

Mécanismes de la résistance bactérienne aux antibiotiques

Pr Boukhalfa S

Faculté de Médecine Batna

Plan

- ▶ Introduction
- ▶ Rappels : Résistance naturelle / résistance acquise.
- ▶ Grands mécanismes de la résistance.
- ▶ 1. Défaut d'accumulation.
- ▶ 2. Inactivation des ATB.
- ▶ 3. Défaut d'affinité.
- ▶ Conclusion.



Introduction

Pour être efficace , un antibiotique doit :

1. Atteindre la cible.
2. En concentration suffisante.
3. Avec une bonne affinité pour sa cible.

Si l'une de ces conditions n'est pas remplie, l'antibiotique, même correctement administré, se révèle inefficace donnant ainsi une résistance.

La connaissance des résistances des bactéries aux antibiotiques est ancienne.

Cette résistance peut être naturelle propre à de nombreuses espèces bactériennes rencontrées dans la nature ou acquise .

Cette dernière est rapidement rapportées dès la découverte de la pénicilline G chez le staphylocoque doré.



Introduction

- ▶ Le CDC d'Atlanta estime le nombre de maladies causées par la résistance aux antibiotiques à 2 millions, celui des décès à 23 000.
 - ▶ D'ici 2050, ce nombre atteindra les 10 millions (cas de maladies), si les mesures de prévention et de surveillance ne sont pas mises en place.
 - ▶ En Algérie, existe un réseau de surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques (AARN) regroupant plusieurs laboratoires de Microbiologie à l'échelle nationale dont celui du CHU Batna.
 - ▶ Les supports génétiques de la résistance bactérienne sont actuellement connus. Plusieurs outils diagnostiques sont utilisés pour caractériser les résistances aux antibiotiques; allant de l'antibiogramme, tests phénotypiques jusqu'aux tests moléculaires (PCR, séquençage).
-



Rappels

Résistance naturelle

- ▶ Propre à l'espèce bactérienne.
- ▶ Partagée par toutes les souches “normales”
- ▶ Définit le phénotype sauvage ou sensible.
- ▶ Référence pour établir le spectre d'activité des ATB (et pour les ATB à tester).



Rappels

Résistance acquise

- ▶ Caractéristique de certaines souches au sein d'une espèce bactérienne (parfois 95% des souches)
- ▶ Apparaît chez des bactéries jusqu'alors sensibles : résistance évolutive, adaptation aux ATB
- ▶ Résulte d'une modification génétique
 - Mutation
 - Acquisition de matériel étranger (plasmides, transposons, cassettes des intégrons).
- ▶ Définit des phénotypes résistants



Grands mécanismes de la résistance

- ▶ **Diminution d'accumulation de l'ATB**
 - Défaut de pénétration : Imperméabilité
 - Efflux actif : excrétion
- ▶ **Inactivation de l'ATB : résistance enzymatique**
- ▶ **Problème de cible : affinité**
 - Modification
 - Nouvelle voie de synthèse – substitution
 - Protection



Principaux mécanismes et familles

	β -lactamines	Aminosides	Quinolones	Macrolides
Défaut de pénétration	+	+	+	+
Efflux actif	+	+	++	++
Inactivation par des enzymes				
- Hydrolytiques	+++	+++	+/-	+
- Modificatrices				
Diminution de l'affinité pour la cible	+++ (Gram +)	+	+++	+++



1. Résistance par défaut d'accumulation

Imperméabilité naturelle:

- ▶ Entérobactéries, *P. aeruginosa* et ATB hydrophobes (péni G et M), ces ATB ne peuvent pas traverser les membranes externes constituées de **lipopolysaccharides** (comme la membrane externe des entérobactéries, de *Pseudomonas aeruginosa*, de *Acinetobacter baumannii*).
- ▶ Anaérobies et aminosides.
- ▶ Bactéries Gram – et glycopeptides (molécules volumineuses ne pouvant emprunter les porines de la ME).

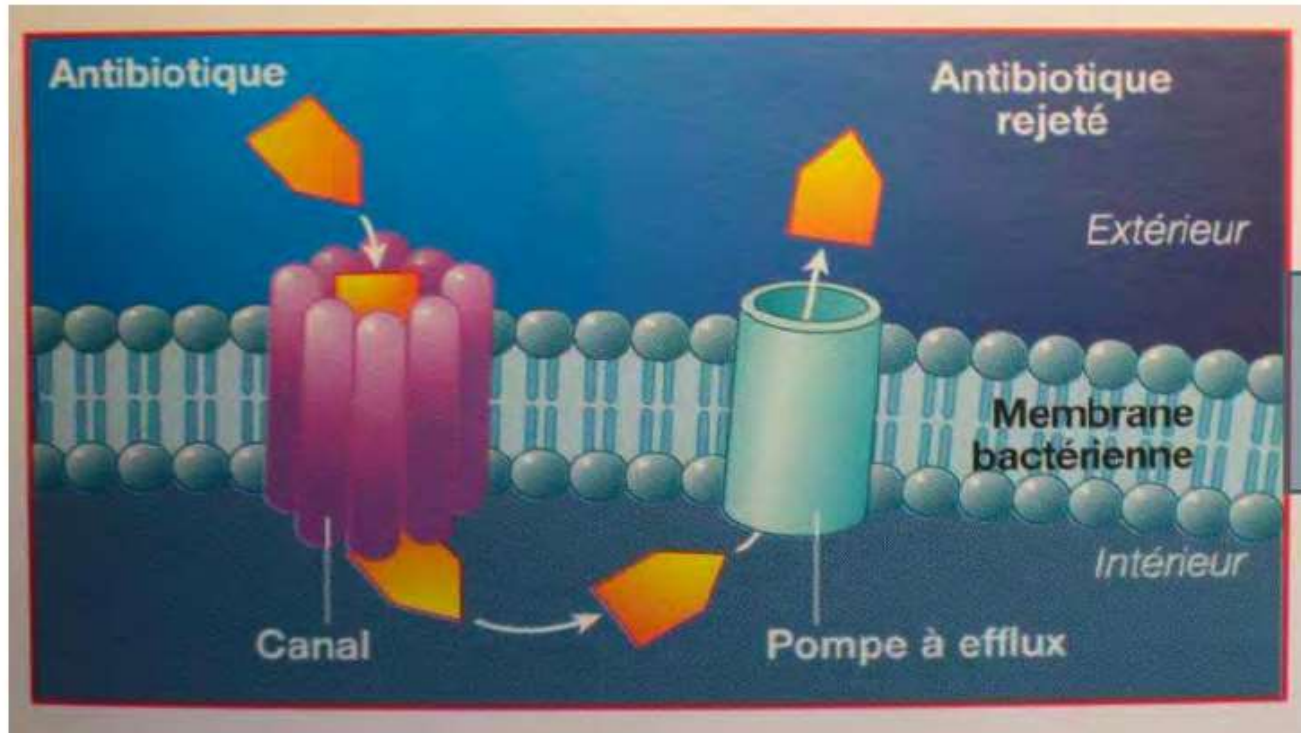


-
- ▶ **Résistance acquise: Altération de la pénétration à travers les porines.**
 - Porines fermées ou absentes (mutations); OmpF : β -lactamines, aminosides, fluoroquinolones, phénicolés, tétracyclines.
 - Perte de porine D2 (*P. aeruginosa*): Résistance à l'imipénème et au méropénème, doripénème +/-.
 - Diminution de perméabilité et céphalosporinase hyperproduite: 1^{er} mécanisme de résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries du groupe III.
-



Efflux actif

Pompes à efflux



Efflux actif

- ▶ Les systèmes d'efflux sont constitués de protéines jouant le rôle de pompe capables d'expulser l'antibiotique présent dans l'espace périplasmique ou dans le cytoplasme hors de la cellule.
- ▶ Les systèmes d'efflux peuvent être spécifiques d'un antibiotique ou d'une classe thérapeutique (ex : protéine CmlA qui excrète les phénicolés) ou se comporter comme des systèmes de résistance multiple conférant une résistance à plusieurs groupes d'antibiotiques.



Efflux actif

Efflux actif naturel

Espèces	Exemples de systèmes d'efflux	Molécules
Entérobactéries	AcrAB-TolC ...	Bêta-lactamines, Quinolones, Tétracyclines, Phénicolés
<i>P. aeruginosa</i>	MexAB-OprM MexCD-OprJ MexEF-OprN MexXY-OprJ ...	Bêta-lactamines (Tic/ATM), Tétracyclines C4G, Fluoroquinolones, Tétracyclines Carbapénèmes, Fluoroquinolones, Triméthoprim C4G, Quinolones, Aminosides

Efflux actif

- ▶ La majorité des systèmes d'efflux décrits chez les bacilles à Gram négatif sont des systèmes de résistance multiple.
- ▶ L'hyperexpression de ces systèmes d'efflux, consécutive à des mutations dans les gènes régulateurs, conduit à une résistance de bas niveau aux quinolones hydrophiles, comme la norfloxacin et la ciprofloxacine.
- ▶ Chez les bactéries à Gram positif, il existe des systèmes d'efflux spécifiques, comme NorA, capables de conférer un bas niveau de résistance aux quinolones.



Efflux actif

Résistance acquise par efflux actif

Mécanisme	Espèces	Déterminants	Antibiotiques touchés
Surexpression	<i>P. aeruginosa</i>		Large spectre
	<i>A. baumannii</i> Entérobactéries		
Acquisition de matériel génétique	Entérobactéries Cocci et Bacilles Gram +	Tet(A) - Tet(B) Tet(K) - Tet(L) ...	Toutes tétracyclines sauf minocycline et tigécycline
	Cocci et bacilles Gram +	Mef	Macrolides C14, C15
	Streptocoques	Spn	Fluoroquinolones

2. Résistance par inactivation de l'ATB: Résistance enzymatique

- ▶ C'est un mécanisme fréquemment décrit parmi les souches cliniques.
- ▶ L'inactivation de l'antibiotique est catalysée par des enzymes qui peuvent soit hydrolyser la molécule d'antibiotique (ex : β -lactamines) soit modifier sa structure en substituant de nouveaux groupements chimiques (ex : aminosides).



2. Résistance par inactivation de l'ATB: Résistance enzymatique

Résistances naturelles par inactivation:

Exemples:

- ▶ β -lactamines: β -lactamases naturelles:
Entérobactéries, *P. aeruginosa*, *Bacteroides* spp., *Bacillus* spp., etc.
La plupart des β -lactamases naturelles sont d'origine chromosomique.

 - ▶ Aminosides: enzymes modificatrices
 - **Entérobactéries:**
 - ***Serratia marcescens*** est naturellement résistante à la tobramycine, l'amikacine et la nétilmicine par production d'une enzyme inactivatrice AAC (6')-I.
 - ***Providencia* spp:** résistance naturelle à la gentamicine, la tobramycine et la nétilmicine par production d'une AAC(2')-I).
 - ***Enterococcus faecium***; la production naturelle d'une enzyme, la 6-N'acétyl transférase, confère un phénotype de résistance à la kanamycine, la tobramycine, épargnant la gentamicine.
-



2. Résistance par inactivation de l'ATB: Résistance enzymatique

La résistance acquise

Exemples:

- ▶ La résistance acquise provient soit de l'acquisition de gènes exogènes codant pour une β -lactamase, soit de mutations dans des gènes chromosomiques provoquant une modification du niveau d'expression de la β -lactamase (ex : hyperexpression de la céphalosporinase chromosomique).
- ▶ Aminosides: enzymes modificatrices

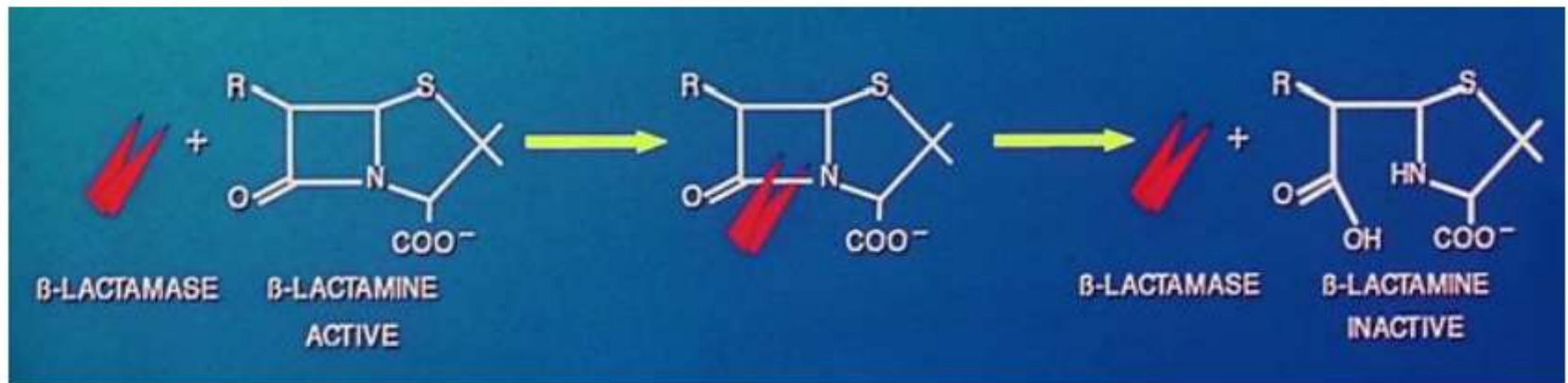
Ces enzymes inactivatrices sont majoritairement acquises par des plasmides:

1. Aminosides phosphotransférases APH,
2. Aminosides adénylyltransférases AAD = Aminosides nucléotidyltransférase ANT,
3. Aminosides acétyltransférases AAC.



2. Résistance par inactivation de l'ATB: Résistance enzymatique

Exemple des bêta-lactamases



- Naturelles : phénotypes sauvages
- Acquisées : phénotypes résistants
 - Surexpression
 - Acquisition de matériel exogène

2. Résistance par inactivation de l'ATB: Résistance enzymatique

Classification des bêta-lactamases

✧ > 1300 bêta-lactamases décrites, nomenclature ?

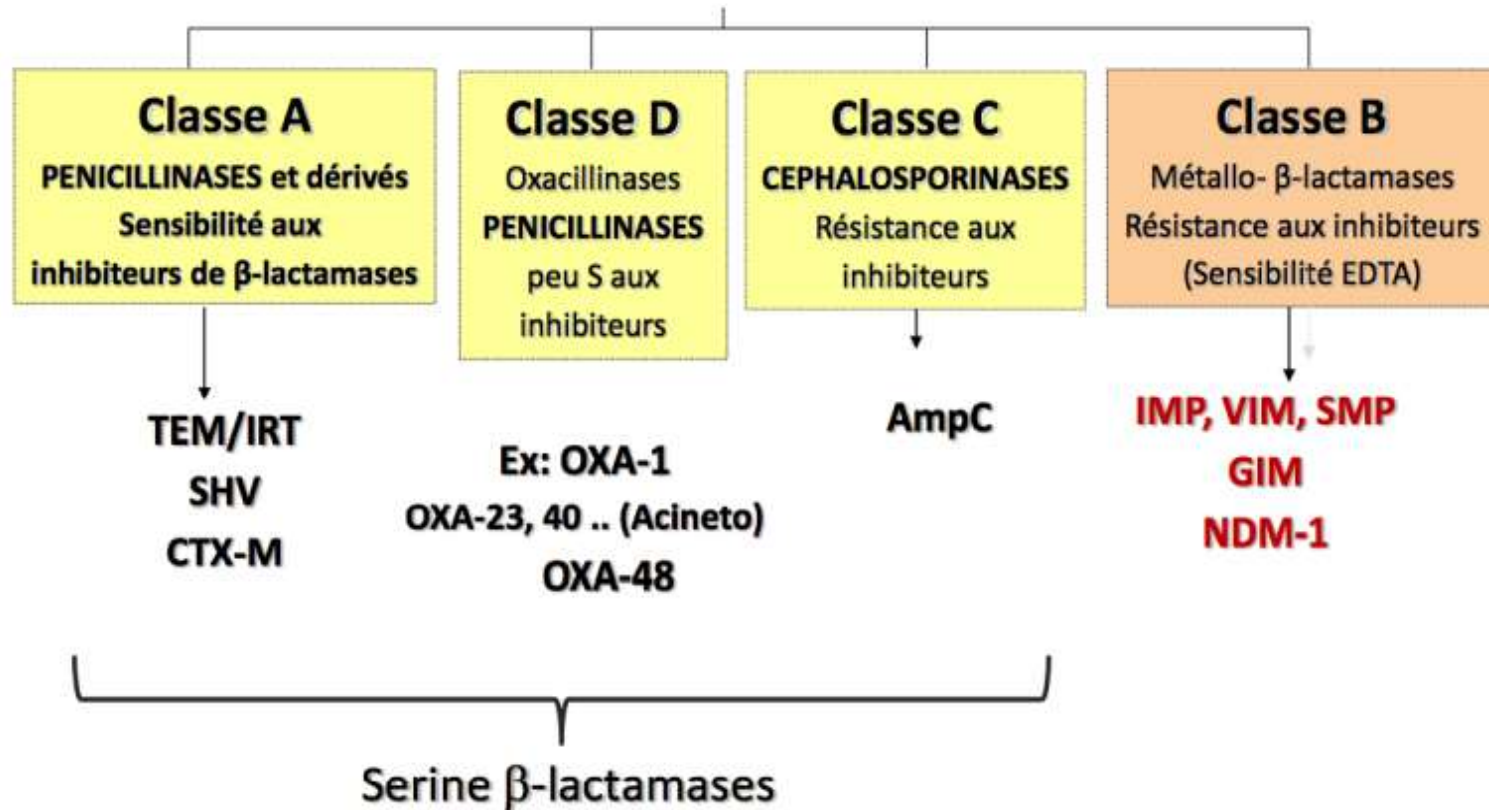
- Découvreur : PIT-1, NORA
- Lieu : OHIO-1, VEB-1, DHA-1
- Nom du patient : TEM-1, MEN-1
- Espèce bactérienne : PSE, Per-1, OXY, MOR
- Susceptibilité à certaines molécules : SHV
- Spectre d'hydrolyse : CAZ, CTX-M, IMP, IRT

✧ **Classifications**

- **Ambler (1980)**: séquences peptidiques, en particulier site catalytique
- Bush, Jacoby, Medeiros (1995) : fonctionnelle

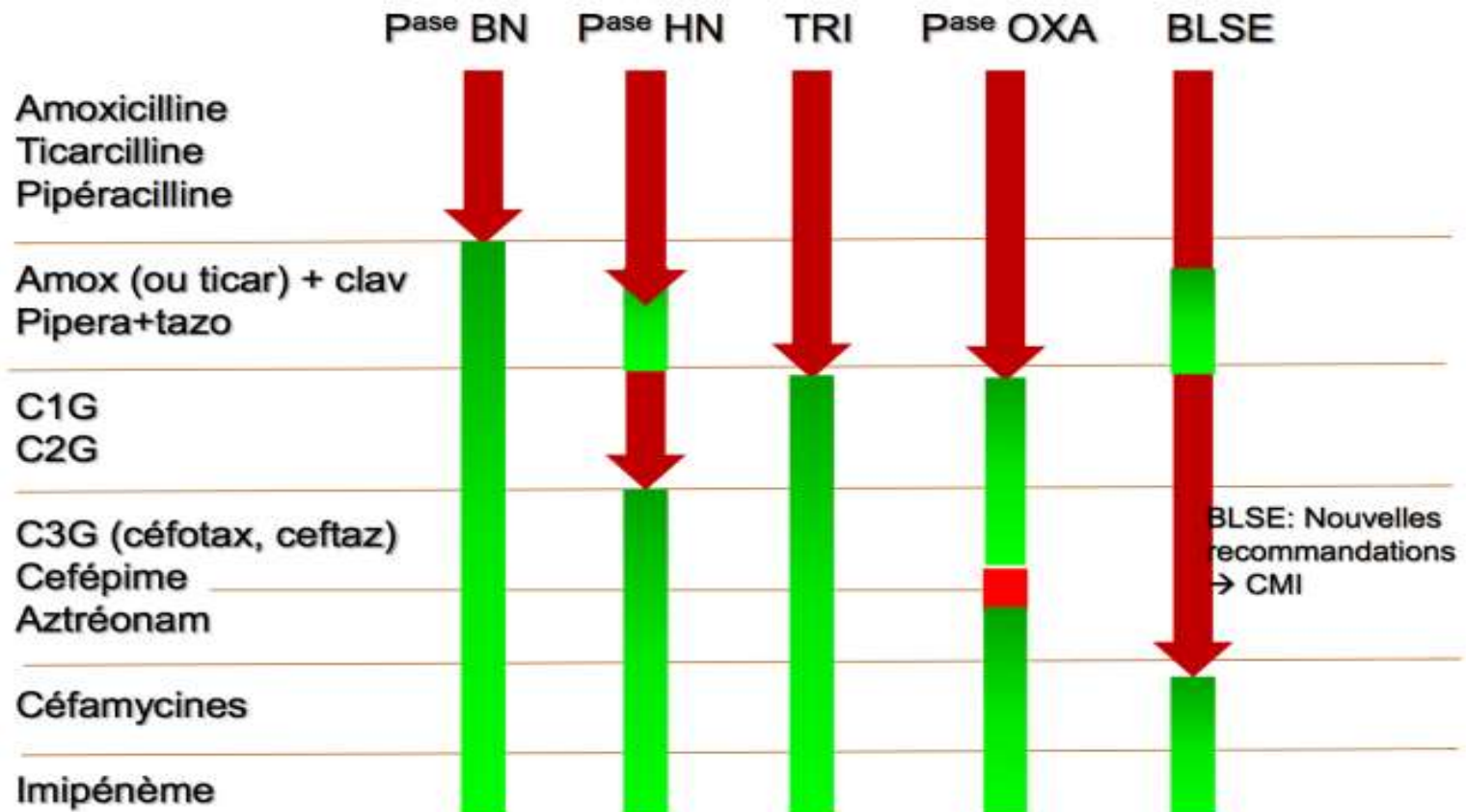
2. Résistance par inactivation de l'ATB: Résistance enzymatique

Classification d'Ambler



2. Résistance par inactivation de l'ATB: Résistance enzymatique

Groupe pénicillinases en pratique



2. Résistance par inactivation de l'ATB: Résistance enzymatique

Groupe céphalosporinases

Hydrolyse +++ des céphalosporines

NON inhibées par les inhibiteurs de β -lactamases

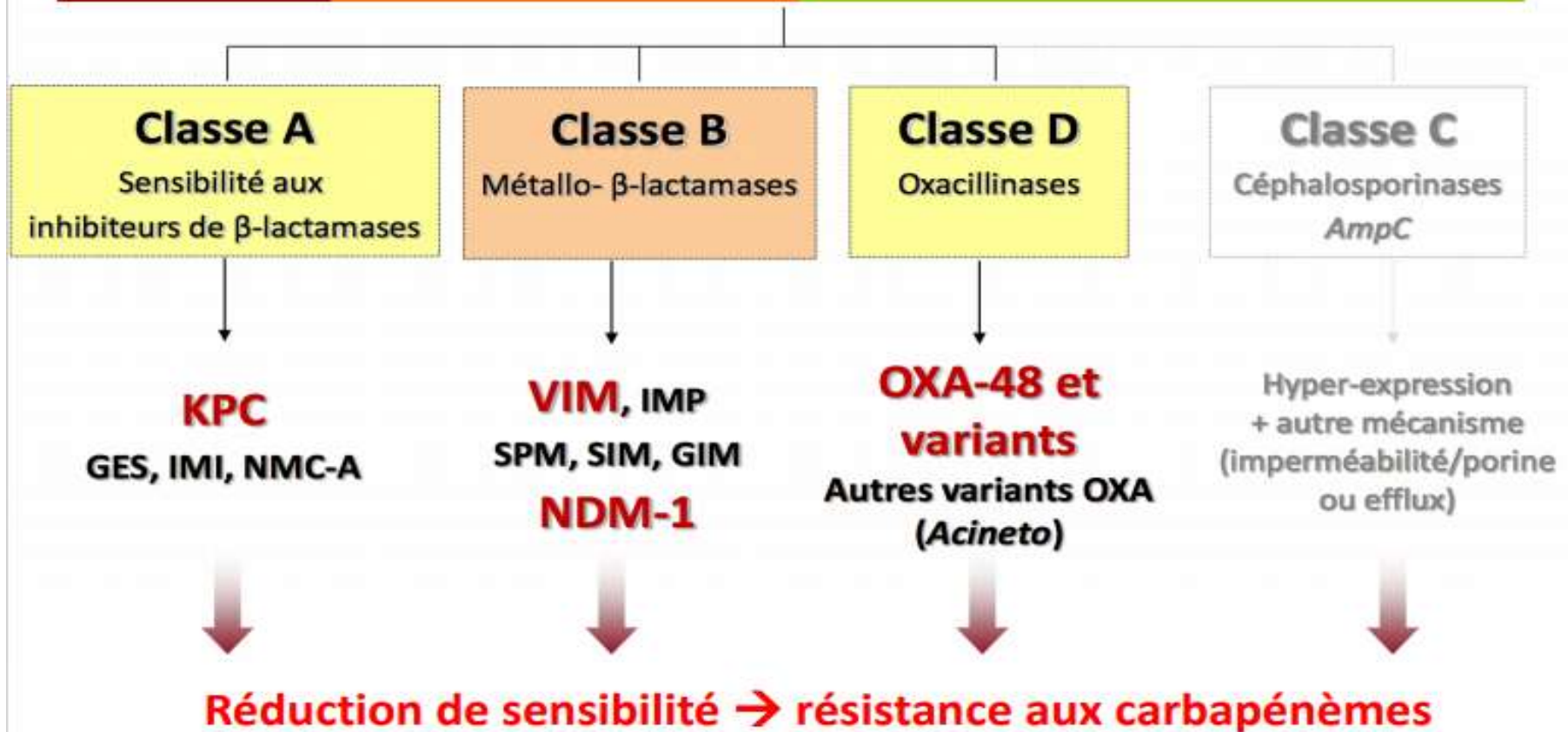
Résistance à amino- (+ac. clavu), C1G (\pm C2G, céfoxitine)

Naturelles chromosomiques

*Enterobacter, Serratia, Citrobacter freundii, Morganella,
Pseudomonas aeruginosa*

2. Résistance par inactivation de l'ATB: Résistance enzymatique

Résistance aux carbapénèmes



Classification des entérobactéries en 7 groupes

	AMX	AMC	TIC	TCC	PIP	TZP	C1G	C2G	FOX	C3G	C4G	Pénème
Groupe 0 <i>P. mirabilis</i> , <i>Salmonella</i> sp	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Groupe 1 Case BN <i>E. coli</i> , <i>Shigella</i> sp	S/I	S/I	S	S	S	S	S/I	S	S	S	S	S
Groupe 2 Pase BN <i>Klebsiella</i> sp, <i>C. koseri</i>	R	S	R	S	I	S	S	S	S	S	S	S
Groupe 3 Case inductible <i>Enterobacter</i> , <i>Serratia</i> , <i>C. freundii</i> , <i>Hafnia</i> , <i>Providencia</i> , <i>Morganella</i>	R	R	S	S	S	S	R	S/I/ R	S/I/ R	S	S	S
Groupe 4 Pase + Case <i>Yersinia</i> sp	R	R	R	S	I	S	R	S	S	S	S	S
Groupe 5 céfuroximase <i>P. vulgaris</i> , <i>P. penneri</i>	R	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S
Groupe 6 BLSE <i>Kluyvera</i> sp	I/R	S/I	I/R	S	S/I	S	I/R	I	S	I	I	S

3. Résistance par mauvaise affinité de l'ATB pour sa cible

► **Résistance naturelle:** exemples.

- Absence de cible : mycoplasmes et antibiotiques actifs sur la synthèse de la paroi.
- Faible affinité naturelle aux PLP:
 - Bêta-lactamines (Péni G, péni M, Céphalosporines, ertapénème) et entérocoques
 - Aztréonam et Ceftazidime vis-à-vis les bactéries à Gram +
- Quinolones de 1^{ère} génération et Gram +



3. Résistance par mauvaise affinité de l'ATB pour sa cible

Résistance acquise:

▶ Mutation de la cible

- Aminosides (mutation ARN 16S).
- Quinolones (mutations des topoisomérases II et IV)
- Rifampicine (mutations de la sous unité β de l'ARN polymérase)

▶ Acquisition de matériel génétique étranger

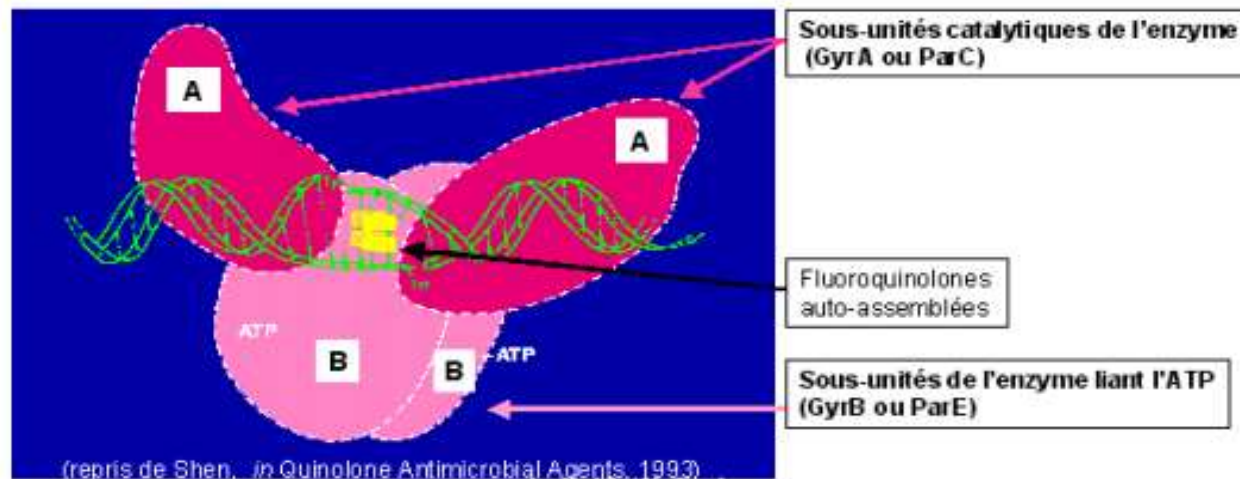
- Modification ou substitution de la cible:

PLP modifiées du pneumocoque, la résistance aux macrolides et antibiotiques apparentés par méthylation de la sous-unité 50S des ribosomes, la résistance aux glycopeptides par modification de la structure du précurseur du peptidoglycane.



3. Résistance par mauvaise affinité de l'ATB pour sa cible

Mutations de la cible Quinolones



- Mutations **région QRDR** : site catalytique des enzymes
- **Résistance croisée** toutes quinolones avec degrés d'augmentation de CMI variables en fonction des molécules
- Résistance par paliers

3. Résistance par mauvaise affinité de l'ATB pour sa cible

- **Protection de la cible.**

Il s'agit d'une protection réversible de la cible.

Ce type de mécanisme est illustré par la résistance de type Qnr (pour quinolone resistance) aux quinolones. D'origine plasmidique ces protéines protègent les topoisomérases II et IV en empêchant la fixation ultérieure des quinolones.



3. Résistance par mauvaise affinité de l'ATB pour sa cible

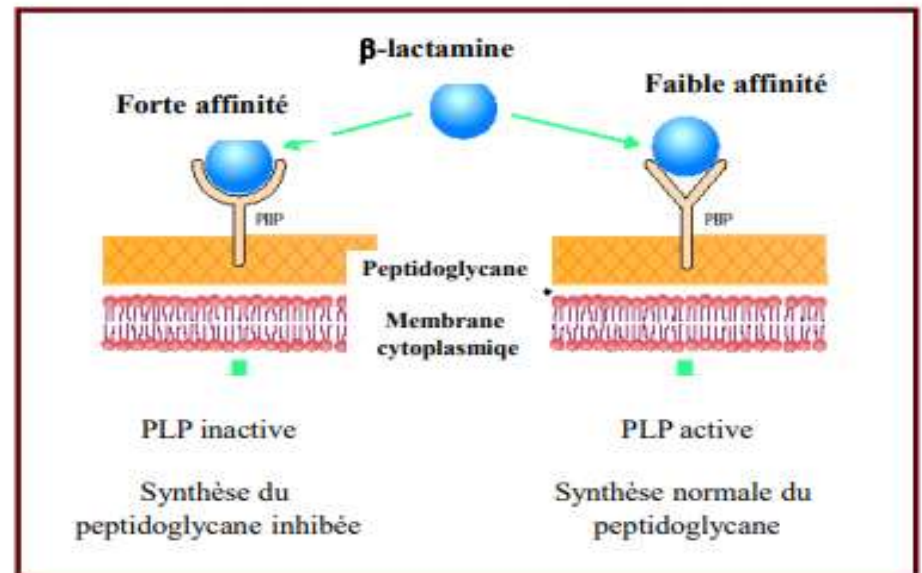
- ▶ **SARM: Staphylococcus aureus résistant à la méticilline.**
- ▶ Résistance acquise par production d'une nouvelle PLP sans affinité pour les β -lactamines. C'est le mécanisme de résistance exprimé par les souches de Staphylocoques résistantes à la méticilline (souches Méti-R).
- ▶ Par transposition, ces souches ont acquis le gène *mecA* qui code pour une nouvelle PLP, dénommée PLP2a. Cette protéine, sans affinité pour les β -lactamines, confère une résistance de haut niveau pour toutes les pénicillines, céphalosporines et carbapénems (Résistance à toutes les β -lactamines).



3. Résistance par mauvaise affinité de l'ATB pour sa cible

Résistance par substitution de cible : SARM

- Gène *mecA* codant pour la PLP2a ou 2' de faible affinité pour les β -lactamines



Résistance croisée à toutes les β -lactamines sauf ceftaroline et ceftobiprole

3. Résistance par mauvaise affinité de l'ATB pour sa cible

Diminution de la sensibilité aux bêta-lactamines par modification des PLP:

Pneumocoques de sensibilité diminuée aux bêtalactamines (PSDB ou PSDP)

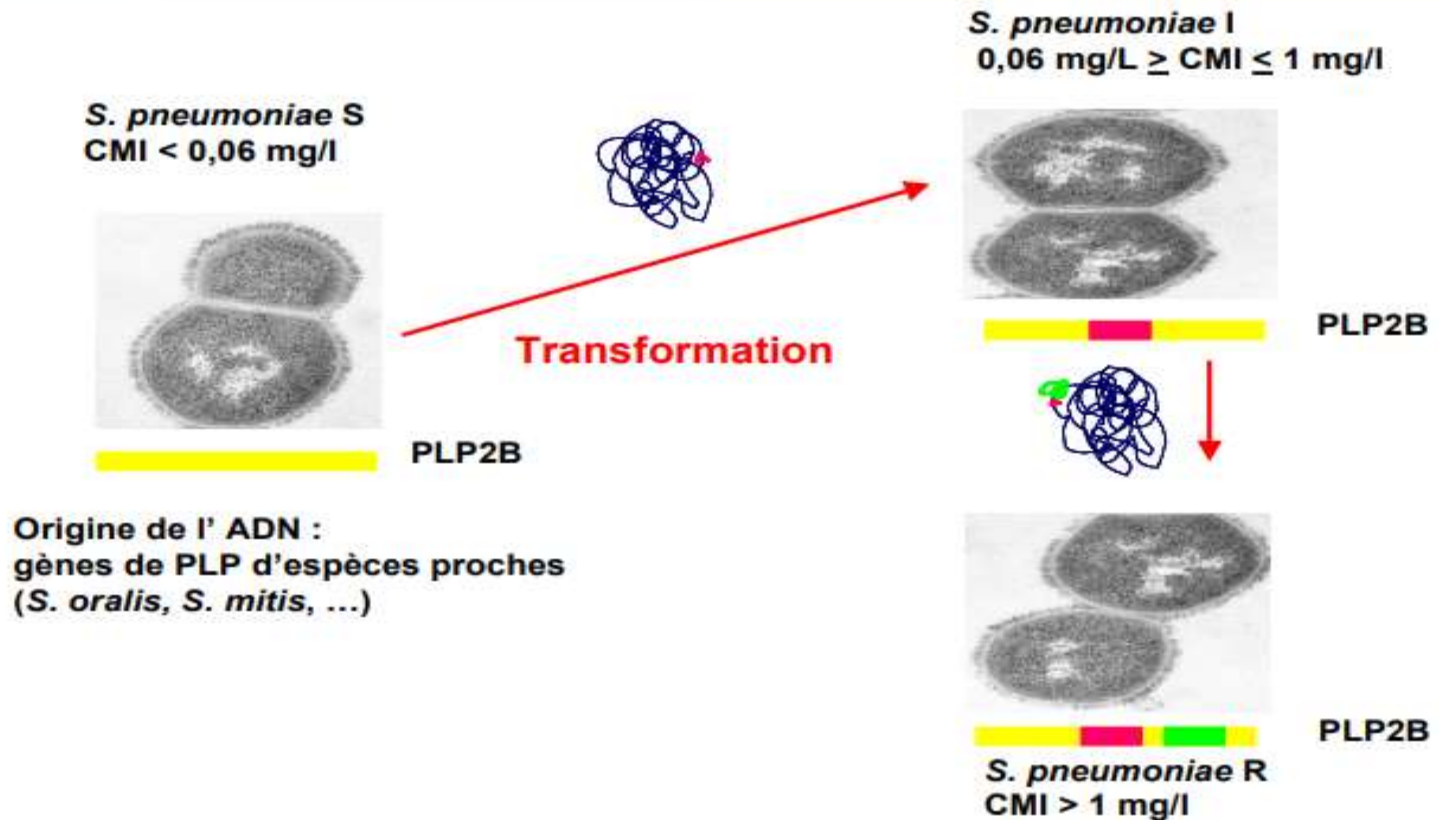
Mécanisme génétique : transformation

- ▶ Acquisition de gènes de PLP des streptocoques oraux, recombinaison homologue
- ▶ PLP mosaïques modifiées de faible affinité pour les bêta-lactamines



3. Résistance par mauvaise affinité de l'ATB pour sa cible

Mécanisme : Transformation



3. Résistance par mauvaise affinité de l'ATB pour sa cible

Modification ou protection de la cible

Antibiotique	Gènes	Action	Espèces	Phénotype
Aminosides	<i>rmtB</i>	16S rRNA méthylase	Entérobactéries (associé à <i>qepA</i>)	Résistance haut niveau tous aminosides
Tétracyclines	<i>tet(M)</i> , <i>tet(O)</i> , ...	Protection ribosomale	Ubiquitaire	Résistance croisée toutes tétracyclines (sauf tigécycline)
Macrolides	<i>ermA</i> <i>ermB</i> <i>ermC</i>	23S rRNA méthylase	Cocci Gram +	Inactivation MLS _B ; Inductible ou constitutive
Oxazolidinones	<i>cfr</i>	23S rRNA méthylase	Staphylocoques	Résistance de haut niveau au LZD
Fluoroquinolones	<i>qnr</i>	Fixation aux topoisomérases, diminution de leur affinité pour l'ADN	Entérobactéries	Résistance croisée d'expression variable

Conclusion

- ▶ Bactéries utilisent de nombreux outils génétiques pour évoluer dans un environnement hostile.
 - ▶ L'identification des mécanismes de résistances bactérien est utile afin de limiter leur diffusion en milieu hospitalier.
 - ▶ Les conséquences de cette diffusion sont inquiétantes; augmentation du taux de mortalité et de morbidité attribuées à l'émergence des souches bactériennes multi voire hautement résistantes (BMR et BHRe), ainsi que l'augmentation du coût des soins dispensés.
 - ▶ La prévention repose sur:
 - identification rapide.
 - Application des mesures d'hygiène.
 - Prescription raisonnée des antibiotiques.
-

