l'empêcher d'agir. Nous décrivons un nouveau mécanisme de résistance par lequel les ribosomes bloqués sont dissociés en deux sous-unités libres, permettant ainsi le redémarrage de la synthèse protéique.

Ces antibiotiques agissent sur les ribosomes, une machinerie essentielle à la croissance des bactéries, et altèrent ainsi la synthèse protéique. Les résultats que nous avons obtenus montrent que plusieurs gènes sont spécifiquement exprimés en présence de ces antibiotiques : en leur absence, un court transcrite est détecté, mais le gène lui-même n'est pas transcrit ; en leur présence, un long transcrite est produit et le gène est alors exprimé.

L'un des gènes soumis à cette régulation, le gène *hflX*, est particulièrement intéressant. Il avait été étudié chez deux bactéries, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, et le mode d'action de la protéine produite par ce gène, identifié : la protéine HflX permet en effet le recyclage des ribosomes qui ont été bloqués par un choc thermique [5,6]. HflX dissocie le ribosome en deux sous-unités libres, qui peuvent se réassembler et réamorcer la synthèse protéique. Il était donc tentant de penser que chez *Listeria monocytogenes* ce gène puisse être un équivalent qui serait actif en

présence des antibiotiques qui bloquent le ribosome.

Afin d'étudier si le gène *hflX* était impliqué dans la résistance aux antibiotiques de *L. monocytogenes*, nous l'avons éliminé du génome de la bactérie, et avons exposé les bactéries à différentes doses d'antibiotiques. Les bactéries dont le gène *hflX* avait été supprimé se sont révélées plus sensibles à l'action de l'antibiotique, démontrant l'implication de HflX dans la résistance de la bactérie aux antibiotiques. Nous avons renommé *hflXr*, ce gène chez *L. monocytogenes*, « r » signifiant résistance.

Afin de tester si, comme chez *S. aureus* et *E. coli*, *hflXr* de *Listeria* participait au recyclage des ribosomes, nous avons analysé la répartition des sous-unités des ribosomes chez des bactéries possédant ou non le gène *hflXr* lorsqu'elles croissent en présence d'antibiotiques. Une augmentation du nombre de ribosomes assemblés a été observée dans les bactéries dont le gène *hflXr* avait été éliminé, signe d'un dysfonctionnement du recyclage ribosomique. Ainsi, comme

chez les autres bactéries, *hflXr* semblait impliqué dans le recyclage des ribosomes. Un tel mécanisme de recyclage, bien connu lors des chocs thermiques, n'avait jusqu'alors jamais été montré comme jouant un rôle dans la résistance aux antibiotiques. Ce mécanisme permet le recyclage de sous-unités ribosomiques fonctionnelles, pourvu qu'un autre mécanisme chasse l'antibiotique de son site [4].

Un gène parfaitement régulé

Afin de comprendre les mécanismes permettant l'induction de l'expression du gène *hflXr* en présence d'antibiotiques (autrement dit, pourquoi on observe un transcrite court en absence d'antibiotique et un transcrite long en présence d'antibiotique), nous avons analysé la région située en amont du gène. Cette région présente une petite phase de lecture ouverte (ou ORF pour *open reading frame*) qui code un peptide. En induisant des mutations dans cette région du gène, nous avons pu montrer qu'en présence d'antibiotique, cette séquence n'était pas traduite, les ribosomes effectuant une pause au niveau de cette région, ce qui empêche la formation d'un « terminateur de transcription ». En l'absence d'antibiotique, cette petite ORF est traduite, et le terminateur de transcription peut se former, empêchant l'expression du gène *hflXr* [7] (→).

(→) Voir la Synthèse de K. Macé et al., m/s n° 3, mars 2015, page 282

Soulignons que deux études de métagénomique fonctionnelle du sol au voisinage d'une ferme utilisant des antibiotiques, ou près d'une usine fabriquant des antibiotiques, ont montré la présence de gènes de résistance chez *Simkania negevensis* et chez *Emergensia timonensis*, dont le gène *hflX* [8,9], ce qui renforce sous un autre angle la pertinence de notre étude sur *hflXr*.

Conclusion

Cette étude a donc permis de mettre en évidence un nouveau mécanisme de résistance aux antibiotiques potentiel-



Régulation de la transcription de *hflXr*

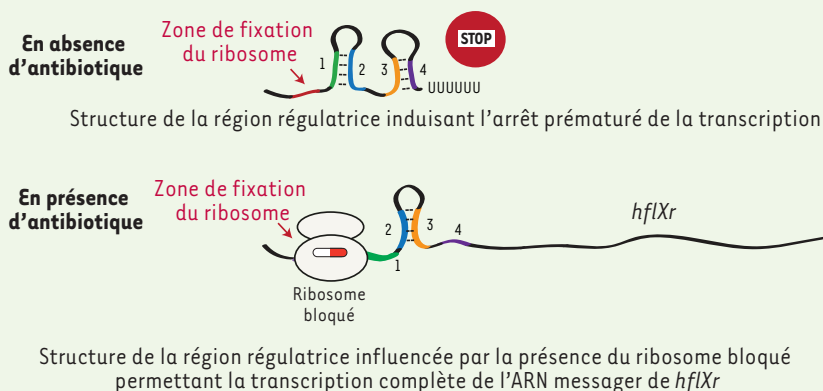


Figure 2. Mécanisme d'expression du nouveau gène de résistance *hflXr*. L'induction spécifique de *hflXr* (r pour résistance) en présence d'antibiotique s'explique par une modulation de sa transcription via un mécanisme appelé atténuation, par lequel une région régulatrice située en amont du gène peut adopter deux structures distinctes : l'une qui induit l'arrêt de la transcription (aboutissant à un ARN messager court), et une autre qui permet la transcription complète de l'ARN messager du gène. La région régulatrice contient une petite phase ouverte de lecture qui agit comme un *senseur* de la présence de l'antibiotique : en sa présence, les ribosomes s'y fixent et s'y arrêtent, empêchant la formation du « terminateur ». En son absence, le terminateur se forme et la transcription s'arrête.

lement répandu chez de nombreuses bactéries, qui est fondé sur le recyclage des ribosomes grâce au gène *hflXr*. Les niveaux de résistance apportés par ce gène ne permettent pas aux bactéries de survivre à des concentrations élevées d'antibiotiques, telles que celles utilisées en thérapeutique, mais nous pensons que ce gène confère à la bactérie qui en est pourvue un avantage au sein des communautés microbiennes colonisant le sol. Cette

étude montre également comment les bactéries peuvent utiliser un mécanisme de réponse au stress, tel que le recyclage des ribosomes, dans des contextes différents : la réponse aux chocs thermiques ou la lutte contre les antibiotiques. Cette découverte nous révèle aussi que la diversité des mécanismes permettant aux bactéries de lutter contre les antibiotiques est encore plus grande que ce que l'on pensait. ♦

A new mechanism of antibiotic resistance: ribosome recycling

REMERCIEMENTS

Notre laboratoire est financé par les organismes suivants : European Research Council (ERC) Advanced Grant BacCellEpi (670823), Agence Nationale de la Recherche Investissement d'Avenir Programme (10-LABX-62-IBED), Fondation le Roch les Mousquetaires, l'Institut Pasteur, l'Inserm et l'INRA.

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

- Cossart P, Lembreton A. A trip in the New Microbiology with the bacterial pathogen *Listeria monocytogenes*. *FEBS Lett* 2014 ; 588 : 2437-45.
- Radoshevič L, Cossart P. *Listeria monocytogenes*: towards a complete picture of its physiology and pathogenesis. *Nat Rev Microbiol* 2018 ; 16 : 32-46.
- Wurtzel O, Sesto N, Mellin J, et al. Comparative transcriptomics of pathogenic and non-pathogenic *Listeria* species. *Mol Syst Biol* 2012 ; 8 : 583.
- Duval M, Dar D, Carvalho F, et al. HflXr, a homolog of a ribosome-splitting factor, mediates antibiotic resistance. *Proc Natl Acad Sci USA* 2018 ; 115 : 13359-64.
- Zhang Y, Mandava CS, Cao W, et al. HflX is a ribosome-splitting factor rescuing stalled ribosomes under stress conditions. *Nat Struct Mol Biol* 2015 ; 22 : 906-13.
- Coatham ML, Brandon HE, Fischer JJ, et al. The conserved GTPase HflX is a ribosome splitting factor that binds to the E-site of the bacterial ribosome. *Nucleic Acids Res* 2016 ; 44 : 1952-61.
- Macé K, Giudice E, Gillet R. La synthèse des protéines par le ribosome : un chemin semé d'embûches. *Med Sci (Paris)* 2015 ; 31 : 282-90.
- González-Plaza JJ, Šimatović A, Milaković M, et al. Functional repertoire of antibiotic resistance genes in antibiotic manufacturing effluents and receiving freshwater sediments. *Front Microbiol* 2018 ; 8 : 1-13.
- Lau CHF, Van Engelen K, Gordon S, et al. Novel antibiotic resistant gene from agricultural soil exposed to antibiotics widely used in human medicine and animal farming. *Appl Environ Microbiol* 2017 ; 83 : 1-18.

LA FONDATION PREMUP : UN OPÉRATEUR DE TERRAIN EN PÉRINATALITÉ RECONNU POUR SON EXCELLENCE ET SON INTERDISCIPLINARITÉ

La Fondation de coopération scientifique PremUp, unique en Europe, intervient sur la prévention du handicap à la naissance, par la protection de la santé de la femme enceinte et du nouveau-né.



FONDATION DE COOPÉRATION SCIENTIFIQUE SUR LA GROSSESSE ET LA PRÉMATURITÉ

