

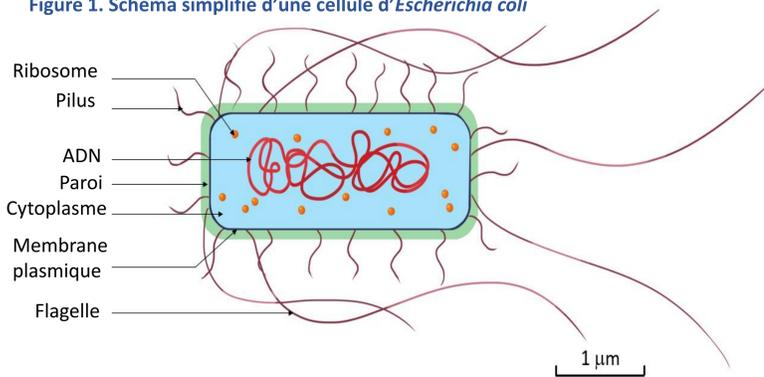
L'évolution en direct de la résistance aux antibiotiques

D'après l'article Baym et al. « Spatiotemporal microbial evolution on antibiotic landscapes » Science, 6304: p1147-1151 (2016)

M. Sicard¹ F. Martin², F. Girier³, S. Lohezic³, M. Michaud³, G. Robaston³,
1. ISEM, Université de Montpellier, CNRS, IRD, EPHE, Montpellier; 2. Collège Mont Duplan, Nîmes 3. Lycée Jean Vilar, Villeneuve-lez-Avignon

Le modèle d'étude : *Escherichia coli*

Figure 1. Schéma simplifié d'une cellule d'*Escherichia coli*



E. coli (Figure. 1) est une bactérie notamment présente dans le microbiote intestinal. Habituellement **bénéfique**, elle peut devenir **pathogène** dans certaines conditions.

BENEFICES

- Elle intervient dans le métabolisme de la vitamine K.
- Elle est nécessaire au bon développement et à la maturation du système immunitaire.
- Elle aide la paroi du tube digestif à jouer un rôle de barrière vis-à-vis des agents infectieux en luttant directement contre la colonisation du tube digestif par des espèces pathogènes, par phénomène de compétition et par production de substances bactéricides (bactériocines).

DANGERS

- Dans le tube digestif, certaines souches peuvent modifier l'équilibre du microbiote et causer des gastro-entérites.
- En cas de passage dans d'autres compartiments de l'organisme, elles peuvent devenir pathogènes : infections urinaires, septicémies...

Principe de l'expérience

La « MEGA-plate » correspond à une grande boîte de Petri rectangulaire remplie d'une gélose noire présentant un gradient d'antibiotique⁽¹⁾ croissant des extrémités vers le centre.

Des *E. coli* de type « sauvage » sont inoculées de chaque côté de la gélose. Puis, l'expansion bactérienne est suivie au cours du temps dans les différentes bandes (Figure 2).

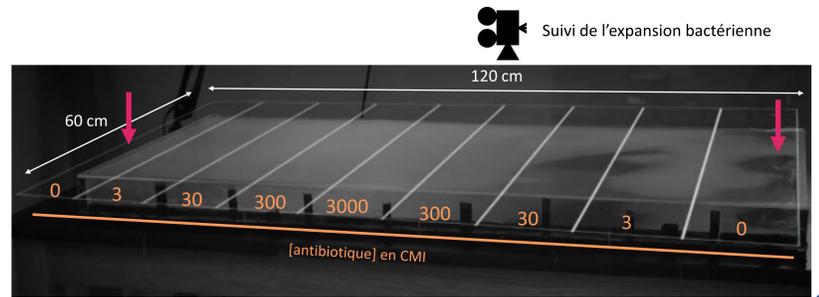
Le prélèvement des bactéries dans les différentes bandes a permis une analyse de leur phénotype (en termes de résistance aux antibiotiques) ainsi que de leur génotype (par séquençage haut-débit).

La grande dimension du dispositif a l'avantage de permettre l'étude d'une grande population de bactéries et de son évolution à travers des conditions environnementales changeantes (concentration d'antibiotique croissante, Figure 2).

⁽¹⁾ Le Triméthoprime inhibe spécifiquement l'enzyme DHFR (Dihydrofolate réductase) qui intervient dans la synthèse des bases azotées de l'ADN.

Figure 2. Photo du dispositif MEGA⁽²⁾-plate à neuf bandes

Les flèches correspondent aux points d'inoculation d'*E. coli*. 1 unité de CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) permet d'inhiber la croissance de la souche « sauvage » initiale
⁽²⁾MEGA = Microbial Evolution Growth Arena



Résultats expérimentaux

Figure 3. Changements phénotypiques dans les populations bactériennes au cours du temps dans la MEGA-plate

Zone montrant que des bactéries de forte résistance aux antibiotiques peuvent voir leur progression bloquée. Ce blocage est lié à une colonisation plus rapide du milieu par des bactéries de plus faible résistance aux antibiotiques mais avec une croissance plus efficace.

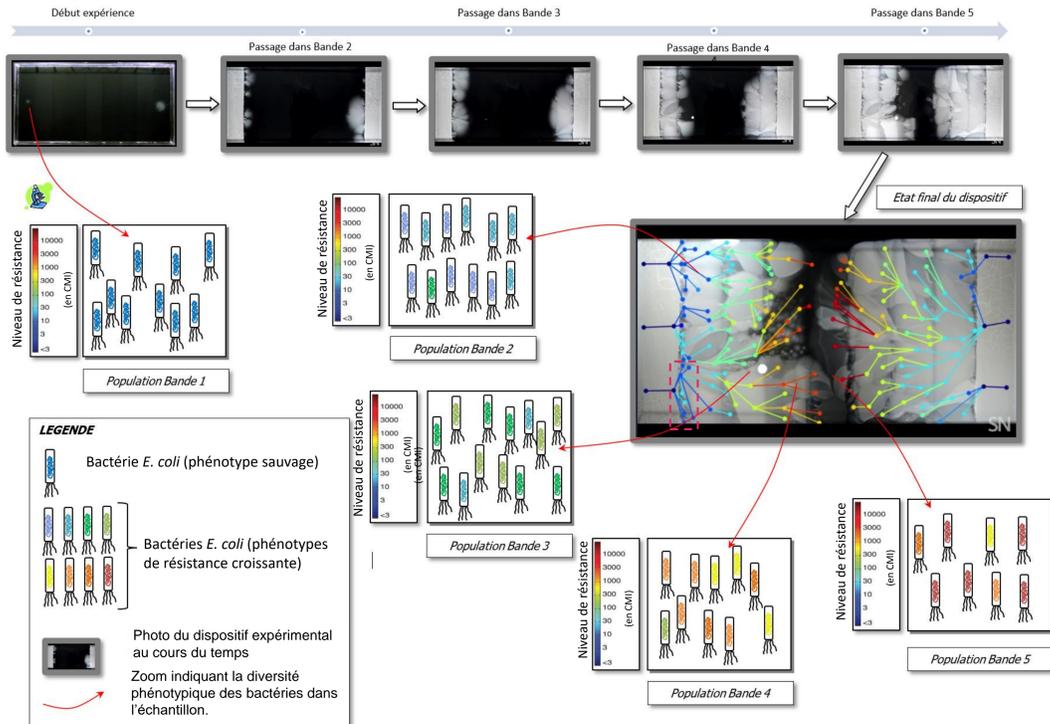


Figure 4. Une adaptation initiale des bactéries à des concentrations faibles et intermédiaires d'antibiotiques facilite l'apparition d'une adaptation à de fortes concentrations en antibiotiques.

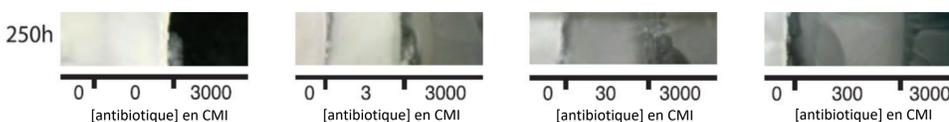
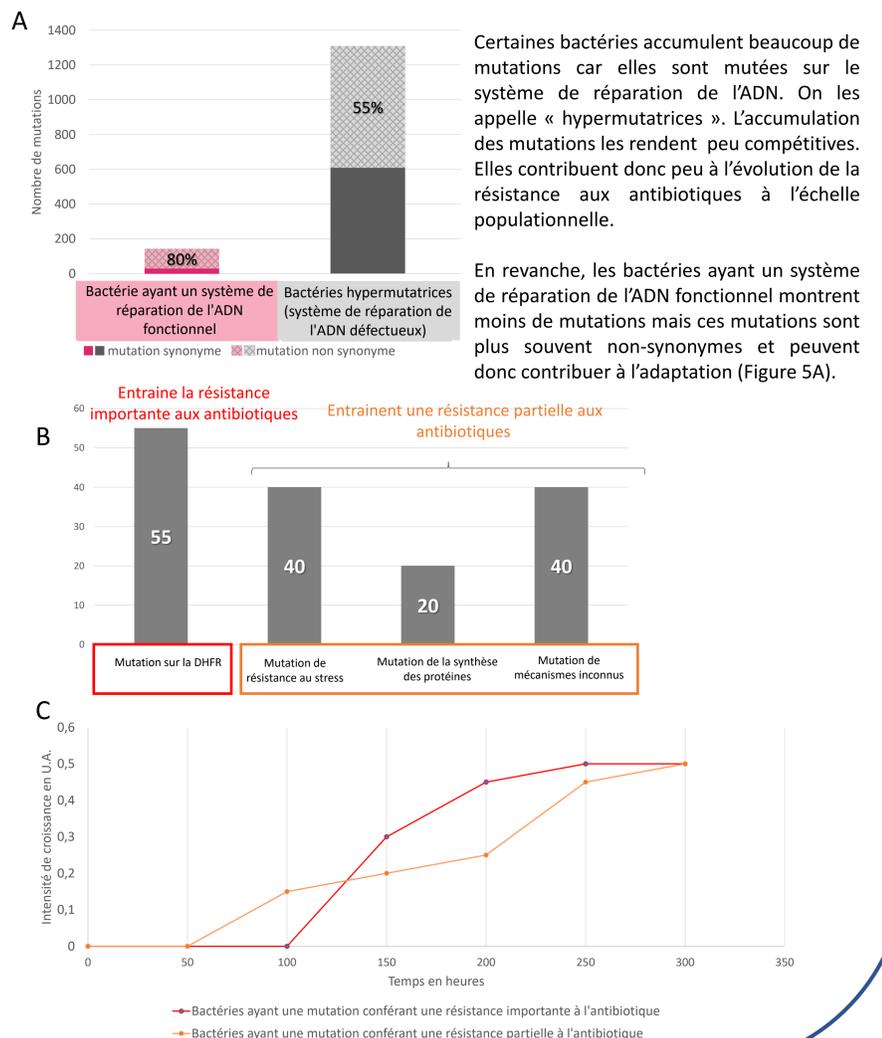


Figure 5. Relation génotype/phénotype au sein du gradient croissant d'antibiotique

A. Distribution des mutations synonymes et non synonymes
B. Localisation des mutations adaptatives
C. Deux « stratégies » de croissance en fonction des types de mutants



Conclusions

Les expériences mises en œuvre permettent l'étude en direct de l'évolution de la **résistance aux antibiotiques** par les mécanismes de **mutations** et de **sélection naturelle**. En effet, la résistance observée est liée à l'apparition de **mutations au hasard** qui sont sélectionnées (donc augmentent en fréquence) lorsqu'elles confèrent un **avantage sélectif** dans des environnements de plus en plus riches en antibiotiques. Cette étude permet également de mettre en évidence la part du **hasard**, donc de la **dérive**, quand certaines lignées se voient barrer le passage par d'autres lignées pas forcément plus résistantes aux antibiotiques.

Au niveau génomique, deux grands **types de mécanismes de résistance** ont été révélés : des bactéries dont l'ultrarésistance aux antibiotiques engendre un coût (retard de croissance), d'autres partiellement résistantes aux antibiotiques mais dont la croissance est restaurée par des mutations qui compensent ce déficit de croissance.

La sélection de phénotypes adaptés à une grande concentration d'antibiotiques ne peut se faire que si les concentrations d'antibiotiques augmentent progressivement. Une forte dose d'antibiotique appliquée sur des phénotypes sauvages ne peut mener à la sélection de phénotypes résistants.