

La résistance bactérienne aux antibiotiques

Pr F. Sahli

Faculté de médecine de Sétif

Cours de microbiologie 3^e année médecine

Année 2023-2024

Introduction

- Depuis l'introduction de la pénicilline en 1942, un grand nombre d'agents antibactériens ont été développés et commercialisés, réduisant ainsi la morbidité et la mortalité humaine importantes associées aux infections bactériennes observées avant « l'ère des antibiotiques ».

- Malheureusement, chaque apparition d'un nouvel antibiotique s'est rapidement accompagnée de l'apparition de bactéries qui lui sont résistantes.
- Face à la rapidité de l'accroissement des résistances, les molécules d'antibiotiques efficaces se raréfient et le retour à l'ère pré-antibiotique est à craindre.
- La résistance aux antibiotiques est devenue un problème majeur de santé publique.

- L'existence de souches résistantes est connue depuis la découverte des antibiotiques (évolution vers les souches multirésistantes BMR) ex::

Pénicilline G:

- découverte en 1928 (résistance naturelle des bacilles à Gram négatif),
- utilisation en 1942, apparition de la résistance du *Staphylococcus aureus* en 1943.

Augmentation des résistances bactériennes
Raréfaction de nouveaux antibiotiques



Mesures de lutte:

- Développement de réseaux de surveillance de la résistance aux antibiotiques (en Algérie: AARN)
- Utilisation adéquate des antibiotiques
- Mesures d'hygiène.

Facteurs d'augmentation de la résistance

➤ Augmentation de la pression de sélection par les antibiotiques :

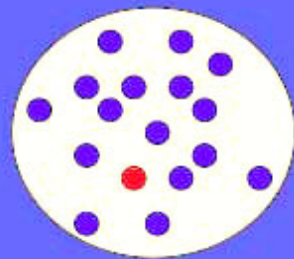
La pression exercée par un antibiotique permet la sélection de bactéries résistantes,

l'antibiotique diffuse dans l'organisme et sélectionne des résistances dans d'autres sites que celui ciblé par le traitement,

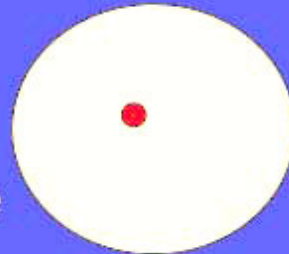
Ex: un antibiotique prescrit pour une angine sélectionne des bactéries résistantes dans le tube digestif du patient.

Shéma de sélection de mutants résistants

**Foyer infectieux
ou flore commensale**



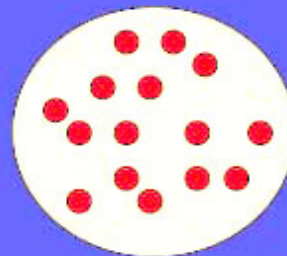
ATB
→
[C] locale



- bactérie sensible
- bactérie résistante à l'antibiotique

**Population bactérienne
sensible**

↓ Reconstitution de la population



**Population bactérienne
résistante**

- Augmentation de la dissémination des bactéries résistantes entre individus due à:

L'évolution des modes de vie (importance des regroupements humains, mondialisation des déplacements...),

- Insuffisance des mesures d'hygiène.

Définition de la résistance

Une souche résistante:

- La concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est nettement plus élevée que la concentration qu'on peut atteindre in vivo.
- Supporte une concentration d'antibiotique nettement plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce.

Déterminisme génétique de la résistance

- **Résistance naturelle:** caractère présent chez toutes les souches de la même espèce.

Bacilles à Gram négatif: pénicilline G,

Bactéries à Gram positif : colistine, acide nalidixique,

Bactéries à Gram négatif : vancomycine,

Anaérobie : aminosides,

Les entérocoques: céphalosporines (sauf 5^e génération),

Nitroimidazolés: bactéries aérobies.

▪ **Résistance acquise:**

n'apparaît que chez quelques souches d'une espèce normalement sensible.

Elle résulte:
d'une mutation chromosomique,
de l'acquisition d'un ou de plusieurs gènes qui
rendent la bactérie insensible à l'antibiotique.

- **Résistance par mutation chromosomique**



modification : porines, PLP, ADN gyrase,
ARN polymérase, ribosomes ...

- **Résistance par acquisition de gènes**
(plasmides ou transposons) :



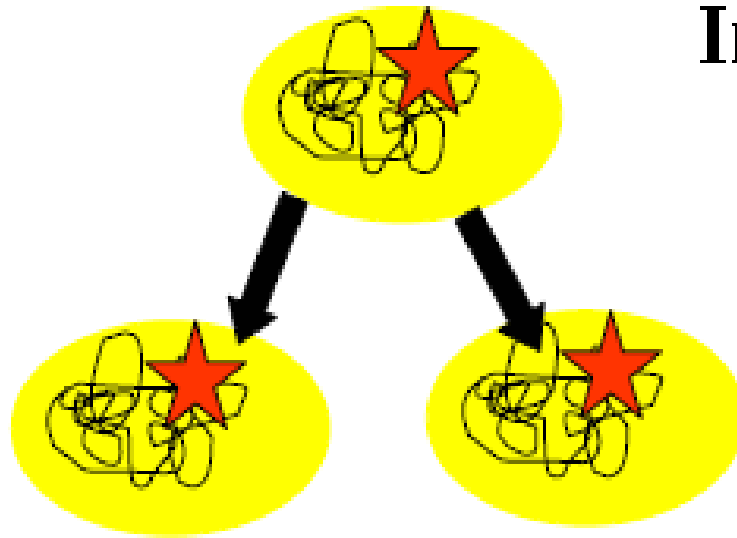
synthèse de protéines
inactivation de l'antibiotique.



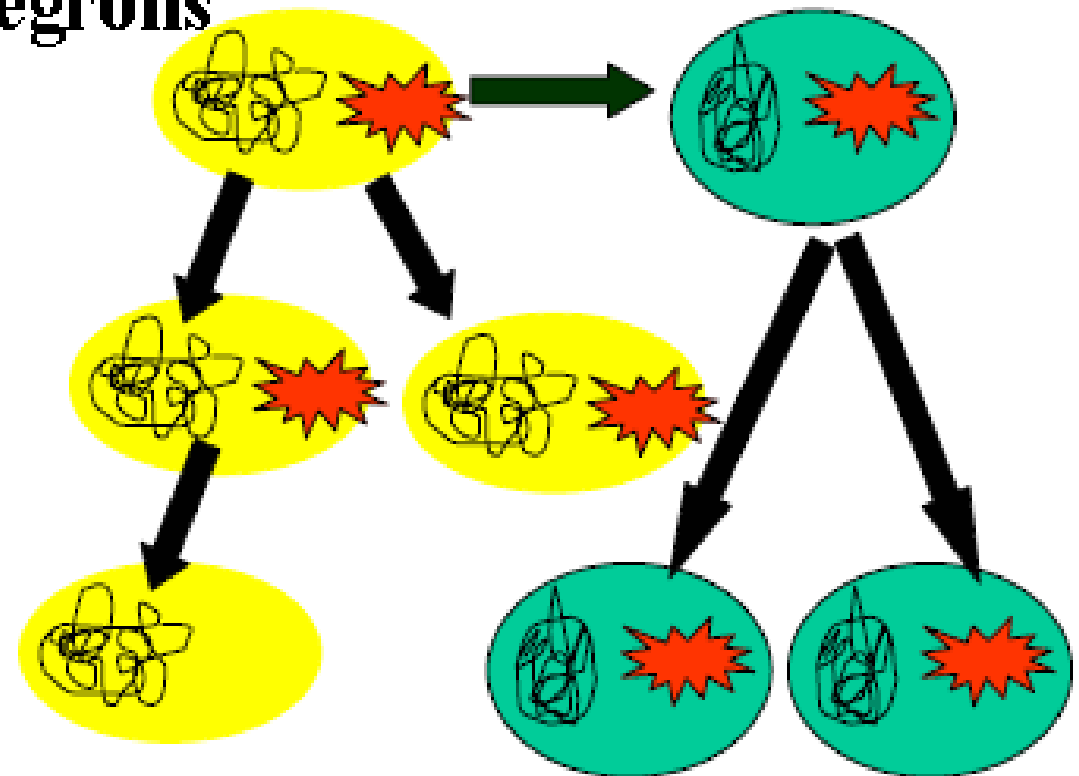
E. Coli résistante à péni et oxa (résistance naturelle).

Localisation génétique des gènes de résistance

Chromosome ← Transposons → Plasmides
Intégrons

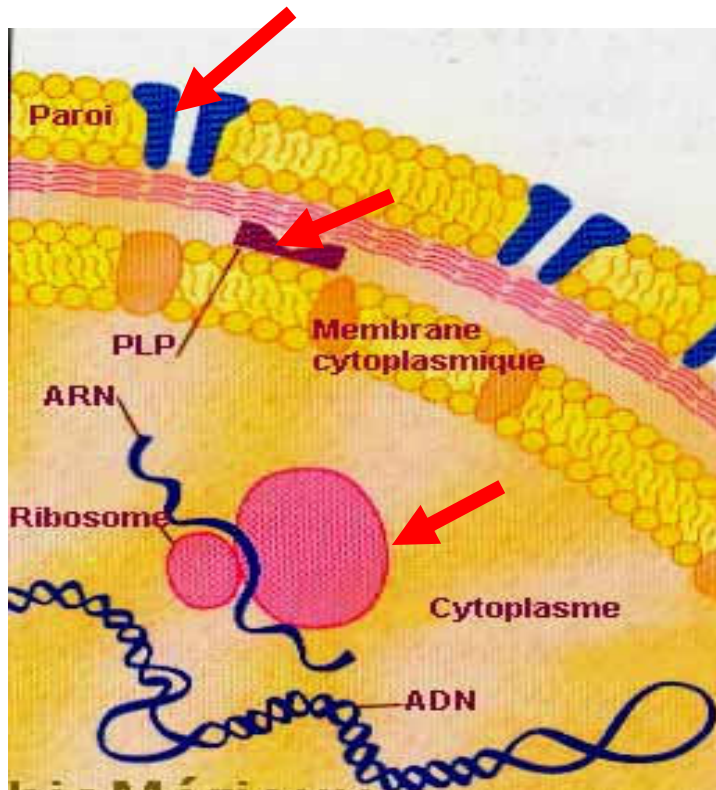


Résistance stable
Transmission verticale

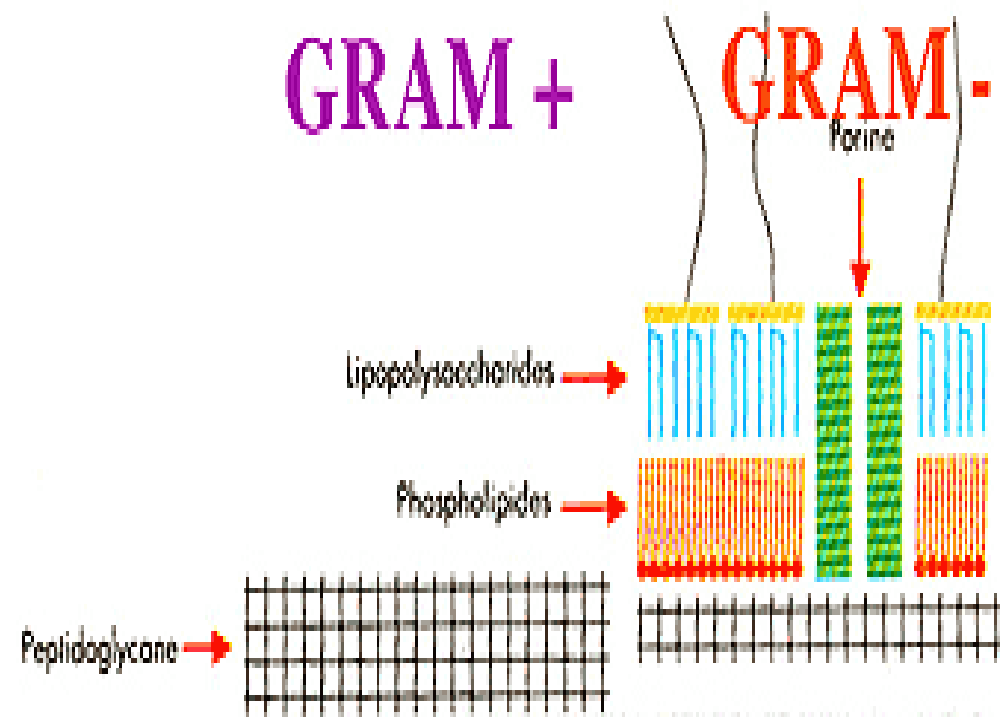


Résistance instable
Transmission horizontale et verticale

Rappel

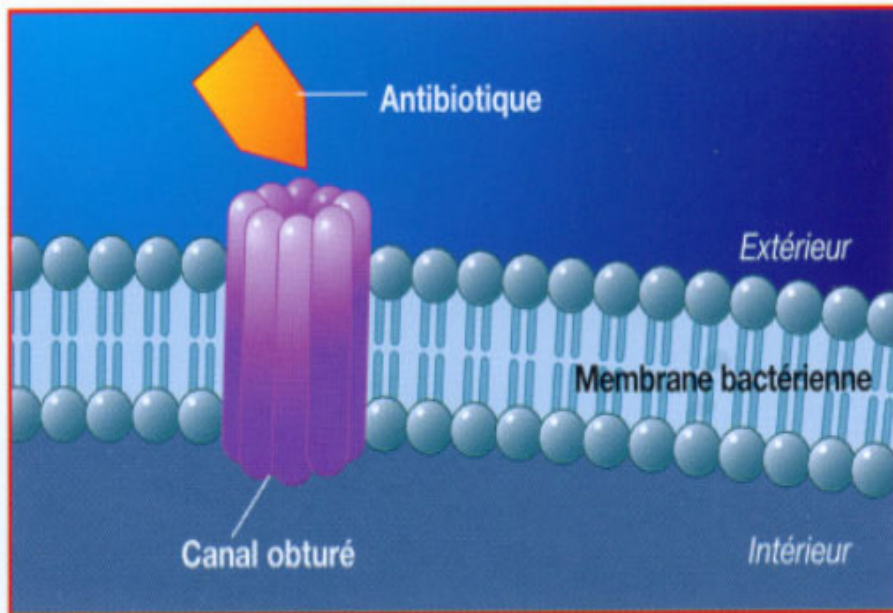


Cibles d'action des antibiotiques



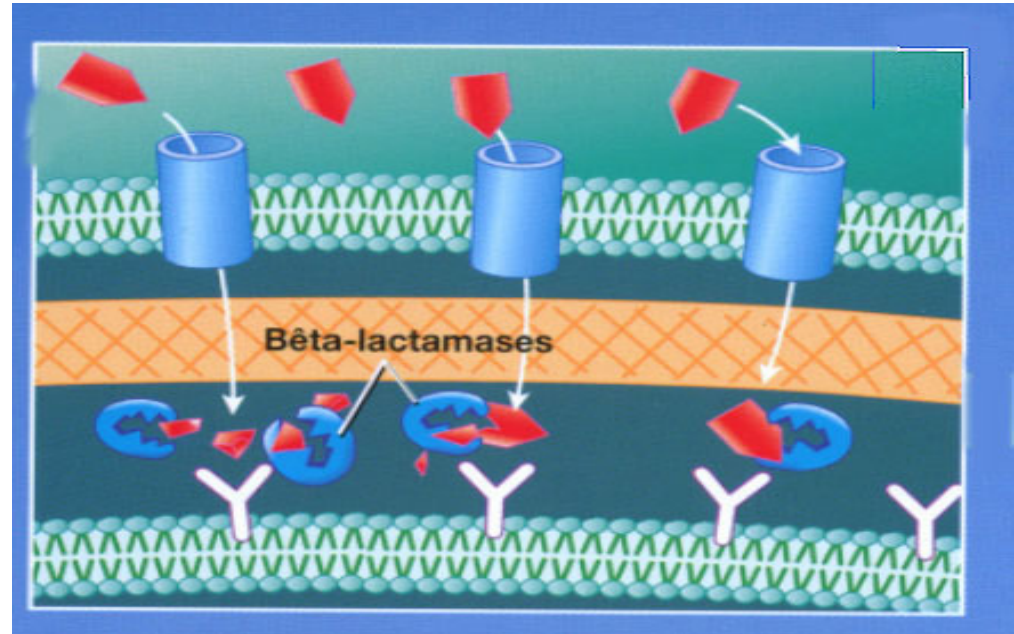
Paroi des bactéries G⁺ et G⁻

Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques



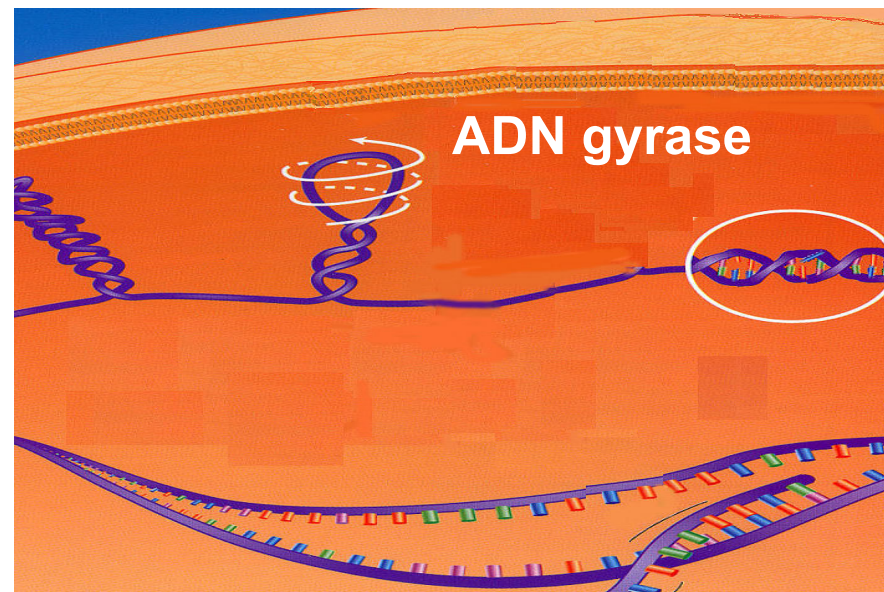
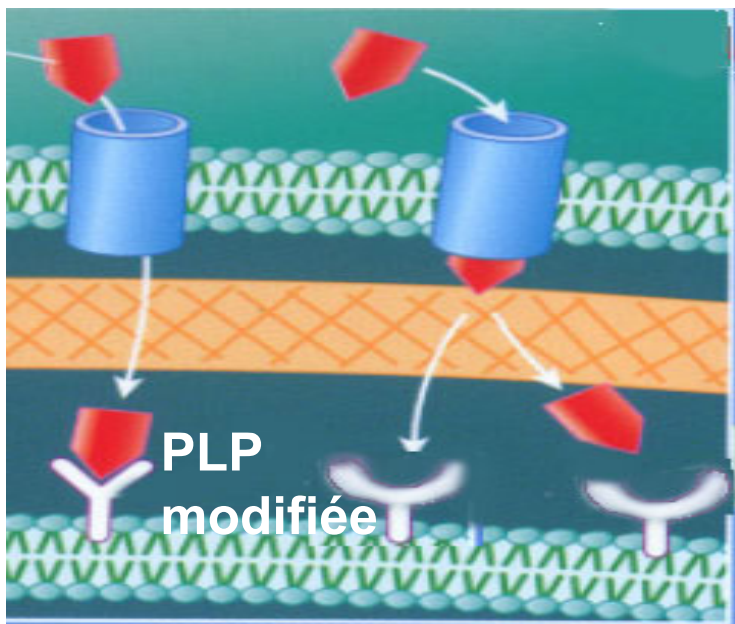
Imperméabilité

Chez les G- :
Bêtalactamines
aminosides
Quinolones



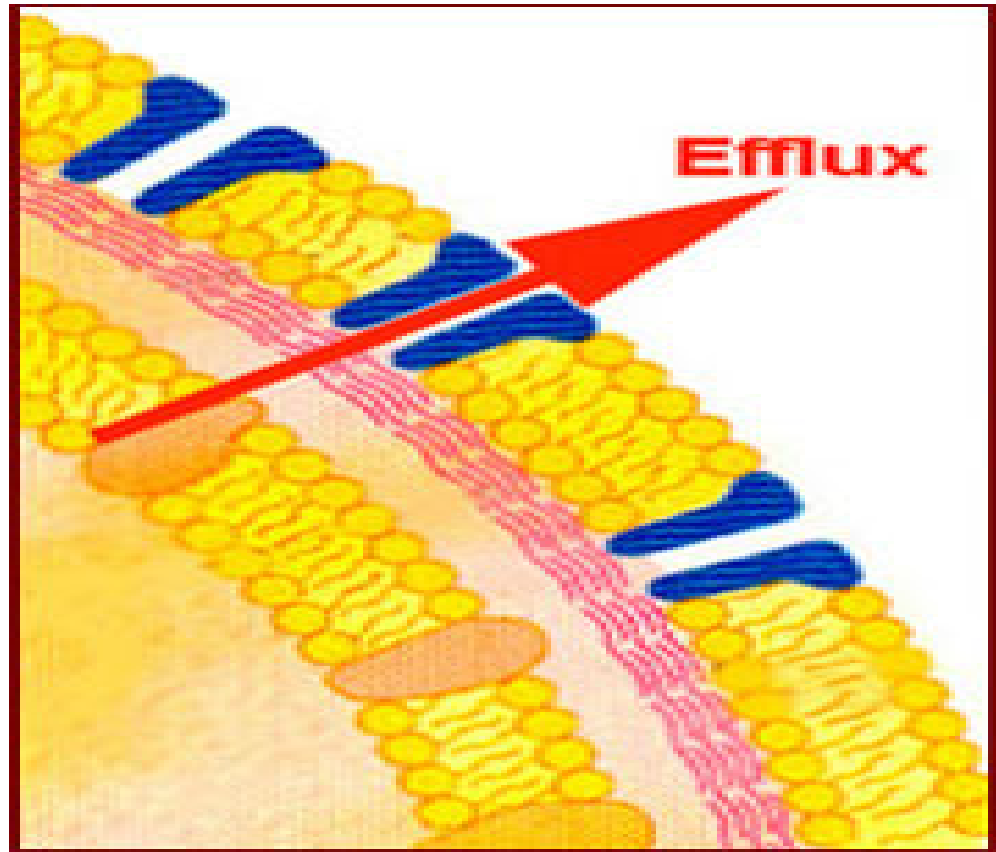
Inactivation enzymatique

Bêtalactamases
Enzymes modificateuses des aminosides



Modification de la cible

- Modification de PLP:
Pneumocoque,
Staphylocoque doré: apparition d'une nouvelle PLP: PLP 2a
- Changement de la cible D-Ala-D-Ala: entérocoque résistant à la vancomycine (gènes VanA, VanB).
- Altération du ribosome: tétracyclines, macrolides...
- Modification de l'ADN gyrase: fluoroquinolones.

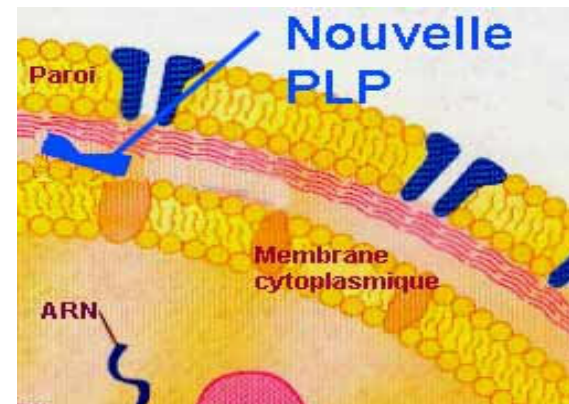
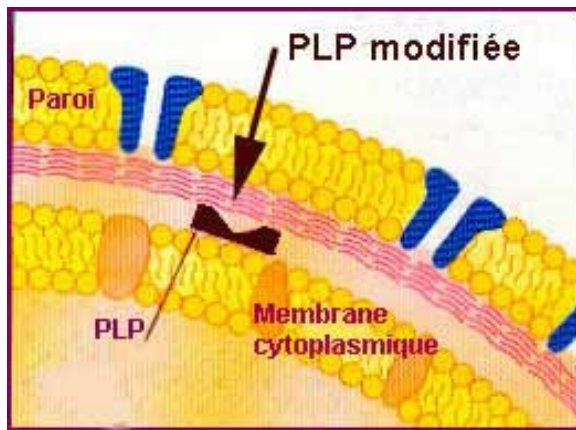
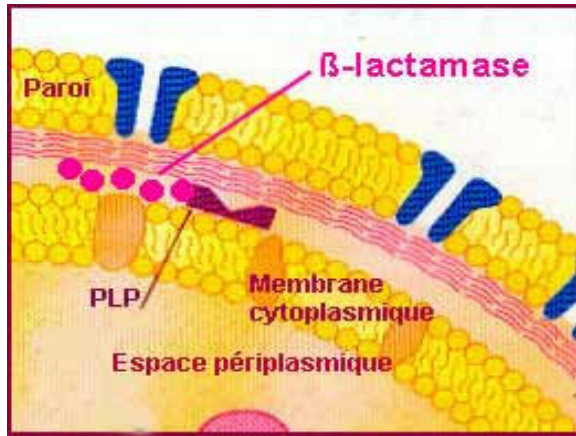


Résistance par efflux

Fluoroquinolones

Macrolides

Résistance aux Bêtalactamines



Principaux mécanismes de résistance aux Bêtalactamines.

Résistance aux Bêtalactamines par production de Bêtalactamase

- Mécanisme de résistance le plus fréquent.
- Les B-lactamases : enzymes qui inactivent les B-lactamines en hydrolysant le noyau B-lactame.
- Elles peuvent être chromosomiques ou plasmidiques.

Les bêtalactamases

- Plusieurs enzymes:

Pénicillinases

Bêtalactamases à spectre élargi (BLSE).

Céphalosporinase de haut niveau (AmpC)

Carbapénémases

- Grande diffusion:

Gram positif et Gram négatif, anaérobies.

Résistance aux Bêtalactamines par modification de PLP

- Affinité différente: changement ou modification de PLP.
- Les résistances acquises par ce mécanisme concerne surtout les bactéries à Gram positif :

Staphylococcus aureus Methi R(SAMR): cette résistance est croisée avec les autres Bêtalactamines sauf la ceftaroline, ceftibiprole.

Pneumocoque de sensibilité diminué à la pénicilline (PSDP).

Résistance aux Bêtalactamines par diminution de perméabilité

- La résistance naturelle ou acquise par ce mécanisme n'existe pas chez les bactéries à Gram positif.
- Elle est due à une modification qualitative ou quantitative d'une ou de plusieurs porines.
- Chez les bactéries à Gram négatif, la membrane externe est imperméable aux pénicillines M, Acide fusidique, Erythromycine.

La tolérance: $CMB / CMI > 32$

Elle est due à une modification du processus autolytique et concerne les bactéries à Gram positif: Staphylocoque, Pneumocoque.

Les bactéries multirésistantes BMR

- **SARM**: *Staphylococcus Aureus* résistant à la méticilline,
- **EBLSE**: entérobactéries productrices de bêtalactamase à spectre étendu,
- **PAR**: *Pseudomonas aeruginosa* résistant à ceftazidime et ou imipénème,
- **ABRI**: *Acinetobacter baumannii* résistant à imipénème...

Les bactéries hautement résistantes émergentes BHRe

- **EPC**: entérobactéries productrices de carbapénémase (EPC),
- **ERV**: entérocoque résistant à la vancomycine (ERV).

Etude in vitro de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques

Pr F. Sahli

Faculté de médecine de Sétif

Cours de microbiologie 3^e année médecine

2023-2024

Introduction

Une antibiothérapie adéquate pour une infection bactérienne est aidée par:

- La connaissance du spectre d'activité d'un antibiotique (et des résistances naturelles): PD,
- La connaissance de la pharmacocinétique de l'antibiotique, sa diffusion au niveau du foyer infectieux): PK.

Mais

La situation est plus complexe car: existence des résistances acquises.

Rôle du laboratoire

```
graph TD; A[Rôle du laboratoire] --> B[Identification de l'agent pathogène]; A --> C[Etude de ses sensibilités aux différents antibiotiques]; C --> D[Meilleur choix antibiotique (infection documentée)]; E[Données épidémiologiques: antibiothérapie probabiliste (infection non documentée)];
```

**Identification de
l'agent pathogène**

**Etude de ses sensibilités
aux différents
antibiotiques**

**Meilleur choix antibiotique
(infection documentée)**

**Données épidémiologiques: antibiothérapie
probabiliste (infection non documentée)**

Antibiogramme

- **L'antibiogramme:**

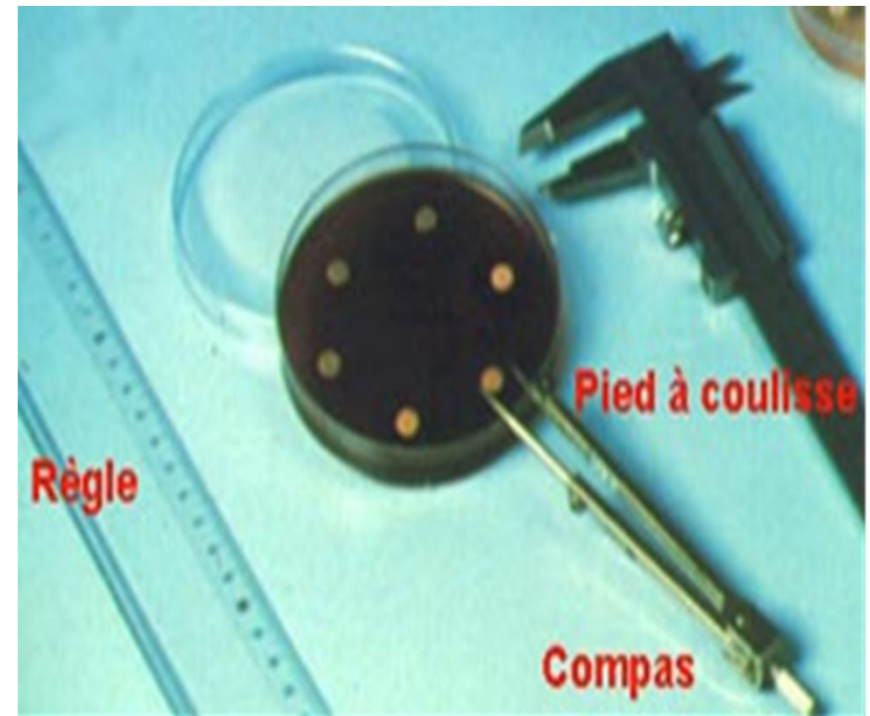
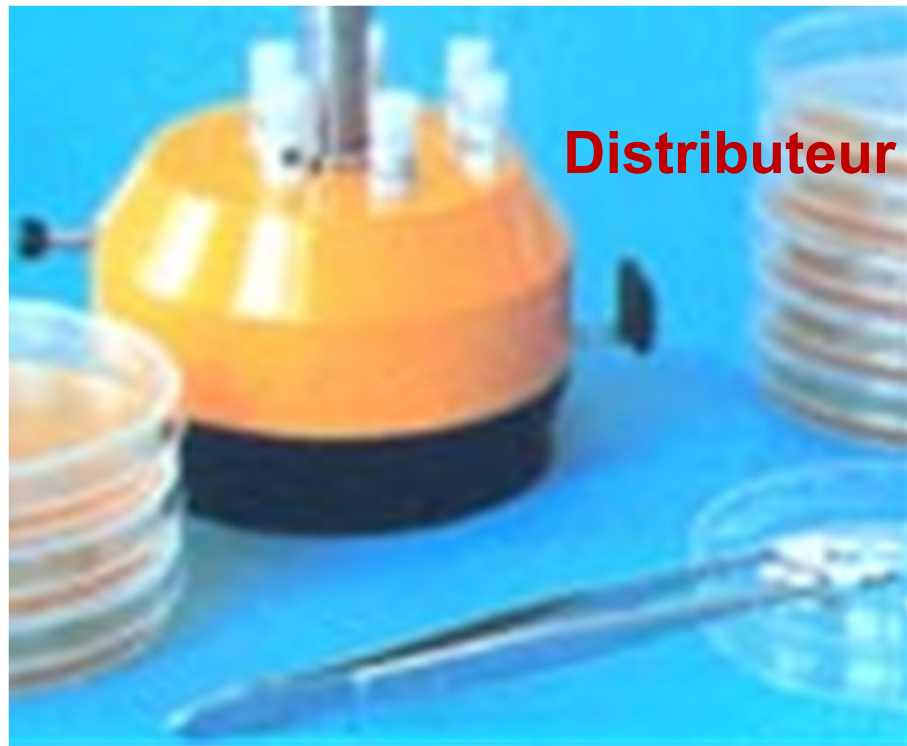
Détermine la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) d'une souche bactérienne vis-à-vis de divers antibiotiques (bactériostase).

- **CMI:**

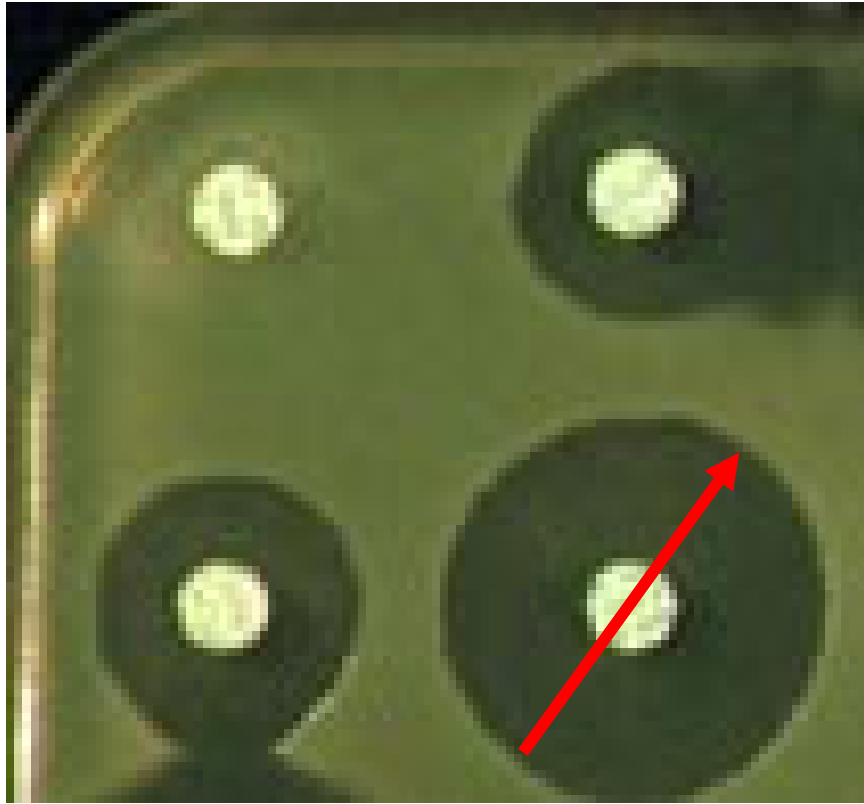
La plus faible concentration d'antibiotique capable d'inhiber toute croissance visible après une période d'incubation donnée.

Méthode de diffusion : antibiogramme standard

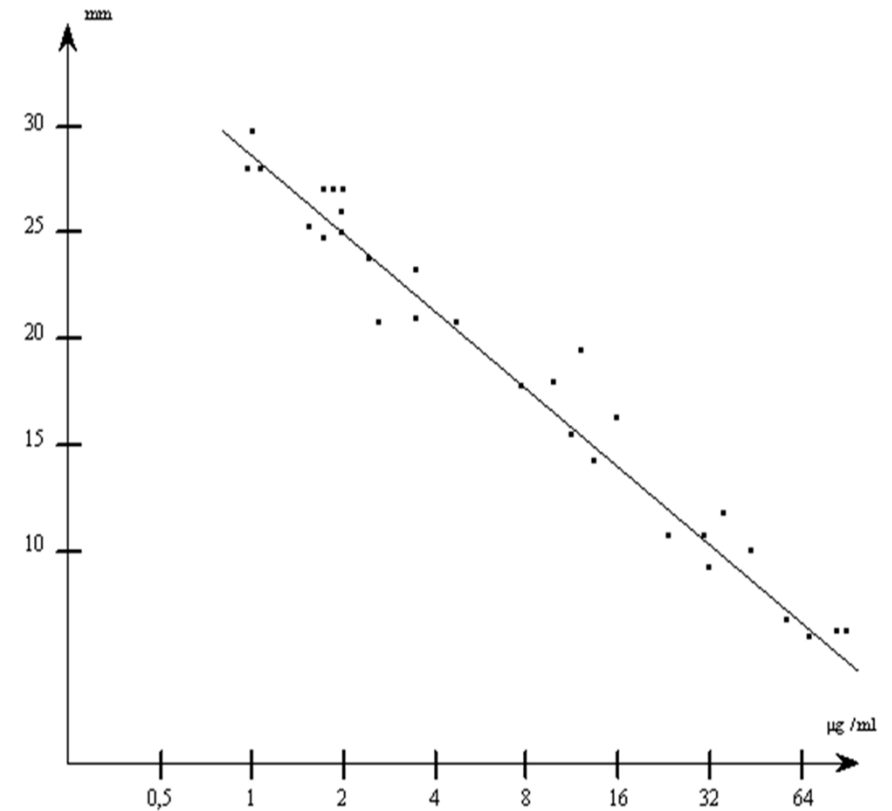
- La surface d'un milieu gélosé estensemencé avec une culture pure de la souche à étudier.
- Des disques de papier buvard, imprégnés des antibiotiques à tester y sont déposés.
- Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture.



**Automate
d'identification et
d'antibiogramme**



Antibiogramme standard



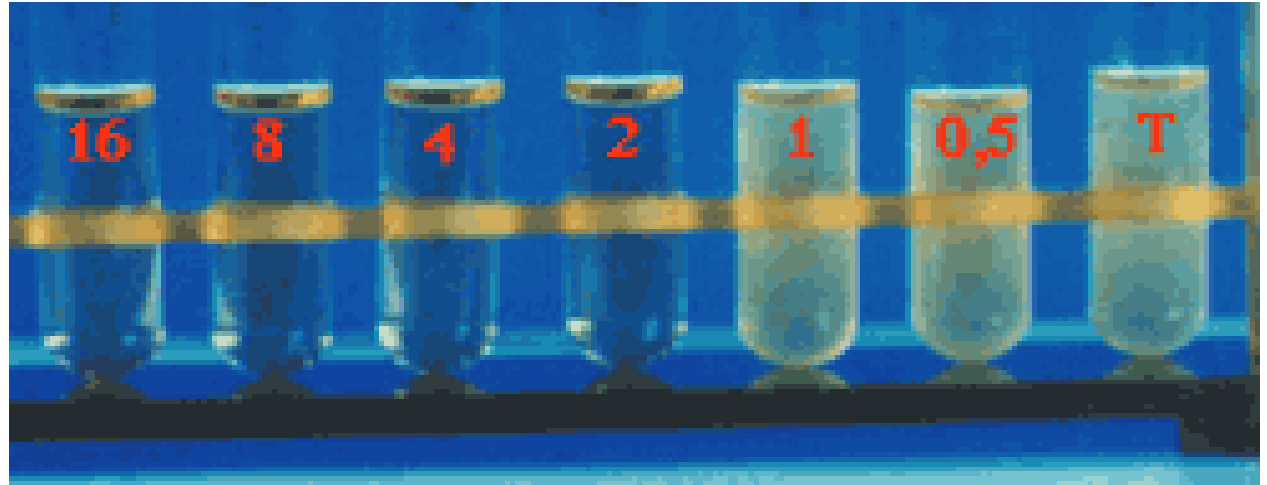
Concordance diamètre d'inhibition et CMI

- **Lecture: mesure du diamètre de la zone d'inhibition en mm, en relation avec la CMI.**

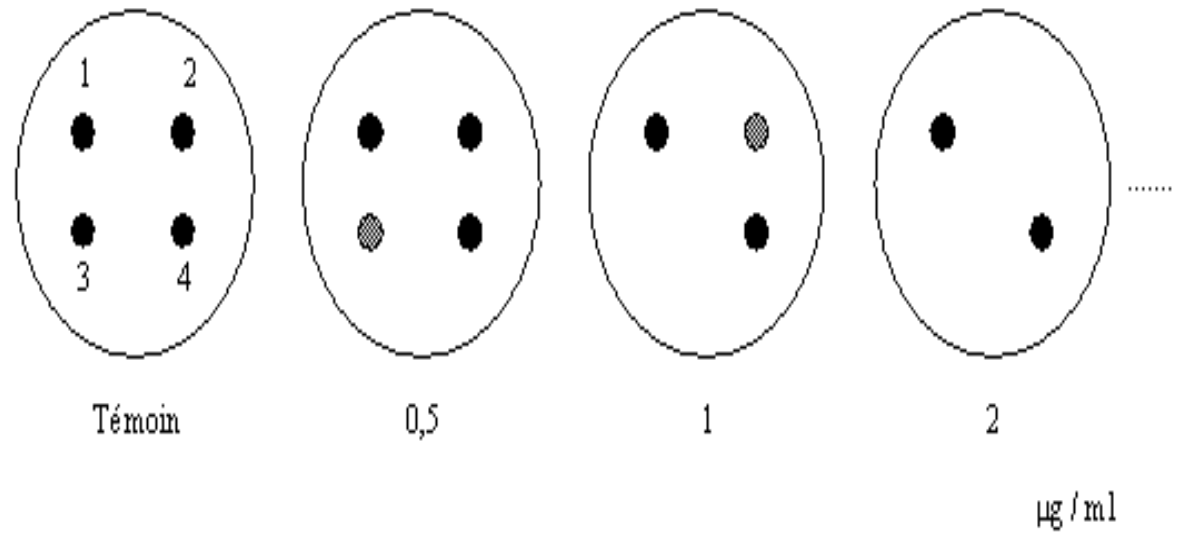
Méthodes de dilution

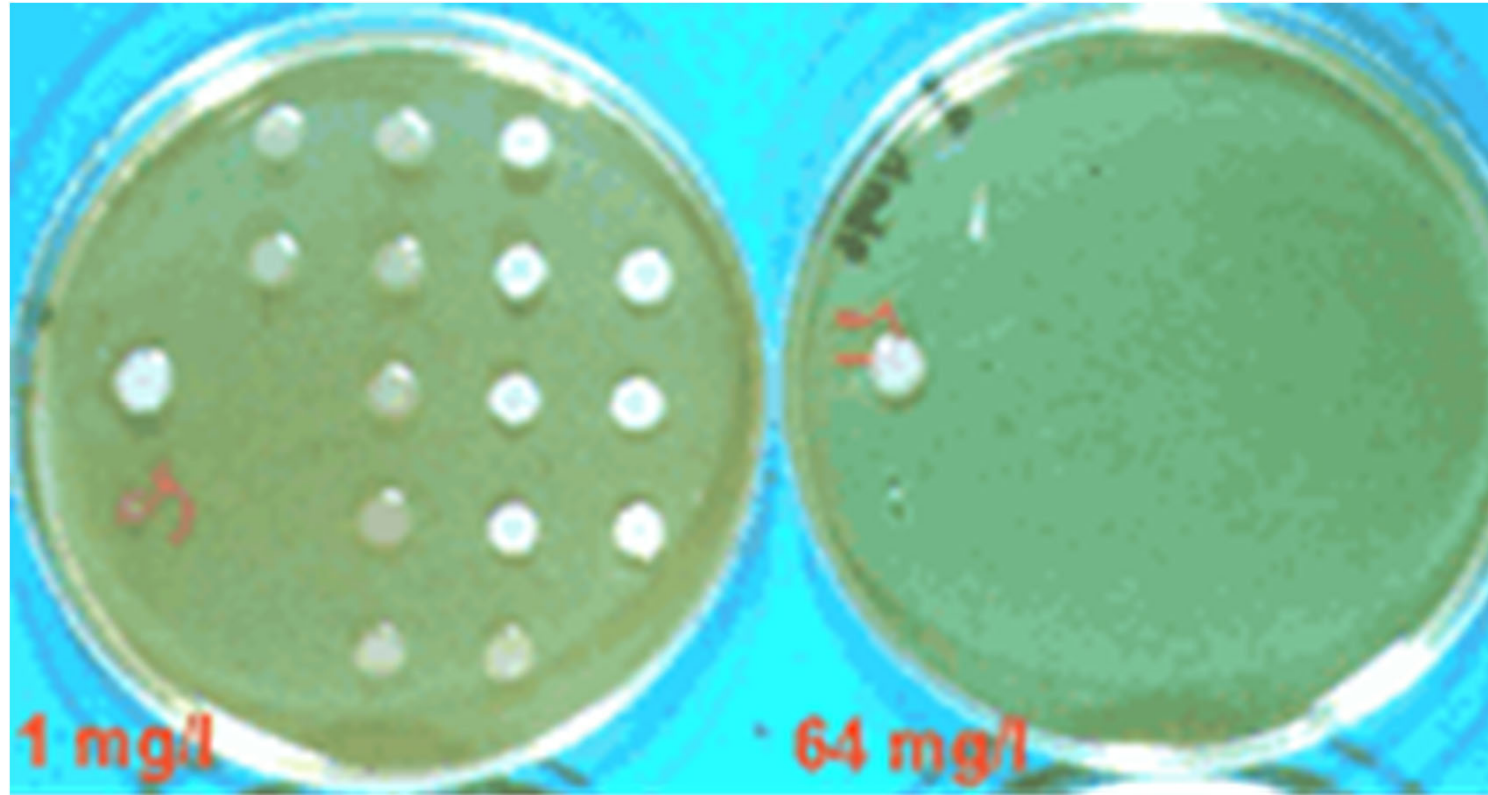
- En milieu liquide ou en milieu solide,
- Inoculum bactérien standardisé + concentrations croissantes d'antibiotiques.

En milieu liquide



En milieu gélosé





**Dépôt de spot de souches sur gélose avec
antibiotique**

Standardisation

Standardisation selon OMS et comités d'experts (EUCAST, CLSI): recommandations:

- Milieu de culture: Mueller- Hinton, teneur en ions Mg^{2+} et Ca^{2+} , PH: 7.2-7.4,
- Epaisseur de la gélose: 4mm,
- Charge des disques ex: ampicilline: 10ug,
- Inoculum: 0.5 McFarland (10^7 B/ml),
- Incubation: 35-37°C pendant 24 H.
- Souches de référence: contrôle de qualité interne, ex: *E. coli* ATCC 25922.

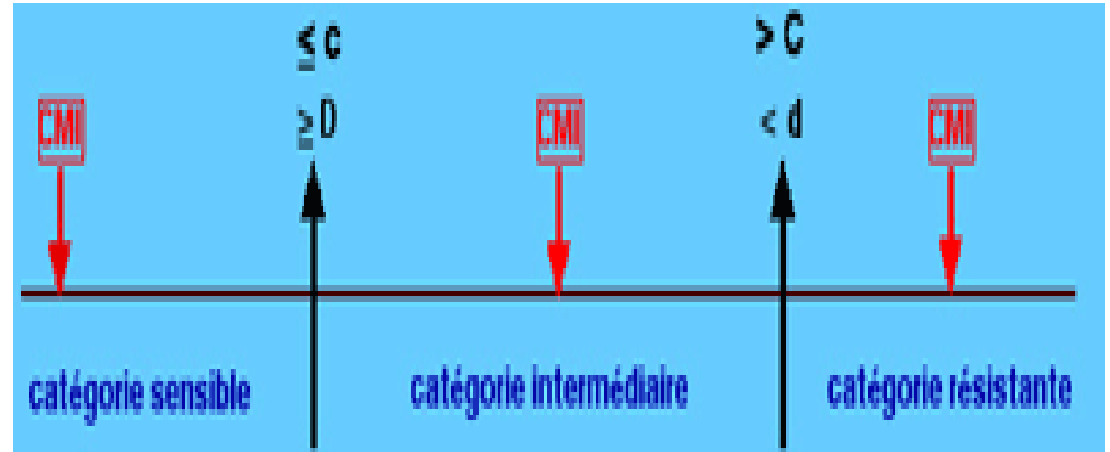
Interprétation:

selon les diamètres,
concentrations
critiques, souche:

sensible,
intermédiaire
résistante,

Exemple :

diamètres (d, D) et
concentrations (C,
c) critiques pour
ampicilline: 14-16
mm.



S $>16\text{mm}$
 $<8\text{mg/l}$



$<14\text{mm}$ **R**
 $>32\text{mg/l}$

- **Sensibilité :**

forte probabilité de succès thérapeutique dans le cas d'un traitement par voie systémique.

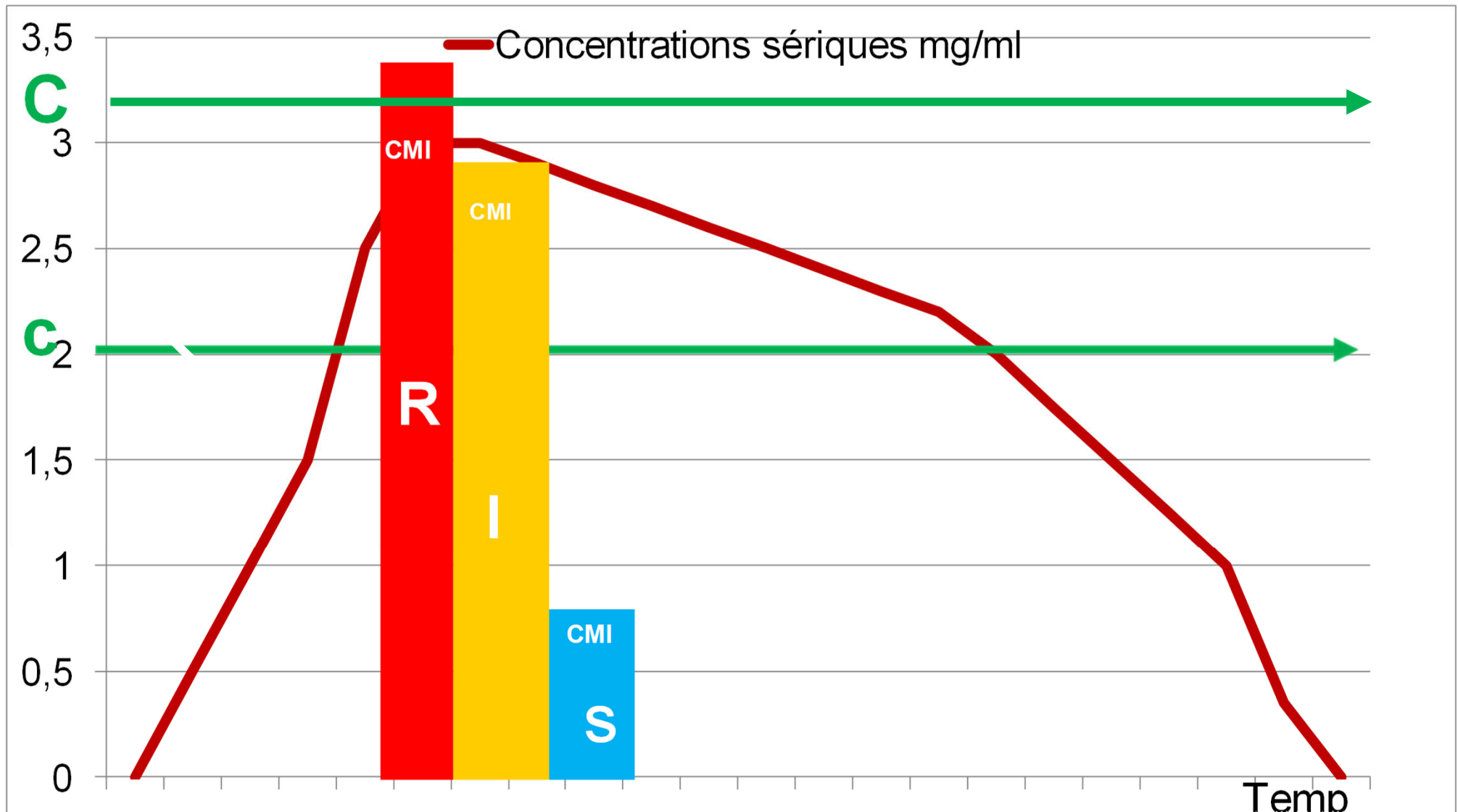
- **Intermédiaire :**

succès thérapeutique imprévisible.

- **Résistance:**

forte probabilité d'échec thérapeutique.

Concentrations d'un antibiotique dans le sang comparaison avec les CMI



C : concentration critique maximale, c : concentration critique minimale

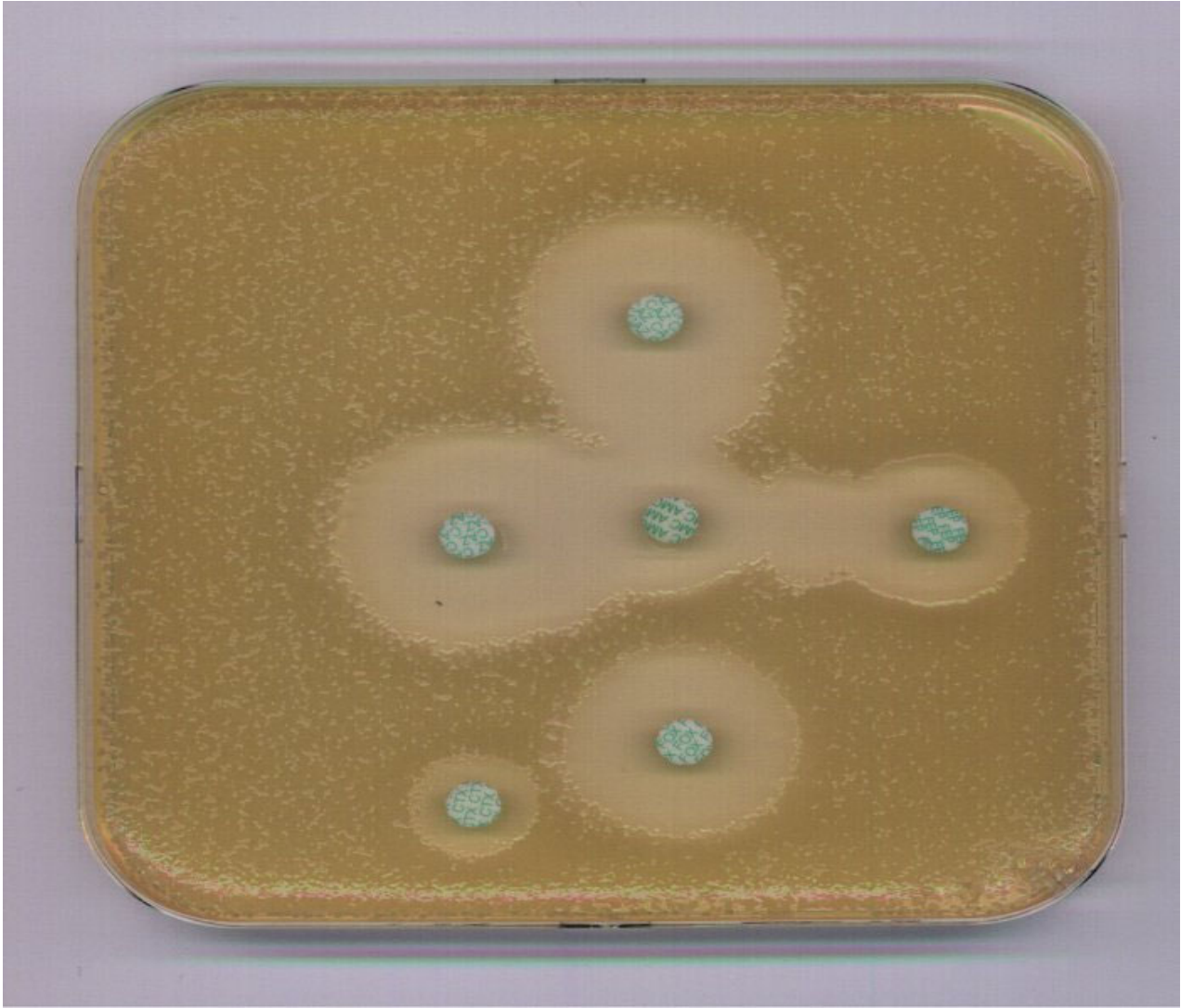
Lecture interprétative de l'antibiogramme

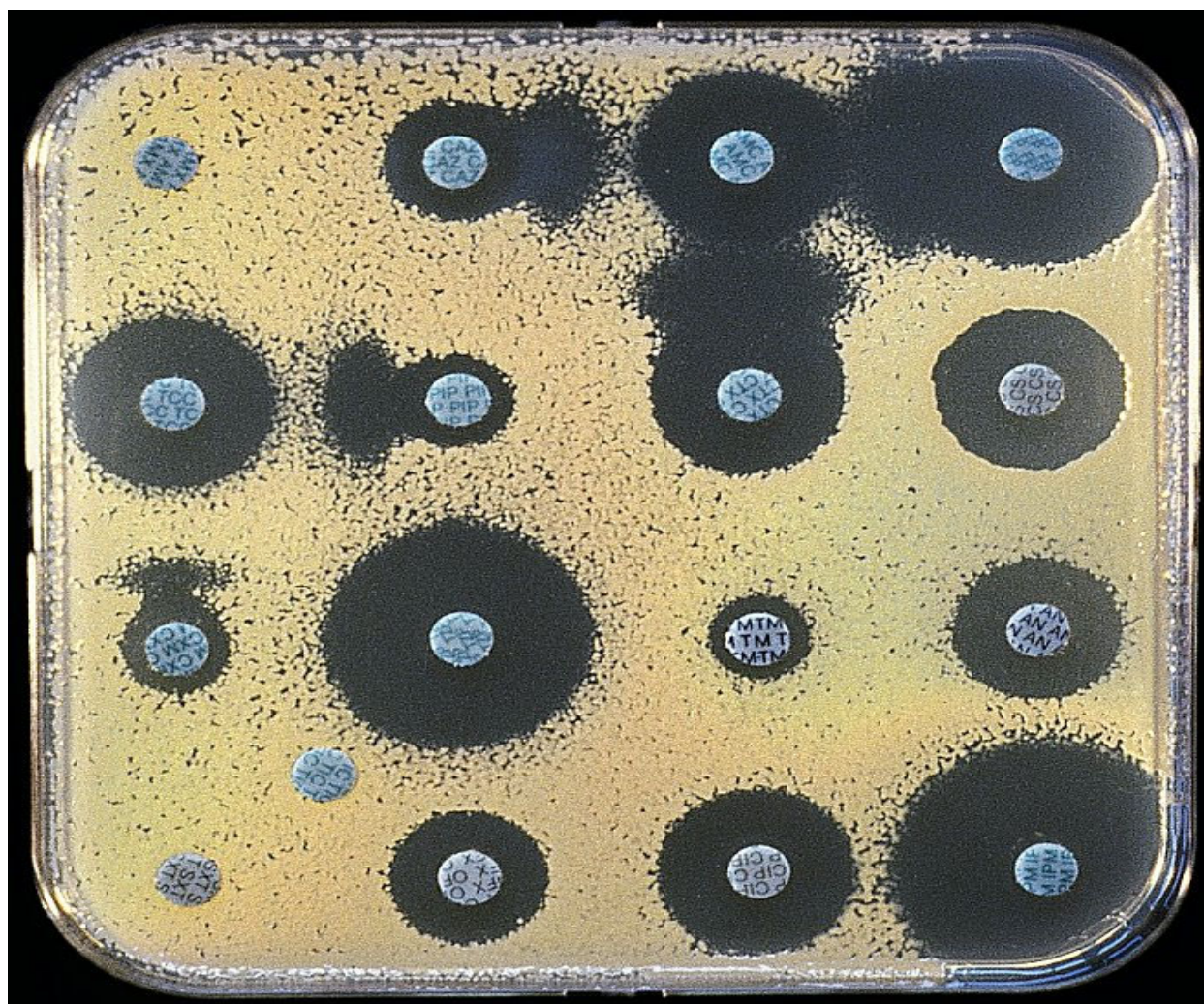
L'antibiogramme permet de: Classer la souche en catégorie: sensible, intermédiaire ou résistante.

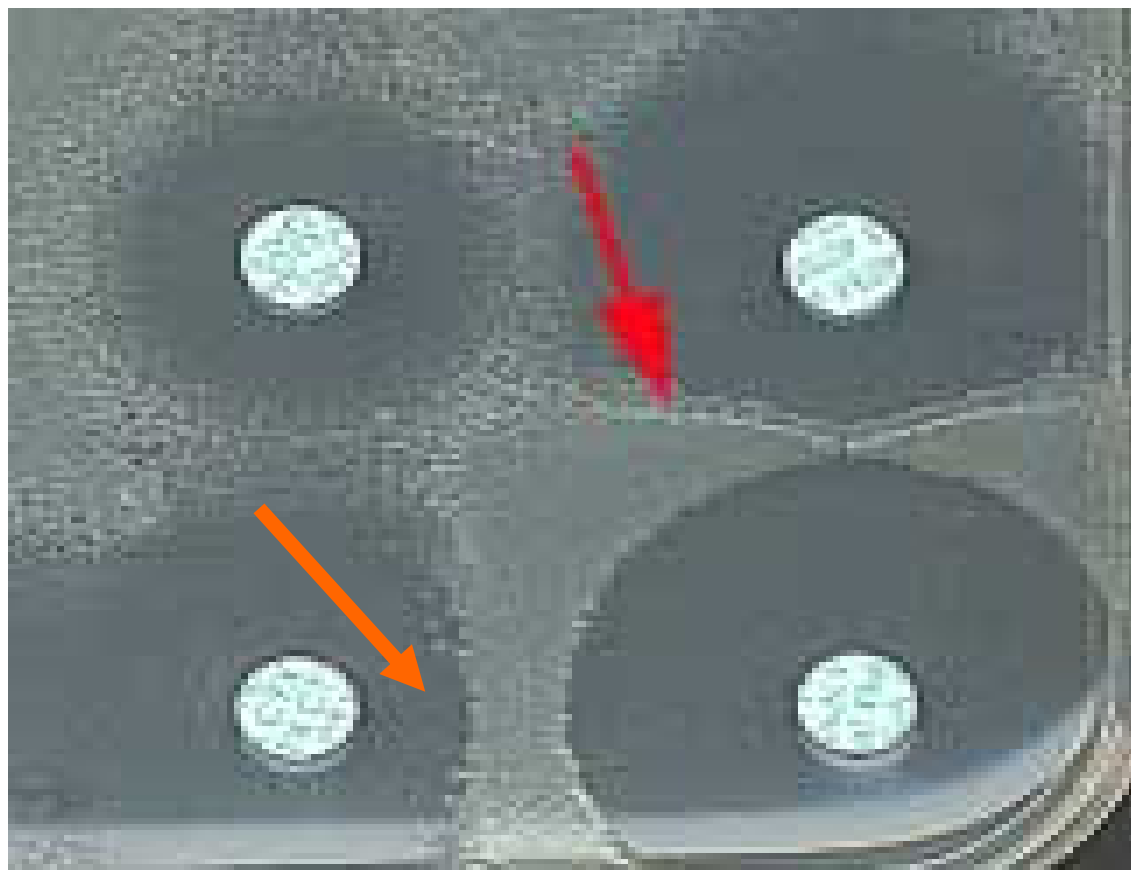
Mais également

- ❑ Aide à l'identification (phénotype naturel),
- ❑ Permet de suspecter le mécanisme de résistance (ex: Bêta-lactamase: synergie entre acide clavulanique et une β lactamine).











Autres méthodes de Recherche des Bêta-lactamases

- Méthode acidimétrique

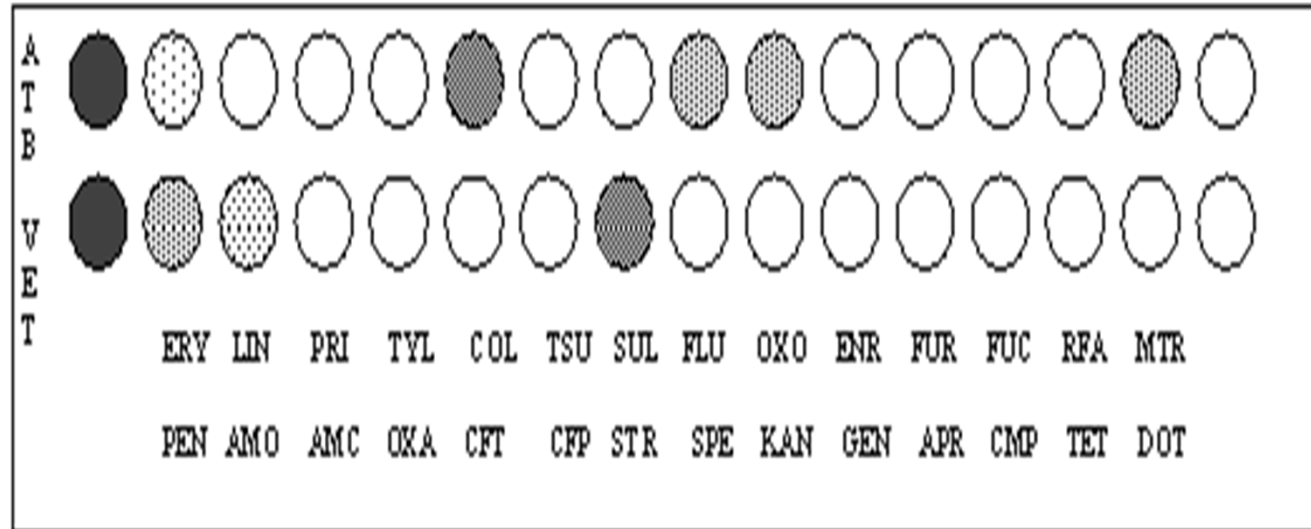
acide pénicilloïque ou céphalosporoïque →
coloration d'un indicateur de pH (ex: rouge de phénol).

- Méthode chromogénique:

La nitrocéfine (céphalosporine chromogène) vire du jaune au rouge après hydrolyse par une Bêta-lactamase.



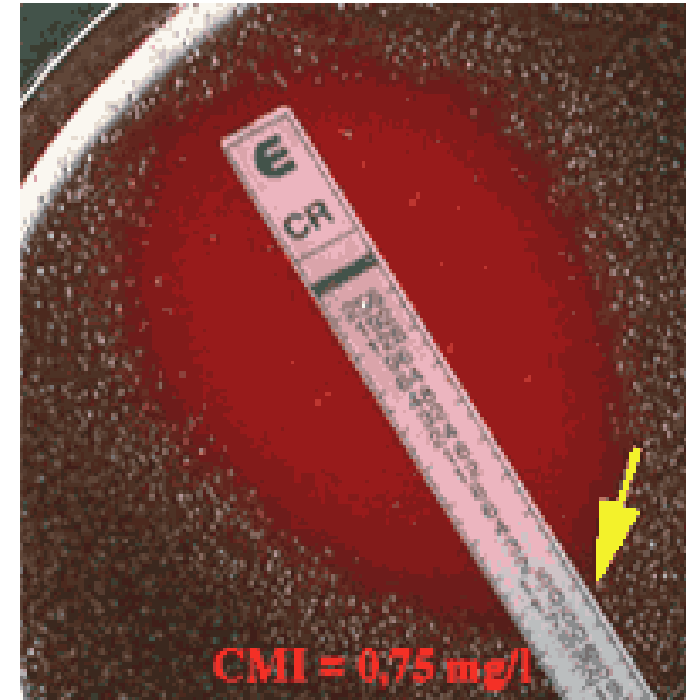
Autres techniques



Microdilution en milieu liquide (sur plaque)

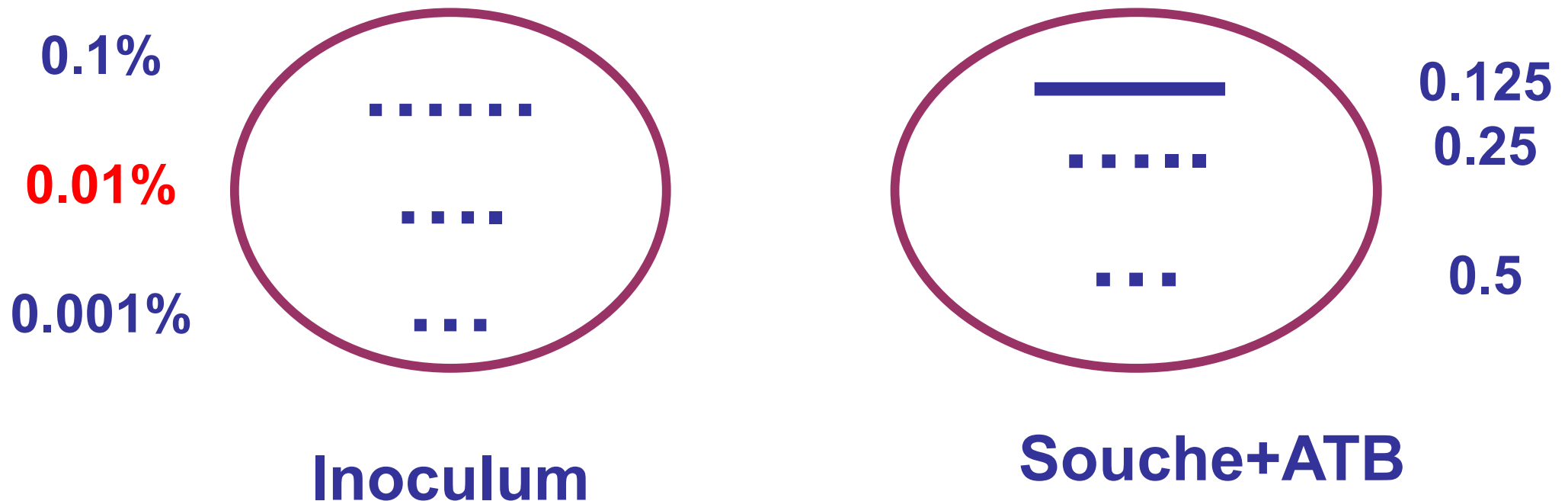
Etest (en milieu gélosé)

- Le Etest permet de déterminer la CMI grâce à l'utilisation de bandelettes imprégnées d'un gradient exponentiel continu de l'antibiotique à tester.
- Les bandelettes sont appliquées sur la surface d'un milieu gélosé ensemencé avec la souche à étudier.
- Après incubation, l'inhibition de la croissance se traduit par une ellipse d'inhibition dont les points d'intersection avec la bandelette définissent la CMI.

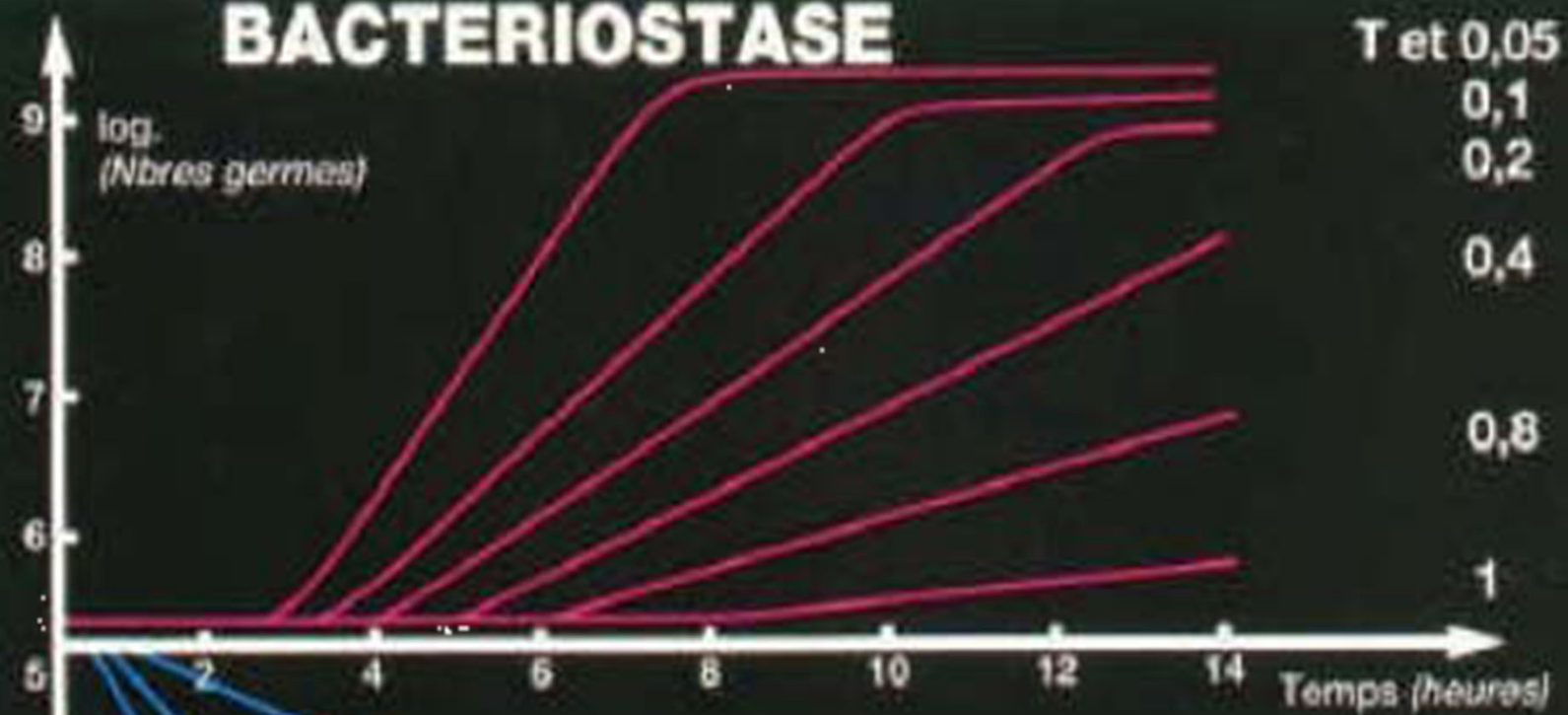


La bactéricidie

- **CMB** : la plus faible concentration d'antibiotique capable de détruire 99,99 p. cent d'un inoculum bactérien.

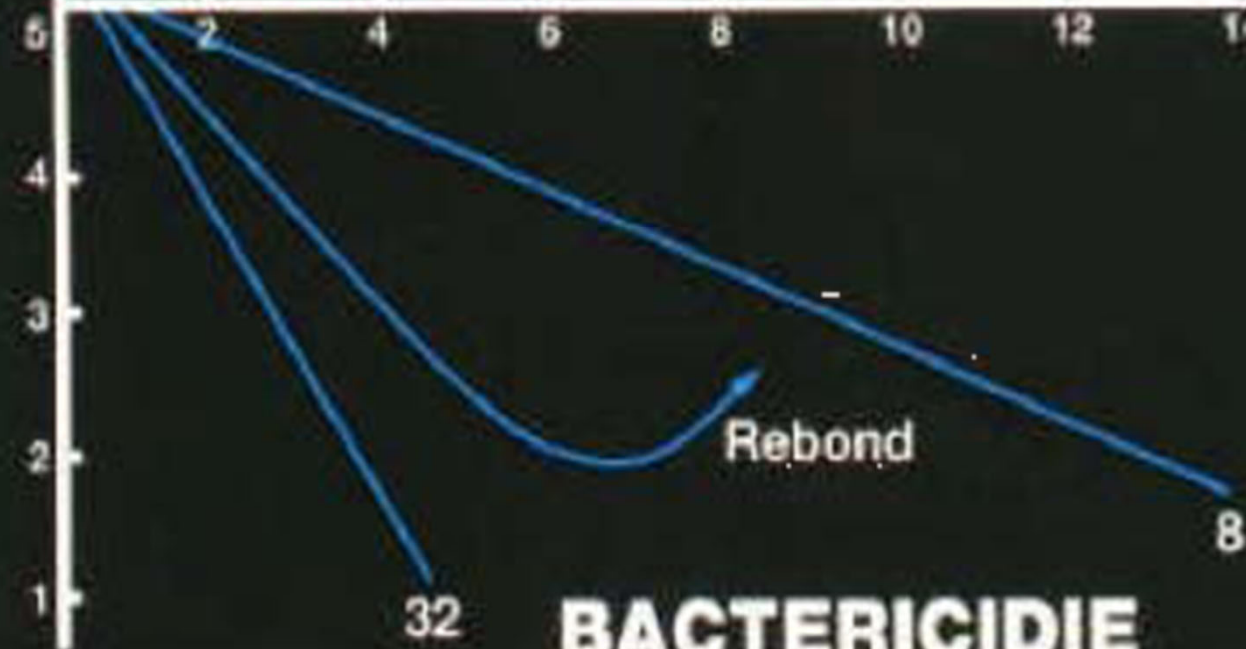


BACTERIOSTASE



Rebond

BACTERICIDIE



Techniques génotypiques pour la détection de la résistance

- Des gènes de résistance connus sont détectés par PCR: bêtalactamases: BLSE, Carbapénémase, mec A (SAMR), VAN A (entérocoque résistant aux glycopeptides)...

Conclusion

- Le rôle du laboratoire de microbiologie dans l'antibiothérapie:
 - ✓ Étude de l'activité des antibiotiques (antibiogramme, CMI, CMB...): antibiothérapie documentée,
 - ✓ Contrôle de l'antibiothérapie: dosage des antibiotiques, pouvoir bactériostatique et bactéricide du sérum,
 - ✓ Surveillance de la résistance aux antibiotiques: antibiothérapie probabiliste.