

ANTIBIOTIQUES II

MECANISMES DE RESISTANCE.

A. Définition :

Une souche bactérienne est dite **résistante** lorsqu'elle supporte une concentration d'ATBS nettement supérieure à celle qui inhibe la majorité des autres bactéries de la même espèce. Quantifiée par un diamètre à l'antibiogramme. On connaît des **résistances naturelles**, programmées sur le génome bactérien, donc fixes et constantes à l'intérieur du taxon. A ce titre, elles constituent un critère d'identification.

On connaît des **résistances acquises**, consécutives à des modifications de l'équipement génétique chromosomique ou plasmidique. Elles ne concernent que quelques souches d'une même espèce mais peuvent s'étendre : leur fréquence varie dans le temps mais aussi dans l'espace - région, ville, hôpital ou même service. Elles constituent un marqueur épidémiologique.

B. Les phénotypes de résistance

Quand on étudie la sensibilité d'une souche à plusieurs antibiotiques, on détermine son **phénotype de résistance** aux antibiotiques. Si la souche n'exprime que des résistances naturelles, on dit qu'elle appartient au phénotype "sauvage" ou sensible. Si des résistances acquises ont modifié sa sensibilité, elle exprime un phénotype de résistance qu'on peut identifier et dont on doit tenter de déterminer le mécanisme. Ces phénotypes sont souvent désignés par les initiales des antibiotiques devenus inactifs : ainsi une souche résistante à la kanamycine, à la tobramycine et à la gentamicine appartient au phénotype KTG.

C. Les niveaux de résistance

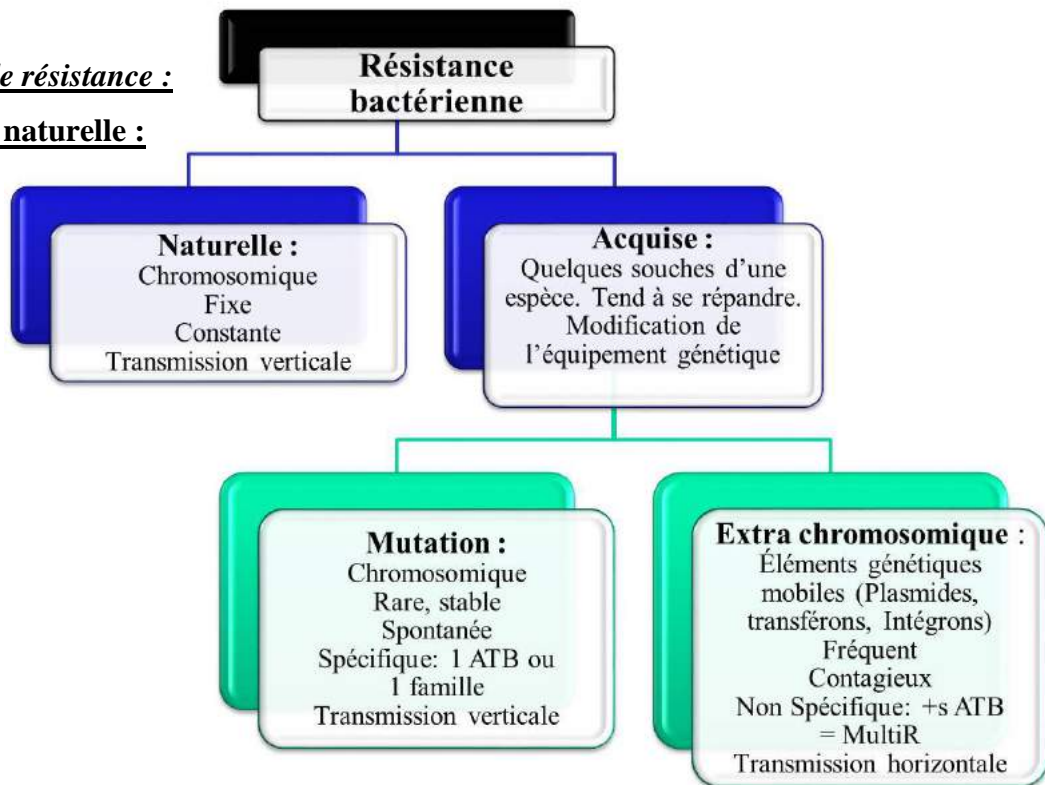
D'un point de vue bactériologique, on dit qu'une souche est résistante lorsqu'elle peut croître en présence d'une concentration d'antibiotique plus élevée que la concentration qui inhibe la majorité des souches de la même espèce. Il faut donc tenir compte d'un effet dose. On parle de **bas niveau de résistance** si la croissance est stoppée par de faibles

concentrations d'antibiotique et de **haut niveau de résistance** si de fortes concentrations sont nécessaires.

12023/2024

D. Types de résistance :

Résistance naturelle :



- ✓ Constitutionnelle : caractère chromosomique porté par un gène de résistance, transmis à la descendance.
- ✓ Concerne toutes les souches d'une même espèce, fixe et constante.
- ✓ Elle constitue un critère d'identification.
- ✓ Définit le spectre clinique de l'ATB.

Exp: *Klebsiella* résistante à l'ampicilline.

Résistance acquise:

- Consécutive à des modifications de l'équipement génétique chromosomique ou plasmidique.
- Ne concerne que quelques souches d'une espèce normalement sensible, mais peut s'étendre.

Exp: *Pneumocoque* résistant à la pénicilline.

Intérêt de l'étude de la résistance aux ATBS

Clinique : Eviter les échecs au traitement.

Microbiologique : Eviter de sélectionner des résistances, en guidant vers le meilleur choix antibiotique, grâce à la connaissance des mécanismes de résistance.

Epidémiologique : Disposer de données statistiques sur les résistances.

E. Le support génétique de la résistance

La résistance naturelle est programmée dans le génome bactérien. Les modifications génétiques responsables de résistance acquise sont **chromosomiques**, secondaires à une mutation portant sur le chromosome ou **extra-chromosomiques** par acquisition de gènes.

■ **Les résistances mutationnelles** sont :

- **Spontanées** : elles préexistent à l'utilisation de l'antibiotique,
- **Stables** : elles se transmettent verticalement dans le clone bactérien, 2023/2024
- **Spécifiques** : elles n'intéressent qu'un antibiotique ou qu'une famille d'antibiotiques à la fois
- **Rares** : le taux de mutation se situe habituellement entre 10^{-7} et 10^{-8} .

La résistance par mutation est peu répandue en clinique (**moins de 20% des résistances acquises**). L'usage de l'antibiotique sélectionne les souches résistantes et la parade consiste donc à associer les antibiotiques. Ce type de résistance est observé, entre autres, chez les mycobactéries.

■ **Les résistances extra-chromosomiques** dont le support est un plasmide ou un transposon acquis par conjugaison ou plus rarement par transduction.

- elles sont fréquentes (**plus de 80% des résistances acquises**),
- elles sont contagieuses et se transmettent horizontalement entre bactéries cohabitant, même d'espèces différentes,
- elles peuvent concerner plusieurs antibiotiques, voire plusieurs familles d'antibiotiques, entraînant une poly résistance.

La résistance plasmidique concerne la plupart des antibiotiques. L'usage d'un seul antibiotique dont la résistance est codée par un gène du plasmide sélectionne les souches résistantes à toutes les molécules dont le gène de résistance se trouve sur le plasmide, ce qui entraîne la sélection rapide de souches poly résistantes.

F. Mécanismes de résistance

Les bactéries se défendent contre l'action des antibiotiques :

Par **4 grands mécanismes de résistance** qui existent (et qu'il faut connaître): et qui sont les mécanismes;

-Enzymatique (+++) : le plus fréquent => *la bactérie va produire des enzymes qui vont inactiver les ATB. C'est LE grand mécanisme de résistance.*

-par Modification de la cible => *l'ATB a une cible spécifique, si la bactérie mute la cible, l'ATB ne fonctionne plus.*

-par Imperméabilité => *la bactérie devient imperméable, par exemple pour les GRAM -, elles changent leurs porines qui deviennent imperméables, l'ATB ne parviendra plus à passer pour atteindre son site de fixation.*

-par Efflux => *l'ATB entre dans la bactérie mais une pompe le renvoie à l'extérieur.*

La plupart du temps, elles utilisent les 4 mécanismes simultanément.

I. Résistance enzymatique :

Mécanisme le plus fréquent.

Le mécanisme de résistance naturelle ou acquise par inactivation enzymatique est important et très varié .Principale famille touchée : β -lactamines avec au moins 350 β -lactamases : TEM , SHV, TRI , β LSE.

La 1ere β -lactamase découverte : pénicillinase, qui peut muter et devient active sur un grand nombre de substrats incluant ainsi les céphalosporines.

Concerne aussi : Aminoglycosides, Macrolides et apparentés, Chloramphénicol.

Les pénicillinases ont pour substrat préférentiel : les pénicillines G, les aminopénicillines, les carboxypénicillines et les uréidopénicillines.

Les céphalosporinases hydrolysent principalement les céphalosporines de première génération (C1G) et certaines céphalosporines de seconde génération (C2G) mais aussi les pénicillines G et les aminopénicillines.

Les spectres d'action ainsi définis peuvent s'étendre lorsque la production de bétalactamases est importante.

D'autres caractères des bétalactamases ont une importance en bactériologie médicale :

- leur localisation : extracellulaire (Gram +) ou périplasmique (Gram -).
- leur biogenèse : inductible (pénicillinase de *Staphylococcus aureus* et céphalosporinase des Gram - ou constitutive (pénicillinase des Gram -)
- leur déterminisme génétique : chromosomique (céphalosporinases) ou plasmidique (pénicillinases des Gram -)

leur sensibilité aux inhibiteurs tels que l'acide clavulanique (les pénicillines sont inhibées, les céphalosporines résistent).

Les bêta-lactamases à spectre étendu

Les bêta-lactamases à spectre étendu (B.L.S.E.) sont des enzymes apparues à la suite de modifications survenues sur les plasmides qui codent pour les TEM ; elles hydrolysent toutes les bêta-lactamines jusqu'aux C3G mais respectent les **céphamycines** (au moins *in vitro*) et **l'imipenem** (tableau II). Elles sont plasmidiques donc transférables et sensibles aux inhibiteurs de bêta-lactamases.

On les détecte *in vitro* en testant côte à côte deux disques, une C3G et une association contenant de l'acide clavulanique. On obtient une image caractéristique de **synergie** d'action en "**bouchon de champagne**". Il importe de pratiquer cette recherche car les souches qui produisent ces enzymes,

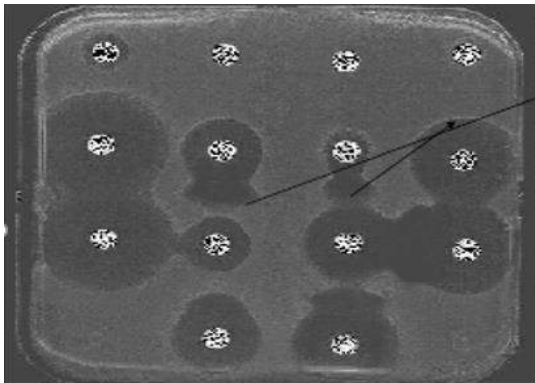


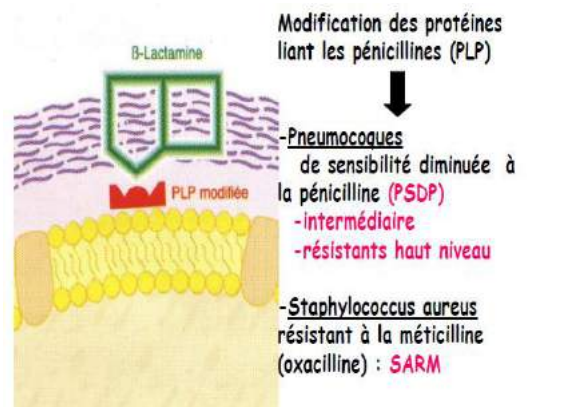
Image de synergie

multi résistantes, peuvent, sur l'antibiogramme standard, être déclarées sensibles car les diamètres d'inhibition mesurés autour des disques des C3G ne sont pas toujours diminués.

2. Modification de la cible :

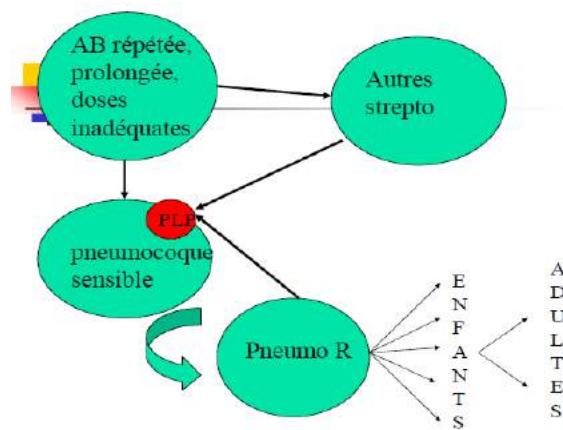
Modification d'affinité d'une ou de plusieurs cibles de l'antibiotique rendant celles-ci inaptées à fixer l'ATB ;

Exp : **Méticillino-résistance de Staphylococcus aureus (SAMR)** : liée à la présence d'une nouvelle PLP de faible affinité pour les β lactamines : **PLP2a** et à son hyperproduction (gène *mec A*). La conséquence clinique est importante, car il y aura résistance croisée entre β -lactamines.



Chez **Streptococcus pneumoniae**:

modification des PLP qui deviennent de faible affinité, induisant une résistance de niveau variable aux β lactamines =>pneumocoque de sensibilité diminuée à la pénicilline(PSDP). Gènes acquis des streptocoques salivaires par transformation. « Gènes mosaïques »



Résistance dissociée dans ce cas, il faut faire la CMI aux 4 antibiotiques : Pénicilline, Amoxicilline, Céfotaxime et Imipenème.

- Autres ATBS concernés : macrolides, tétracyclines, fluoroquinolones.

3. Résistance par imperméabilité :

Pour qu'un antibiotique soit efficace, il faut d'abord qu'il pénètre dans la bactérie et tout facteur altérant la perméabilité cellulaire est cause de résistance. Ce mécanisme n'affecte pas les "**Gram positifs**" car les antibiotiques diffusent librement à travers le peptidoglycane qui constitue la paroi de ces bactéries.

Chez les bactéries à **Gram négatif**, au contraire, la barrière constituée par le lipopolysaccharides (LPS) de la membrane externe s'oppose à la pénétration des antibiotiques mais des porines, protéines formant canaux, permettent le passage de molécules hydrophiles comme les pénicillines à large spectre, les céphalosporines, les aminosides, les phénicolés ou les tétracyclines.

Des mutations entraînant des modifications quantitatives ou qualitatives de ces porines sont responsables de résistances acquises souvent croisées à plusieurs familles d'antibiotiques. Elles sont constatées chez les entérobactéries (*E.coli*, *P.mirabilis*, *E.cloacae*, *Salmonella*, *Serratia*), chez les *Pseudomonas*, *Haemophilus* et *Neisseria gonorrhoeae* mais n'occasionnent pas toujours de résistances perçues cliniquement.

Une modification d'une porine spécifique entraîne une résistance isolée à l'imipenem chez *Pseudomonas aeruginosa* mais c'est une modification de composition du LPS qui semble être la cause de la résistance des *Pseudomonas* aux bêtalactamines.

Le transport actif des aminosides à travers la membrane cytoplasmique nécessite l'intervention d'un mécanisme oxydatif qui peut être inactivé par mutation entraînant une résistance croisée à tous les aminosides (*Pseudomonas*, *E. coli*) ou par défaut d'oxygène

expliquant la résistance naturelle à ces molécules des bactéries anaérobies strictes ou microaérophiles comme les streptocoques.

Un défaut de perméabilité aux antibiotiques (phénicoles, quinolones, sulfamides, triméthoprime) ou une insuffisance de concentration intracellulaire par excrétion rapide ou efflux (tétracyclines) peuvent être également la cause de résistances.

4. Résistance par Efflux

Des systèmes d'efflux peuvent assurer le pompage vers l'extérieur des ATBs ayant pénétré dans la cellule. Jouent un rôle dans la R naturelle. Parfois, mutation de leurs gènes => niveau d'expression des protéines d'efflux augmente => R acquise touchant parfois plusieurs familles ATBS.

Observée chez les bactéries à Gram positif ou à Gram-négatif.

P. aeruginosa+++++ : système de nature différente, répercussion variable en terme de CMI.

β -lactamines, macrolides, cyclines, fluoroquinolones;

Exp: Staphylococcus et cyclines. Entérobactéries et fluoroquinolones.

G. Naissance et évolution des résistances :

➤ **Phénomène massif** : Animal, agriculture

ATB utilisés ds l'agriculture et l'élevage => Diffusion des gènes de résistance ds l'alimentation de l'homme => transfert aux flores commensales.

Utilisation clinique des ATBS => faire émerger ds la flore commensale humaine les bactéries porteuses de gènes de R : Pression de sélection par les ATBS.

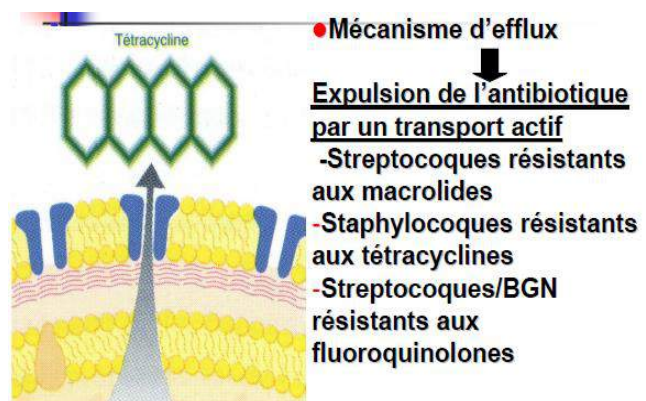
➤ **Phénomène évolutif**:

-La consommation s'accroît régulièrement,

-Entraîne une augmentation des résistances.

-Les gènes de R vont évoluer en s'adaptant à la pression ATB : après chaque nouvelle β lactamine introduite sur le marché, nouvelle β lactamase (mutation des anciens gènes)

-De plus pouvoir infectieux des plasmides chez l'homme, animaux et environnement.



QUELLE EST LA SOLUTION ?

- La maîtrise de l'antibiothérapie, associée aux mesures d'hygiène, doit induire une diminution de la prévalence de la résistance et de l'impact de la transmission croisée.
- Intérêt individuel et collectif.

LE BON USAGE DES ATBS :

- Pour cela, il faut :

- 1-Un diagnostic précis et précoce.
- 2-Une bonne indication thérapeutique, un traitement adapté, réévalué cliniquement et microbiologiquement, de durée appropriée.
- 3- Le meilleur rapport bénéfice/risque individuel et collectif , dans le choix du TRT (effets indésirables les plus faibles à efficacité égale; impact écologique le plus faible).
- 4- une décision médicale fondée sur les meilleures preuves scientifiques disponibles.
- 5- la prise en compte des préférences du patient.
- 6-La maîtrise de l'émergence des bactéries multirésistantes.

H. Conclusion

***Plasticité du génome bactérien :**

C'est l'imagination des bactéries pour trouver des solutions à des pressions de sélections environnementales par :

- Mutation,
- Acquisition de gènes+++++ : transmission entre espèces différentes, épidémies

de gènes et de plasmides.

***Quatre mécanismes de R aux ATBS dont l'inactivation enzymatique, prédominante chez les entérobactéries.**

***Mutation et acquisition d'éléments extra chromosomique +++++.**

***L'utilisation excessive d'ATBS exerce une pression de sélection qui favorise la multiplication et la diffusion des bactéries résistantes.**

: En résumé voici notes sur les

Tab1/Mécanismes principaux de résistance en fonction de la famille d'antibiotiques

<i>Béta lactamines</i>	Essentiellement due à la synthèse de bêtalactamases (penicillinasés : Origine : plasmidique / céphalosporinasés : Origine : chromosomique) qui inactivent l'ATB. Surtout pour les BGN. Pour les BGN, il existe en plus une diminution de la perméabilité par modification des
-----------------------------------	---

	<p>porines.</p> <p>Pour les BGP, diminution de l'affinité des PLP pr les β-lactamines.</p>
Macrolides	<p>La résistance acquise aux macrolides est due principalement à la méthylation de la cible sur la sous-unité 50S du ribosome empêchant la liaison avec l'antibiotique.</p> <p>Résistance constitutive permanente=> résistance croisée avec apparentée : linco et synergistine</p> <p>Résistance inductible par ATB => résistance pr Macro, Linco et synerG reste sensible</p>
Tétracyclines	<p>La résistance est essentiellement de type plasmidique=> Le mécanisme le + fréquent est le blocage de l'efflux mais aussi diminution de l'affinité de la cible ribosomale</p>
quinolone	<p>Liée à des mutations de l'ADN gyrase ou des modifications de perméabilité à l'ATB.</p> <p>Les résistances st uniquement d'origine chromosomique.</p>
Aminosides	<p>Résistance naturelle:</p> <p>Pr agir, les aminosides doivent pénétrer à l'intérieur de la cellule ce qu'ils font par diffusion passive et active. Certaines bactéries sont imperméables à la pénétration passive des aminosides.</p> <p>L'association aux bêtalactamines qui agissent en détruisant la paroi cellulaire va être synergique en permettant leur entrée dans la cellule.</p> <p>La pénétration active nécessite de l'oxygène, les bactéries anaérobies sont peu sensibles aux aminosides.</p> <p>Résistance acquise:</p> <p>Le plus souvent médiée par un plasmide, les bactéries acquièrent la capacité d'inactiver l'antibiotique par adénylation, acétylation ou phosphorylation.</p> <p>Dans d'autres cas, une mutation chromosomique peut modifier la sous-unité 30S du ribosome et la rendre inaccessible à l'antibiotique.</p>
Rifampicine	<p>Liée à une modification de la perméabilité de la bactérie ou à une modification de structure de l'enzyme cible l'ARN polymérase. Les résistances st uniquement d'origine chromosomique.</p>
Sulfamide	<p>Liée à une modification de la perméabilité de la bactérie ou à une modification de structure de la dihydroptéroate synthétase</p>
Vancomycine	<p>Elle est liée à la production d'un précurseur de peptidoglycane modifié, sur lequel la vancomycine ne peut pas se fixer.</p>
phénicolés	<p>Principalement par production d'une acétyltransférase qui inactive l'ATB (plasmidique) ou</p>

	impermeabilité (chromosomique).
--	---------------------------------

Tab2/ Principaux mécanismes de résistance par famille/genre bactérien.

Famille/g enre bactérien	Antibiotiques	Mécanismes de résistance
Entérobactéries	β-lactamines	Production de β-lactamases
	Aminosides	Acquisition d'enzymes ANT, APH ou AAC
	Fluoroquinolones	Efflux actif Mutations des topo- isomérases II Acquisition de déterminants <i>qnr</i>
<i>P. aeruginosa</i>	β-lactamines	Déficit en porine OprD chez <i>P. aeruginosa</i> (imipénem) Surproduction du système MexAB-OprM (efflux actif) Production de β-lactamases
	Aminosides	Acquisition d'enzymes ANT, APH ou AAC
	Fluoroquinolones	Efflux actif Mutations des topo-isomérases II
<i>Staphylococcus</i> spp.	β-lactamines	Acquisition de la PLP2A (gène <i>mecA</i>)
	MLSK	Acquisition de méthylases de l'ARN 23S
	Aminosides	Acquisition d'enzymes ANT, APH ou AAC
	Oxazolidinones	Mutations de l'ARN 23S/protéines ribosomales
	Glycopeptides	Surproduction de peptidoglycane remanié chez <i>S. aureus</i> Modification de la cible gènes <i>van</i> (très rare)
<i>Enterococcus</i> spp.	β-lactamines	Surexpression de la PLP5 (moindre affinité)
	MLSK	Acquisition de méthylases de l'ARN 23S
	Aminosides	Faible niveau de résistance naturelle

		(impermeabilité) Acquisition d'enzymes ANT, APH ou AAC
	Glycopeptides	Modification de la cible (gènes <i>van</i>)
<i>S. pneumoniae</i>	β -lactamines	Modification/recombinaison de gènes des PLP
	Macrolides	Surproduction de systèmes intrinsèques

Les différents mécanismes de résistance retrouvés pour chaque famille d'antibiotique sont regroupés dans le tableau 3 suivant.

Tableau 3/ Mécanismes de résistance vis-à-vis des différentes familles d'antibiotiques (M : mutation, AG : acquisition de gène).

Antibiotiques	Mécanismes biochimiques (ordre de fréquence décroissant)
bêta-lactamines	bêta-lactamases (M, AG) Altération des cibles (PLP) (M, AG) Diminution de la perméabilité de la membrane externe par altération des porines (ex. porine D2) (M) Efflux actif (M)
Aminosides	Enzymes modifiant les aminosides (AG) Altération de la cible (M, AG) Altération du système de transport actif au travers de la membrane cytoplasmique (chaîne respiratoire) (M) Diminution de la perméabilité de la membrane externe par altération des porines (M) Efflux actif (M)
MLS	Altération de la cible (mutation ARNr 23S, méthylase) (M, AG) Enzymes modificatrices : estérases, hydrolases, phospho-, nucléotidyl-, ou acétyl-transférases (AG) Efflux actif (AG)
Tétracyclines	Efflux actif (M, AG) Protection des ribosomes Tet (AG) Diminution de la perméabilité de la membrane externe par altération des porines (M) Production d'une oxydo-réductase NADPH-dépendante (AG)
Phénicolés	Chloramphénicol-acétyltransférases (CAT) (AG) Diminution de la perméabilité de la membrane externe par altération des porines (M) Efflux actif (M)
Quinolones	Altération des cibles (ADN gyrase, topo-isomérase IV) (M) Diminution de la perméabilité de la membrane externe par altération des porines (M) Efflux actif (M, AG) Protection de l'ADN gyrase : protéines Qnr (AG) Inactivation enzymatique (AG)
Sulfamides	Production d'une cible (dihydroptéroate synthétase) : (a) en excès ; (b) anormale ; (c) supplémentaire (M, AG) Diminution de la perméabilité de la membrane externe par altération des porines (M) Hyperproduction d'acide para-aminobenzoïque (M) Efflux actif (M)
Triméthoprim	Production d'une cible (dihydrofolate réductase) : (a) en excès ; (b) anormale ; (c) supplémentaire (M, AG) Diminution de la perméabilité de la membrane externe par altération des porines (M) Auxotrophie en thymine (M) Efflux actif (M)
Glycopeptides	Synthèse d'une cible modifiée : motif terminal du disaccharide pentapeptide autre que [D-ala-D-ala] (AG)
Rifamycines	Altération de la cible (ARN polymérase ADN dépendante) (M) Inactivation enzymatique (ADP-ribosyl transférase) (AG)
Nitro-imidazoles	Absence de nitroréduction intracellulaire (M) Synthèse d'une nitro-réductase dégradant les nitro-imidazoles en dérivés aminés inactifs (AG)
Fosfomycine	Altération des perméases (M) Altération de la cible (pyruvyl-transférase) (M) Production d'une glutathion-S-transférase (AG)
Acide fusidique	Altération de la cible (EF-G) (M) Séquestration sous forme de complexe [acide fusidique-chloramphénicol-enzyme] par la CAT-I (AG) Diminution de la perméabilité de la membrane cytoplasmique (AG)
Linézolide	Altération de la cible (mutation ARNr 23S, méthylase) (M, AG) Protection de la cible (AG)

11fin.