

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

République algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université de Jijel

Faculté des Sciences Exactes et Sciences
de la nature et de La vie

Département de Biologie Moléculaire et
Cellulaire



جامعة جيجل

كلية العلوم و علوم الطبيعة و الحياة

قسم البيولوجيا الجزيئية و الخلوية

رقم الامتحان: 1598
رقم الاجازة: 1598

**Mémoire De Fin D'étude Pour L'obtention Du Diplôme
Des Etudes Supérieures en Biologie
Option : Microbiologie**

Thème

***Les hyper mutations bactériennes et
adaptation aux antibiotiques***

Examinatrice : M^{elle} BENSEGHIER S.

Encadreur : M^{me} ROULA S.

Présenté par :

- BELEMRABET Samia
- KRIBAA Sana



Année Universitaire 2009/2010

REMERCIEMENTS

Tout d'abord nous remercions le bon dieu qui nous a accordé la force et le courage pour achever ce travail.

Nous tenons à exprimer nos profondes reconnaissances et adresser nos remerciements à notre encadreur "**M^{me} ROULA**" pour l'aide qu'il nous a apporté tout au long de ce travail et de nous avoir consacré son temps précieux avec ses conseils et ses orientations.

Nous tenons à témoigner notre plus grand respect et nos remerciements chaleureux à « **M^{lle} BENSEGHIER** » Pour avoir accepté d'être l'examineur de ce travail.

Notre gratitude et nos remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail et avec un grand plaisir.

Liste des Figures

Figure 01 : Structure de l'ADN.

Figure 02 : Le matériel génétique bactérien

Figure 03 : Principales stratégie de résistance aux antibiotiques.

Figure 04 : Représentation schématique des cinq familles de pompes d'efflux.

Figure 05 : Enveloppe d'une bactérie à Gram négatif, *Escherichia coli*.

Figure 06 : La porine OmpF d'*Escherichia coli*.

Figure 07 : Mut S-ADN chez *Thaemophilus aquaticus* et *Escherichia coli*

Figure 8 : Structure de la protéine Mut S liée à un ADN hétéroduplexe.

Figure 9 : Organisation de l'opéron mut S L de *Bacillus subtilis*.

LISTE DES ABREVIATIONS

ABC: ATP-Binding-Casset

LPS: Lipopolysaccharide.

MAT: Multidrug and Toxic Compound Extrusion

MDR: Multidrug Resistance

MFS: Major Facilitator Superfamily.

NBD: Nucléotide –Binding Domain.

R: Rough.

RND: Resistance –Nodulation Cell Division.

S: Smoth.

SMR: Small Multidrug Resistance.

SRM: Système de Réparation des Mésappariement.

T: Thymine.

TMD: Trans –Membrane Domaine.

TMS: Segments Trans-Membranaire

SOMMAIRE

Introduction.....	1
Chapitre I : Généralités sur le matériel génétique bactérien	
I-1-Structure moléculaire du matériel génétique	2
I-1-1-L'acide désoxyribonucléique	2
I-1-2-La structure de l'ADN dans les cellules bactériennes	2
I-1-3- La notion du gène	4
I-2- Organisation du matériel génétique au niveau de la cellule	4
I-2-1-Le chromosome	4
I-2-2 -Les plasmides	4
I-2-2-1-La réplication des plasmides	5
I-2-2-2-La transmission des plasmides	5
I-2-2-3-Propriétés codés par les plasmides	5
I-2-3-Episomes.....	6
I-3-Les mutations bactériennes	6
I-3-1-Définition	6
I-3-3-Les caractères des mutations bactériennes	6
I-4-Les causes des mutations	7
I-5-Les agents mutagènes	7
I-5-1-Les agents physiques	7
I-5-2-Les agents chimiques	7
I-5-3-Les agents enzymatiques	8
I-6-Transmission des mutations	8
I-7-Les différents types des mutations	8
I-7-1-Classement selon la nature et la localisation.....	8
I-7-1-1-Les mutations chromosomiques	8
I-7-1-2-les mutations géniques	8
I-7-2-Classement selon les conséquences sur la duplication et la transcription ...	8
I-7-3-Les mutations ponctuelles	8
I-8- Sélection des mutants.....	9
I-9- Conséquences et applications des mutants	9

I-9-1-Conséquences des mutations sur la synthèse peptidique	9
I-9-2-L'utilisation des mutants en recherche	10
I-9-3-Importance dans l'antibiothérapie	10
I-9-4-Importance dans l'industrie.....	10
I-9-5-Importance dans le diagnostic	11
I-10-Effets des mutations sur les microorganismes	11
I-10-1-Les auxotrophes	11
I-10-2-Les mutants létaux conditionnels	12
I-10-3- Les mutants de régulation	12
I-10-4-Les mutants de résistance aux antibiothérapies	12
Chapitre II : Les mécanismes génétiques de la résistance	
II-1La résistance chromosomique	13
II-2- La résistance extra chromosomique	13
II-2-1- La résistance plasmidique	13
II-2-2- La résistance transposable	14
II-3-La résistance aux antibiotiques Par efflux chez les bactéries	14
II-3-1-La découvert du phénomène	14
II-3-2-Définition des pompes d'efflux	15
II-3-3- Classifications des pompes d'efflux	15
II-3-3-1-Les pompes d'efflux dépendant de la PMF	15
II-3-3-2- Les transporteurs ABC.....	16
II-3-4-Régulation des systèmes d'efflux	16
II-3-5- L'efflux chez les bactéries a gram négatif	17
II-3-6-L'efflux chez les bactéries à gram positif	17
II-3-7-Efflux chez les <i>Mycobacteries</i>	18
II-3-8- Impact et efflux sur la résistance chimique aux antibiotiques	18
II-4-Phénomènes d'imperméabilité et résistance aux antibiotiques	19
II-4-1- Perméabilité membranaire et pénétration des antibiotiques chez les bactéries	
a Gram négatif	19
II-4-1-1-La membrane.....	19
II-4-1-2-Les porines.....	19
II-4-1-3-Les types des porines	20
II-4-1-4-Porine et diffusion	20

II-4-1-5-Régulation de l'expression des porines et résistance	21
Chapitre III : Hypemutabilité et adaptation aux antibiotiques chez les bactéries	
III-1- Généralités.....	23
III-1-1-Historique.....	23
III-1-2-Définition de l'hypermutabilité.....	23
III-1-3- Définition d'adaptation.....	23
III-1-4-Les mécanismes de l'hyper mutabilité et l'adaptation bactériennes	23
III-2- Système de réparation des mésappariement (SRM)	24
III-2-1- SRM chez les bactéries à gram négatif	24
III-2-1-1- <i>Escherichia coli</i>	24
1-1-Vue générale de SRM	24
1-2-Les gènes codés le SRM	24
1-3-La protéine Mut S	24
1-3-1-La structure de Mut S	24
1-3-2-Fonctionnement de Mut S	25
1-4-La protéine Mut L	25
1-4-1- La structure de la protéine Mut L	25
1-5-Les autres acteurs de SRM	25
III-3-Les SRM chez les bactéries à Gram positif.....	27
III-3-1- Les cas particulier de Gram positif	27
III-4- Rôle des SRM dans l'adaptation des bactéries à leurs environnements, cas des bactéries pathogènes	29
III-4-1- Rôle du SMR dans la pathogénicité	29
III-4-2- Rôle du SRM dans la résistance aux antibiotiques	30
III-5- Relation entre la mucoviscidose et hyper mutabilité Des bactéries colonisent les poumons des patients atteints de cette maladie	31
III-5-1-origine de la maladie	31
III-5 -2- Infections bronchiques associées	31
III-5-3-Traitements antibiotiques administrés aux malades	31
III-5-4- Phénotype hyper mutable des bactéries isolées chez les malades.....	32
Conclusion	34
Références bibliographiques	35

Introduction

Introduction:

Les bactéries sont des microorganismes procaryotes essentiellement unicellulaire, elles stoquent leur information génétique dans l'ADN, et sont les plus petits des protistes .Il en existe environ 10.000 espèces connues dont une minorité d'agents pathogènes pour l'homme (1). Parmi les bactéries pathogènes il existe les bactéries hyper mutables, qui présentent un taux de mutation élevée, pouvant aller de 10 à 1000 fois, par rapport à la population dont elle est issue (2). Il est désormais communément admis que l'environnement influe sur le taux de mutation d'une manière directe .On sait aussi que de nombreux mécanismes génèrent des mutations au cours de la réplication en empêchant la réparation de l'ADN qui contribuent à la variation génétique (3).

L'apparition de mutation au cours de la réplication qui sera transmises à la descendance est un mécanisme impliqué dans la virulence et la résistance aux antibiotiques des bactéries responsables de pathologie (4).

Le problème de l'apparition et de la dissémination des bactéries hyper mutables résistants à plusieurs antibiotiques est un phénomène mondial qui met en péril le traitement des maladies infectieuses. Tous les établissements de soins devront affrontés tôt ou tard, le problème de l'antibiorésistance, l'un de ces microorganismes est *Staphylococcus aureus* responsable de la mucoviscidose.

C'est dans ce cadre que s'inscrit l'objectif de notre travail qui est pour :

- Définir Le génome, les mutations et leur localisation sur le matériel génétique bactérienne.
- Déterminer Les mécanismes de résistance aux antibiotiques.
- Et les effets de l'hyper mutabilité et l'adaptation aux antibiotiques chez les bactéries.

Chapitre I
Généralités sur
le matériel génétique bactérien

I-1-Structure moléculaire du matériel génétique

I-1-1-L'acide désoxyribonucléique

L'ADN constitue l'élément de base du matériel génétique chez les bactéries, il est composé de chaînes linéaires de nucléotides liés entre eux par des ponts phosphodiester, deux chaînes d'ADN sont entrelacées pour former une double hélice (5).

Nucléotides et polynucléotides

L'ADN est un polymère linéaire, non branché dans lequel les monomères ont quatre nucléotides distincts chimiquement, reliés entre eux dans n'importe quel ordre dans des chaînes constituées de centaines de milliers, voire de millions d'unités (6).

Chaque nucléotide dans un polymère d'ADN est formé de trois constituants :(5)

1-2'Desoxyribose

C'est un pentose, sucre à cinq atomes de carbones, le nom « 2'-desoxyribose » signifie que ce sucre particulier dérive du ribose dans lequel le groupement hydroxyle (-OH) fixé au carbone 2' du ribose a été remplacé par un groupement hydrogène (H) (7).

2-Base azotée

Soit une base pyrimidique à un seul noyau, la cytosine ou la thymine, soit une base purique à deux noyaux, l'adénine ou la guanine (5), la base est attachée au carbone 1' du sucre par une liaison B-N-glucosidique attachée à l'azote 1 de la pyrimidine ou à l'azote 9 de la purine (6).

3- Groupement phosphate

Composé de une, deux ou trois unités phosphate attachées au carbone 5' du sucre, les phosphate sont appelées α , β et γ , le phosphate α étant celui qui est directement attaché au sucre(8).

I-1-2-La structure de l'ADN dans les cellules bactériennes

Les cellules bactériennes stockent l'essentiel de leur information génétique grâce à l'ADN bicaténaire.

L'ADN bicaténaire est formé par l'assemblage de deux chaînes polynucléotidiques d'ADN réunies par des liaisons hydrogène qui unissent les bases (5), l'appariement des bases est bien défini Adénine-thymine (A-T) et cytosine-guanine(C-G).

La liaison entre Guanine et cytosine met en œuvre trois ponts hydrogène, et deux entre A et T : naturellement, la liaison (G-C) est plus forte. L'assemblage des chaînes forme une double hélice dont chaque brin est complémentaire de l'autre et antiparallèle : une chaîne a une polarité 5' → 3' et l'autre 3' → 5' (figure1).



(A)

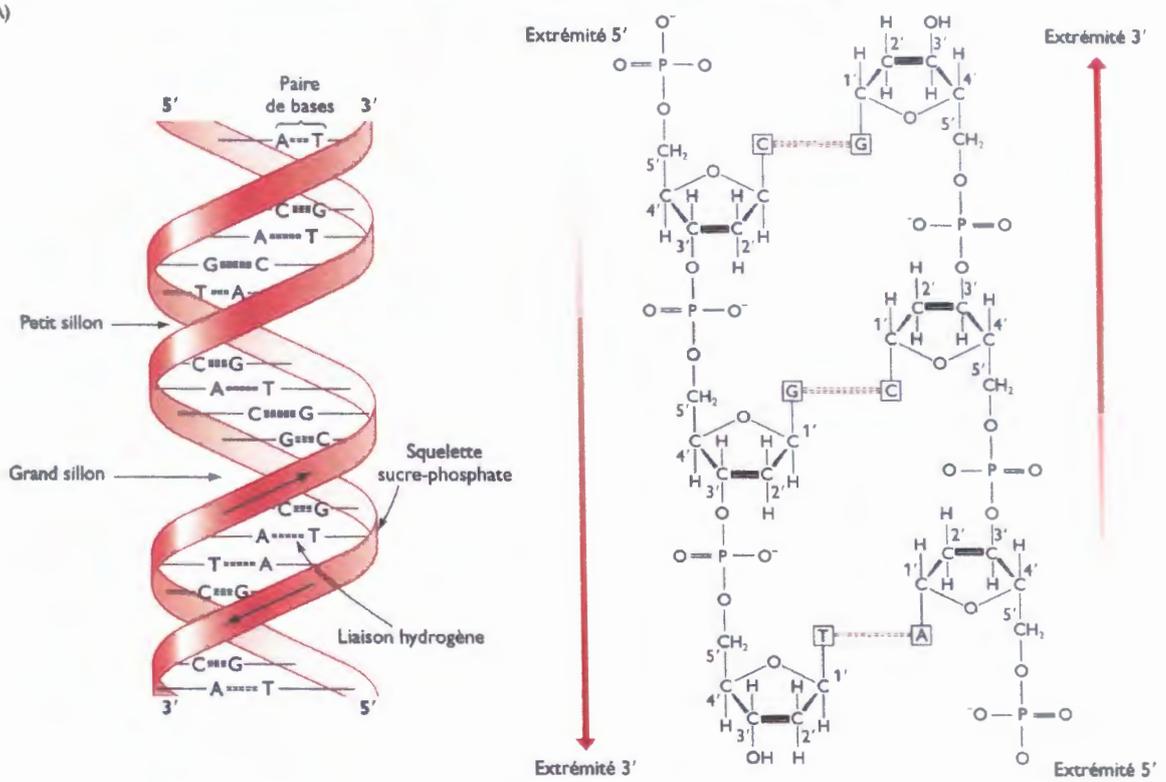


Figure 01 : Structure de l'ADN (5).

I-1-3-La notion du gène

Un gène est une entité contenant l'information nécessaire à la synthèse d'une macromolécule : ARN ou polypeptide, il peut parfois permettre à lui seul l'expression d'un caractère, pour cette raison un gène est souvent qualifié d'unité de fonction, un caractère ou une fonction peut cependant dépendre de plusieurs gènes : si la synthèse d'un seul peptide peut être considéré comme un caractère ou une fonction (9).

I-2-Organisation du matériel génétique au niveau de la cellule

I-2-1-Le chromosome

Chez les bactéries le matériel génétique principale est constitué par une seule structure bicatenaire d'ADN appelée : chromosome ou génophore : cette structure située dans une zone de la cellule appelée : région nucléaire ou nucléoïde outre l'ADN elle contient de l'ARN et des protéines dont la plus grand partie correspond a l'ARN polymérase (10), le chromosome est circulaire, c'est-à-dire qu'il est fermé. La double hélice est enroulée en une super hélice qui est elle-même repliée enformant des boucles (11).

La longueur de chromosome déployé atteint 1 mm : il est donc extrêmement peptoné dans la cellule, la taille de génome est sensiblement différent pour les diverses espèces bactériennes.

I-2-2-Les plasmides

Les plasmides sont des structures extrachromosomiales homogènes formées généralement d'ADN bicatenaire circulaire de taille et de masse moléculaire bien définies (12).

L'ADN plasmique ne représente qu'une faible partie du matériel génomique d'une bactérie en moyenne 1 a 3%, les plasmides sont pourtant largement représentés chez la plupart des bactéries car ils apportent une information génétique supplémentaire qui permet à ces micro-organismes de s'adapter rapidement et efficacement aux modifications du milieu environnant (13).

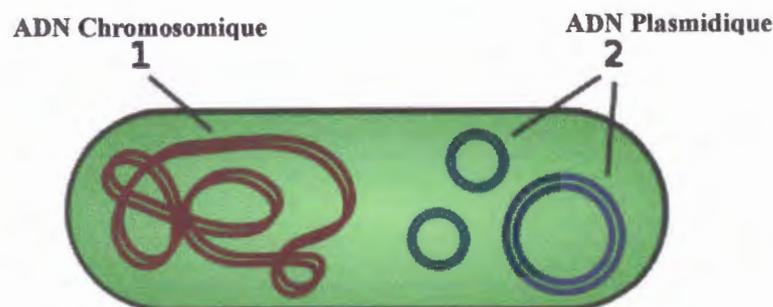


Figure 02 : Le matériel génétique bactérien (13).

I-2-2-1-La réplication des plasmides

Les plasmides n'ont qu'une propriété constante, celle de se répliquer de façon autonome, ce sont des réplicons (12).

Certains plasmides se répliquent selon un mode θ , de façon bi ou unidirectionnelle, d'autre en cercle roulant quelques uns utilisent exclusivement les enzymes de l'hôte alors que d'autre apporte tout ou partie de l'information génétique nécessaire. Les enzymes de l'hôte détournées au profit de la réplication de l'ADN plasmidique ne sont pas non plus, les mêmes selon les plasmides (14).

La réplication d'un plasmide est contrôlée de telle façon que le nombre de copies soit constant au cours de divisions bactériennes.

I-2-2-2-La transmission des plasmides

Les plasmides peuvent se transmettre d'une bactérie mère à une bactérie fille grâce à la conjugaison bactérienne par l'intermédiaire de pili sexuels lors de la division cellulaire (12), les plasmides se répartissent de façon totalement aléatoire (contrairement aux chromosomes) ainsi, même si la probabilité reste faible, il se peut qu'une des deux cellules filles ne possède aucun plasmide. La probabilité augmente avec la diminution du nombre de plasmides présent dans la cellule mère (13).

I-2-2-3-Propriétés codées par les plasmides

*** Les plasmides conjugatifs**

Ces plasmides conjugatifs sont les premiers plasmides qui ont été découverts chez les bactéries, on les appelle aussi facteurs de fertilité ou plasmide F. ces plasmides confèrent à la bactérie hôte la capacité de synthèse de pili (15). La bactérie porteuse peut transférer une copie du plasmide F par processus de conjugaison bactérienne.

Certains plasmides F sont des épisomes.

*** Les plasmides de résistance**

Les plasmides de résistance, appelés aussi plasmide ou facteur R, codent des résistances aux antibiotiques et aux métaux lourds. Ces plasmides peuvent protéger la cellule par différents moyens : la synthèse d'une protéine d'une protéine de résistance à la substance toxique : elle va neutraliser l'activité toxique de la substance. Les plasmides peuvent aussi modifier les propriétés d'enveloppe de la cellule et la rendre imperméable à la substance toxique (13).

*** Les plasmides des bactériocines**

Ces plasmides codent la synthèse d'une protéine extracellulaire dont la biosynthèse est létale pour la bactérie productrice ainsi que pour les autres bactéries non productrices. Ces

plasmides codent aussi une deuxième protéine intracellulaire de résistance à cette première toxine (13).

I-2-3-Episomes

Un épisome est un plasmide qui peut s'intégrer dans l'ADN chromosomique de la cellule hôte (10), de ce fait il peut rester intact pendant de longues périodes, être dupliqué à chaque division cellulaire de l'hôte et devenir partie intégrant de son patrimoine génétique, le terme n'est plus en usage pour les plasmides, depuis qu'il a été établi qu'une région d'homologie avec le chromosome comme un transposon, fait d'un plasmide un épisome (13).

I-3-Les mutations bactériennes

I-3-1-Définition

Une mutation est une modification brusque, rare, aléatoire et héréditaire du génome bactérien, les mutations peuvent être dues à des erreurs de copie des matériels génétiques au cours de la division cellulaire, ou à l'exposition à des agents mutagènes (17).

I-3-2- Position de la mutation sur le gène

Certaines parties du gène contiennent des régions critiques pour la structure et/ou la fonction d'un gène. Une mutation dans ces régions aura des conséquences fonctionnelles importantes. Certaines régions d'un gène sont très conservées traduisant leur importance pour la protéine correspondante. Une mutation dans ces zones conservées aura probablement des conséquences négatives pour la protéine (18).

I-3-3-Les caractères des mutations bactériennes

I-3-3-1-Hasard

Les mutations bactériennes ne sont pas spontanées, elles sont induites par des agents mutagènes identifiés ou non. La spontanéité est souvent considérée comme une caractéristique des mutations. Ce terme est impropre ; il est en fait utilisé pour souligner que les mutations s'effectuent au hasard (17).

I-3-3-2-Fréquence

Les mutations sont des phénomènes rares qui n'affectent qu'un faible pourcentage de cellules au sein d'une population abondante. Le taux de mutation moyen est de l'ordre de 10^{-6} à 10^{-7} (17).

I-3-3-3- Stabilité et discontinuité

Une mutation est généralement un phénomène discontinu (loi du tout ou rien). Et est un caractère héréditaire transmis à la descendance (stabilité) (17).

I-3-3-4- Spécificité et indépendance

Une mutation n'affecte qu'un seul caractère à l'exclusion de tous les autres (spécificité). La mutation d'un caractère donné ne modifie pas les probabilités de mutation d'un autre caractère et il y a indépendance des mutations (17).

I-4- Les causes des mutations

Les mutations surviennent de deux façons :

- Certaines mutations sont des erreurs spontanées de la réplication par défaut de la fonction d'édition des ADN polymérase qui synthétisent le nouvel ADN dans la fourche de réplication. Ces mutations sont appelées mésappariements.

- D'autres mutations sont le résultat de l'action d'un composé mutagène ayant réagi avec l'ADN parentale, produisant un changement de structure qui affecte la complémentarité du nucléotide altéré.

I-5- Les agents mutagènes

I-5-1- Les agents physiques

La température est un des principaux agents impliqués, l'agitation thermique des molécules entraînant l'apparition de formes tautomères, provoque des ruptures de liaisons, essentiellement des dépurinations (Perte de A et G) mais aussi des désamination (transformation de C en U), il en résulte des erreurs d'appariement (18).

Les radiations ionisantes naturelle (radiations ultraviolette « UV », radiations cosmiques) induisent des modifications au niveau des bases (dimérisation TT, TC ou CC) par des actions directes impliquant l'apparition de radicaux réactifs libres ; elles peuvent aussi induire des remaniements plus large (distorsions ou cassures) (19).

I-5-2- Les agents chimiques

Des agents chimique mutagène existent naturellement dans les milieux (ozone-peroxydes, métaux lourds...) de plus certains peuvent apparaître comme sous produits du métabolisme microbien ou par transformation des substances du milieu (H₂O₂, nitrites, sulfites, aldéhydes...) ils provoquent la perte des bases ou l'incorporation de bases altérée (5), une forte baisse de pH peut également entraîner des dépurinations parfois des cassures de chaînes (18).

I-5-3-Les agents enzymatiques

Des mutations naturelles peuvent aussi intervenir au cours des processus normaux de fonctionnement à la suite d'erreurs ou d'accidents dans les systèmes enzymatiques impliqués : des erreurs et altérations du système de réplication, erreurs de réparation ou de recombinaison (19).

I-6 -Transmission des mutations

*Si une mutation affecte les cellules germinales, elle est transmise aux descendants de l'individu mutant dans certains cas, cette mutation peut procurer un avantage sélectif ou au contraire être délétère, voir mortale.

*Pour la plupart des mutations accidentelles (provoqué par irradiation ou substance chimiques, si elle n'affecte que des cellules somatique, la mutation ne se transmet pas et n'affectera donc que le sujet l'ayant subie directement. Si les cellules se divisent activement, il y a possibilité de création d'une tumeur pouvant évoluer vers un cancer (13).

I-7- Les différents types des mutations

I-7-1-Classement selon la nature et la localisation

I-7-1-1-Les mutations chromosomiques

Les mutations intra chromosomiques affectent la structure d'un chromosome ; dans ce cas on réserve généralement le nom de mutation chromosomique aux mutations intergéniques (20).

I-7-1-2-Les mutations géniques

Ce sont des mutations touchant un seul gène (mutation intra génique) : elles peuvent être plus ou moins étendues et on distingue les mutations ponctuelles et les non ponctuels (20).

I-7-2-Classement selon les conséquences sur la duplication et la transcription

La mutation peut être ou non liée à une multiplication cellulaire : certains agents modifient seulement l'ADN se répliquant, d'autres altèrent l'ADN au repos et ont des conséquences plus tardives au niveau de la réplication après leurs élimination, on peut distinguer différents types d'altération : (20)

*altération ne gênant ni la duplication ni la transcription.

*altérations modifiant la duplication ou gênant la synthèse de l'ADN.

*altérations héréditaires modifiant la transcription mais pas la duplication.

*altérations modifiant la transcription et la duplication.

I-7-3-Mutations ponctuelle

Elles mettent en cause une seule paire de base on distingue les cas suivants :

I-7-3-1-Substitution

Une paire de bases est remplacée par une autre, si une base purique est remplacée par une autre base purique ou une base pyrimidique par une base pyrimidique, il y a transition, sinon il y a transversion (18).

I-7-3-2- Délétion

Une paire de base est perdue, il en résulte une modification de la lecture, qui a causé du décalage produit, interprétera des codons différents : une telle mutation est dite : décalent (5).

I-7-3-3-Insertion

Une paire de bases est rajoutée, l'insertion aux les mêmes conséquences que la délétion sur la lecture de l'information génétique (5).

I-7-3-4-Modification

Une paire de base est modifié, les principale modifications sont la formation de formes tautomère, la désamination de la cytosine, les dépurinations, la formation de dimères (18).

I-8-Sélection des mutants

Lorsque la mutation favorise la croissance par rapport à la souche sauvage, il est aisé d'isoler les mutants par sélection positive (1°).

La sélection de bactéries mutées par insertion de transposons codant pour la résistance à un antibiotique est basé sur le même principe, l'isolement d'un mutant auxotrophe peut se réaliser par la technique est ensemencées sur un milieu permettant la croissance des bactéries normales et mutées et une réplique de la lecture est effectuée sur une milieu ne permettant que la croissance des bactéries normales. Par comparaison des deux cultures il est possible de localiser les colonies constituées de mutants. Cette technique est difficile à utiliser en routine ; les mutations s'effectuent, à base fréquence et il n'est pas facile de récupérer des colonies isolées lorsque leurs nombre est supérieur à 100 (17).

I-9-Conséquences et applications des mutants**I-9-1-Conséquences des mutations sur la synthèse peptidique**

Les mutations ponctuelles par changement ou par dénaturation des bases aboutissent le plus souvent au changement de code du triplet incriminé, par exemple la transition A→G dans un triplet GAC codant habituellement pour la leucine aboutira à la transformation d'un triplet GGC codant pour la proline : c'est une mutation faux sens, il en résultera une modification de la chaîne polypeptidique pouvant se traduire par l'inactivation d'une fonction enzymatique, par la baisse, ou plus rarement, l'augmentation d'une activité ceci dépend bien sur la nature des acides aminés touchés et de leur position par rapport aux sites actifs , il peut arriver également que la mutation fasse apparaître un codon non-sens.

C'est-à-dire un codon stop il en résultera la formation d'un polypeptide incomplet avec modification de la totalité ou d'une partie de ses propriétés, la situation inverse est également possible : il peut y avoir disparition d'un codon stop et donc pour suite de la synthèse avec formation d'une molécule géante à propriétés modifiées dans certains cas la mutation peut ne pas avoir de conséquence si le nouveau codon résultant code pour la même acide aminé si l'on a par exemple CAA→CAG, les deux triplet codent pour la valine de même il n'y aura pas de conséquence apparente si le nouveau codon code pour un nouvel acide aminé non stratégique, c'est-à-dire n'appartenant pas à un site actif enzymatique ou ne modifiant pas la structure tertiaire (par exemple par maintien d'une polarité malgré le changement d'acide aminé : ceci peut se produire pour TAA→GAA ce qui remplace l'isoleucine par la leucine (18).

I-9-2-L'utilisation des mutant en recherche

La comparaison des souches sauvages et des souches mutées permet d'établir le rôle d'un locus génétique et des protéines pour les quelles il code l'obtention de mutants incapable de synthétiser une protéine est souvent un temps essentiel pour impliquer cette protéine dans le pouvoir pathogène ou pour évaluer son rôle physiologique.

Le séquençage complet de plusieurs génomes bactériens est actuellement réalisé, de nombreux cadres de lecture ouvert codent pour des protéines dont les fonctions sont encore inconnues, l'obtention de mutants spécifiques aidera à comprendre l'importance de ces gènes et de leurs produits (17).

I-9-3-Importance dans l'antibiothérapie

Les mutants résistants aux antibiotiques sont d'une importance majeure en médecine, même si la résistance par mutation est considérée comme moins importante que la résistance liée à l'acquisition de plasmides, de transposons ou d'intégrons (17).

I-9-4-Importance dans l'industrie :

Des souches mutantes sont utilisées dans l'industrie notamment pour la production d'acides aminés, ainsi *Corynebacterium glutamicum* est utilisé pour produire de l'acide glutamique, de l'ornithine et de la lysine, des souches mutantes ont été obtenues afin de permettre une production par fermentation de ces acides aminés et ces mutants sont hyper producteurs d'acides aminés et ils les excrètent dans le milieu extérieur des souches mutantes de *Streptomyces rimosus* et de *Escherichia coli* sont utilisées pour la production d'isoleucine (*Streptomyces rimosus*) ou de phénylalanine (*Escherichia coli*) (17).

I-9-5-Importance dans le diagnostic

Les mutants morphologique (mutants incapables de synthétiser les chaînes polysaccharidiques du LPS et donnant une dissociation S (smooth) →R (Rough) mutants incapable de synthétiser une capsule, les mutants nutritionnels (mutants aux auxotrophes pour un ou plusieurs facteurs de croissance) ou les mutants métabolique (incapables de fermenter un sucre, incapable de dégrader un acide aminé) sont à prendre en compte dans le diagnostic.

La dissociation S→R bien connue chez les entérobactéries, se traduit par une modification de l'aspect des colonies, les colonies S sont lisses, rondes et régulière alors que les colonies R ont un aspect granuleux ou plissé avec un contour irrégulier, chez les Salmonelles, on connaît plusieurs type des mutants : (i) les mutants R dépourvus de chaînes polysaccharidiques mais ayant un core complète(ii) les mutants R profonds (Rough profonds) dépourvus de chaînes polysaccharidiques et possédant un core complète mais dont les chaînes polysaccharidique sont réduites à un seul chaînon.

Les bactéries sous forme R sont fréquemment auto agglutinables en eau physiologique si bien qu'il est impossible de caractériser leur spécificité antigénique O par agglutination avec des antisérums spécifiques.

Chez *Streptococcus pneumoniae*, les mutants non capsulés donnent des colonies comparables aux colonies R des entérobactéries aussi, par analogie, on qualifie de S les formes capsulées et de R les formes dépourvues de capsule, tout fois contrairement à ce qui est observé chez les entérobactéries.

Le pneumocoque R ont une paroi normale, les mutants r est les mutants dépourvues de capsule on également une importance en médecine car leur pouvoir pathogène est nul (17).

I-10-Effets des mutations sur les microorganismes

Les mutations chez les microbes comme les bactéries peuvent aussi être décrites avec perte de fonction au gain de fonction, une meilleure description du phénotype se fait habituellement sur les propriétés de croissance des cellules mutées en fonction du milieu de cultures (5).

Cela permet de range beaucoup de mutations dans l'une des quatre catégories suivantes :

I-10-1-Les auxotrophes

Sont des cellules qui peuvent pousser uniquement en présence d'un nutriment qui n'est pas indispensable aux cellule non mutées par exemple *Escherichia coli* fabrique normalement son propre tryptophane, grâce aux enzymes codées par les cinq gènes de l'opération tryptophane si l'un de ces gènes est muté de telle façon que la protéine traduite est inactivée, la cellule ne sera plus capable de faire le tryptophane et deviendra donc un tryptophane auxotrophe elle ne pourra pas survivre sur un milieu qui manque de tryptophane, et poussera

seulement si cet acide aminé ajouté comme nutriment les bactéries non mutées, qui n'ont pas besoin de nutriments supplémentaire dans leur milieu de culture sont appelées prototrophes (21).

I-10-2-Les mutants létaux conditionnels

Sont incapables de supporter certaines conditions de croissance : dans des conditions permissives, les cellules paraissent entièrement normales, mais quand elles sont transférées dans les conditions restrictives le phénotype mutant devient visible (5).

I-10-3-les mutants de régulation

Ont des défauts dans les promoteurs ou autres séquences de régulation, cette catégorie comprend les mutants constitutifs qui expriment en permanence des gènes normalement induits ou réprimés dans différentes conditions (5).

I-10-4-Les mutants de résistance aux antibiotiques

Sur le plan génétique, la résistance des bactéries aux antibiotiques résulte soit d'une résistance naturelle soit d'une résistance acquise (17). Les mutants résistants aux antibiotiques sont capables de résister aux effets toxiques d'un antibiotique ou d'un autre type d'inhibiteur, il y a des mutants dans beaucoup de cas, la mutation modifie la structure de la protéine reconnue par l'inhibiteur de telle façon que celui-ci ne peut plus se lier à la protéine et interférer avec sa fonction (21).

***La résistance naturelle**

C'est une caractéristique propre à une espèce bactérienne, qui est partagée par toutes les souches normales de cette espèce, on définit ainsi le phénotype « sensible » ou « sauvage » (22).

***La résistance acquise**

C'est une caractéristique de certaines souches au sein de l'espèce considérée cette résistance résulte d'une modification génétique par mutation ou par acquisition de matériel génétique étranger ; la reconnaissance de ces résistances acquises définit les phénotypes « résistants » (22).

Chapitre II
Les mécanismes génétiques
de la résistance

D'un point de vue génétique, la résistance aux antibiotiques est encodée génétiquement, soit de manière stable dans le chromosome bactérien soit sur des unités chromosomiques supplémentaires et mobiles (plasmides ou transposons) capable de se déplacer d'un type de bactéries à l'autre (23).

II-1-La résistance chromosomique

La résistance chromosomique résulte d'une mutation, modifiant soit les sites d'action intracellulaires de l'antibiotique qui ne sera plus efficace (24), soit la modification des structures cellulaires préexistantes qui rend les bactéries indifférentes à un ou plusieurs antibiotiques, par diminution de la perméabilité ou du transport.

II-2-La résistance extra chromosomique

La résistance extra chromosomique due à un passage d'un gène de résistance d'une bactérie résistance à une bactérie sensible qui va devenir elle-même résistante (25). Ces gènes peuvent être portés sur des entités génétiques appelées plasmides, transposons ou intégrons.

II-2-1- La résistance plasmidique

Les plasmides sont des structures circulaires d'ADN données de répllication autonome et qui sont transmises entre individus de la même espèce ou d'espèce bactériennes différents (26).

Les plasmides les plus étudiés et les plus importants en pathologie infectieuse humaine sont ceux qui confèrent la résistance aux antibiotiques appartenant à des familles différents, trois mécanismes différents permettent ce transfert.

II-2-1-1-Conjugaison

C'est un mécanisme important par lequel l'ADN plasmidique peut être transféré entre une cellule donneur génétique (dite abusivement male) à une cellule receveur génétique (dite femelle ou réceptrice) au cours d'un contact nécessaire (27).

II-2-1-2-Transduction

C'est le transfert d'un morceau d'ADN par l'intermédiaire d'un virus bactériophage, le virus pénètre la bactérie puis incorpore le plasmide à transmettre, puis s'en va inoculer une autre bactérie c'est un phénomène plus limite que la conjugaison car la bactérie qui donne son plasmide est détruite le plus souvent (28).

II-2-1-3-Transformation

La transformation permet l'acquisition et l'intégration d'ADN nu. Cet ADN libre peut provenir par exemple d'une bactérie morte. L'ADN nu est à l'extérieur de la bactérie et est alors capté par celle-ci une fois capté l'ADN est incorporé à l'ADN de la bactérie et pourra

être transmis par la suite si des gènes de résistance étaient présents dans l'ADN nu, ces gènes pourront eux aussi être transmis.

II-2-2-La résistance transposable

Les éléments transposables sont des pièces mobile de l'ADN (29), qui se comportent un peu comme le génome de certains virus, qui peut s'intégrer ou s'exiser de sont hôte, ils permettent la translocation des gènes de résistance du chromosome bactérien vers un plasmide, ou d'un plasmide vers un autre.

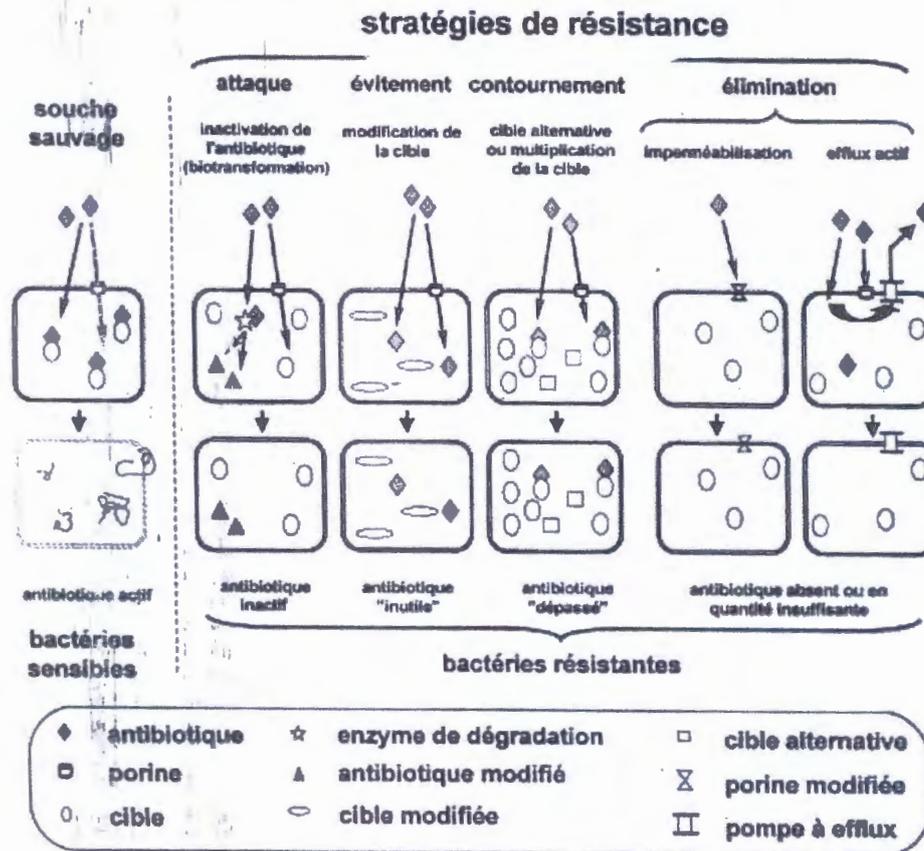


Figure 03 : Principales stratégie de résistance aux antibiotiques (29).

II-3-La résistance aux antibiotiques par efflux chez les bactéries

II-3-1-La découvert du phénomène

Se sont les travaux de stuart levy en 1980 sur la résistance aux tétracyclines qui ont mis en évidence pour la première fois la capacité d'*Escherichia coli* d'expulser ces antibiotiques de la cellule (21).

Au même moment, un mécanisme semblable avait été découvert dans des cellules transformées et devenues résistantes aux entracycline (30), ce mécanisme devait être rapidement considéré comme important dans la compréhension des échecs thérapeutiques en

oncologie car il pouvait affecter de nombreux agents anticancéreux sans relation structurelle apparente entre eux (Figure 03).

II-3-2-Définition des pompes d'efflux

Le système d'efflux fonctionne avec une protéine de la membrane cytoplasmique qui est le transporteur ou pompe, une protéine de la membrane qui forme un canal d'excrétion et une protéine périplasmique chargée (22).

II-3-3-Classification des pompes d'efflux

Ces pompes peuvent être des transporteurs drogue spécifiques et conférer une résistance vis-à-vis d'une seule classe d'antibiotiques, les gènes encodant les pompes drogue spécifiques sont souvent retrouvés sur des éléments génétiques mobiles (plasmide ou transposons) alors que ceux qui encodent les pompes MDR (multidrug resistance) sont pour la plupart chromosomiques (31).

Les pompes d'efflux peuvent aussi être classées selon la source d'énergie nécessaire à leurs changements de conformation lors du transport.

II-3-3-1-Les pompes d'efflux dépendant de la PMF

Ces pompes sont appelées transporteurs secondaires car elles permettent le couplage entre diffusion facilitée de cations et transport actif du composé ; lorsque la diffusion et le transport actif s'effectuent en sens opposé, le transport est qualifié d'antiport (32,32) selon la taille et les similitudes de structures primaire et secondaire, ce grande groupe de protéines peut être divisé en quatre familles distinctes :(figure 04) (30, 33).

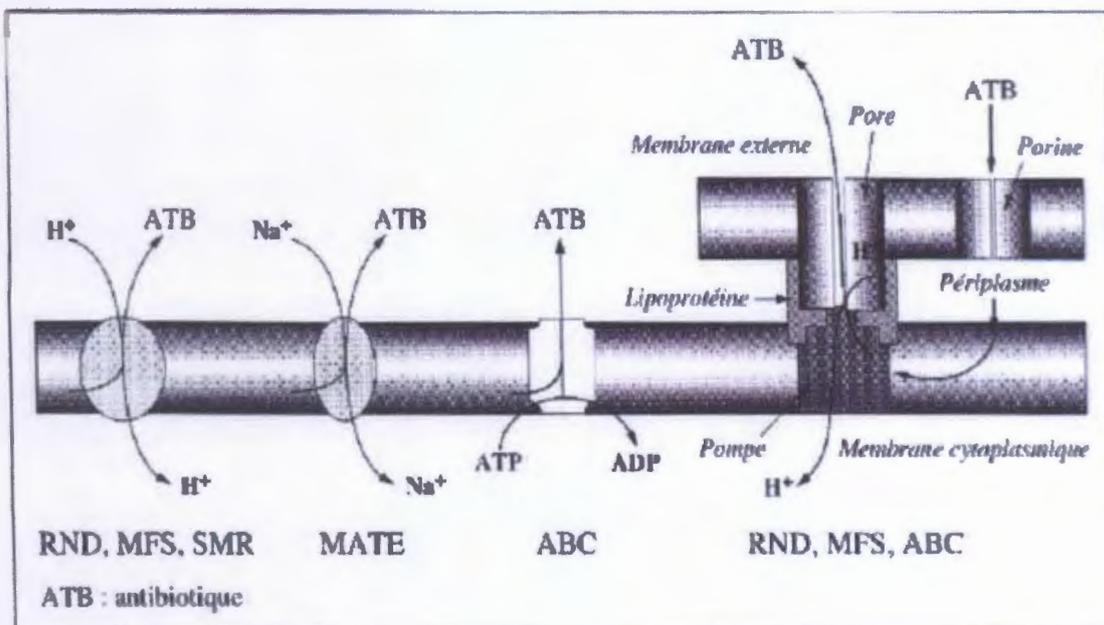


Figure 04 : Représentation schématique des cinq familles de pompes d'efflux (30).

***La famille MFS (Major Facilitator superfamily)**

Les transporteurs MFS sont des protéines d'environ 400 acides aminés, l'analyse des profils d'hydropathie et l'alignement des motifs conservés ont permis de diviser cette famille en deux sous familles, les pompes à 12 segments trans-membranaire (TMS) et les pompes à 14 segments trans-membranaire (30,32).

Ce type de pompes est inhibé par la réserpine. Ces transporteurs fonctionnent sans protéine associée, exceptée chez quelques bactéries à Gram négatif (34).

***La famille SMR (Small Multidrug Résistance)**

Les transporteurs SMR sont uniquement présents chez les procaryotes, ce sont les plus petites protéines d'efflux avec une structure primaire d'environ 110 acides aminés, ils sont constitués de quatre TMS (30).

***La famille RND (Resistance Nodulation cell division)**

Les transporteurs RND sont retrouvés essentiellement chez les bactéries à Gram négatif, chez lesquelles ils jouent un rôle important dans la résistance vis-à-vis de nombreux antibiotiques, ils sont constitués d'environ 1000 acides aminés et comprennent 12 TMS avec deux larges boucles périplasmiques hydrophiles impliquées dans la reconnaissance du substrat (30).

***La famille MATE (Multidrug And Toxic Compound extrusion)**

Les transporteurs MATE ont une topologie membranaire analogue à celle des pompes MFS actuellement décrit chez les bactéries à Gram négatif, ils utilisent un gradient électrochimique d'ions Na⁺ (35,36).

II-3-3-2-Les transporteurs ABC

Les transporteurs qui utilisent l'énergie issue de l'hydrolyse de l'ATP sont appelés transporteurs ABC (ATP binding cassette) et constituent la plus vaste famille de protéines connues, la structure des transporteurs ABC comprend deux domaines principaux (36), le domaine NBD (nucléotide binding domain) très conservé, est constitué d'environ 215 acides aminés, et le domaine TMD (trans-membrane domaine) est impliqué dans la reconnaissance des substrats.

II-3-4-Régulation des systèmes d'efflux

Les gènes des pompes d'efflux sont organisés en opéron dont l'expression est contrôlée par régulation local. La régulation transcriptionnelle peut aussi se faire à un niveau global, notamment par des systèmes à deux composants. Ainsi, la régulation de l'excrétion des pompes d'efflux Tet et différente selon la classe, pour les pompes Tet A à E et tet G-H des bactéries à Gram négatif, la régulation est transcriptionnelle sous le contrôle d'un répresseur

local Tet R, les pompes Tet K-L des bactéries à Gram positif régulées par un mécanisme « d'atténuation traductionnelle » (37).

II-3-5-L'efflux chez les bactéries à Gram négatif

La résistance naturelle des bactéries à Gram négatif à de nombreux antibiotiques est le résultat de l'association de l'imperméabilité de la membrane externe et de l'expression de système d'efflux intrinsèques. Ces micro-organismes peuvent aussi acquérir des transporteurs substances spécifiques extrinsèques, portés par des éléments génétiques mobiles.

II-3-5-1-*Escherichia coli*

L'analyse du génome d'*Escherichia coli* a montré la présence de gènes codant pour au moins 37 transporteurs caractérisés ou potentiels (38). AcrAB-TOLC est capable de transporter au moins cinq classes d'antibiotiques (39), les protéines Tet A-E sont, elles responsables de l'efflux des tétracyclines du Cytosol vers le périplasme (41) et représente un des mécanismes majeurs de résistance aux tétracyclines dans l'ensemble des Gram négatif (41).

II-3-5-2-*Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est un organisme naturellement résistant à un grand nombre d'antibiotiques (42), la résistance naturelle résulte en grande partie de l'expression de systèmes d'efflux (43); il pourrait en être de même pour la résistance adaptative de *Pseudomonas .aeruginosa* vis-à-vis des aminoglycosides (44) les protéines de la membrane externe sont interchangeables entre transporteurs, comme l'expression de ces protéines est constitutivement réprimée, une mutation au niveau du gène codant pour le répresseur entraînera la résistance simultanée à plusieurs antibiotiques (45).

II-3-5-3-*Neisseria gonorrhoeae*

Le gonocoque exprime de façon constitutive un système d'efflux contenant une pompe RND, MtrCDE (46). En cas de surexpression, par mutations du gène régulateur local mtrR, ce système est responsable de la résistance, vis-à-vis de nombreux composés tels que pénicillines, cyclines, macrolides, rifampicine, détergents et sels biliaires (33).

II-3-6-L'efflux chez les bactéries à Gram positif

Du fait de l'absence de membrane externe, les systèmes d'efflux des bactéries à Gram positif ne sont constitués que d'une pompe d'efflux enchâssé dans la membrane Cytoplasmique, les pompes MFS sont les plus fréquentes suivies par des pompes ABC et SMR (30).

II-3-6-1-*Staphylococcus aureus*

NorA est responsable de l'efflux des fluoroquinolones et peut conférer une résistance détectable suite à des mutations au niveau du promoteur du gène correspond (47). Le génome

du *Staphylococcus aureus* code pour au moins dix autres protéines putatives présentant des homologues de séquence avec NorA (48), le transporteur MsrA est responsable de plus de 10 % des résistances aux macrolides dans des isolats cliniques de *Staphylococcus aureus* sensibles à la méthicilline (49), les transporteurs TetK-L sont impliqués dans la résistance à la tétracycline (50), MdeA reconnaît les aminoglycosides (51).

II-3-6-2-*Streptococcus pneumoniae*

PmrA est une homologie du transporteur NorA du *Staphylococcus aureus* et transporte les fluoroquinolones (2) (52), MeFA identifié chez *Streptococcus pyogenes* et son homologue MeFE découvert ensuite chez *Streptococcus pneumoniae* (53) sont associés à la résistance aux macrolides.

II-3-6-3-*Bacillus subtilis* et *Lactococcus lactis*

Bien que ces deux organismes ne soient pas pathogènes chez *Bacillus subtilis*, Bmr et BLT sont deux pompes chromosomiques MFS à 12 TMS homologues de NorA, elles sont responsables de résistance aux fluoroquinolones (18).

Chez *Lactococcus lactis*, deux pompes ont été caractérisées, LmrA et LmrP. LmrA est un transporteur ABC impliqué dans la résistance aux aminosides, MLS, tétracyclines et quinolones. LmrP est une pompe MFS à 12 TMS capable d'expulser les macrolides, lincosamides et les tétracyclines (33).

II-3-7-efflux chez les mycobactéries

Les espèces du genre *Mycobacterium* sont naturellement résistantes à de nombreux antibiotiques, les mécanismes de résistance acquise sont essentiellement des modifications de cible dues à des mutations chromosomiques, bien que des transposons et des plasmides de résistance aient été impliqués dans la résistance acquise chez certaines mycobactéries à croissance rapide (54).

L'analyse génomique a montré que les mycobactéries possèdent plusieurs pompes d'efflux appartenant aux différentes familles telles LFrA, Pst, Tap, Tet (47).

II-3-8-Impact de l'efflux sur la résistance clinique aux antibiotiques

1-Les mécanismes d'efflux peuvent coopérer avec d'autres mécanismes pour déterminer un haut niveau de résistance.

2-L'expression concomitante de plusieurs pompes à efflux reconnaissant un même antibiotique peut entraîner d'emblée une résistance de haut niveau (55) et la co-expression de plusieurs pompes suite à la mutation d'un régulateur commun entraîne une multi-résistance.

3-L'activité des pompes à efflux augmente le risque de sélection de mutants résistants par diminution de la concentration intra bactérienne.

4-La plupart des transporteurs sont inductibles si l'induction concerne d'emblé une multi résistance aux antibiotiques.

5-Les gènes codant pour des pompes à efflux sont souvent situés sur des éléments génétiques mobiles et transférables, et peuvent être facilement transférés d'une bactérie résistante à une bactérie sensible.

II-4-Phénomènes d'imperméabilités et résistance aux antibiotiques

Chez les bactéries à Gram négatif l'enveloppe comprend la membrane externe et la membrane cytoplasmique ; la perméabilité de ces deux structures joue un rôle majeur dans la sensibilité elle peut en effet moduler la diffusion (passive) de l'antibiotique lors de son entrée, et régler son expulsion (active).

Les porines situées dans la membrane externe sont parmi les voies principales de son transport (56).

La résistance aux antibiotiques par l'imperméabilité membranaire résulte d'une mutation chromosomique qui diminue la production des porines qui forment des canaux laissant passer l'antibiotique (22).

II-4-1-Perméabilité membranaire et pénétration des antibiotiques chez les bactéries à Gram négatif

II-4-1-1-La membrane externe

La membrane externe des bactéries à Gram négatif est constituée de phospholipides, de lipopolysaccharides (LPS) et de protéines (57), elle protège les bactéries contre des agressions physiques telles qu'un choc mécanique ou une variation de température, chimique comme les antibiotiques.

La membrane externe avec les LPS et les phospholipides est ainsi le premier obstacle aux molécules hydrophiles chargées devant pénétrer la bactérie pour la détruire, de la même manière, la densité des sucres et des chaînes latérales du LPS organise un filtre efficace pour les autres molécules. (Figure 05).

II-4-1-2-Les porines

Chez les bactéries à Gram négatif, une classe de protéines membranaires particulières, les porines organise des canaux membranaires capables d'assurer la pénétration des nutriments, Ces systèmes de transport passif (qui ne nécessitent pas une source d'énergie) constituent une grande famille de protéines de la membrane externe : OmpF, OmpC, OmpD, PhoE, LamB, OmpA, OmpK36 et OmpK36 (58).

Cette superfamille des porines présente une certaine conservation dans leur séquence protéique, et notamment pour les régions intra membranaires (figure 05) (59).

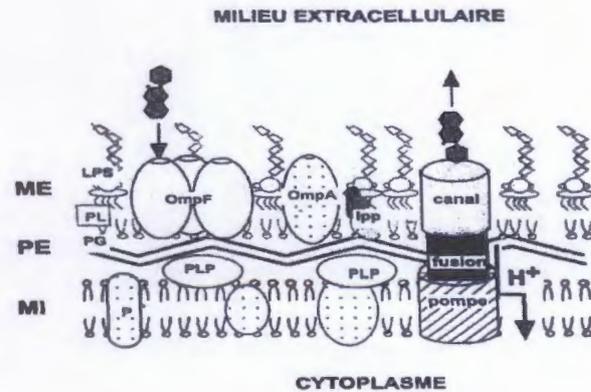


Figure 05 : Enveloppe d'une bactérie à Gram négatif, *Escherichia Coli* (59).

II-4-1-3-Les types des porines

Il y a trois types de canaux de porines localisés dans la membrane externe :

*Des porines non spécifiques, avec OmpF comme représentant et comprenant OmpC, OmpF, OmpD, Ompk36 et Omp36.

*Des porines plus sélectives, impliquées dans la diffusion de sucres ou de métaux, comme LamB pour le saccharose.

*Des porines qui forment des canaux pour l'entrée ou la sortie de divers molécules, telles que TolC pour l'hémolysine ou les antibiotiques (60).

II-4-1-4-Porine et diffusion

Les études extensives réalisées sur divers isolats des genres : *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Pseudomonas* ont ainsi montré que la chute d'expression des porines associée à la production d'enzymes, est un élément clé dans la résistance aux Beta-lactamines.

D'un autre côté, le rôle des porines dans la sensibilité aux fluoroquinolones a été établi ; par exemple ; chez *Enterobacter Cloacae*, le type de porine produit F, est associé au niveau de sensibilité à cette classe d'antibiotiques (61).

Chez *pseudomonas aeruginosa*, les études réalisées sur la porine D ont clairement montré le lien entre la sensibilité à l'imicénème et l'expression de cette protéine (62). Par ailleurs, les dipeptides, substrat naturel de ce canal sont capables de modifier le niveau de sensibilité à ce carbapénème (63).

L'existence de porines qui seraient directement associés à la pénétration d'une classe particulière d'antibiotiques n'est pas démontrés chez les entérobactéries, il semble que les capacités de perméabilité membranaire, plus élevées chez *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia.aerogenes* et les paramètres physicochimiques des porines

produits chez les bactéries n'aient pas amené l'intervention d'un porine spéciale pour le transport de molécules de Beta-lactamines particulières, à l'opposé de ce qui se produit chez *Pseudomonas aeruginosa* (64).

II-4-1-5-Régulation de l'expression des porines et résistance

Il est admis que la diminution de synthèse des porines joue un rôle dans la résistance (65); la mise en place de la barrière enzymatique vient compléter efficacement cette imperméabilité, comme cela est rapporté dans de nombreux cas.

Chez plusieurs bactéries, la régulation négative fait intervenir l'opéron *mar* qui via *micF* déstabilise l'acide ribonucléique messenger (ARNm) de la porine (66), et ce conjointement à l'expression des pompes d'efflux de même, le système *OmpR-envZ* qui module la synthèse des porines *OmpC-OmpF* chez *Escherichia coli* (67), pourrait aussi jouer un rôle chez des isolats résistants par ailleurs la production de la protéine *OmpX* est associée à une chute d'expression des porines chez *Escherichia coli*, *Escherichia aerogenes*, *Escherichia cloacae* et *Klebsiella pneumoniae* par un mécanisme inconnu à ce jour. D'autres processus baissant intervenir des cascades de régulation génétiques (vis *SoxS*, *ramA*, *IHF*) sont associés aussi à la diminution de la synthèse des porines.

À côté de ces mécanismes liés à la régulation génétique l'influence de facteurs structuraux associés, comme le rôle du LPS dans l'assemblage membranaire, les chaperons, le transport et l'insertion, peuvent avoir un effet déterminant sur la quantité de porines présentes dans la membrane (68).

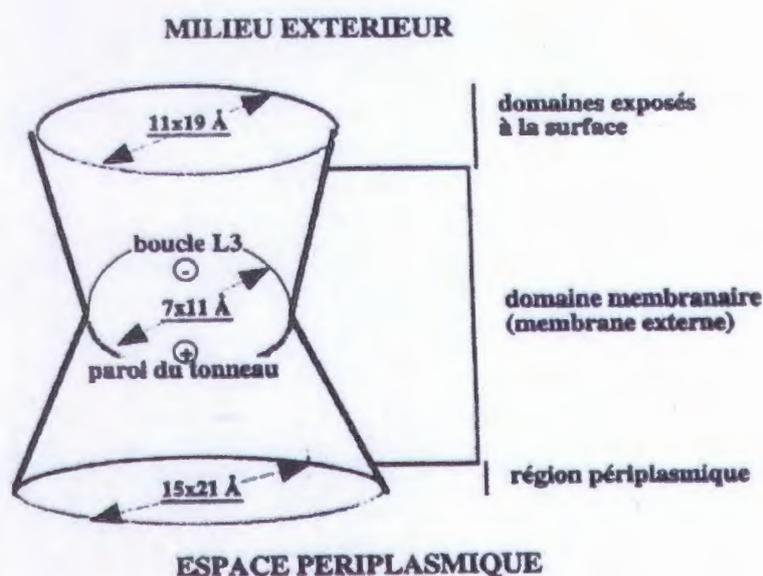


Figure 06 : La porine OmpF d'*Escherichia Coli* (68).

Chapitre III

Hyper mutabilité et adaptation aux antibiotiques chez les bactéries

III-1-Généralités

III-1-1-Historique

La notion d'adaptation est à la base de la compréhension du monde vivant, Lamarck puis Darwin furent les premiers à entrevoir que celle-ci ne correspondait pas, comme on l'avait crue jusque là, à un état d'origine devenus, mais qu'elle correspondait en fait à un processus dépourvu de toute conscience.

Avec Mendel et l'avènement des théories génétiques, le paradigme Néo –Darwinien vit le jour, définissant l'adaptation comme processus mécanique, résultants de deux phénomènes indépendants : les mutations et la sélection naturelle.

Les bactéries ont été intégrées dans ce paradigme grâce à l'expression de Luria et Delbrück dite « teste de fluctuation », portant sur l'apparition de bactéries résistantes aux phages (69).

Cependant, la notion d'indépendance entre l'apparition de mutations et la sélection imposée fut remise en cause en 1988. Cette année les Cairns montra que des mutations de réversion des souches Lac (-) (incapable de métaboliser le lactose). Qui se produisaient bien plus fréquemment quand elles étaient sélectionnées sur un milieu contenant du lactose comme unique source de carbone et donc que ces mutations étaient utiles pour l'adaptation (70).

Par la suite, les néo-darwiniens remettent en cause ces résultats en critiquant la méthodologie employée (71, 72,73).

III-1-2-Définition de l'hyper mutabilité

Une bactérie hyper mutable présente un taux de mutation élevée, pouvant aller de 10 à 1000 fois, par rapport à la population dont elle est issue.

On pensait autrefois que, la plupart des mutations étant délétères ou létales (74).

III-1-3-Définition de l'adaptation

L'adaptation peut être définie comme la correspondance entre une capacité particulière acquise par un organisme et son environnement, C'est le produit de la sélection naturelle (75).

III-1-4-Les mécanismes de l'hyper mutabilité et l'adaptation bactérienne

Il existe deux voies pour qu'une population de bactéries non mutatrices génère une mutation adaptative, La première possibilité correspond à la « voie lente » :

L'acquisition de mutation se fait en fonction du taux globale de mutation de la population (en générale). La seconde correspond à une « voie rapide », correspondant à la possibilité d'obtenir une mutation à un taux élevée en passant par l'état du phénotype sauvage étant facilitée par la capacité des mutateurs à recombiner plus facilement leur matériel génétique avec l'ADN étranger (76).

D'autres mécanismes que le SRM ont été impliqués dans l'hyper mutabilité et l'adaptation bactériennes et sont en relation avec les problèmes de pathogénicité

III-2-Système de réparation des mésappariement SRM

III-2-1-Le SRM chez les bactéries à Gram négatif

III-2-1-*Escherichia coli*

1-1-Vue générale du SRM

La duplication fidèle de l'ADN est essentielle pour la viabilité et la croissance normale d'une bactérie. Cependant, la réplication est un phénomène fréquent et complexe qui peut générer des erreurs conduisant parfois au mauvais appariement des nucléotides.

Si ces erreurs ne sont pas corrigées on observe une accumulation des mutations pour les cellules de disposer de protéines de réparation comme celles qui constituent le SRM.

1-2-Les gènes codés le SRM

Quatre gènes sont nécessaires pour un fonctionnement normale de ce système : mut S, mut L, mut H, et NVr D (également appelé mut H) (77). L'inactivation de n'importe lequel des 4 gènes du SRM augmente le taux de mutation ponctuelle (78), le système nécessite la présence chez la bactérie d'une méthylase Dam qui agit au niveau des séquences GATC en provoquant le branchement d'un groupement méthyle sur le résidu adénine, ce qui permet ensuite aux différents acteurs du SRM de distinguer le brin d'ADN néosynthétisé (portant l'erreur) du brin matrice (79), la présence d'ATP est indispensable au bon fonctionnement du système (80,81).

1-3-La protéine Mut S

C'est la base du système, puisque c'est elle qui reconnaît le mésappariement et initié le processus de réparation, Cette reconnaissance n'est pas spécifique d'une séquence particulière mais l'efficacité de la réparation peut être influencée par le contexte dans lequel le mésappariement se trouve (82,83).

1-3-1-la structure de Mut S

Chez les procaryotes, la protéines Mut S s'assemble en un homodimère qui forme une « pince » autour du double brin d'ADN, les deux structures sont remarquablement similaires (figure 7) et ressemblent un 8 dont le canal inférieur sert de site de fixation de l'ADN, tandis que la zone de liaison à l'ATP/ADP (84), chaque monomère est constitué de 5 domaines distincts représentés dans le (figure 8).

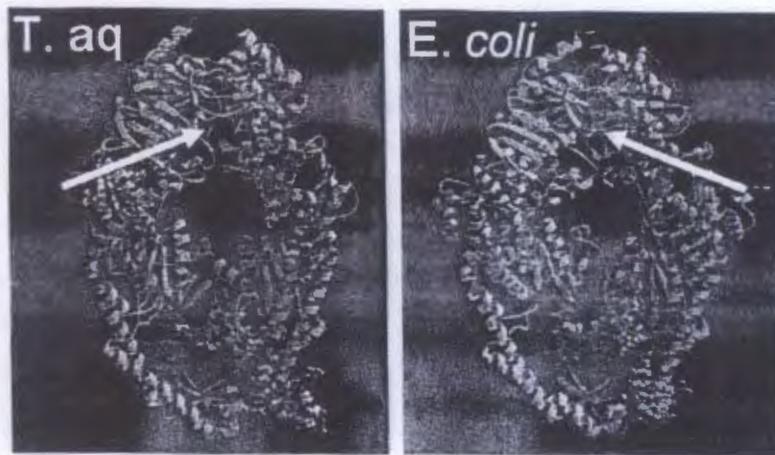


Figure 7 : Mut S-ADN chez *Taemous aquaticus* et *Escherichia coli* (84).

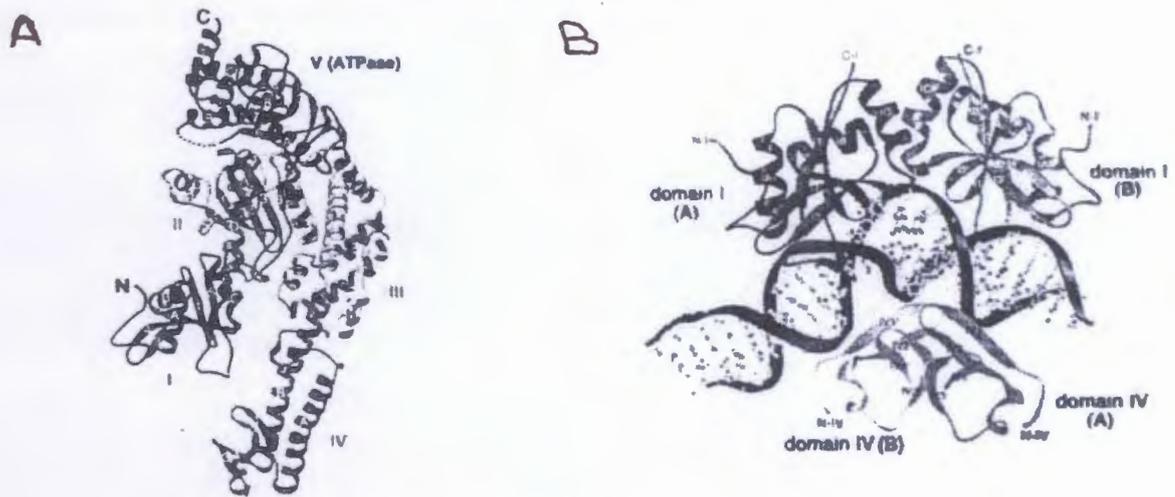


Figure 8 : Structure de la protéine Mut S liée à un ADN hétéroduplexe (85).

Les domaines I (1a 118 acide aminés) et domaines IV (406 a S 13 acides aminés) forment le site de fixation du mésappariement. Le domaine V (543 a 800 acides aminés). Le domaine III (247 a 385 acides aminés) (85,66).

1-3-2-Fonctionnement de Mut S

Les domaines I et IV forment le site de fixation du mésappariement, le domaine I étant en contact direct avec l'ADN et le domaine IV formant les mâchoires de la pince qui maintient l'ensemble, le site de fixation à l'ATP ainsi que la zone d'interaction primaire entre les deux sous unités sont situés dans le domaine V qui constitue en réalité (sont situées) dans deux domaines fonctionnels.

Le domaine III constitue un pont structurel entre la région ATPase et le site de fixation à l'ADN

La reconstitution par cristallographie a permis de constater que la fixation de l'homodimère du Mut S à l'ADN est asymétrique. En effet seul les résidus du domaine I interagissent directement avec le mésappariement (figure 8) (86).

Le fonctionnement coordonné de Mut S avec les autres acteurs du système reste encore controversé. Certains modèles suggèrent que Mut S reste fixée au mésappariement pendant que le complexe Mut L- Mut S active Mut H pour la coupure du brin néosynthétisé (86,87).

1-4-La protéine Mut L

1-4-1-La structure de la protéine Mut L

La partie C terminale de cette protéine très peu conservée entre les espèces, est impliquée dans la dimérisation des deux sous unités qui forment une protéine Mut L fonctionnelle (88,89). La partie N- terminale est extrêmement conservée sur les 350 premiers résidus et elle peut être séparée de la région variable par l'action de la thrombises qui donne un fragment de 40 K Da (LN40 1 à 349 acide aminés) et un autre de 30 KDa (Lc30, 350 à 615 acide aminés) (90).

En plus de cette analyse structurale, une analyse de séquence a révélé que Mut L est une ATPase contrairement à Mut S qui possède une ATPase « walker » classique typique des protéines « moteur » tel que les hélicases. Mut L serait plutôt une protéine « signal » du fait de ses nombreuses interactions avec à peu près tous les acteurs du système fonctionnant à la manière d'un « interrupteur moléculaire » recrutant différentes protéines selon les étapes du processus de réparation de l'ADN, ce sera en fait la protéine qui coordonne le tout (89).

1-5-Les autres acteurs du SRM

La protéine Mut H est une endonucléase monomérique capable d'agir sur le brin néosynthétisé au niveau d'un site hémiméthyle, son activation est dépendante de la formation du complexe Mut S, Mut L-ATP au niveau du mésappariement (91).

Sa structure déterminée par cristallographie aux rayons, montre qu'elle possède deux domaines structuraux, le bac C et le bac N, qui forment en pivotant l'un par rapport à l'autre une gouttière flexible dans laquelle l'ADN vient se fixer. Cette structure est proche des endonucléases de type II (92).

Enfin si le rôle de Mut H dans la réparation des mésappariements est largement établi, son rôle dans la prévention de la recombinaison n'est pas aussi clair (93).

III-3-Les SRM chez les bactéries à Gram positif

III-3-1-Les cas particulier des Gram positif

La base du SRM (les protéines Mut S et Mut L) est bien conservée chez tous les êtres vivants ; des homologues ont été mis en évidence chez les bactéries à Gram positif comme *Bacillus subtilis* (94) ou *Streptococcus pneumoniae*. Cependant, il existe des différences importantes. En effet les protéines Sam et Mut H, qui permettent la reconnaissance et l'exécution du brin néosynthétisé, n'on en fait été retrouvées que chez *Escherichia coli* et quelques autres espèces. Ces protéines semblent absentes.

Chez les bactéries à Gram (+) étudiées à ce jour, il n'existe pas d'équivalent de Mut H et surtout pas de système de méthylation. Par conséquent, toutes ces espèces doivent reconnaître le brin néosynthétisé d'une autre façon.

L'hypothèse la plus probable est que cette discrimination se fonde sur la présence de cassures dans l'ADN entre les fragments d'Okasaki générés par la réplication (95, 96,97).

Dans ce cas on suppose que l'action du SRM serait couplée à la réplication une autre caractéristique, est la structure on opérant des gènes Mut S et Mut L, cette organisation n'existe pas chez *Streptococcus pneumoniae*, mais il a été observé que les gènes hex A et hex B (homologue de Mut S et Mut L chez cette espèce) (98).

III-3-2-*Bacillus Subtilis*

La découverte de l'opéron mut SL chez cette espèce à constituer la première description d'une structure de ce type (94). La (figure 9) présente l'organisation. L'analyse permis de mettre en évidence la présence de deux terminateurs. De Transcription, l'un juste avant et l'autre juste après les deux gènes d'un RBS de plus mut L commence 16Pb après mut S et aucun terminateur ou promoteur n'a pu être identifié entre les deux gènes.

Ces données laissant à penser que ces deux gènes ces données laissent à penser que ces deux gènes appartiennent au même opéron.

Des études suggèrent une implication du SRM de *Bacillus subtilis* dans la réplication de certains hétéro duplexes formés lors de la transformation, empêchant leurs intégrations dans le chromosome.

L'implication de mut SL dans la recombinaison chez cette espèce a par la suite été analysée plus finement (99, 100).

Ces études ont montré que mut S et mut L n'avaient qu'un effet très limité dans le contrôle de la recombinaison entre séquences trop divergents était constitué par la nécessité d'une forte homologie de séquence aux deux extrémités des fragments donneurs et receveur une autre étude (101), rapporté une analyse sur l'ensemble du génome de *Bacillus subtilis* et émet l'hypothèse de l'existence d'un homologue de mut H chez cette espèce en effet le

produit du gène *nth* correspond à une endonucléase de type III présentent 16.5% d'identité avec *mut H*.

Les auteurs concluent en suggérant que *nth* on pourrait être impliqué dans le SRM chez *Bacillus subtilis* (figure 9).

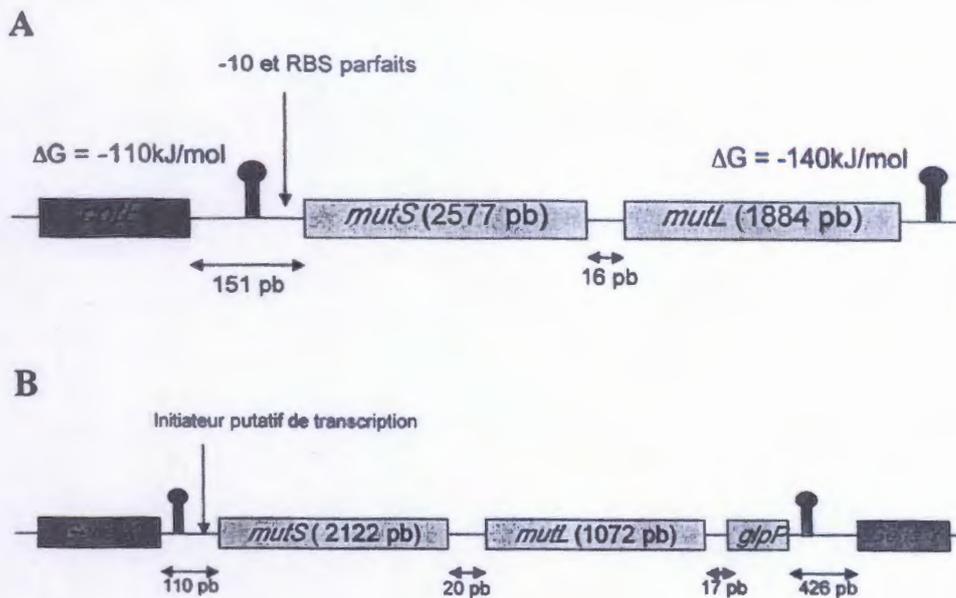


Figure 9 : Organisation de l'opéron *mut* SL de *B. subtilis* (101).

III-3-3-*Streptococcus pneumoniae*

Cette espèce a été particulièrement étudiée du fait de sa compétence naturelle. C'est en fait chez *Streptococcus pneumoniae* que le premier SRM a été mis en évidence et étudié.

Très tôt, on a réalisé qu'il devait exister un système corrigeant les erreurs d'appariement au sein d'un ADN hétéro duplexe et que celui-ci avait une influence sur l'efficacité de transformation grâce à un mécanisme enzymatique (102). A l'apparition de cette hypothèse des mutants hex furent par suite isolés, qui pouvant acquérir tous les marqueurs avec un très grand efficacité (103) par la suite on identifia deux loci dont les mutations provoquaient une augmentation du taux de mutation et de l'efficacité de transformation :

Hex A (homologue de *mut S*) et hex B (homologue de *mut L*) (104,105).

De nombreuses études portant sur les mécanismes moléculaires impliqués dans l'intervention du système hex AB sur la recombinaison et réparation des mésappariements a été publiées (106). Une autre étude récente semble montrer que le système hex AB est polymorphe selon les souches et que son implication dans l'hyper mutabilité des souches clinique de *Streptococcus pneumoniae* est faible (107).

III-3-4-*Staphylococcus aureus*

L'analyse moléculaire des gènes mut Set mut L de *Staphylococcus aureus* permettre l'identification des gènes sur le chromosome d'une souche de référence séquencée peu de temps auparavant, et constaté que ceux-ci semblaient être organisés en opéron.

Une souche mut S (-) à été construite par l'intégration d'un plasmide thermosensible au milieu du genre la fréquence de mutation de cette souche était augmenté sur les 4 antibiotiques testés, confirment le rôle de mut S dans la réparation des mésappariements chez cette espèce. Enfin, la fréquence de mutation de la souche sauvage et mutant à différents stades de la croissance montant ainsi que cette ci n'était pas augmentée en phase stationnaire contrairement à ce qui avait pu être observé chez *Escherichia coli* (108).

III-4-Rôle du SRM dans l'adaptation des bactéries à leur environnement, cas des bactéries pathogènes

III-4-1-Rôle du SRM dans la pathogénique

Les efforts réalisé au cours des 150 dernières années par l'home pour contrôler, voir éradiquer les maladies infectieuses sont en permanence remis en cause par le développement chez les microorganismes de nouvelle stratégies pour survivre à la pression exercée par les défenses immunitaires de l'hôte lui-même et par les traitements qui lui sont administres, en plus de la compétition que leurs imposent les bactéries commensale (109).

Les auteurs discutent d'ailleurs l'avantage potentiel du caractère mutateur pour les pathogènes soulignant que l'étude de jussum (1960), qui portant uniquement sur des souches pathogènes, retrouvait 3.6 % de mutateurs dans la majorité des cas, c'est une inactivation d'un des gènes du SRM qui a été identifié comme responsable de l'hyper mutabilité des souches (110,111,112) de plus il a été montré récemment que la diminution de la concentration cytoplasmique en protéine mut S qui est observé chez *Escherichia coli* pendant la phase stationnaire de croissance était 6 fois plus important chez une souche virulent que chez la souche *Escherichia coli* K12 parmi les souches hyper mutables pathogènes , il existe une différence entre les souches hyper mutables et les autres chez (113) , on pu constater que la corrélation entre la virulence des souches et le nombre de facteurs de pathogénicité présents dans la souches, qui existent chez les bactéries sauvages, disparaît chez les mutateurs (114).

Ces résultats établissent toutes un bien entre l'hyper muabilité et la résistance aux antibiotiques, par conséquent on peut penser qu l'hyper mutabilité confère un avantage aux bactéries dans certains pathologie.

III-4-2-Rôle du SRM dans la résistance à l'antibiotique

Un lien hypothétique entre hyper mutabilité et résistance aux antibiotiques existe en fait depuis longtemps, puisque dès le premier article décrivant la forte proportion de souches hyper mutables parmi les pathogènes isolées chez l'homme (110).

Le lien entre hyper mutabilité et acquisition de multiple résistance soit par mutation, soit par l'acquisition de gènes, est évoqué sur des souches de laboratoire viennent régulièrement confirmer cette hypothèse ainsi, les mutateurs pourraient faciliter la modification des sites actifs des enzymes de détoxification permettant de passer d'une résistance de bas niveau à une résistance de haut niveau (115).

De plus, les souches hyper mutables semblent capables d'étendre leur spectre de résistance (116) et elles peuvent accumuler des mutations compensatoires du coût biologique de la résistance (117). Plusieurs autres études viennent encore appuyer ces constatations (118,119), montrent ainsi que les mutateurs présentent un risque fort d'émergence de nouvelles résistances en présence d'antibiotiques, aussi bien chez *Escherichia.coli* que *Streptococcus pneumoniae* (120) montrent que l'émergence de mutants résistants à plusieurs antibiotiques (mutants MDR multi Drug Résistant) est facilitée chez les *Pseudomonas aeruginosa* mutateurs.

C'est d'ailleurs chez cette espèce que la seule étude établissant un lien tangible entre hyper mutabilité des souches cloniques et résistance aux antibiotiques a été réalisée (121). Ces travaux montraient en effet que la proportion de souches résistantes à 6 antibiotiques différents était significativement plus élevée parmi la souche hyper mutables isolées de mucoviscidose que parmi les souches non mutatrices.

Ces résultats ont été récemment confirmés *in vitro* par l'étude du comportement en présence de différents antibiotiques d'un mutant mut S (122), et mise à profit pour la mise au point d'un test permettant la détection rapide de souches hyper mutable au laboratoire, basé sur l'existence de sous population s résistantes aux antibiotiques dans la population hyper mutable (123).

En conclusion, même si le lien entre hyper mutabilité et résistance aux antibiotiques n'est pas encore clairement établi de façon certaine un faisceau de présomptions important est à prendre en compte, particulièrement dans le cadre des infections chroniques de types mucoviscidose.

III-5-Relation entre la mucoviscidose et hyper mutabilité des bactéries colonisant les poumons des patients atteints de cette maladie

III-5-1-Origine de la maladie

La mucoviscidose est une maladie génétique à transmission autosomique récessive portant sur le gène codant pour la protéine CFTR, elle est considérée comme « la plus fréquente des maladies génétiques » depuis la découverte du déterminant génétique responsable de la maladie en 1989 (124,125,126) les mécanismes moléculaire responsable de la maladie sont beaucoup mieux compris le rôle essentiel du CFTR est de faire transiter le chlore à travers les membranes des cellules de l'épithélium pulmonaire de les mucus qui tapisse les bronches est épaissi et favorise le développement d'infections inflammatoires des tissus.

III-5-2-Infection bronchiques associées

La colonisation bactérienne survient très tôt dans l'histoire de la maladie. Les premiers germes en cause sont : *Haemophilus influenzae* et *Staphylococcus aureus* ils sont retrouvés dans les poumons de la majorité des patients de moins de 10 ans le plus souvent, ils précèdent de quelques mois à plusieurs années , la colonisation a *Pseudomonas aeruginosa*, ne se comportant comme un pathogène que sous certaines conditions opportunes, le rôle de ces infections broncho pulmonaire dans la mortalité des patients atteint est bien établis, elles sont responsables à la fois des épisodes d'infection provoquant une inflammation aigue des tissus et d'une dégradation progressive de la fonction pulmonaire chez les malades.

Pseudomonas aeruginosa isolés chez ces malades présente fréquemment un phénotype dit mucoïde (127).

Concernant *Staphylococcus aureus*, sont fréquemment retrouvés dans les prélèvements issus de mucoviscidose (128) .ces variants présentent une physiologie très particulière, avec une croissance ralentie, mais une résistance accrue aux systèmes de défense immunitaire de l'hôte et aux traitements antibiotiques (129).

III-5-3-Traitement antibiotique administré aux malades

Différentes stratégies thérapeutiques sont préconisées selon l'âge, l'état général et le type d'infection chez le malade. La plupart du temps, il s'agit de lui administrer une combinaison d'antibiotiques, sur longues périodes pour leur effet synergique à la fois sur les germes en cause et sur l'amélioration de la fonction pulmonaire en générale (130,127).

Des études récentes ont montré que les macrolides en particulier l'azithromycine pouvaient avoir un effet bénéfique à des concentrations subinhibitrices administrées sur de longues périodes sur les patients colonisés par *Pseudomonas aeruginosa* (131,132). Dans ce cas ? la molécule n'est pas utilisée pour son action directe sur le germe, puisque

Pseudomonas aeruginosa est naturellement résistante aux macrolides, mais pour un effet anti-inflammatoire et diminuant la capacité d'adhésion on du micro-organisme (133,134).

De nombreux traitements antibiotiques souvent prolongés sont mis en jeu dans le cadre de la mucoviscidose.

Ils exercent une pression constante sur les bactéries responsables des infections pulmonaires des patients ajoutées à la pression exercée par les changements fréquente dans la structure physique et la physiologie des voies respiratoire chez les malades, causé par l'inflammation et les dommages provoqués par la réponse immunitaire, c'est un véritable challenge de l'adaptation qui est imposé aux bactéries.

III-5-4-Phénotype hyper mutables des bactéries isolées chez les malades

III-5-4-1-*Pseudomonas aeruginosa*

Les nombreux travaux réalisés au cours des années précédentes montrant que l'adaptation des bactéries a un environnement hétérogène et changeant permettaient la sélection de variants hyper mutables ont poussé les auteurs à émettre l'hypothèse d'une forte prévalence des *pseudomonas aeruginosa* hyper mutables parmi les souches isolées de mucoviscidose par rapport aux isolées d'autres infections. Cette hypothèse a été vérifiée expérimentalement : sur 128 isolats 19.5 % présentaient une fréquence de mutation augmentée sur rifampicine, alors qu'aucun isolat provenant d'autre pathologie considéré comme mutateur, une étude épidémiologique a permis de conclure que tous les mutateurs avaient subi cette évolution un profil différent une analyse de l'activité différentielle des antibiotiques sur les souches mutatrices ou on a également mis en évidence une différence significative entre les proportions de souches résistantes pour 8 antibiotiques couramment utilisées dans le traitement des infections à *pseudomonas aeruginosa* chez les patients atteints de mucoviscidose une étude complémentaire réalisée par la suite a montré que les 11 souches mutatrices, 7 présentaient des altérations du SRM (4 souches mut S, 2 mut L et une uvrD).

III-5-4-2-*Staphylococcus aureus*

Une première étude montrant l'implication de mut S dans le phénotype mutateur chez l'espèce est parue en 2002 (135) en plus de l'étude moléculaire portant sur le gène mut S ces travaux ont recherché la présence des souches mutatrices dans une collection de 493 souches dont 49 isolées de mucoviscidose, une seule souche présentait une fréquence de mutation légèrement supérieure à la normale mais celle-ci n'était pas stable. Contrairement aux souches isolées d'autres pathologies (136).

III-5-4-3-*Haemophilus influenzae*

Une étude publiée sur la dynamique de colonisation sur le long terme du tractus respiratoire des maladies par *Haemophilus influenzae* montre que la proportion des souches hyper mutables est encore plus importante que parmi les souches isolées d'autres pathologies (136) ce travail très complet a apporté sur 188 souches isolées chez 30 patients, il a montré qu'une même souche peut persister chez certains patients sur une période très longue (jusqu'à plus de 4 ans) et que ce phénomène est en générale associé à la résistance aux antibiotiques les auteurs ont constaté que les souches isolées de mucoviscidose étaient en générale le beaucoup plus résistantes aux antibiotiques que celles isolées d'autres pathologies (137).

Une autre étude a confirmé tout récemment ces résultats en isolant parmi 500 souches pathogènes de cette espèce 14 mutateurs dont 12 proviennent de patients atteints de mucoviscidose avec une majorité contenant des altérations de Mut S, 6 des mutateurs provenant du même patient et correspondaient en fait au même sein duquel on observait une augmentation de la CMI de l'antibiotique (administré au patient pendant la période d'isolement des souches (138).

Conclusion

Conclusion:

D'après les données bibliographiques nous pouvons dire que le principale mécanisme impliqué dans les modifications du génome est l'apparition de mutation au cours de la réplication. Ce mécanisme est impliqué dans la virulence et la résistance aux antibiotiques des bactéries responsables de pathologies sous la dépendance du système de réparation des mésappariement.

L'intérêt pour les phénomènes d'hyper mutabilité chez *Staphylococcus aureus* est né d'une observation clinique alarmante.

Des études ont permis de montrer que l'émergence de la résistance aux macrolides chez les souches *Staphylococcus aureus* isolées chez les patients atteints de mucoviscidose se faisait majoritairement grâce à l'accumulation des mutations ribosomales qui n'avaient jamais été décrites jusque là dans le genre *Staphylococcus*.

En effet *Staphylococcus aureus* à l'instar d'autres espèces comme *Streptococcus pneumoniae* ou *Haemophilus influenzae*, est une bactérie à la fois commensale et pathogène, plus fréquemment retrouvée chez les individus sains et asymptomatiques que dans les infections.

Il a été montré aussi que les souches de *Staphylococcus aureus* pouvaient présenter des divergences et une hétérogénéité importantes dans leurs structures chromosomiques, conduisant à la survenue des souches particulièrement dangereuses portant de nombreuses caractéristique de virulence et de résistances aux antibiotiques grâce au grand nombre de répétitions chromosomiques qu'elles présentent dans leur génome, leur permettant de générer des réorganisation génétique importantes. Ce problème pouvait être particulièrement pertinent dans un contexte de recombinaison illégitime favorisé par un phénotype mutateur. L'étude de l'évolution génomique des souches pathogènes hyper mutables ou non pouvait dans ce cadre apporter plus d'information sur la relation possible entre les deux phénomènes. La comparaison de données phylogénétique des souches pathogènes et commensales permettant de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents à l'évolution du génome chez cette espèce

Nous concluons qu'une bactérie pour sa survie dans l'environnement doit conserver et transmettre à sa descendance son patrimoine génétique, même au détriment de l'adaptation de la population. Elle possède pour cela des outils moléculaires dédiés à la réplication et surtout à la réparation de l'ADN. Ces outils lui permettent de maintenir son taux de mutation à un niveau bas et stable. Cette nécessaire stabilité est cependant contre

balancée par la nécessité de s'adapter a toute variation défavorable de l'environnement particulièrement à l'adaptation aux antibiotiques .

Références bibliographiques:

1. **Bousseboua. 2002.** *microbiologie générale éd, de l'université de Constantine, 8-14.*
2. **Miller J H. 1996.** *Spontaneous mutators in bacteria: insights into pathways of mutagenesis and repair. Annu.Rev.Microbiol, 50,625-643.*
3. **Foster P L., Cairns J.1992.***Mechanisms of directed mutation. Genetics, 131,783-789.*
4. **Zahrt T C., Buchmeier N., Malloy S. 1999,** *Effect of Mut S and rec D mutations of Salmonella virulence. Infect.immun, 67, 6168-6172.*
5. **Brownt A. 2004.** *Genomes, Editions Flammarion.69-78.*
6. **Abderrahman M., Jean., Michel Petit., Raymond julien.2007.***mini manuel de biologie moléculaire. 45-48.*
7. **Griffiths, Wesslet, Lewontin, GELBART, Suzuki, Miller. 2006.** *introduction à l'analyse Génétique, 4eme édition. de boeck.301-302.*
8. **Hebert. E. 1997.** *Genétique, 3eme Edition. Robert Atlani, 7-8.*
9. **Frédéric L. 1991.** *Génétique, 3ème édition. 230-231.*
10. **Jean. , Luc R. 2004.** *Gènes et génomes 39-41.*
11. **Helene C. 1994.** *Les acides nucléiques. NATHAN université.143-146.*
12. **Brigitte S., 2006.** *Biologie, Microbiologie.86-89.*
13. **www.Wikipedia.**
14. **Henri L., Jeane., Louis., Gaillard., Michel Simoney. 1995.** *Microbiologie générale. 306-307.*
15. **Joseph., Pierre G. 1993.** *Génétique microbienne, technique et documentation lavoisier. 510-514.*

16. Bédouelle E., Brussaud P., Carter A, charbitj M., Element E Dassa .1988. *Mutagènes et proteines.116-117.*
17. www.bacteriologie.net
18. Deuevis L. 1996. *Aide mémoire de la biologie moléculaire*, Edition DVNOD. 15-17.
19. Michel Gépin. 1987. *Expression des gènes des génies génétique.63-670.*
20. Soraya Moulessehoul. 2006. *Biologie et Génétique*. Edition. Office des publications universitaires.118-119.
21. Levy SB., Mc Myrryl. 1798. *Plasmide determined/Nature. 100-101.*
22. Catherine Gaudy., Jacques Busceaud. 2005. *Antibiotiques: Pharmacologie et thérapeutique*.Elservier. 412-418.
23. Berche P., Courvalin P ., Nossif. 2000. *la résistance aux antibiotiques.200-202.*
24. L'institut de l'élevage. 2008. *Maladies des bovins*, Edition France agricole. 20-507.
25. Moustardier G. 1972. *bactériologie médicale 4ème édition*, Doin .76-79.
26. Philipe lepoivre. 2003. *phytopathologie : base moléculaires et biologiques des pathosystemes et fondement des stratégies*. Edition boeck université. 55-58.
27. Véronique Fournier. 2003. *La résistance bactérienne aux antibiotiques*, université laval. 112-114.
28. Francois Pebert. 2003. *maladies infectieuse : toutes les pathologies des programmes officiels des études médicales au paramédicales*, Edition heurs de France. 55-57.
29. Niklin J., Graeme Cookk., Paget Tet Killington R.2000. *essentielle en microbiologie*. Edition Betri.30-31.
30. Putman M., Van Veen HW, Konings WN.2000. *Molecular properties of bacterial multidrug transporters*.Microbiol Mol Biol Rev; 64,672.

31. Butaye P., Cloeckert A., Schwarz S. 2003. *Mobile genes coding for efflux-mediated. Antimicrobial resistance in Gram-positive and Gram-negative bacteria.* Int J Antimicrob agents. 22, 205.
32. Paulsen IT., Brown MH., Skurray RA. 1996. *Proton dependant multidrug efflux systems.* Microbiol, Rev; 60, 575-608.
33. Cars O., Molstad S., Melander A. 2001. *Variation in antibiotic use in the European Union.* Lancet.33-34.
34. Malhotra Kumar S., Lammens C., Martel A., Mallentjr C., Chapelle S., Verhoeven J et al., 2004. *Oropharyngeal carriage of macrolide. Resistant réviridans groupe Streptococci: a prevalence Study among healthy, adults in Belgium.* J Antimicrob chemother.. 53, 271-276.
35. Verhaegen J., Van D V., Verbiest N., Van Elder J., Verbst L .1994. *Evolution of Streptococcus pneumoniae Strotypes and antibiotic résistance in Belgium-update* Clin Microbiol Infect; 6,308-315.
36. Guillemot D.1999. *Antibiotic use in humans and bacterial resistance.* Curropin Microbiol ; 2, 494-498.
37. Chopra L, Roberts M.2001. *Tetracycline antibiotics mode of action, applications, molecular biology and epidemiology of bacterial reistance.* Microbiol mol Biol Rev.; 65,232.
38. Nishinok, Yamaguchi A. 2001. *Analysis of complete library of putative drug transporter gens in Escherichia Coli,* J Bacterial.; 183, 5803-5812.
39. Nakamura H., Hachiya N., Tojo T. 1978. *Second acriflavine sensitivity mutation, acr B, in Escherichia Coli K-12.* J bacterial, 134, 1184-1187.
40. Thanassi DG, Suh GS, Nikaido H. 1994. *Efflux pumps and drug reistance in gram-négative bactéria.*Trends resistance in gram-negative bacteria Trends Microbial; 2, 489-493.
41. Li XZ, Nikaido H. 2004. *Efflux mediat drug resistance in bacteria.* Drugs; 64,159-204.

42. **Nikaido H. 1994.** *Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and active efflux.* *Science*; 264, 382-388.
43. **Lomovskaya O., Lee A., Hoshino K., Ishida H., Mistry A., Wareen M S. 1999.** *Use of a genetic approach to evaluate the consequences on inhibition of efflux pumps in pseudomonas aeruginosa.* *Antimicrob Agents Chemother*; 43, 1340-1346.
44. **Hocquet D., Vogne C., El Garch F., Vejux A., Gotoh N., Lee A, 2003.** *MexXY-oprm efflux pump is necessary for an adaptive resistance of pseudomonas aeruginosa to aminoglycosides.* *Antimicrob Agents, chemother*; 47, 1371-1375.
45. **Boutoille D., Corvec S., Caroff N., Giraudeau C., Espaze E., Carillon J. 2004.** *Detection of an IS21 insertion sequence in the mex R gene of pseudomonas aeruginosa increasing beta-Lactam resistance.* *FEMS Microbiol Lett.*; 330,134-146.
46. **Koheler R., pechere JC., plesiat P. 1999.** *Celle Molifie Sci.*311-314.
47. **Kaatz GW., Seo SM., Foster TJ.1999.** *introduction of a nor a promotor region mutation into the chromosome of a fluoroquinolone-susceptible strain of Staphylococcus aureus using plasmid integration.* *Antimicrob Agents chemother*; 43; 2222-2224.
48. **Kaatz GW., Seo SM., O'Brien L. 2000.** *Wahiduzzaman efflux transporters distinct from Nor A in Staphylococcus aureus.* *Antimicrob Agents chemother*; 44, 1404-1406.
49. **Schemitz FJ, Sadruski K., Krav A., BoosM. 2000.** *Resistance genes in Staphylococcus aureus and Enterococcus Faecium isolates from 24 European university hospitals.* *J Antimicrob Chemesther.*; 45,891-898.
50. **Huang JO., Toole PW., Shen PW., Shen W., Amrine Madsen H., Jiang X., Lobo N. 2004.** *Novel chromosomally encoded multidrug efflux transporter Mde A in Staphylococcus aureus.* *Antimicrobe agents chemesther*; 48, 909-917.
51. **Robers MC. 1992:** *tetracycline resistance determinants mechanisms of action, regulation of expression, genetic mobility, and distribution.* *FEMS Microbiol Lett.* 1992; 74, 259-264.

52. Gill MJ, Bren Wald NP, Wise R.1999. *Identification of an efflux pump gene, pmr A, associated with fluoroquinolone resistance in streptococcus pneumonia.* Antimicrob Agents Chemother; 43,187-189.
53. Tait-Kamradt A., Clancy j., Cronan M., Dib-Hajj F., Wondrack L., Yuan W., Sutcliffe J. 1997. *mef E is necessary for the erythromycin-resistant M phenotype in streptococcus pneumonia.* Antimicrob Agents Chemother; 41, 2251-2555.
54. Grkovic S., Brown MH, Skurray RA.2002. *Regulation of bacteria. Drugs. Export systems.* Microbiol Mol Biol Rev.; 66,671-701.
55. Lee A., Mao W., Warren MS., Mistry A., Hoshino k., Okumura R., Shida H., Lomouskaya O. 2000. *interplay between efflux pumps may provide either additive or multiplicative effects on drug resistance.* J Bacteriol; 182, 3142-3150.
56. Lomovskaya O., Waven MS., Lee A, Galazzo J., Fronko R., Lee M., Blais J., Cho D., Chambrland S., Renau T., Leger R., Hecker S., Watkins W.2001. *Identification and characterization of inhileitors of multidrug resistance efflux Pumps in Pseudomonas aeruginosas,* Antimicrob. Agent's chemother, 45, 105-118.
57. Nikaido H. 1996. *Outer membrane, in Neidhardt F.C. (Ed), Escherichia coli and Salmonella, cellular and molecular biology, ASM press, Washington, PP. 29-47.*
58. Hancock R.E.W. 1997.*the bacterial outer membrane as a -drug barrier,* Trends Microbial., 37-42.
59. Jeanteur D., Lakey J.H., Pattue F.1991. *The bacterial Porin superfamily: sequence alignment and structure prediction,* Mol. Microbial., 2153-2164.
60. Delcour A. H. 2002. *Structure and function of pore-forming beta-barriers from bacteria.* J .Mol. Microbiol. Biotechnol, 1-10.
61. Chevalier J. Malla M, Pages J.M. 2000. Biochem J. 52-53.
62. Trias J., Dufresne J., Levesque R.C., Nikaido H.1989. *Decreased outer membrane permeability in imipenem resistant mutants of P.aeruginosa,* Antimicrob, Agents chemother, 1201-1206.

63. Trias J., Nikaido H. 1990. *Protein D2 channel of the P, aeruginosa outer membrane has a binding site for basic aminoacids and Peptides*, J. Biol. chem., 15680-15684.
64. Livermore DM. 2001. *Of Pseudomonas, Porins, Pumps and carbapenems*, J. Antimicrob, chemother, 247.
65. Nikaido H. 1994. *Prevention of drug access to bacterial targets: Permeability barriers and active efflux*, Science, 382-388.
66. Cohen S.P., Mc Murry LM., Levy S.B. 1988. *mar a locus causes decreased expression of OmpF porin in multiple antibiotics-resistant (Mar) mutants of Escherichia coli*, J. Bacteriol., 5416-5422.
67. Mizuno T., Mizushima S. 1990. *Signal transduction and gene regulation through the phosphorylation of two components: the molecular basis for the osmotic regulation of the Porin genes*, Mol. Microbiol., 1077-1082.
68. Karshikoft A., Cowan S.W., Spassov V., Ladenstein R. 1994. *Electrostatic Properties of two Porin channels from E. coli*, J. Mol. Biol. 372-384.
69. Luria S.E., Delbuck. 1943. *Mutations of bacteria from virus sensitivity to virus resistance*. Genetics, 28,491-511.
70. Cairns J., Overbaugh J., Miller. 1988. *The origine of mutants* .Nature, 335, 142.
71. Partridge, Land Morgan .M.J 1988. *Is bacterial evolution random or selective*, Nature, 336, 22.
72. Charlesworth, D., Charlesworth, B., and Bull, J. 1988. *Origins of mutants disputed* .Nature, 335-142.
73. Lenski, R.E., Slatkin M., Ayala F.J. 1989. *Another alternative to directed mutation* .Nature .337, 123-124.
74. Kimuro M. 1968. *Evolutionary rate at the molecular level*, 624-626.
75. Lenski R.E. 1992. *Evolution experimental in Lederberg, Joshua (Ed), Encyclopedia of microbiology*, Academic press, Pp.125-140.

76. Taddei F., Radman M., Maynard. Smith, J., Toupance B., Gouyon P.H., Godelle, B.1997. *Role of mutator alleles in adaptive evolution. Nature*, 387,700-702.
77. Horst J.P., Wu, T.H., Marinus M.G.1999.*Esherichia coli mutator genes. Trends Microbiol*, 7, 29-36.
78. Cosc E.C.1976.*Bacteial mutator genes and the control of spontaneous mutation. Annu Rev. Genet.*, 10, 135-156.
79. Claverys J.P., Lacks, S.A.1986.*Heteroduplex deoscyribonucleic acid base mismatch repair in bacteria .Microbiol-Rev.*, 50,133-165.
80. Marti T.M., Kunz.C., Fleck .O.2002.*DNA mismatch repair and mutation avoidance pathways .J, cell physiol*; 191, 28-41.
81. Lamers M.H., Geogigevic. D., Lebleink J. H., Wintrewerp, H.H., Agianian, B., Dewind N., sixma T. K., 2004. *ATP incréeses the affinity between MutS ATPase domains implication for ATP hydrolysis and conformational changes .J Biol. Chem.* 219-221.
82. Jones M., Wagner R., Radman M. 1987 *Repair of a mismatch is influenced by the base composition of the surrounding nucléotide sequence. Genetics*, 115, 605-610.
83. Joshi A., Rav B.J.2001.*Muts recognition: multiple mismatches and sequence context effects. J. Biosci context effects. J.Bioxi*, 26,595-606.
84. Biswas L, obmolova G., Takahashi M., Herr A., Newman M.A., yang.w., Hsieh, P.2001.*Disruption of the helix-turn-helix motif of Mut S proteine: loss of subunit dimerization, mismatch binding and ATP hydrolysis. J.Mol .Biol*, 305, 805-816.
85. Lamers M.H., perrakis A., Enzlin J.H., T.K.2000.*the Grystal structure of DNA mismatch repair protein Mut S binding to a GXT mismatch. Nature*, 407, 711-717.
86. Obmolova G., Ban C., Hsieh P., yang, W. 2000. *Grystal structures of mismatch repair protein Mut S and its complex with a Substrat DNA. Nature*, 407,703-710.

87. Junop M.S., Obmolova G., Rausch. K., Hsish, P., and yang, w.2001, *composite active site of an ABC ATPase: Mut S uses ATP to verify mismatch recognition and autori DNA repair* .Mol .Cell, 7, 1-102.
88. Hall M.C., Jordan J.R., Matson. S. W. 1998. *Evidence for a physical interaction between the Escherichia coli méthryl directed mismatch repair proteins Mut L and Uvr D*. EMBOJ.10, 117-128.
89. Yang W. 2000. *structure and function of mismatch repair protéins* .Mutat. Res., 406, 245-256.
90. Ban C., yang, W.1998. *Crystal structure and ATPase activity of Mut L: implication for DNA repair and mutagenesis*. Cell, 541-552.
91. Schofield M.J., Hsieh P.2003. *DNA mismatch repair: Molecular Mechanisms and Biological function*. Amu .Rev .Microbiol, 57, 579-608.
92. Ban C., yang, W. 1998b. *Structural basis for Mut H activity activation in E .coli mismatch repair and relation .ship of Mut Hto restriction endonucleases*. EMBoJ, 17, 1526-1534.
93. Stambuk S., Radman, M.1998-*Mechanism and control of interspecies recombination in Escherichia coli .I. Mismatch repair, mathylation, recombination and replication functions Genetics*, 150, 533-542.
94. Ginetti F., Perego M., Albertini A.M., Galizzi A .1996.*Bacillus Subtilis mut S mut L operon: identification, nucléotide sequence and Mutagenesis*. Microbiology, 142, 2021-2029.
95. Lacks S.A., Dunn J.J., Greenberg, B.1982. *Identification of base Mismatches recognized by the héteroduplex-DNA-repair system of Streptococcus pneumonia*. Cell, 31, 327-336.
96. Mejean V., Devedjian .J.C., Rives L, Alloing G., Claverys, J.P. 1991.*uracil. DNA glucosylase affects mismatch repair efficiency. In transformation and bisulfite induced mutagenesis in streptococcus pneumoniae*. Nucliec acid Res., 19, 5525-5531.

97. Mochrich. P., lahue, R.1996. *Mismatch repair in replication fidelity. Genetic recombination and cancer biology.* Annu. Rev .Biochem, 65,101-133.
98. Prudhomme M., Martin B., Mejean V., Martin B ., Claverys, J.P. 1998. *Nucléotide Sequence of the Streptococcus pneumoniae hex B mismatch repair in Streptococcus pneumoniae and homology of hex A to mut S of Esherichia.coli Salmonella typhimurieum.* J Bacteriol, 171, 5332-5338.
99. Majwski J., Cohan, F. M. 1998. *the effect of mismatch repair and héteroduplex formation on sescual isolation in bacillus* Genetics, 14813-18.
100. Majwski J., Cohan F. M. 1999, *DNA Sequence Similarity requirements for interspecific recombination in bacillus-Genetics*, 153, 1525-1533.
101. Sasaki M., Yonemura.Y., Kurusu Y. 2000.*Genetic analysis of bacillus subtilis mutator genes.* J.Gen. Appl. Microbiology, 46,183-187.
102. Lacks. S., Hotchkiss, R, D. 1960. *A Study of the genetic material determining and enzyme in pneumococcus.* Biochim. Bio phys. Acta, 39, 508-518.
103. Lacks S.1970. *Mutants of Diplococcus pneumoniae that lack deoscyribonu Cleases and other activités possibly pertinent to genetic transformation .*J Bacterial, 101, 373-383.
104. Claverys J.P., Prats H., Vasseghi H., and Gherardi M.1984.*Identification of streptococcus pneumoniae mismatch repair genes by an additive transformation approach .*Mol .Gen. Genet, 1996, 91-96.
105. Balganesh T.S., Lacks, S .A, 1985. *Heteroduplex DNA mismatch repair System of streptococcus pneumoniae: doning expression of the hex A gene .*J Bacterial, 162,979-984.
106. Motier Barriere L, Humbert O., Martin B., Prudhomme M., Claverys J.P.1997.*controle of streptococcus pneumoniae: an overbiew.* Microb. Drug Resist, 3, 233-242.
107. Morosini M.L, Baquero M.R., Sanchez-Romero J.M., Negri, M.C., Galan J.C., Del Campro R., Perez Diaz J. C., Baquero F. 2003. *Frequenaj of mutation to*

Rifampin Resistance in Streptococcus pneumoniae Clinical Strains: hex A and hex B polymorphisms do not account for hypermutation. *Antimicrob agents Chemother*, 47, 1464-1467.

108. **Feng G., Tsui H.C., Winkler M.E.** 1996. *Depletion of the cellular amounts of the Mut S and Mut LH methyl directed mismatch repair proteins in Stationary -phase Escherichia coli K.12*. *Cells .J Bacteriol*, 178, 2388-2396.
109. **Bjedov L., Tenailon O., Gerard B., Souza V., Denamur E., Radman M., Taddei F., Matic, I.** 2003. *Stress -induced mutagenesis in bacteria*. *Science*, 300, 1404-1409.
110. **Loewe L., Textor V., Scherer S.** 2003. *High deleterious genomic mutation rate in stationary phase of Escherichia Coli*. *Science*, 302, 1558-1560.
111. **Matic I., Radman M., Taddei F., Picard B., Doit C., Bingen E., Demamur E., Elion J.** 1997. *Variable mutation rates in commensal and pathogenic Escherichia coli*. *science*, 277, 1833-1834.
112. **Richardson A.R., Stojiljkovic, I.** 2001. *Mismatch repair and the regulation of phase variation in Neisseria meningitides*. *Mol. Microbiol.*, 40,645-655.
113. **Girard, A., Radman, M., Matic, L, and Taddei, F.** 2001. *The rise and fall of mutator bacteria* *Curr .opin .Microbiol*, 4,582-585.
114. **Picard B., Dureiz P., Gouriou S., Matic I., Denamur E., Taddei F.** 2001. *Mutator naturel Escherichia coli isolates have an unusual reirulence phenotype*. *Infect. Immune*, 69, 9-14.
115. **Tanabe K., kondo T., Onodera., Furusawa. M.** 1999. *A conspicuous adaptalulity to antibiotics in the Escherichia Coli mutator Strain, DNA Q 49*. *FEMS Microbiol. Lett*, 176,191-196.
116. **Orencia M.C., Yoon J.S., Ness J.E., Stemmer W .P., Stevens R.C.** 2001. *Predicting the emergence of antibiotic resistance by direct evolution and Structural analysis*. *Nat. Struct. Boil*, 8,238-242.

- Rifampin Resistance in Streptococcus pneumoniae Clinical Strains: hex A and hex B polymorphisms do not account for hypermutation*. *Antimicrob agents Chemother*, 47, 1464-1467.
108. **Feng G., Tsui H.C., Winkler M.E.** 1996. *Depletion of the cellular amounts of the Mut S and Mut LH methyl directed mismatch repair proteins in Stationary -phase Escherichia coli K.12*. *Cells .J Bacteriol*, 178, 2388-2396.
109. **Bjedov L, Tenailon O., Gerard B., Souza V., Denamur E., Radman M., Taddei F., Matic, I.** 2003. *Stress -induced mutagenesis in bacteria*. *Science*, 300, 1404-1409.
110. **Loewe L., Textor V., Scherer S.** 2003. *High deleterious genomic mutation rate in stationary phase of Escherichia Coli*. *Science*, 302, 1558-1560.
111. **Matic L, Radman M., Taddei F., Picard B., Doit C., Bingen E., Demamur E., Elion J.**1997. *Variable mutation rates in commensal and pathogenic Escherichia coli*. *science*, 277, 1833-1834.
112. **Richardson A.R., Stojiljkovic, I.** 2001. *Mismatch repair and the regulation of phase variation in Neisseria meningitides*. *Mol. Microbiol.*, 40,645-655.
113. **Girard, A., Radman, M., Matic, L, and Taddei, F.** 2001. *The rise and fall of mutator bacteria* *Curr .opin .Microbiol*, 4,582-585.
114. **Picard B., Dureiz P., Gouriou S., Matic I., Denamur E., Taddei F.** 2001. *Mutator naturel Escherichia coli isolates have an unusual reirulence phenotype*. *Infect. Immune*, 69, 9-14.
115. **Tanabe K., kondo T., Onodera., Furusawa. M.** 1999. *Aconspicuous adaptalulity to antibiotics in the Escherichia Coli mutator Strain, DNA Q 49*. *FEMS Microbiol. Lett*, 176,191-196.
116. **Orencia M.C., Yoon J.S., Ness J.E., Stemmer W .P., Stevens R.C.** 2001. *Predicting the emergence of antibiotic resistance by direct evolution and Structural analysis*. *Nat. Struct. Boil*, 8,238-242.

117. Bjorkman J., Nagaev I., Berg O.G., Hughes D., andrsson D.I. 2000. *Effects of environnement on compensatory mutations to ameliorate costs of antibiotic. Resistance .Science*, 287, 1479-1482.
118. Miller K., O'Neill A.J., Chopra I. 2002. *Response of Escherichia coli hypermutatours to Selection pressure with antimicrobiol agents frondiffent classes. J. Antimicrole. Chemother*, 49,925-934.
119. Negri M.C., Morosini M.L., Baquero M.R., campo R.R., Blazquez J., Baquero, F.2000. *Very low cefotascime concentrations Select for hypermutable Streptococcus pneumoniae Populations. Antimicrob Agents, Chemother*, 46,528-530.
120. Alonso A., Campanario E., Martinez J. L. 1999. *Emergense of multidrug resistant mutants is increased under antibiotic Selective pressure in Pseudomonas aeruginosa. Microbiology*. 145(Pt 10), 2857.
121. Oliver A., canton R., Ampo P., Baquero F., Blazquez J.2000.*High Frequency of hypermutable Pseudomonas aeruginosa. In cytic fibrosis binginfection Science*, 288, 1251-1254.
122. Smania A.M., Segura I., Pezz A. R.J., Becerra C., Albesa I., Argarana C.E. 2004. *Emergence of phenotypic variants upon mismatch repair aeruginosa .Microbiology*, 150 1327-1338.
123. Macia M.D, Bovell N., Perez J.L., Oliver, A. 2004. *Detection and Susceptibility testing of hyper mutable Pseudomonas aeruginosa Strains with the Test and disk diffusion. 123-125.*
124. Rommens J.M.,Iamuzzi M.C., Kerem B., Drumm M.L., Melmer G., Dean M., Rozmahel R., Coli J.L.,Kemedly D.,Hidaka N.1989.*Identification of the cystifibrosis gene, Chromosome Walking and Jumping. Science*, 245-1059-1065.
125. Kerem B., Rommens, J.M., Buchan. A., Markiewicz D., Cox T.K., Chakarvarti A., Buchwald, M., and Twin, L.C. 1989. *Identification of the cystic fibrosis gene: Genetic, analysis. Science*, 245, 1073-1080.

126. Riorda J.R., Rommens J.M., Kerem B., Alon N., Rozmahel R., Girschelczak Z., Zielenski J., Locks, P., Chou, J.L., and .1989. *Identification of the cystic fibrosis gene: Cloning and characterization of complementary DNA.* Science, 245, 1066-1073.
127. Lyczak J.B., Cannon C.L., Pier G. B. 2002. *Lung infections –associated fibrosis.* Clin Microbiol, 15,194-222.
128. Kohl B., Herman M., Everding A .S, Koch H.G., Becker, K., Harms, E., Proctor, R. A., and Peters, G. 1998. *Persistent infection with Small colony variant Strains of Staphylococcus aureus in Patients.* 98-99.
129. Baument N., Von Eiff C., Schaaff F., Peters G., Proctor R.A., Sahl H.G. 2002. *Physiology and antibiotic Susceptibility of Staphylococcus aureus Small colony variant microb.* Drug Resist, 8,293-260.
130. Mc Caffery K., Oliver R.E., Franklin M., Mukhopadhyay S. 1999. *Systematic review of antistaphylococcal antibiotic therapy in cystic fibrosis.* Thorax, 54,680-383.
131. Wolter J., Seenery S., Bell S., Bowler S., Masel P., Mc Cormack J. 2002. *Effects of long term treatment with azithromycin on disease parameters in azithromycin on disease cystic, fibrosis : a randomised trial* thorax 57,212-216.
132. Wozniak D.J., Keyser, R. 2004. *Effects of Sub inhibitory concentration of macrolide anti biotics on Pseudomonas aeruginosa* Chest, 125, 625-695.
133. Tatedra, K., Comte R., Pechere, J.C., Kohler, T., Yamaguchi, K., Van Delden, C.2001. *Azithromycin inhibits quorum Sensing in Pseudomonas aeruginosa.* Antimicrob Agents chemother, 45, 1930-1933.
134. Carfarion G., Gerardin P., Tuck D., Husson, M.O 2004. *Effect of Subinhibitory concentration of azithromycin on adherence of Pseudomonas aeruginosa to bronchial mucins collected from cystic fibrosis Patients* J.antimicrob Chemother, 37, 412-417.

135. O'Neill A.J., Chopra I. 2001. *Insertional inactivations of mut Sin Staphylococcus aureus reveal Potentizeal for elevete mutation frequencies although the prevalence of mutators in Clinical isolates islow* .J.antimicrob. Chemother, 50, 161-169.
136. Prunier A.L., Mallruny B., Lauraus, M., Brouard J., Duhamel, J.F., Leclerc, R, 2003. *High rate of macrolide resistance. In Staphylococcus aureus Strains from Patients with cystic fibrosis reveals high proportions of hyper mutable Strains* .J.Infect.Dis.387-391 .
137. Roman F., Conton R., Perez Vasquez M., Baquero F., ComposJ. 2004. *Dynamicsof long -terme -colonization of respiratory tract by Haemophilus influenzae in cystic fibrosis Patients Shows a Warked increase in hypermutable Strains*.J.clin .Microbiol., 421,1450-1459.
138. Watson M.E., Jr., Burns J.L., Smith L. 2004. *Hypermutable Haemophilus influenza with mutations in mutr Sare found in cystic fibrosis Sputum*, Microbiology, 150, 2947-2958.



Examinatrice : M^{lle} BENSEGHIER
Encadreur : M^{me} ROULA SADJIA

Présenté Par :
KRIBAA SANA
BELEM RABET SAMIA

Les hyper mutations bactériennes et adaptation aux antibiotiques

Résumé :

Une bactérie hyper mutable présente un taux de mutation élevé. L'utilisation des antibiotiques semble s'accompagner inexorablement de l'émergence de bactéries résistantes, cette résistance peut être le résultat de mutations spontanées.

Les bactéries peuvent résister aux antibiotiques par exportation active grâce à des transporteurs membranaires. Des mécanismes tels que le système de réparation de mésappariement ont été impliqués dans l'hyper mutabilité et l'adaptation bactérienne aux antibiotiques et sont en relation avec les problèmes de pathogénie.

Mots clés : mutation, hyper mutabilité, résistance, antibiotiques, adaptation aux antibiotiques.

Abstract:

A hyper-mutable bacteria presents a high mutation rate. The use of antibiotics seems to increase inexorably the emergence of resistant bacteria; this resistance may be the result of spontaneous mutations.

Bacteria can resist to the antibiotics by active export through membrane transporters, mechanisms that the SRM has been involved in the hyper mutability and bacterial adaptation to the antibiotics and related to the pathogenesis problems.

Keywords: mutation, hyper-mutability, resistance, antibiotic, adaptation to antibiotics

المخلص :

البكتيريا المتعددة التغييرات لديها معدل طفرات عالية. إن استخدام المضادات الحيوية تؤدي إلى زيادة حتمية بظهور البكتيريا المقاومة ، هذه المقاومة قد تكون نتيجة لتحويلات عفوية. يمكن للبكتيريا مقاومة المضادات الحيوية عن طريق تصديرات نشطة من خلال نواقل غشائية. إن الآليات التي أدرجت SRM في التحويلات المفرطة و تكيف البكتيريا للمضادات الحيوية و التي هي ذات الصلة مع المشاكل المرضية. الكلمات المفتاح : الطفرة ، المقاومة ، المضادات الحيوية ، التكيف مع المضادات الحيوية.