



Matière : Microbiologie

Cours n° : 7

Professeur :

Date : 25/01/2016

Nombre de pages : 8

Plan du cours

II.2 – Antibiotiques Inhibant la traduction

II.3 - Antibiotiques inhibant la réplication de l'ADN

III. Supports génétiques que la résistance

RT : Walid Masmoudi

RC :

Prochain cours le :

Rappels du cours précédent :

Nous avons vu les mécanismes d'action et de résistance des antibiotiques agissant sur la paroi. Toutefois le cours n'est pas exhaustif, nous verrons en chimie thérapeutique d'autres antibiotiques agissant sur la paroi, ce cours n'a abordé que les deux grandes classes de ces antibiotiques qui sont les plus fréquemment utilisés : **béta lactamine** (qui est une énorme classe) et les **glycopeptides**. Ces deux classes sont très importantes à connaître. Un tableau récapitulatif des différents antibiotiques sera mis en ligne sur moodle par la prof.

Les glycopeptides sont avant tout des **antistaphylococcique** que l'on utilise lorsque l'on pense qu'il y a une résistance aux antistaphylococciques de type béta lactamine, on les utilise donc plutôt dans les infections nosocomiales pour être actif sur les **staphylococcus meticillino résistants** dont on a parlé la dernière fois (important à retenir). Les glycopeptides sont également utilisés contre **streptocoques** et essentiellement les **entérocoques** car ce sont des bactéries très résistantes, il n'y a qu'une seule béta lactamine active sur les entérocoques c'est l'**ampicilline**. Les glycopeptides sont également utilisés car il existe des allergies aux béta lactamines, mais en général on utilise plutôt ces dernières. On rappelle également que les **glycopeptides ne sont actives que sur les GRAM +**.

Nous avons aussi démarré les antibiotiques inhibiteurs de la synthèse protéique et nous avons parlé de l'**inhibition de la transcription** par la **rifampicine** qui a deux utilisations majeures : **antituberculeux et antistaphylococcique**. La rifampicine a une **très bonne biodisponibilité**, elle permet donc d'atteindre des endroits dans lesquels les autres antibiotiques ne diffusent pas, ce qui est très utile par exemple pour les infections neuro méningées ou les infections osseuses. La rifampicine est un antibiotique pour lequel les taux de mutations sont élevés, de ce fait on l'utilise rarement en monothérapie. Nous avons parlé de la résistance acquise qui est une mutation de l'ARN polymérase qui se fait assez facilement.

Enfin, nous nous sommes arrêtés sur les antibiotiques agissant au niveau de la **traduction** en l'inhibant, avec 4 grandes classes : les **aminosides** et les **tétracyclines** dont la cible est la petite sous unité du ribosome (30s) ainsi que les **macrolides** et le **chloramphénicol** (peu utilisé en France à cause de ses importants effets secondaires) dont la cible est la grande sous unité (50s). Les **aminosides** ont une marge thérapeutique très faible, ils ont deux toxicités importantes, l'**ototoxicité et la neurotoxicité**. Ils sont utilisés presque qu'**en association** (très rarement en monothérapie et de façon ponctuelle). Les tétracyclines sont un peu moins utilisés de nos jours.

II.2 – Antibiotiques Inhibant la traduction

Aminosides = aminoglycosides

Les aminosides (à ne pas confondre avec les macrolides, ces deux antibiotiques ont des utilisations fondamentalement différentes) agissent au niveau de la **petite sous unité du ribosome**. Ce sont des résidus de sucre sur lesquels sont greffés des résidus amine d'où leur nom. Il existe plusieurs molécules, la première ayant été décrite, la streptomycine, n'est plus utilisée dans notre pays à cause de sa toxicité extrêmement importante (ototoxicité). Ceux encore utilisés aujourd'hui sont la **gentamicine, nétilmicine et l'amikacine**.

Les aminosides doivent traverser la paroi pour aller au niveau de leur cible ribosomale qui est dans le cytoplasme et cette paroi se traverse **facilement chez les GRAM +** et via des porines chez les GRAM – en revanche pour traverser la membrane cytoplasmique ils doivent utiliser des enzymes qui sont O₂ dépendants et en particulier de la chaîne des cytochromes (cela expliquera certains mécanismes de résistance). Les aminosides vont ensuite se fixer au niveau de leur cible, la sous unité 30s, entraînant ainsi des erreurs de lectures de l'ARN messager puis des erreurs de synthèse de protéines (qui devient généralement non bioactive).

Mécanismes de résistance :

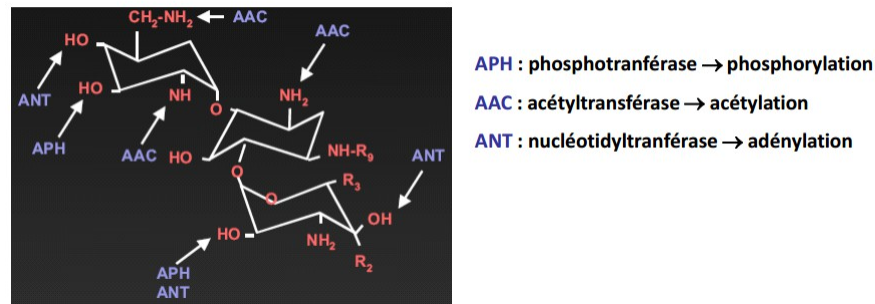
1 – **Par défaut de pénétration**. Elle est le résultat d'une **absence de la chaîne cytochromique** censée prendre en charge le passage de l'aminoside. De ce fait, c'est une **résistance naturelle** pour les micros organismes anaérobies strictes ainsi que les streptocoques et les entérocoques qui ont un métabolisme anaérobie (mais ne sont pas tués par l'oxygène de l'air). *Petite parenthèse, l'association aminosides et bêta lactamine est largement utilisée, en particulier contre les streptocoques et les entérocoques car la résistance des streptocoques et des entérocoques aux aminosides n'est liée qu'au défaut de pénétration ainsi en lisant la paroi bactérienne avec une bêta lactamine le problème est réglé et l'aminoside peut pénétrer dans la cellule puis se fixer à sa cible.*

Cela peut également être une **résistance acquise** dans le cas d'une **mutation du système de transport actif membranaire**. Ce n'est pas très fréquent mais cela entraîne une **résistance croisée** à tous les aminosides (décrit chez les pseudos aeruginosa).

Autre résistance acquise : l'aminoside pénètre puis va être ressortie par les pompes à efflux (qui sont peu spécifiques). En cas de mutation sur le mécanisme régulateur de ces pompes physiologiques, leur activité peut devenir beaucoup plus importante d'où l'apparition d'une résistance

2 – **Par inactivation enzymatique** avec des enzymes qui vont hydrolyser ces antibiotiques. Il en existe de très nombreuses, les exemples ci-dessous ne sont pas à retenir. Cette résistance peut être d'**origine naturelle** si elle est portée chromosomiquement par un gène qui pré-existe (exemple : les *Serratia* qui sont des entérobactéries) **ou acquise**, la plupart du temps par l'acquisition de plasmides (décrit chez les staphylocoques et des entérobactéries) c'est quelque chose de fréquent.

2. Résistance par inactivation enzymatique



3 – **Par altération de la cible**, au niveau de la sous unité 30s du ribosome, peu fréquent.

Les macrolides (érythromicine)

Au niveau de la **grande sous unité 50s** ils se fixent à l'**ARN 23 s** (à retenir) et la plupart du temps il se crée un blocage par encombrement stérique empêchant l'élongation de la chaîne peptidique. Cela inhibe également la dissociation du peptidyl ARNt empêchant ainsi l'allongement de la protéine. *Ce n'est pas important à retenir mais les macrolides se lient aux domaines 2 et 5 de l'arn 23 s.*

Mécanismes de résistance :

1 – **Résistance par imperméabilité de la membrane externe** qui empêche le passage de certaines molécules trop grosses, c'est une résistance naturelle (exemple : entérobactéries, qui n'ont pas de porines).

2 – **Résistance acquise par méthylation de la cible ribosomale** (adénine de l'arn 23 s) par des gènes appelés *erm* (erythromycine ribosome methylase) responsables de la non reconnaissance de la cible par l'antibiotique. Ceci est décrit dans les staphylocoques aureus et les pneumocoques.

Plus rarement l'arn 23 s peut être l'objet d'une mutation ou encore un dysfonctionnement des protéines d'efflux comme vu précédemment (pneumocoques).

II.3 - Antibiotiques inhibant la réplication de l'ADN

Ce sont les **quinolones**, on les reconnaît car celles de deuxième génération se terminent par le suffixe floxacine. Les quinolones de première génération ne sont utilisées que dans les infections urinaires et celles de deuxième génération sont utilisées dans de nombreuses infections. L'avantage des quinolones de deuxième génération (également appelées fluoroquinolones) en plus d'avoir un large spectre d'action, c'est d'avoir une biodisponibilité très bonne et une pharmacocinétique favorable. Par contre elles ont un important taux de mutation donc on fait très attention à son utilisation car on sélectionne très vite des mutants résistants. De ce fait lorsqu'on fait un traitement aux fluoroquinolones on évite de prescrire à nouveau des fluoroquinolones pendant au moins 6 mois.

Les quinolones agissent en **inhibant les topoisomérases bactériennes** et par conséquent empêchent la duplication de l'ADN. Rappel : les topoisomérases sont des enzymes qui régulent la topologie de l'hélice d'ADN, c'est à dire son sur-enroulement, la formation de boucles etc. Elles interviennent lors de la réplication, pour relâcher la super hélice d'ADN.

Mécanismes de résistance :

1 – le mécanisme principal de résistance est par **mutation des topoisomérases** (taux de mutation très élevé). Chez les GRAM – c'est d'abord une mutation de *gyrA* qui va ensuite

Topoisomérase type II = ADN-gyrase, codée par gènes : *gyrA* et *gyrB*

Topoisomérase type IV, codée par gènes : *parC* et *parE*

=> **quinolones = inhibiteurs des topoisomérases bactériennes**

atteindre *parC* et *parE*. Chez les GRAM + c'est l'inverse. Plus précisément c'est une mutation du domaine de 40 aa appelé QRDR (quinolone resistance determining region) qui entraîne la résistance.

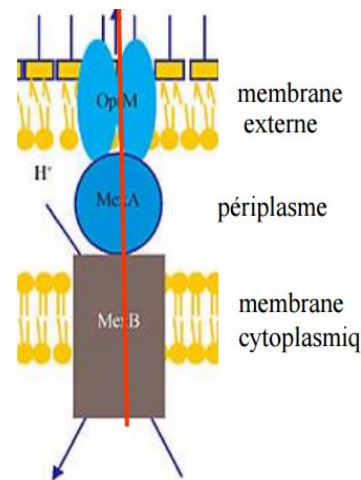
2 – **Par imperméabilité** due à une diminution d'expression des porines

3 – **Par suractivation des protéines d'efflux** (mécanisme important chez les *Pseudomonas aeruginosa*) généralement causée par une mutation au niveau du gène répresseur *mexR*. Ces protéines étant peu spécifiques elles peuvent entraîner des résistances à d'autres antibiotiques, en particulier les bêta lactamines, résistance de bas niveau généralement mais qui peuvent devenir de haut niveau parfois. Les protéines d'efflux peuvent exister chez les GRAM + mais chez les GRAM + c'est un ensemble de protéines qui n'a juste besoin de passer la barrière que représente la membrane cytoplasmique alors que pour les GRAM – on doit passer la membrane cytoplasmique et la membrane externe. Il existe différents types de protéines d'efflux, voici ci-dessous la structure générale de ces protéines. Ce sont les protéines de jonction qui prennent en charge les antibiotiques.

4 – Le **mécanisme QNR** (quinolone resistance) qui correspond à une protéine codée par un gène plasmidique et s'intercalant entre l'ADN gyrase et la quinolone ce qui protège l'ADN gyrase.

• **Activation de protéines d'efflux :**

- *Pseudomonas aeruginosa*
 - Mex B = pompe d'efflux
 - OprM = canal protéique (mb. externe)
 - MexA = protéine de jonction
- Mutation du répresseur *mexR*
 - > hyperexpression de efflux
 - > R bas niveau quinolones
 - b-lactamines



III. Supports génétiques que la résistance

On a deux grands volets au niveau de ces supports génétiques, soit c'est complètement chromosomique et ce gène chromosomique va être modifié car il y a des erreurs au niveau de la duplication et cela entraîne des mutations mais ce n'est pas un mécanisme fréquent grâce aux mécanismes de réparation de l'ADN (cela explique environ 10% des résistances). Le deuxième grand mécanisme est l'acquisition de gènes de résistance via des transferts génétiques de résistance (transduction, transformation, conjugaison) et donc la bactérie peut réguler des gènes mobiles d'autres micro-organismes.

Lorsque ce sont des **gènes chromosomiques** qui vont être le support de la **résistance**, soit ils sont présents à l'état sauvage (=résistance naturelle) soit ils ne préexistent pas (=résistance acquise) et dans ce cas cette résistance va se transmettre aux descendants par transmission verticale, c'est donc une résistance stable.

Lorsque ce sont des **résistances par des éléments mobiles** (plasmides, transposons) c'est-à-dire que des éléments génétiques vont pouvoir passer d'une bactérie vers une autre au sein de la même espèce ou d'une autre espèce (transmission horizontale) la résistance est plus instable car le plasmide n'est pas toujours transmis. Une transmission verticale c'est-à-dire quand les éléments génétiques mobiles sont transmis à la descendance est possible. La transmission horizontale permet une dissémination bien plus importante et rapide de la résistance. On a, par conséquent, un potentiel épidémique, il faut donc dans ce cas penser à isoler le patient et le traiter le plus vite possible. Ces différentes transmissions expliquent le fait qu'il y ait autant de bactéries multirésistantes de nos jours, elles expliquent 90% des résistances aux antibiotiques.

Résistance chromosomique par mutations

Caractéristiques des mutations

- ❖ **Rares** : fréquence définie par le **taux de mutation** : 10^{-5} à 10^{-12}
résistance aux quinolones
⇒ taux de mutation de l'ADN gyrase fonction de l'espèce :
E.coli 10^{-8} à 10^{-9} : risque faible de sélection de mutants
Paeruginosa : 10^{-6} : sélection rapide de mutants R
- ❖ **Stables** ⇒ transmission verticale
- ❖ **Spontanées** ⇒ **non induites par l'antibiotique**
 - antibiotique **sélectionne** les mutants résistants
 - sélection = fonction de taille de la population bactérienne
- ❖ **Discontinues** : par échelons
⇒ mutations successives conduisent de R bas niveau à R haut niveau

Risque élevé de sélection de mutants résistants ⇒ association d'antibiotiques

Plus la population bactérienne est grande, plus le nombre de bactéries mutantes (de façon spontanée) est importante et plus le risque de sélection des mutants résistants sera important.

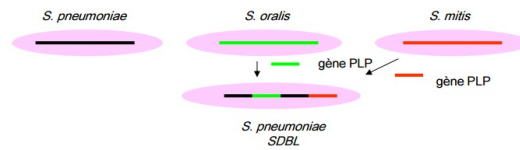
Mutation support de résistances

- 1- **Mutation sur un gène domestique** (=gène indispensable à la bactérie) : par exemple une mutation du gène codant pour la transcriptase (cible de la rifampicine) entraîne une résistance à la rifampicine. Une mutation du gène codant pour une topoisomérase entraîne une résistance aux quinolones.
- 2- **Mutation d'un gène impliqué dans la perméabilité**, par exemple un gène codant pour des porines ;
- 3- **Mutation d'un gène impliqué dans l'efflux**, entraînant une surexpression des protéines d'efflux.
- 4- **Mutation de gènes de régulation ou dans les promoteurs**, c'est le cas des céphalosporinases dérégulées. Il y a des bactéries qui produisent de façon naturelle et à bas niveau des céphalosporinases qui vont hydrolyser certains antibiotiques. En cas de mutation au niveau du promoteur du gène codant pour ces céphalosporinases, on a une dérégulation de ce gène causant une hyperproduction de céphalosporinase et donc l'hydrolyse des céphalosporines qui ne l'étaient pas avant la mutation.

Résistance chromosomique par recombinaison

Streptococcus pneumoniae de sensibilité diminuée aux bêta-lactamines

(PSDP; PLP d'affinité diminuée)



Neisseria meningitidis de sensibilité diminuée aux bêta-lactamines

(PLP d'affinité diminuée)

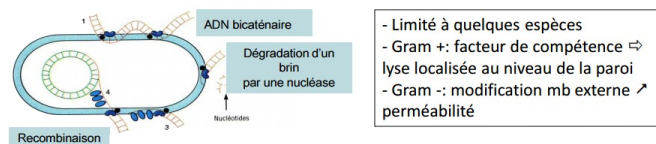
(*N. lactamica*, *N. cinerea*)

La bactérie va acquérir des gènes exogènes et ils vont reconnaître des séquences homologues au niveau de leurs chromosomes. C'est ce que l'on rencontre chez le pneumocoque de sensibilité diminuée aux bêta-lactamines (causée par une recombinaison du gène PLP) que l'on appelle pas résistant car on peut augmenter retrouver l'efficacité des bêta lactamines en augmentant les doses dans la mesure où cet antibiotique est peu toxique, à part les possibles allergies mais ce n'est pas une question de dose. On a la même chose chez les mélanocoques.

Résistance chromosomique par recombinaison

⇒ Transformation bactérienne

- transfert et recombinaison génétique d'un fragment d'ADN libre au sein de même espèce (ou entre espèces proches)
- 1^{ère} description de transfert génétique horizontal chez bactéries : Griffith (1929) → changement d'Ag capsulaire chez *S. pneumoniae*



- Limité à quelques espèces
- Gram +: facteur de compétence ⇒ lyse localisée au niveau de la paroi
- Gram -: modification mb externe ↗ perméabilité

Intérêt

- Acquisition de compétences nouvelles dont R aux AB
- Expérimentalement: technologie de transfert de gènes et clonage