

# Virulome & séquences d'insertion

Laurent Mereghetti

UMR1282 INRA – *Equipe Bactéries et Risque Materno-Fœtal*  
Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène – CHRU Tours



# Génomes, éléments génétiques mobiles & séquences d'insertion

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

# ● Génome bactérien

- grande variabilité de taille des génomes bactériens

- *Carsonella ruddii* : 160 kb (0,16 Mb)
- *Sorangium cellulosum* : 13 Mb
- majorité : 2 à 5 Mb

- *Streptococcus pyogenes* : 1,8 Mb
- *Haemophilus influenzae* : 1,9 Mb
- *Neisseria meningitidis* : 2,2 Mb
- *Staphylococcus aureus* : 2,8 Mb
- *Enterococcus faecalis* : 2,8 Mb
- *Mycobacterium tuberculosis* : 4,4 Mb
- *Escherichia coli* : 4,6 Mb
- *Pseudomonas aeruginosa* : 6,2 Mb

- génome = « core genome » + « dispensable genome »  
= mosaïque de régions stables et instables
- instabilité correspond évolution adaptative de la bactérie
- implication des mutations, duplications, inversions, recombinaisons, délétions, insertions, transpositions...

# ● Éléments génétiques mobiles

- décrits par Barbara McClintock en 1950 (Nobel 1983)
- classification évolutive
- actuellement :
  - séquences d'insertion (IS)
  - transposons composites
  - transposons non composites
  - transposons conjugatifs
  - intégrons
  - phages tempérés
- ou plus simplement :
  - transmission inter-cellulaire (phages ou plasmides)
  - transmission intra-cellulaire (via les éléments du 1<sup>er</sup> groupe)

# ● Caractéristiques des séquences d'insertion

- séquences d'ADN de petite taille (0,7 à 2,5 kb)
- gène transposase + séquences inversées répétées (IR)
- code fonction impliquée dans sa propre mobilité
- élément frustré
- élément transposable le plus simple

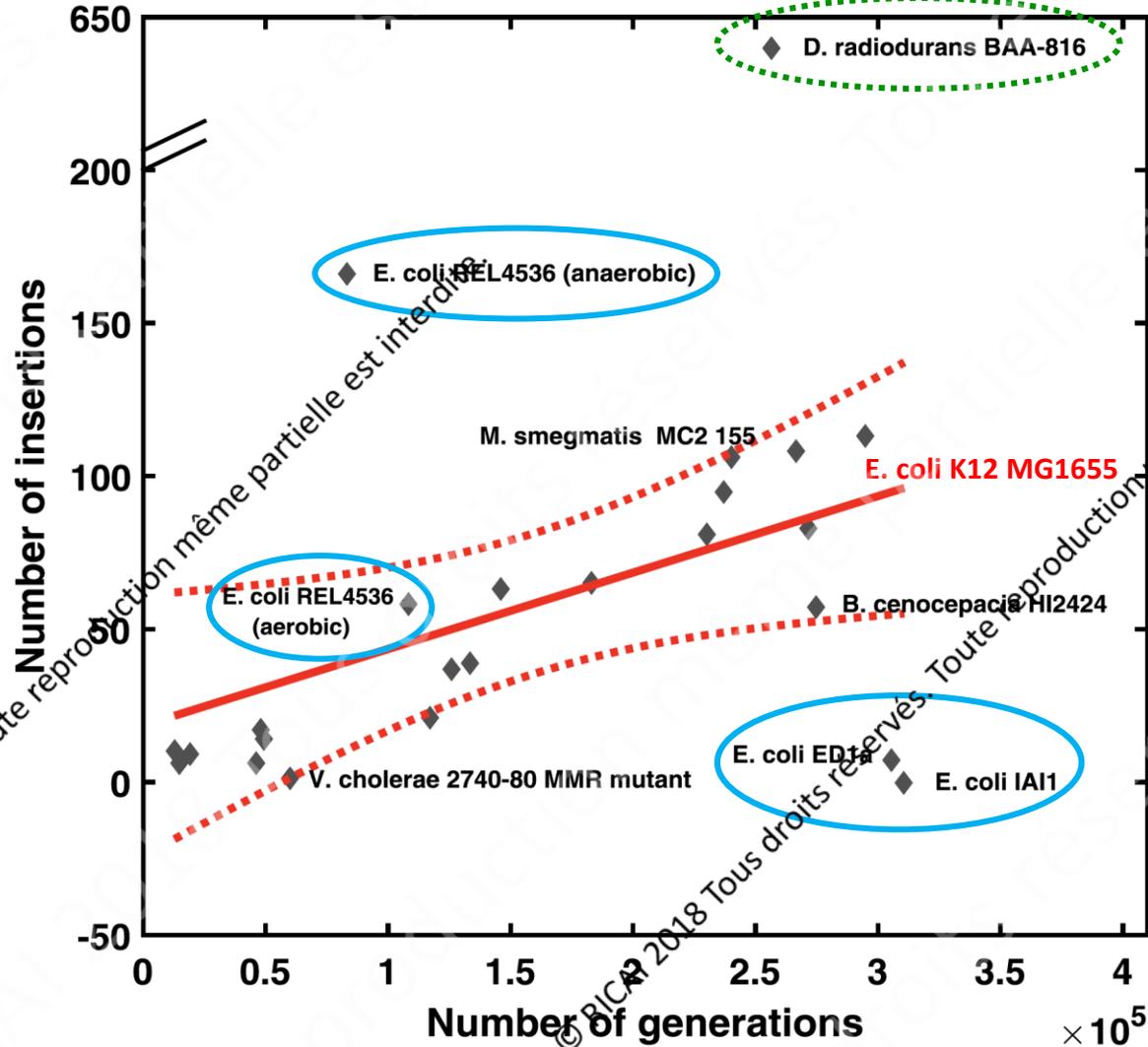




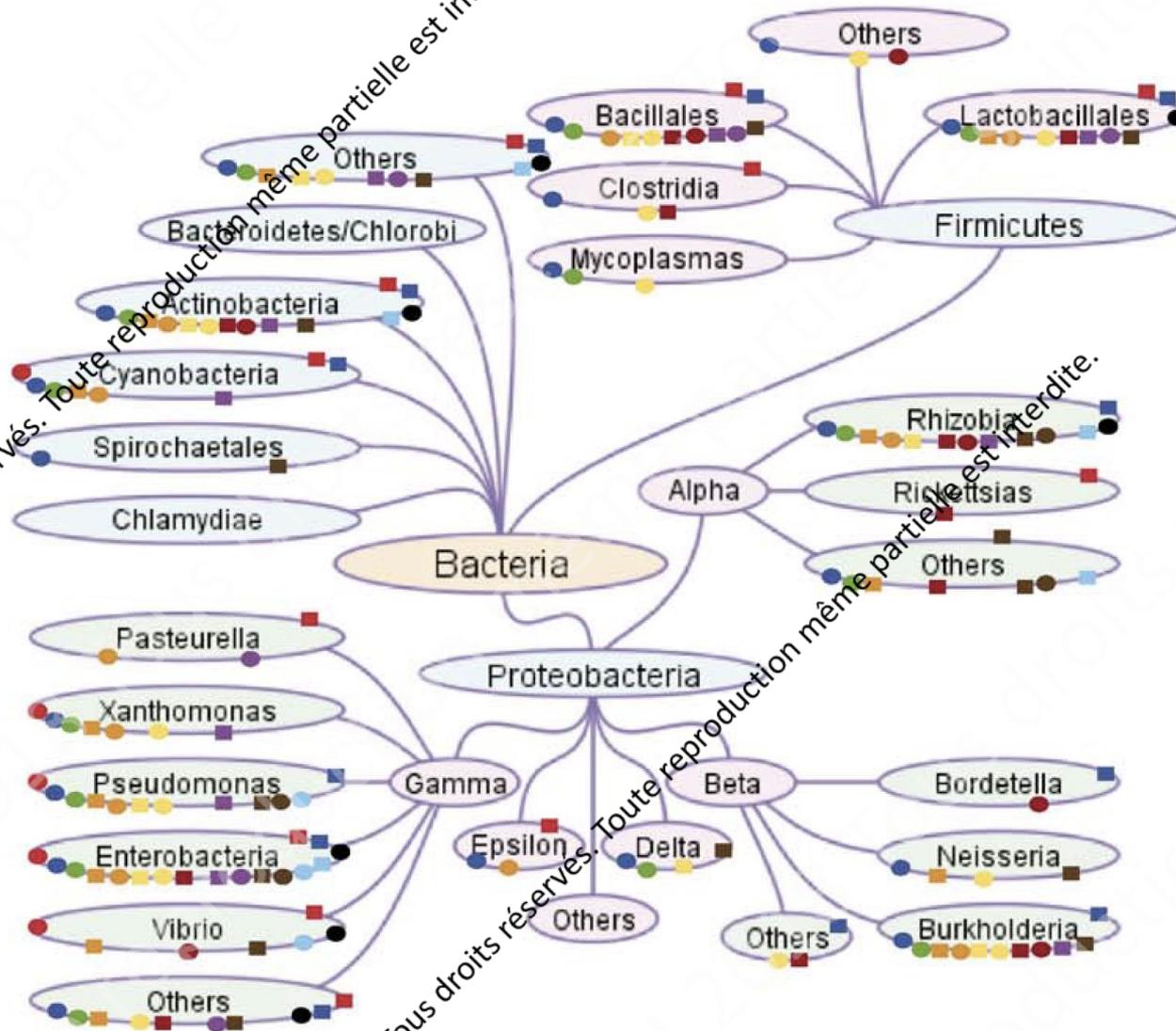
# ● Variabilité du taux d'insertion des IS

Variabilité dépend :

- familles IS
- nutriments
- température
- stress
- rayonnement UV
- champ magnétique
- espèces bactériennes
- souches



# Distribution des séquences d'insertion au sein des Eubacteria



- © RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.
- IS4    ● IS3    ● IS6    ● IS30    ● IS481    ● IS982    ● IS66    ● IS91    ● IS1  
● ISAs1    ■ ISL3    ■ IS5    ■ IS21    ■ IS256    ■ IS630    ■ IS110    ■ IS1380    ■ IS200/IS605/IS607

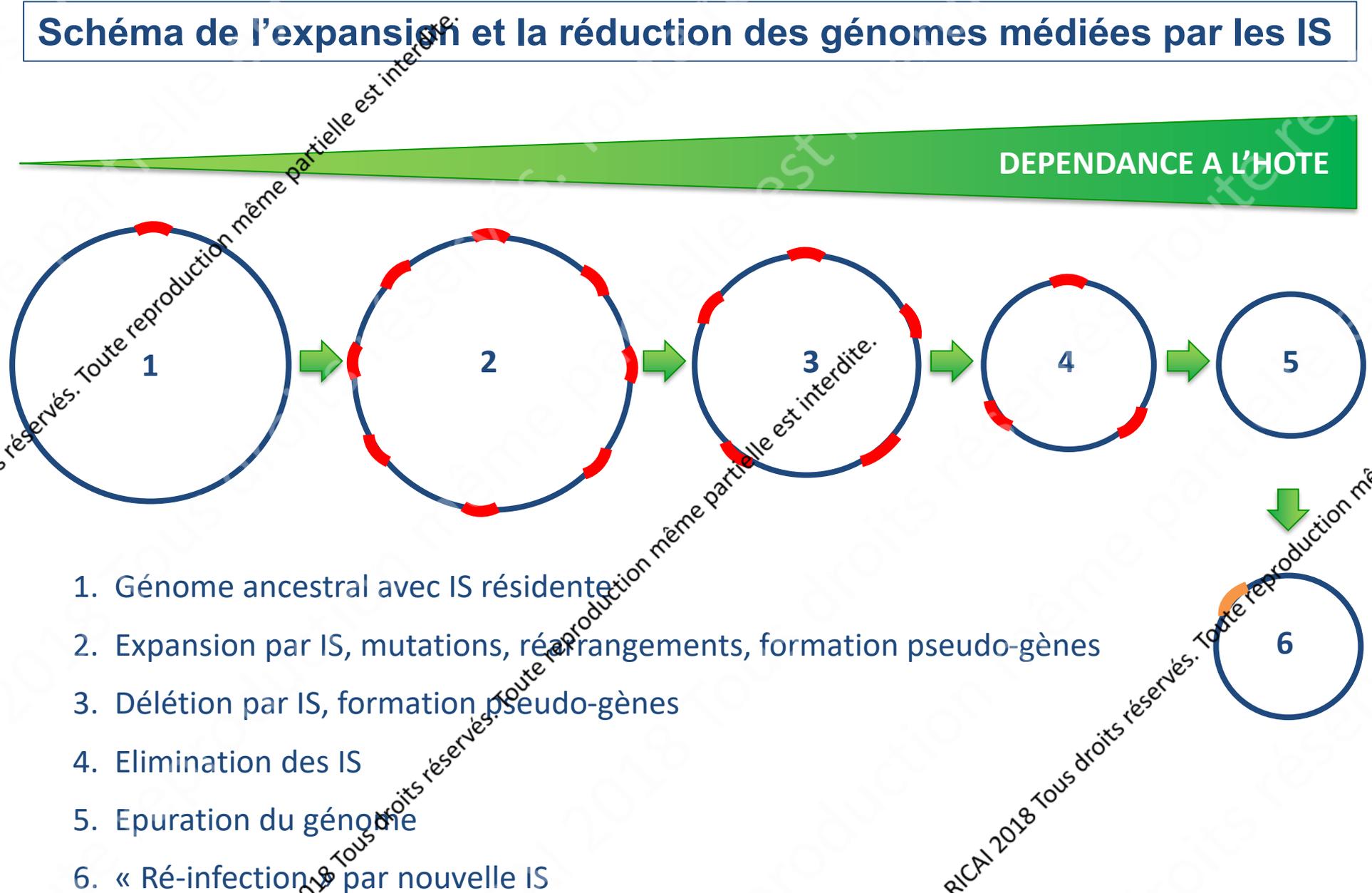
Siguier et al, Cur Opin Microbiol 2006)

## ● Impact de l'insertion des IS

- IS s'insère dans un gène fonctionnel
  - arrêt de la transcription
- IS s'insère dans un gène régulateur
  - si répresseur => surexpression des gènes régulés
  - si activateur => diminution expression des gènes régulés
- IS s'insère dans une région non codante mais :
  - apporte promoteur inclut dans IS
  - créé promoteur par apport de séquence en région -35
  - créé promoteur hybride

# Séquences d'insertion & évolution des génomes

# Schéma de l'expansion et la réduction des génomes médiées par les IS



(d'après Siguier et al, FEMS Microbiol Lett 2014)

# Caractéristiques des génomes de *B. pertussis*, *B. parapertussis* et *B. bronchiseptica*

	<i>B. pertussis</i>	<i>B. parapertussis</i>	<i>B. bronchiseptica</i>
Size (bp)	4,086,186	4,773,551	5,338,400
G+C content (%)	67.72	68.10	68.07
Coding sequences	3,816	4,404	5,007
Pseudogenes	358 (9.4%)	220 (5.0%)	18 (0.4%)
Coding density (intact genes)	82.9%	86.6%	91.4%
Coding density (all genes)	91.6%	92.2%	92.0%
Average gene size (bp)	978	987	978
rRNA operons		3	3
tRNA	51	53	55
IS481	238	0	0
IS1001	0	22	0
IS1002	6	90	0
IS1663	17	0	0

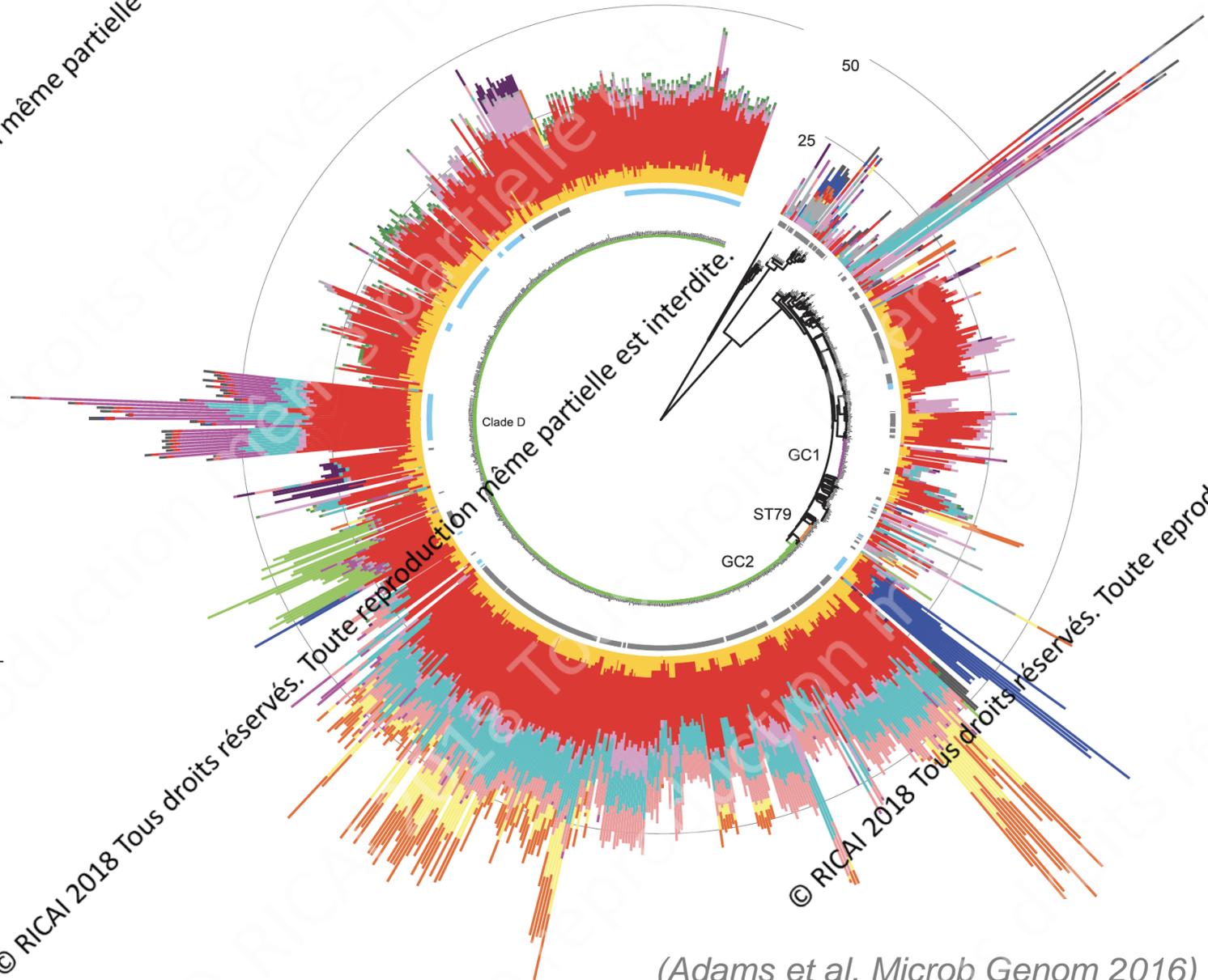
# Distribution des copies d'IS de *A. baumannii* en fonction du contexte phylogénétique

*A. baumannii*

- IS26
- ISAba1
- ISAba15
- ISAba13
- ISAba26
- ISAba17
- ISAba10
- ISAba12
- ISAba16
- ISAba19
- ISAba24
- ISAba25
- ISAba27
- ISAba29
- ISAba36

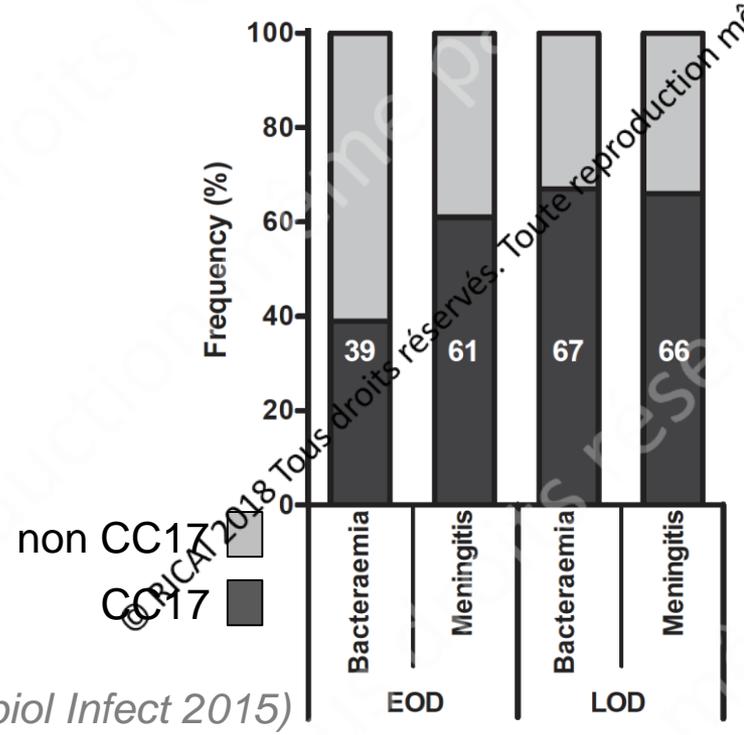
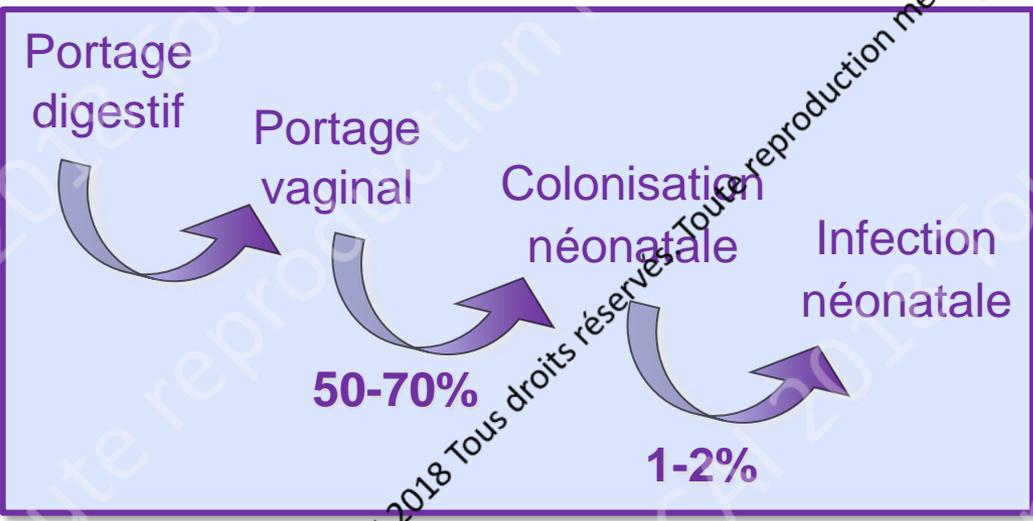
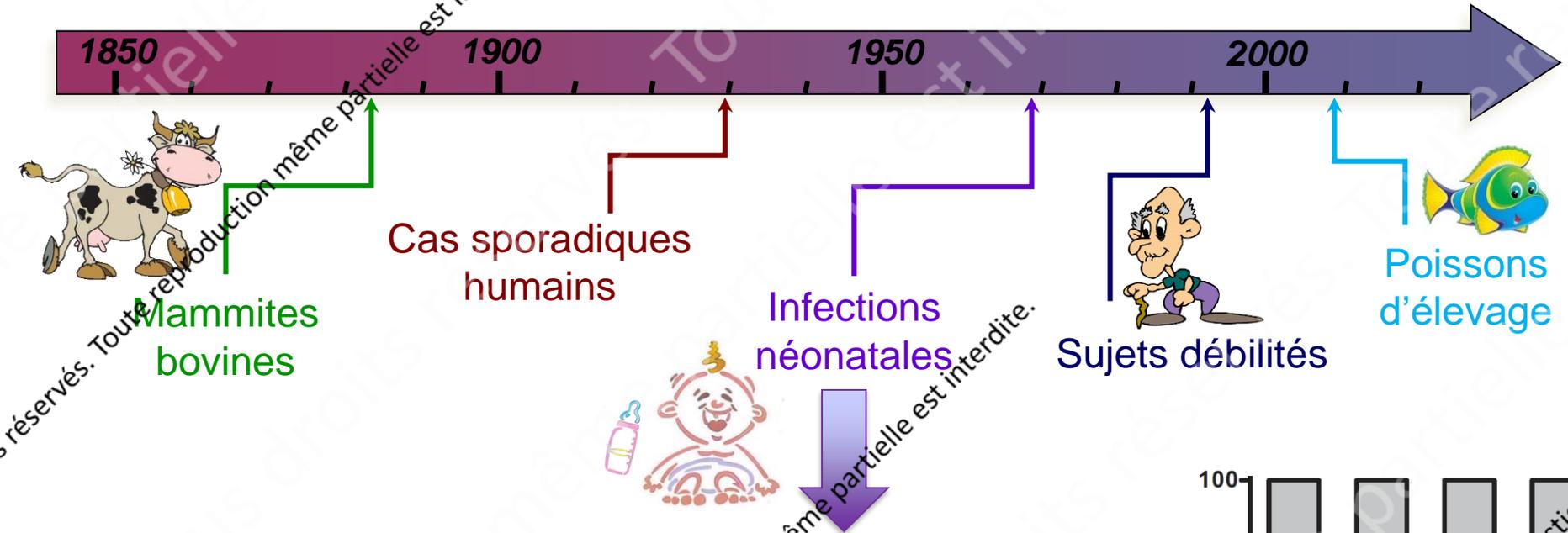
Location

- Maryland
- Ohio

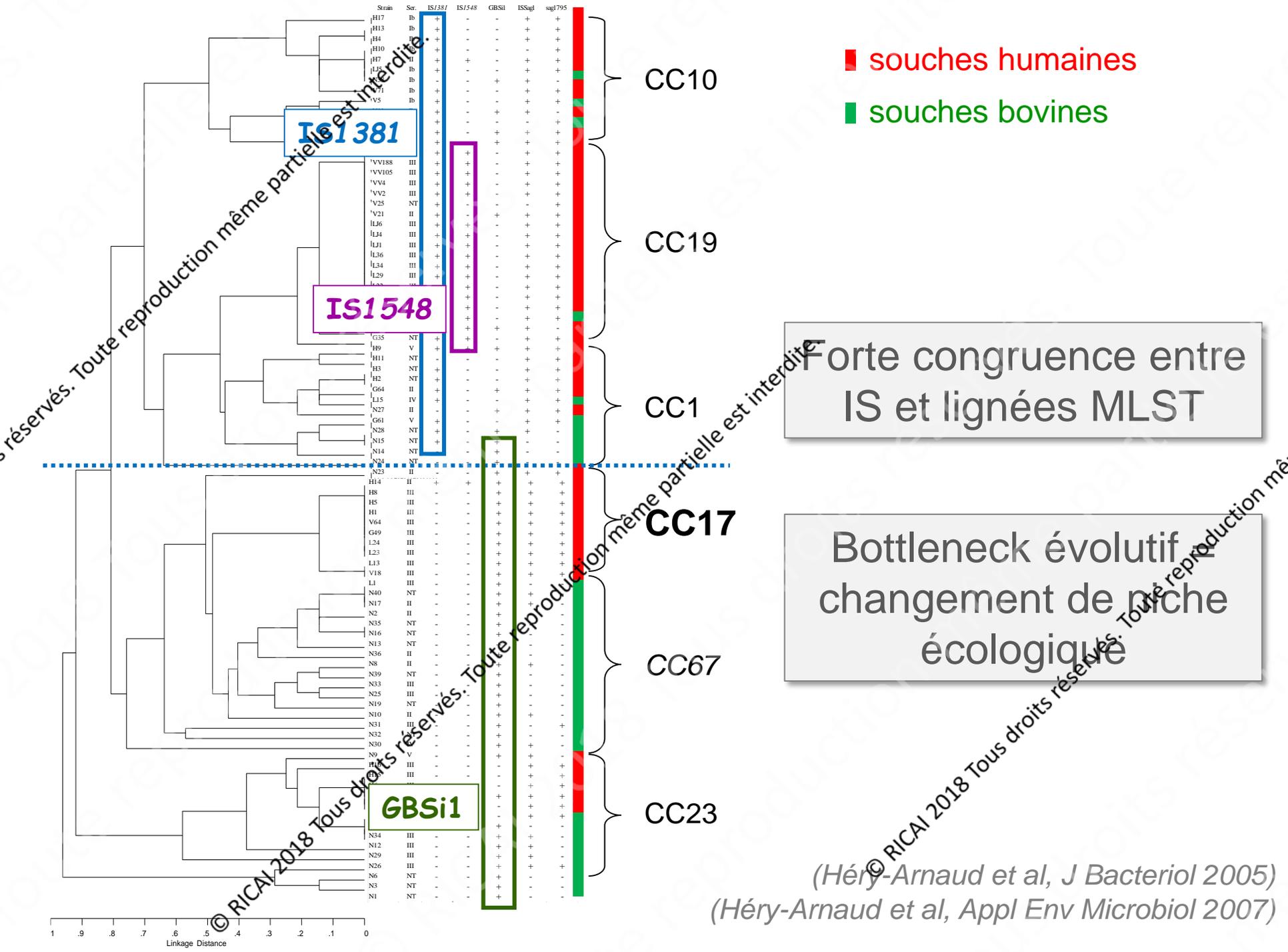


(Adams et al, Microb Genom 2016)

# Epidémiologie des infections à *S. agalactiae*



(Joubrel et al, Clin Microbiol Infect 2015)



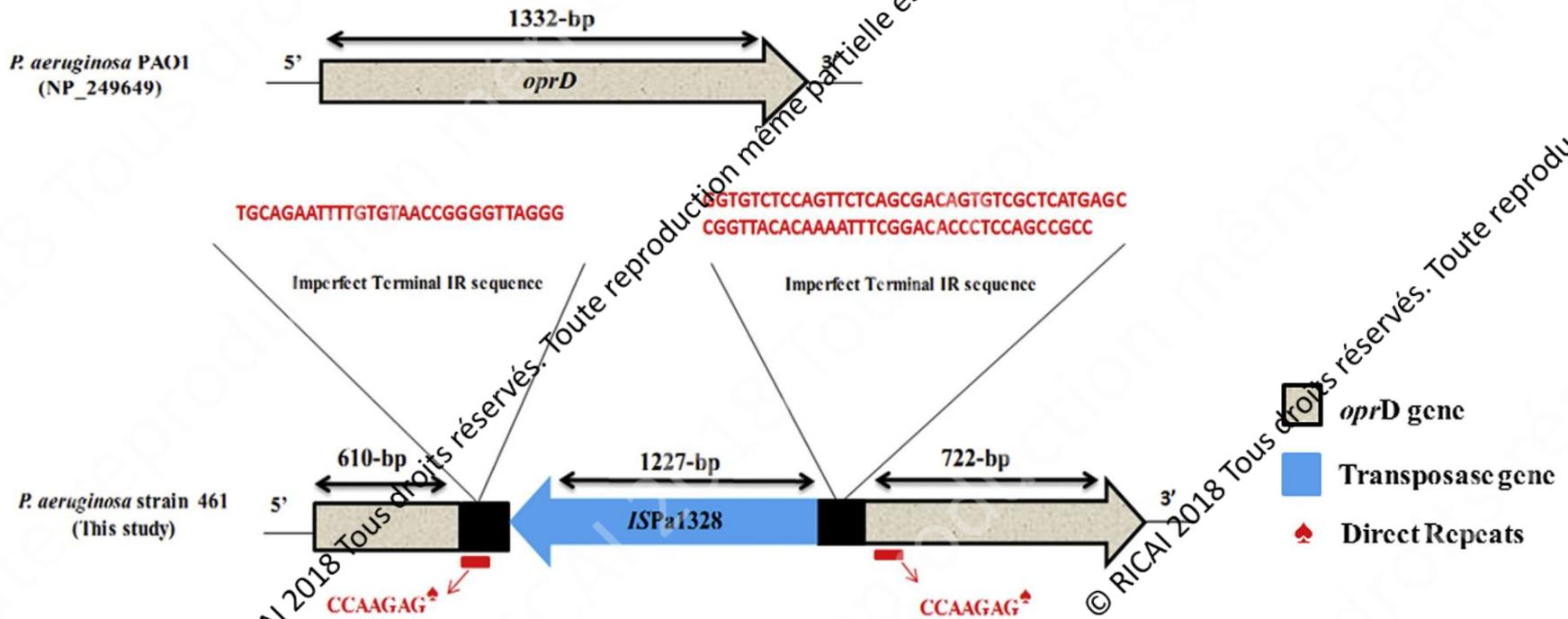
# Séquences d'insertion & impact sur la résistance et la virulence

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

# ● Impact sur la résistance aux antibiotiques (1)

- résistance aux carbapénèmes par insertion IS dans gène *oprD* de *P. aeruginosa*
- ISPa8 (USA), ISPa26 (Afrique Sud), ISPa46 (France), ISPa133 (Espagne), ISPa1328 (Chine et USA)...
- 1<sup>ère</sup> description en France insertion ISPa1328



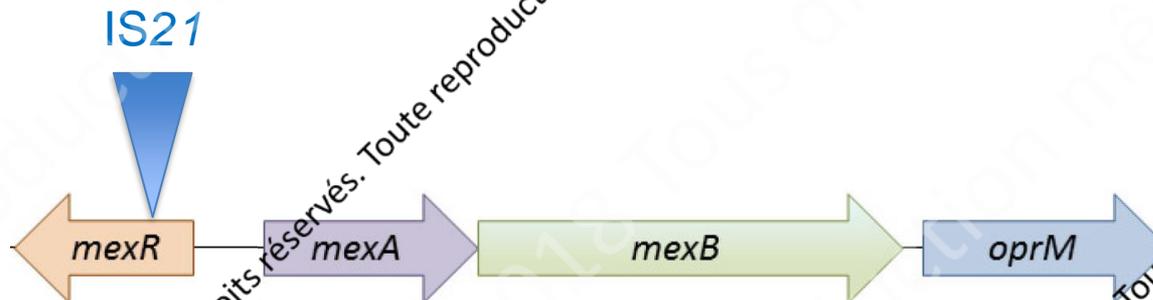
## ● Impact sur la résistance aux antibiotiques (2)

- résistance aux bêta-lactamines chez *P. aeruginosa*
- insertion IS21 dans gène *mexR*

=> dérégulation opéron *mexAB-oprM*

=> augmentation efflux

=> baisse de sensibilité pour ticarcilline et aztréonam



(Boutoille et al, FEMS Microbiol Lett 2004)

## ● Impact sur la résistance aux métaux

Résistance au zinc chez *Cupriavidus metallidurans*

=> concentrations croissantes de  $Zn^{2+}$

=> augmentation fréquence de transposition

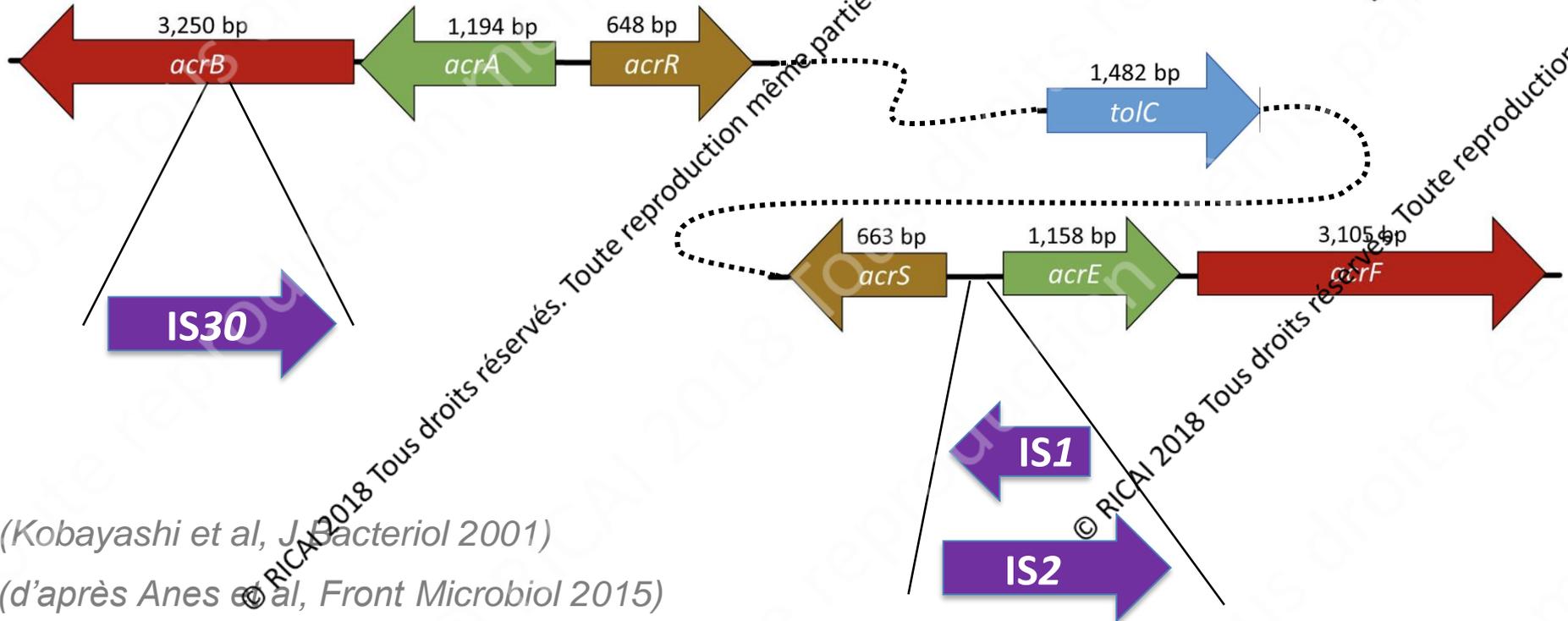
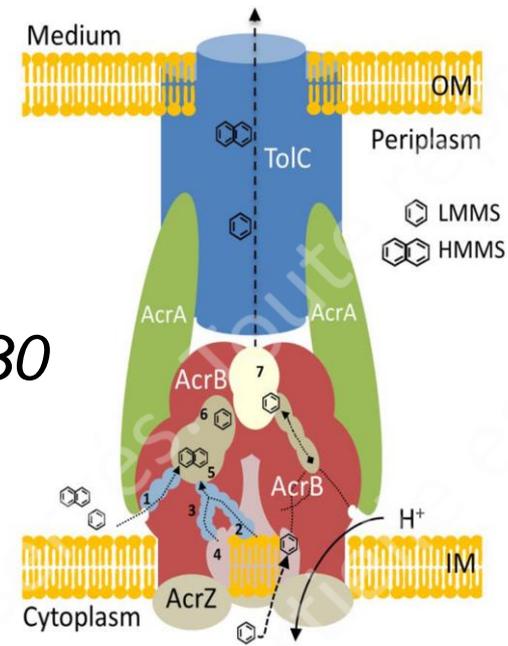
=> insertion IS dans locus de régulation *cnrYX*

=> dérepression facteur sigma CnrH

=> induction du système d'efflux *cnrCBA*

# ● Impact sur la sensibilité aux solvants

- *E. coli* : 6 systèmes d'efflux type RND
- *E. coli* O157:H7 hypersensible aux solvants par inactivation *acrB* suite à insertion IS30
- Insertion IS1 ou IS2 en amont *acrEF* => suppression hypersensibilité

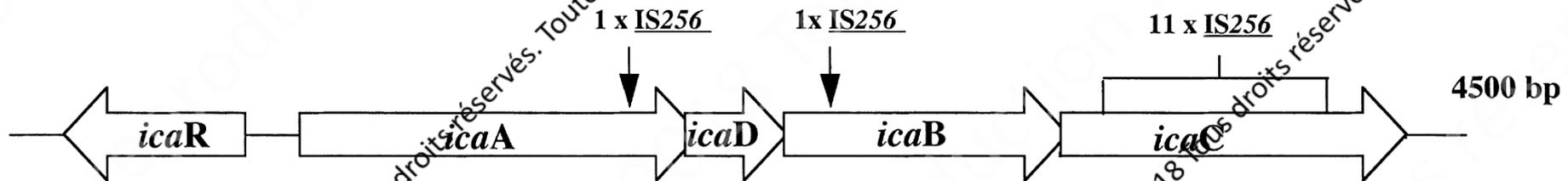


(Kobayashi et al, J Bacteriol 2001)

(d'après Anes et al, Front Microbiol 2015)

## ● Impact sur la virulence (1)

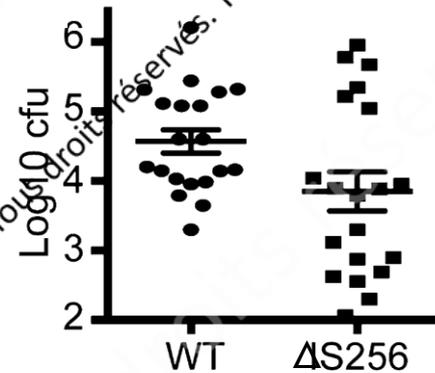
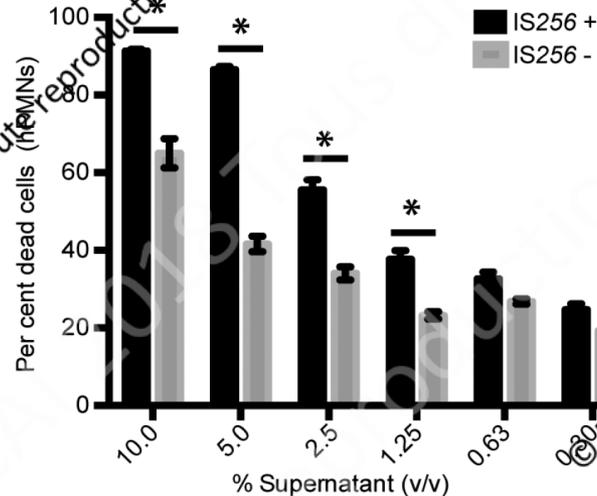
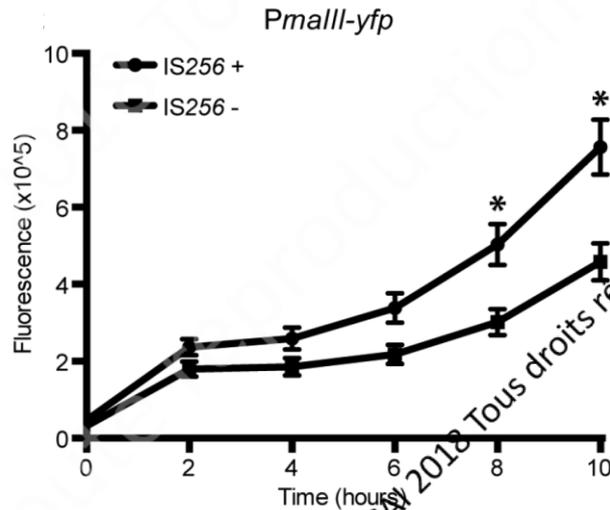
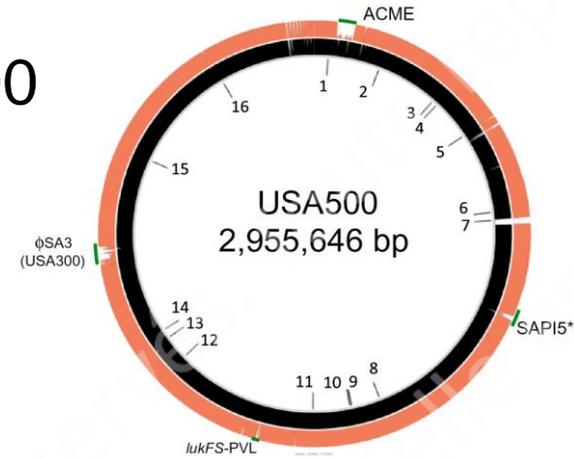
- modulation de la formation de biofilm chez *S. epidermidis*
- opéron *icaADBC* code adhésine PIA (polysaccharid intercellular adhesin)
- adhésine PIA impliquée dans formation biofilm
- insertion de IS256 dans *ica* abolit formation biofilm
- 1/3 des souches des souches de *S. epidermidis* ne produisant pas de biofilm ont IS256 dans *ica*



(Ziebuhr et al, Mol Microbiol 1999)

## ● Impact sur la virulence (2)

- modulation de la virulence *S. aureus* USA500
- 18 copies d'IS256 (dont une dans promoteur de *rot*)
  - souches IS256+ : activation système *agr*
  - souches IS256+ : plus cytotoxiques
  - souches  $\Delta$  IS256 : moins virulentes



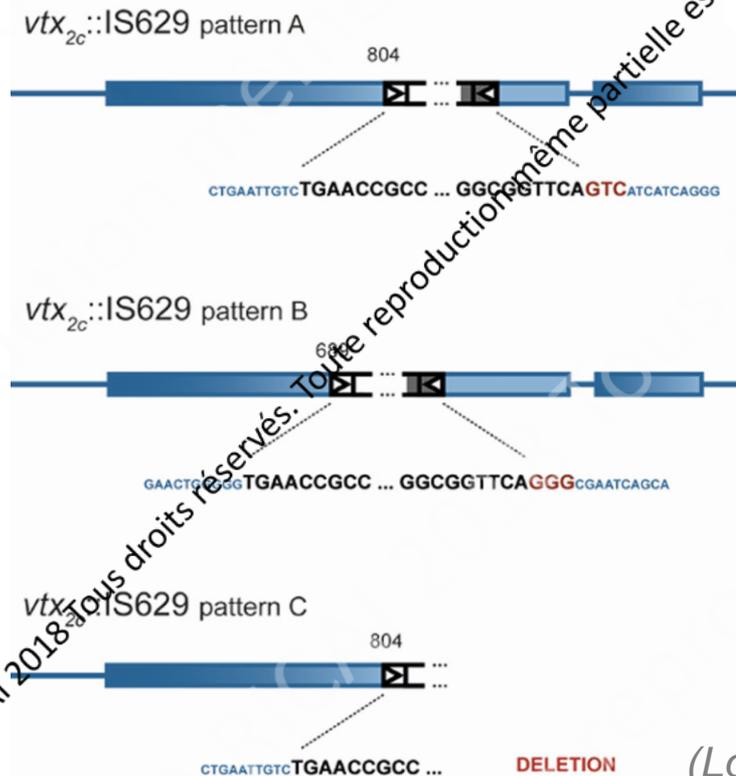
(Benson et al, Mol Microbiol 2014)

## ● Impact sur la virulence (3)

- Insertion IS629 dans gènes codant shigatoxines EHEC

- options dans gène *vtx2* :

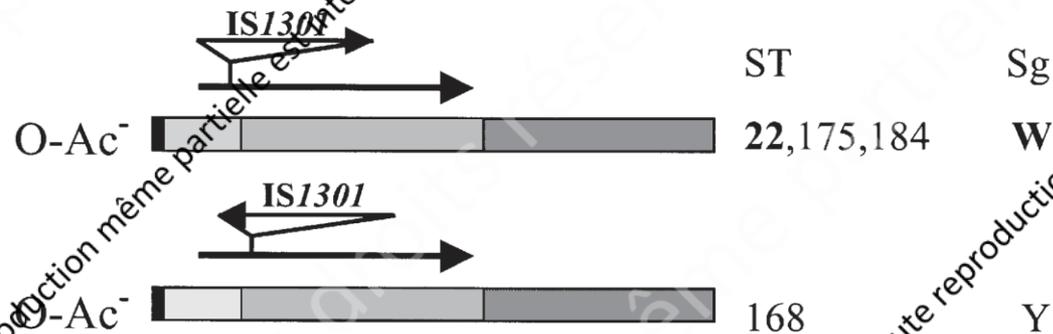
- insertion/inactivation => réversibilité => restauration virulence
- insertion/délétion => irréversibilité



(Loftsdottir et al, FEMS Microbiol Lett 2017)

## ● Impact sur la virulence (4)

- Chez *N. meningitidis*, insertion IS 1301 :
  - hyper-expression de la capsule
  - perte de sialylation du lipooligosaccharide
  - switch capsulaire



(d'après Claus et al, Mol Microbiol 2004)

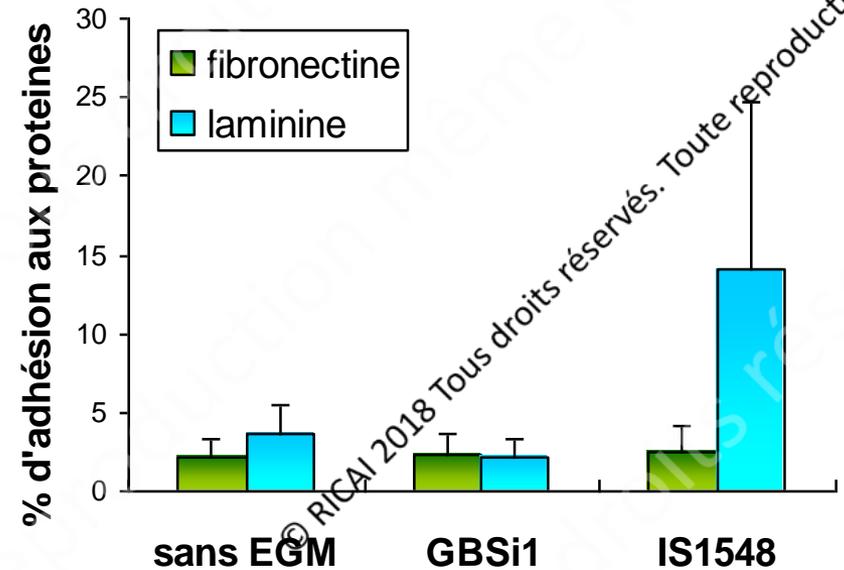
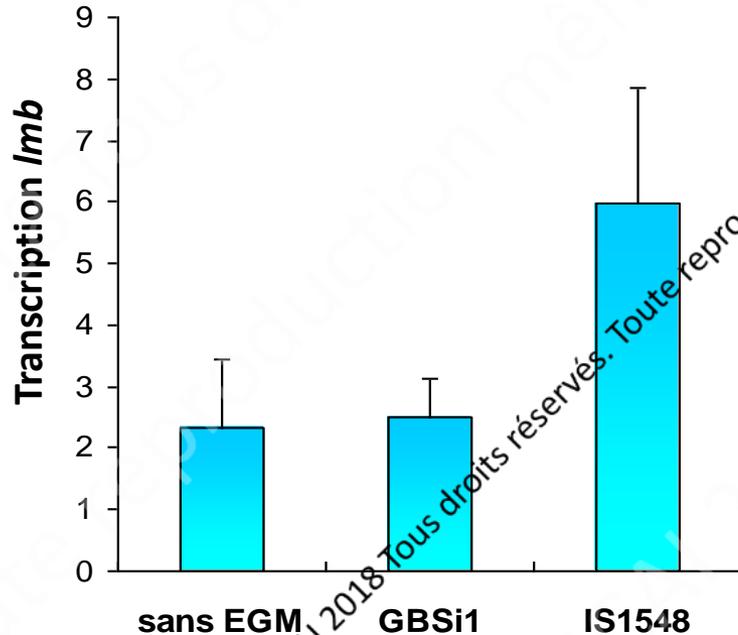
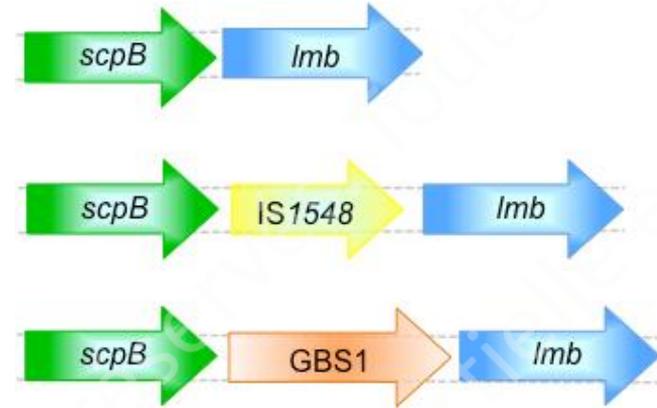
(Tzeng et al, Crit Rev Microbiol 2015)

- Chez *S. pneumoniae*, insertion IS 1515 dans gène *ply* abolit expression de la pneumolysine

(Garnier et al, J Clin Microbiol 2007)

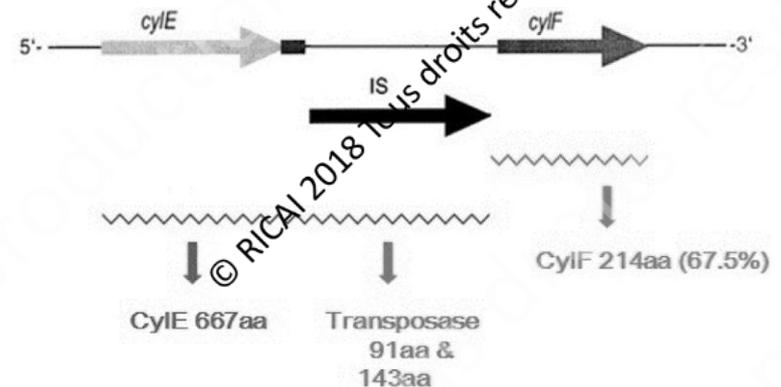
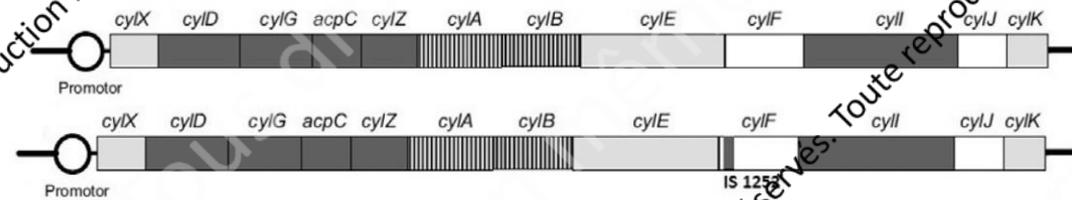
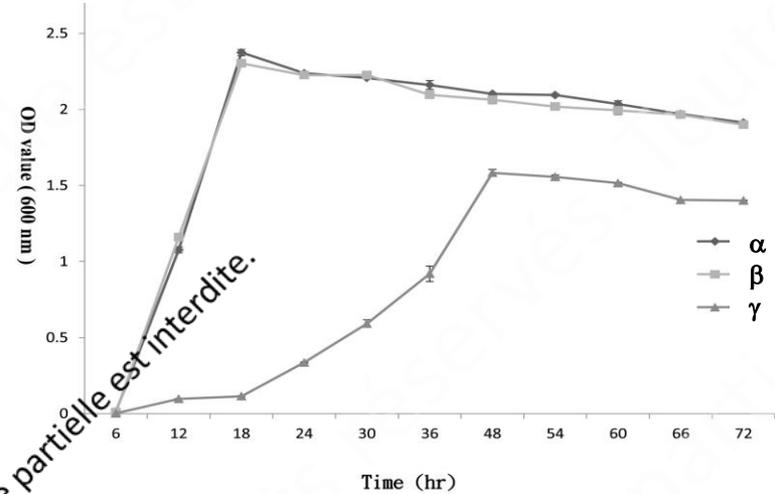
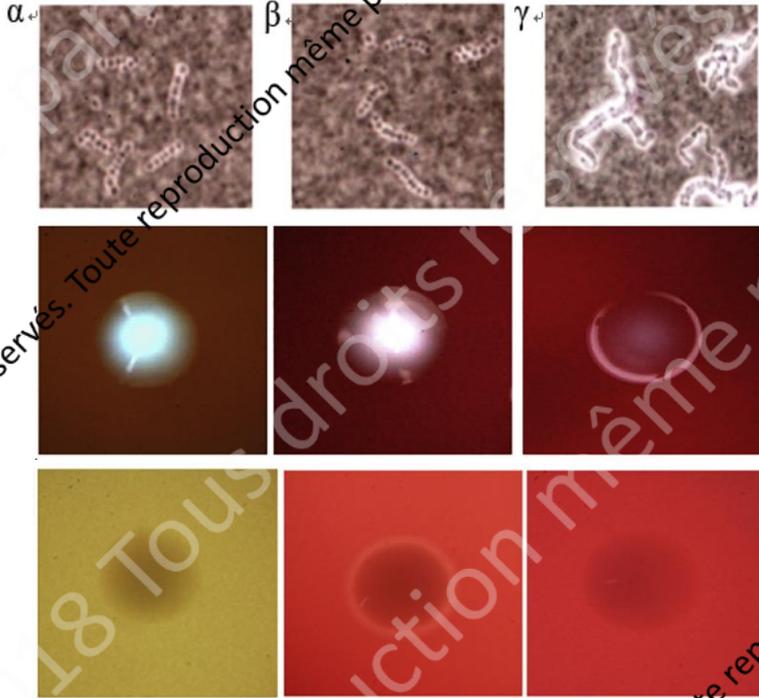
## ● Impact sur la virulence (5)

- Lmb = protéine de liaison à la laminine chez *S. agalactiae* (glycoprotéine membrane basale)
- seulement chez souches humaines
- impact variable selon EGM inséré



# ● Impact sur la virulence (6)

- Modification hémolyse et morphologie de *S. agalactiae*



- Insertion IS 1252 dans gène *cylF*
- Impact sur la virulence ?

(Chen et al, Infect Genet Evol 2019)

# Remerciements

• Bactéries et Risque Materno-Fœtal – UMR1282 INRA – Université Tours

• Laboratoire de Bactériologie – CHU de Tours



• Signalisation, Portage et Virulence Bactérienne – INRA Nouzilly

• Pathogénie de la Colibacillose Aviaire – INRA Nouzilly



• Laboratoire Inflammation, Tissus Epithéliaux et Cytokines  
Université Poitiers



• Biologie des Bactéries pathogènes à Gram positif – IP



• Institute of Medical Microbiology and Hygiene  
Ulm University



• The Methodist Hospital Research Institute - Houston



© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.