

- **Les Antibiotiques**
  - Mode d'action
  - Mécanismes de Résistance
- **Les principales familles**
  - $\beta$ -lactamines
  - Glycopeptides
  - Aminosides
  - Macrolides
  - Quinolones

Mars 2009

**M. Archambaud**  
**Laboratoire Bactériologie-Hygiène**  
**CHU Rangueil Toulouse**

# Les cibles bactériennes des antibiotiques

## L'ADN

Quinolones  
Rifamycines  
Nitroimidazolés  
Sulfamides

## La paroi

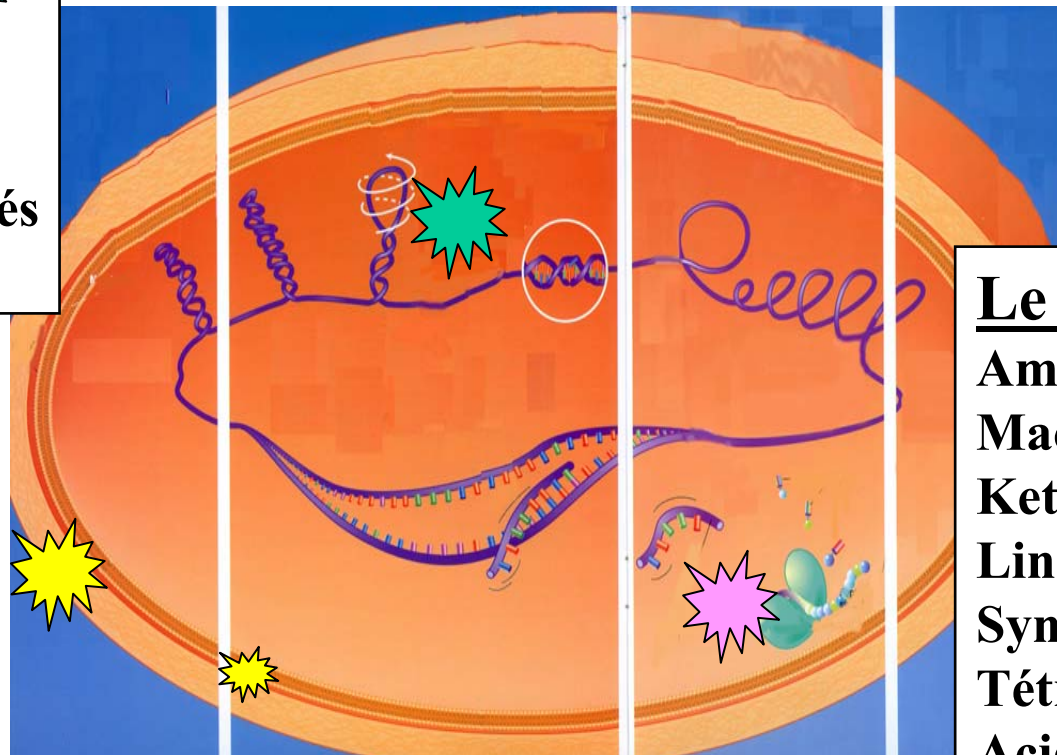
$\beta$ -lactamines  
Glycopeptides  
Fosfomycine

## Les membranes

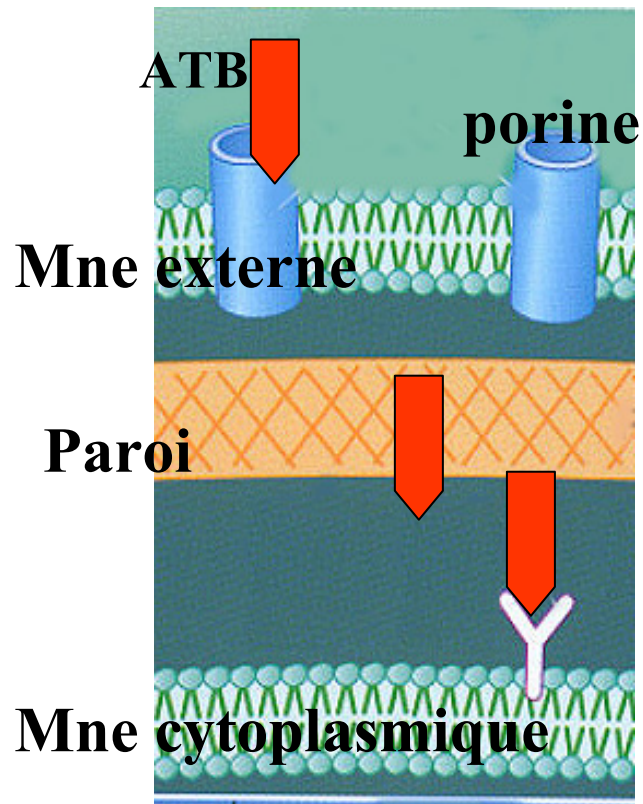
Polymyxines  
Lipopeptides

## Le ribosome

Aminosides  
Macrolides  
Ketolides  
Lincosamides  
Synergistines  
Tétracyclines  
Acide fusidique  
Phénicolés  
Oxazolidinone



# Conditions d'activité des ATB



Gram-

- Atteindre la cible : pénétrer
  - membrane externe des gram-porines, LPS
    - caractère hydrophile ou hydrophobe des ATB
  - paroi
  - membrane cytoplasmique
- Persister à des concentrations suffisantes
- Reconnaître la cible

Pour échapper à l'action létale des antibiotiques, les bactéries ont développé de **très nombreux mécanismes biochimiques de résistance, associés à une grande ingéniosité génétique pour les acquérir et les diffuser.**

**L'évolution vers la résistance** des bactéries aux antibiotiques caractérise la fin du XXème siècle, avec la description de **BMR** (bactéries multirésistantes, totorésistantes), mais cette évolution est très inégale si l'on considère les différentes espèces bactériennes et les différents antibiotiques.

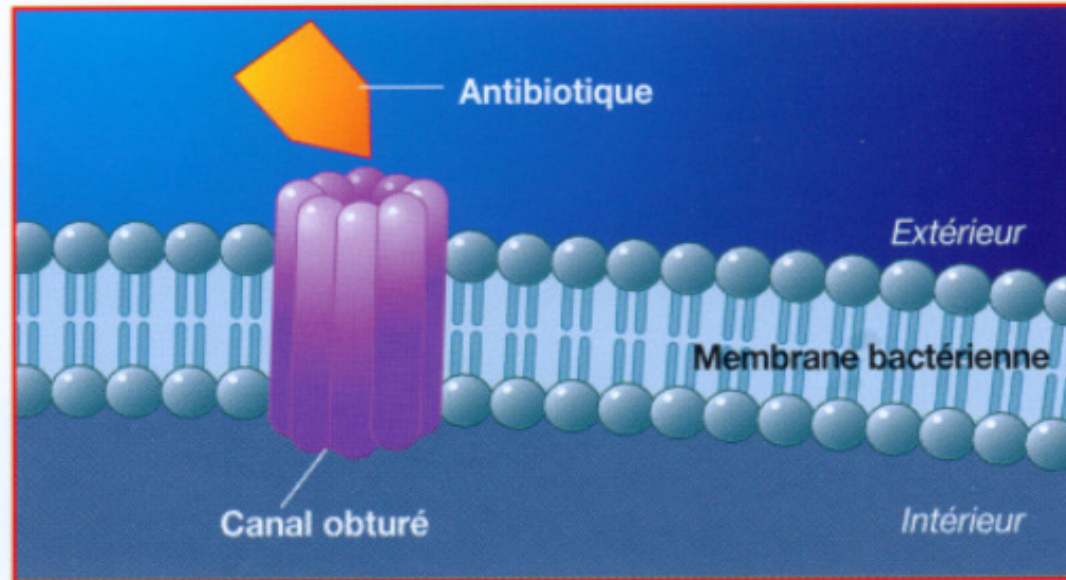
L'étude de la résistance bactérienne a permis de faire de grandes découvertes concernant l'organisation de l'information génétique des bactéries, le contrôle de son expression ; pour le thérapeute elle est aujourd'hui indispensable à connaître pour une **meilleure utilisation des antibiotiques.**

# Mécanismes de résistance des bactéries aux ATB

- **Imperméabilité :**  
**défaut pour atteindre la cible**
- **ATB actif à des concentrations insuffisantes :**
  - **inactivation enzymatique**
  - **efflux**
- **Cible non reconnue**

*association possible de différents mécanismes*

## Imperméabilité chez Gram- nombre de porines- altération des porines



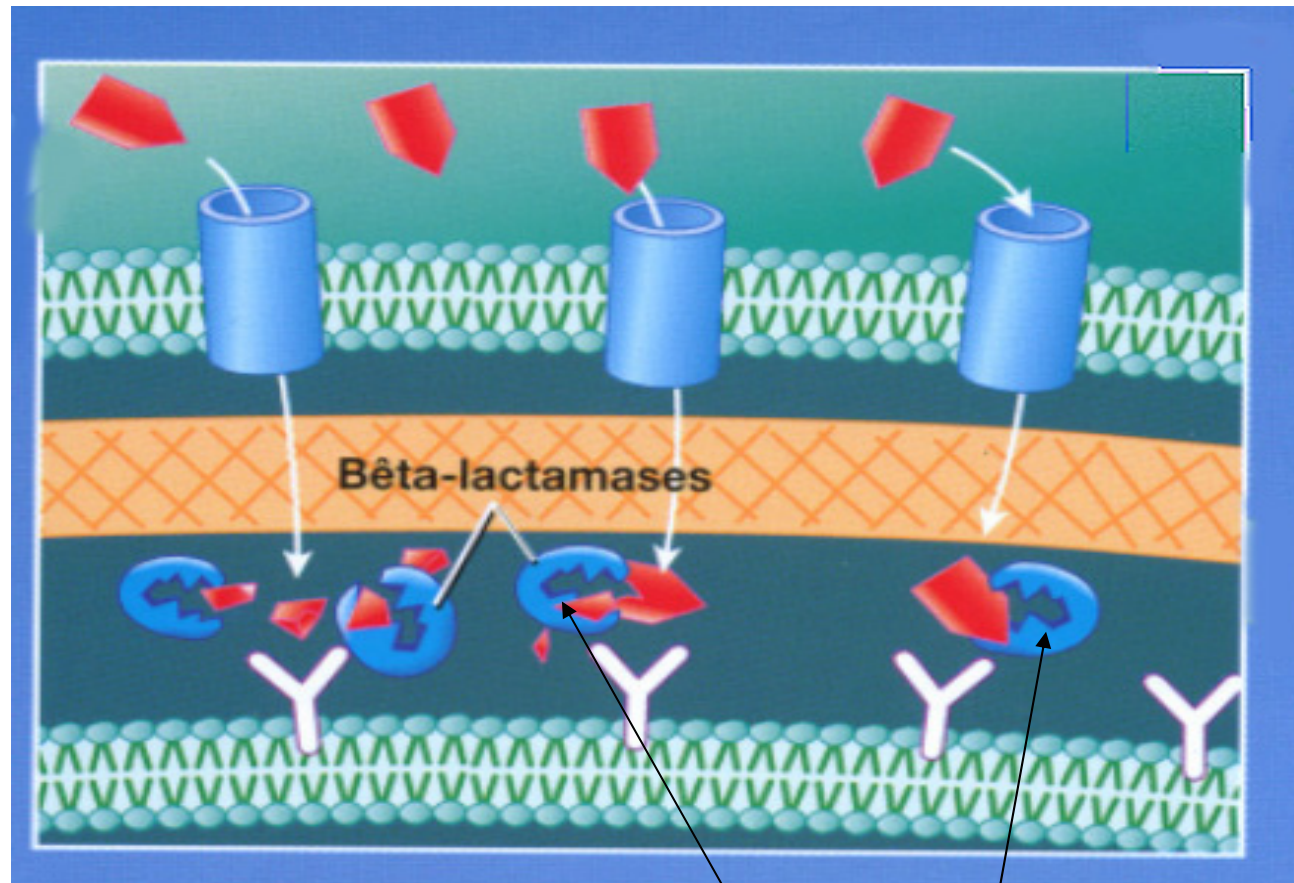
Ce mécanisme rend compte de la Résistance naturelle pour ATB hydrophobes et les bacilles gram-:

exemple les Entérobactéries sont R à la pénicilline G

Ce mécanisme rend compte de la Résistance acquise :

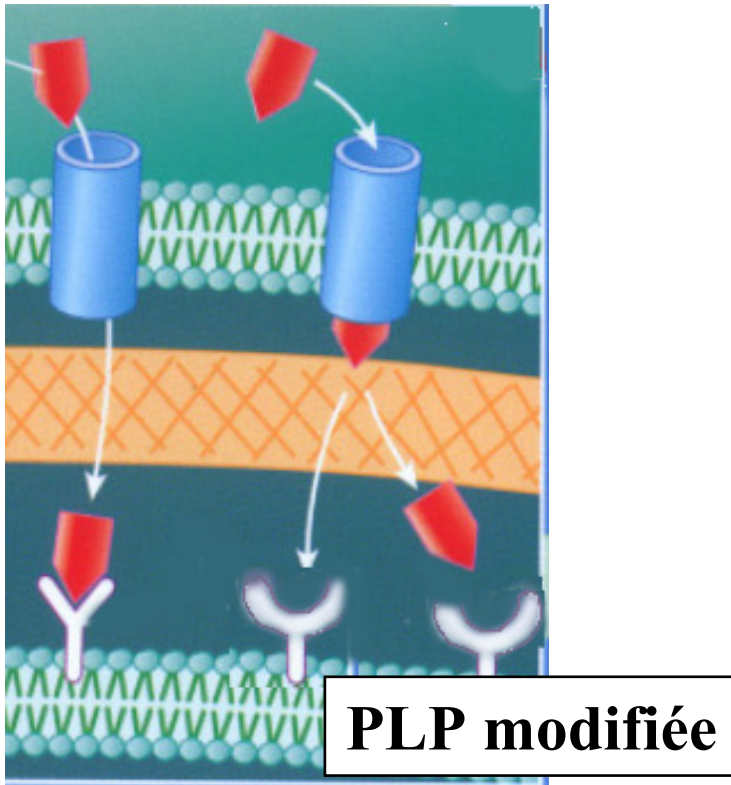
- les porines de certaines entérobactéries peuvent être modifiées,
- une porine particulière (porine OprD2) pour *P. aeruginosa*

# Inactivation enzymatique de l'antibiotique

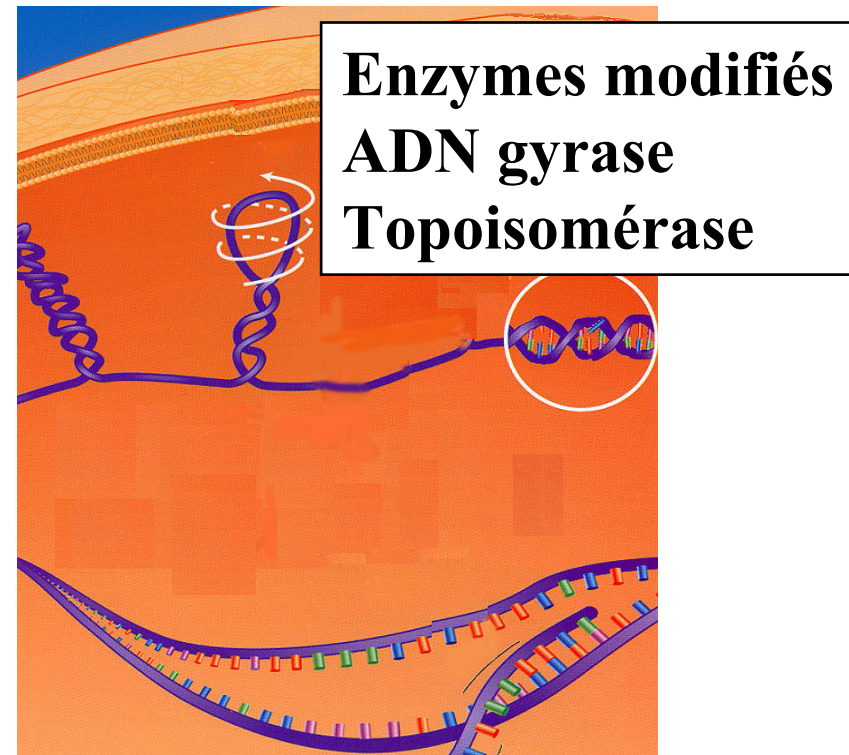


$\beta$ -lactamines /  $\beta$ -lactamases

# Modification de cible exemples



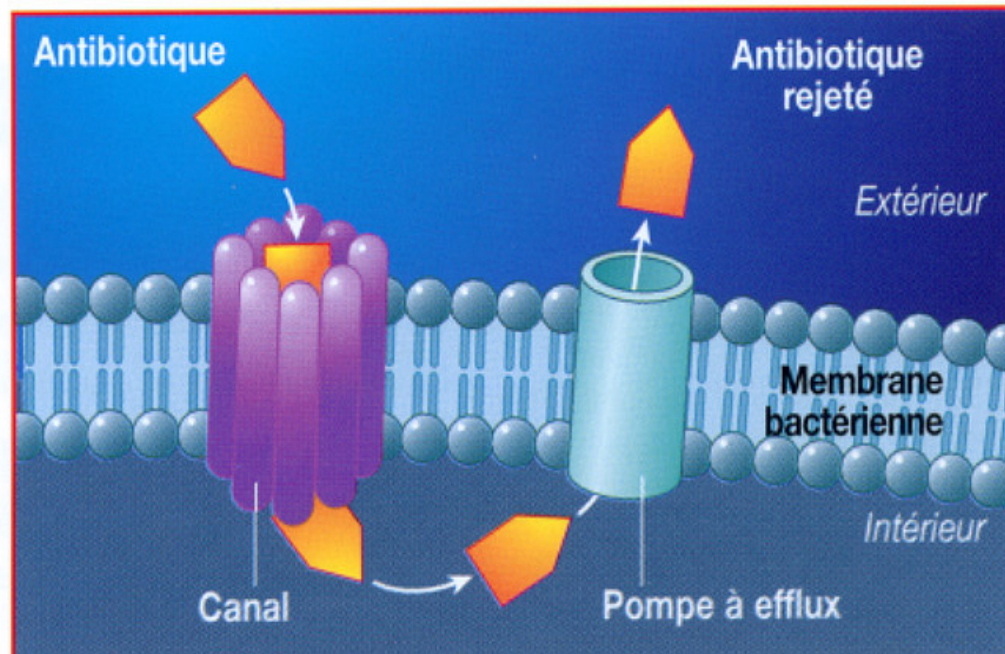
**$\beta$ -lactamines**



**Quinolones**



# EFFLUX ACTIF



**$\beta$ -lactamines**

**Quinolones**

**Macrolides**

**Cyclines**

# **Résistance des bactéries aux ATB**

## **Résistance naturelle**

- **Caractéristique propre à toutes les souches d'une même espèce bactérienne :  
définit le phénotype sauvage**
- **Exemples :**
  - **Entérobactéries R Pénicilline G**
  - ***Klebsiella* R Ampicilline, Ticarcilline**
- **Importance de sa connaissance :**
  - **identification des bactéries**
  - **spectre des antibiotiques**
  - **antibiothérapie probabiliste et prophylactique**

# **Résistance des bactéries aux ATB**

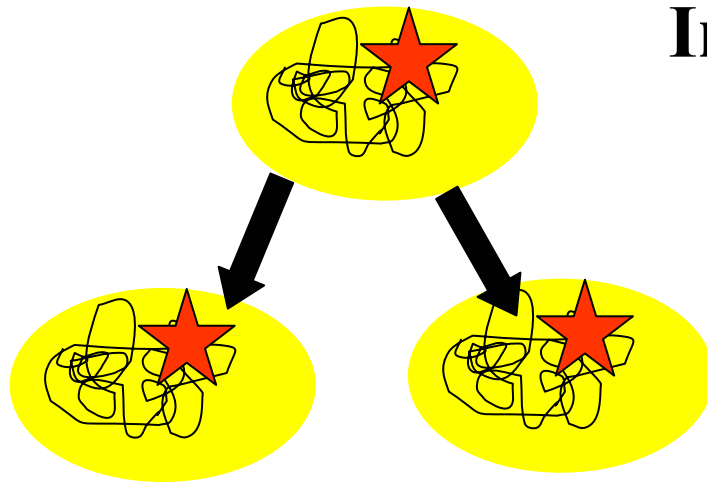
## **Résistance acquise**

- **Caractéristique de certaines souches**  
d'une même espèce bactérienne :
  - définit le phénotype de résistance acquise
  - résulte de modifications génétiques :
    - mutation gènes endogènes
    - acquisition de gènes exogènes
- **Caractère évolutif** de la résistance acquise
- **Emergence de cette résistance sous la dépendance de la pression de sélection par les antibiotiques :**  
médecine humaine, vétérinaire, agroalimentaire

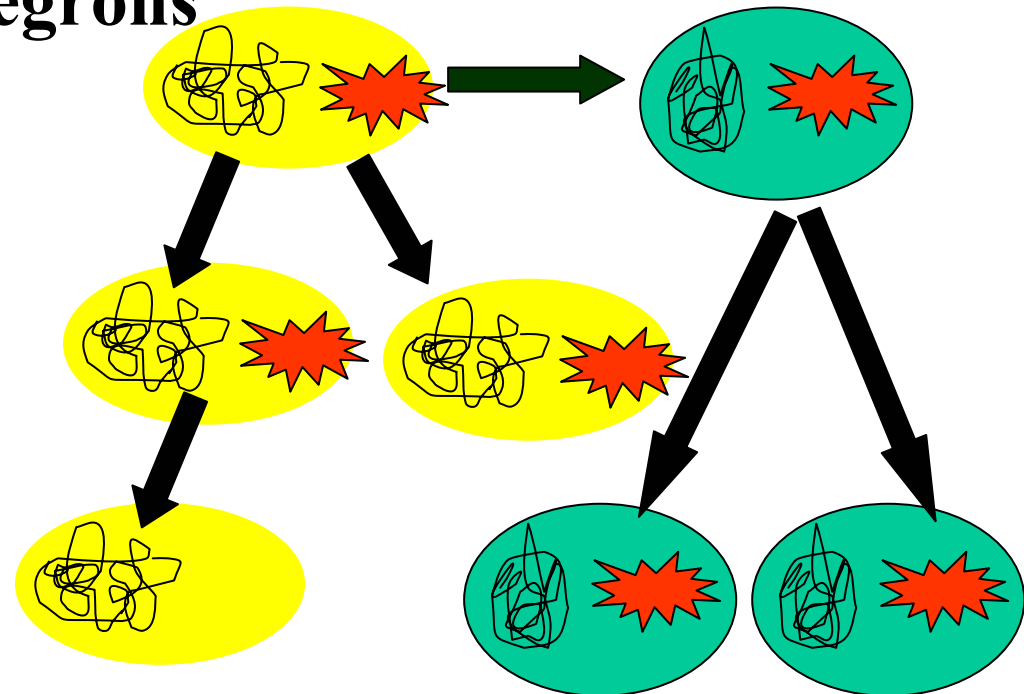
# Support génétique localisation des gènes de résistance

Chromosome ← Transposons → Plasmides

Intégrons



Résistance stable  
Transmission verticale



Résistance instable  
Transmission horizontale et verticale

# **Connaissances des mécanismes de résistance**

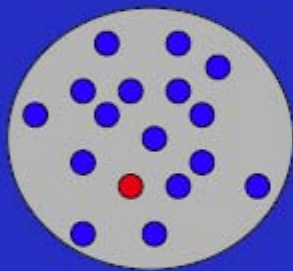
## **Meilleure utilisation des ATB**

### **1- Connaître les facteurs de risque de sélection**

- ❏ **Résistance naturelle des bactéries des flores et de l'environnement**
- ❏ **Les ATB avec taux de mutation élevé**  
quinolones, fosfomycine, fucidine, rifampicine, céphaloIII (espèces avec céphalosporinase)
- ❏ **Foyer infectieux avec fort inoculum**

# Shéma de sélection de mutants résistants

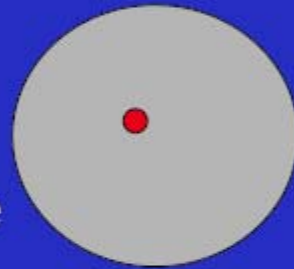
Foyer infectieux  
ou flore commensale



ATB



[C] locale

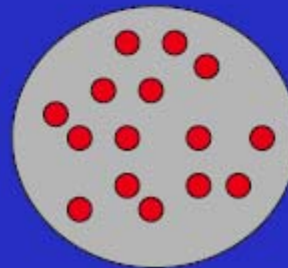


- bactérie sensible
- bactérie résistante à l'antibiotique

Population bactérienne  
sensible



Reconstitution de la population



Population bactérienne  
résistante

# **Connaissances des mécanismes de résistance**

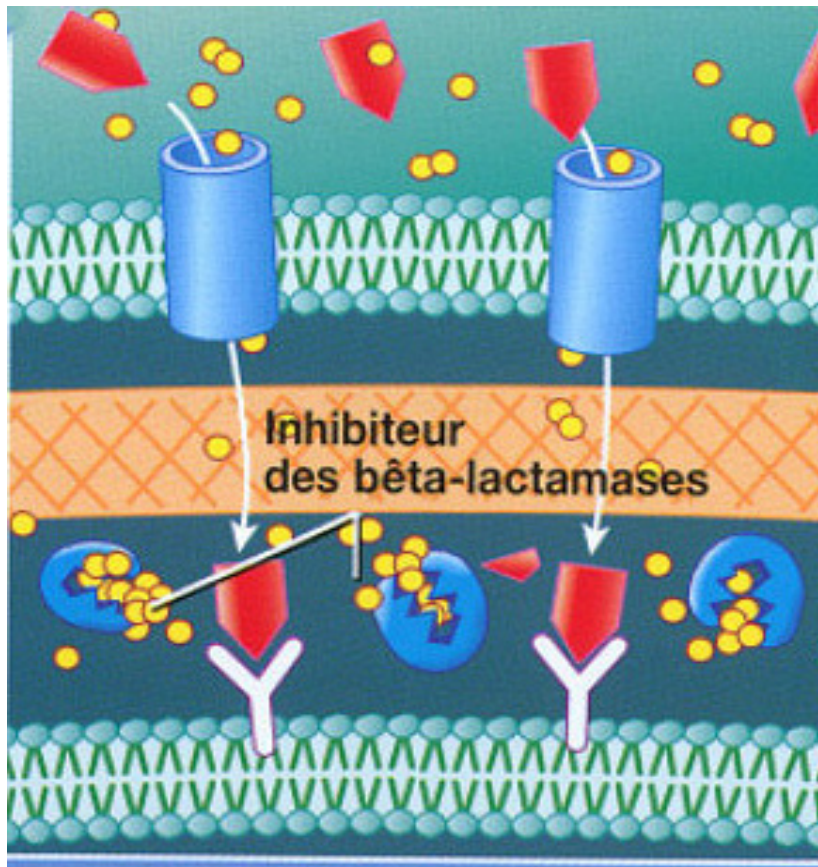
## **Meilleure utilisation des ATB**

### **2- Prévenir la sélection**

- ☐ **Bactéries R flore et environnement :**  
**Antibiothérapie justifiée - Durée**
- ☐ **Sélection des mutants R :**  
**Posologie élevée - Choix des molécules**  
**Association ATB**
- ☐ **Foyer infectieux avec fort inoculum :**  
**Drainage - Posologie élevée - Association ATB**

# Connaissances des mécanismes de résistance

## Recherche de Nouvelles molécules actives



## Histoire des ATB

Pénicillin M

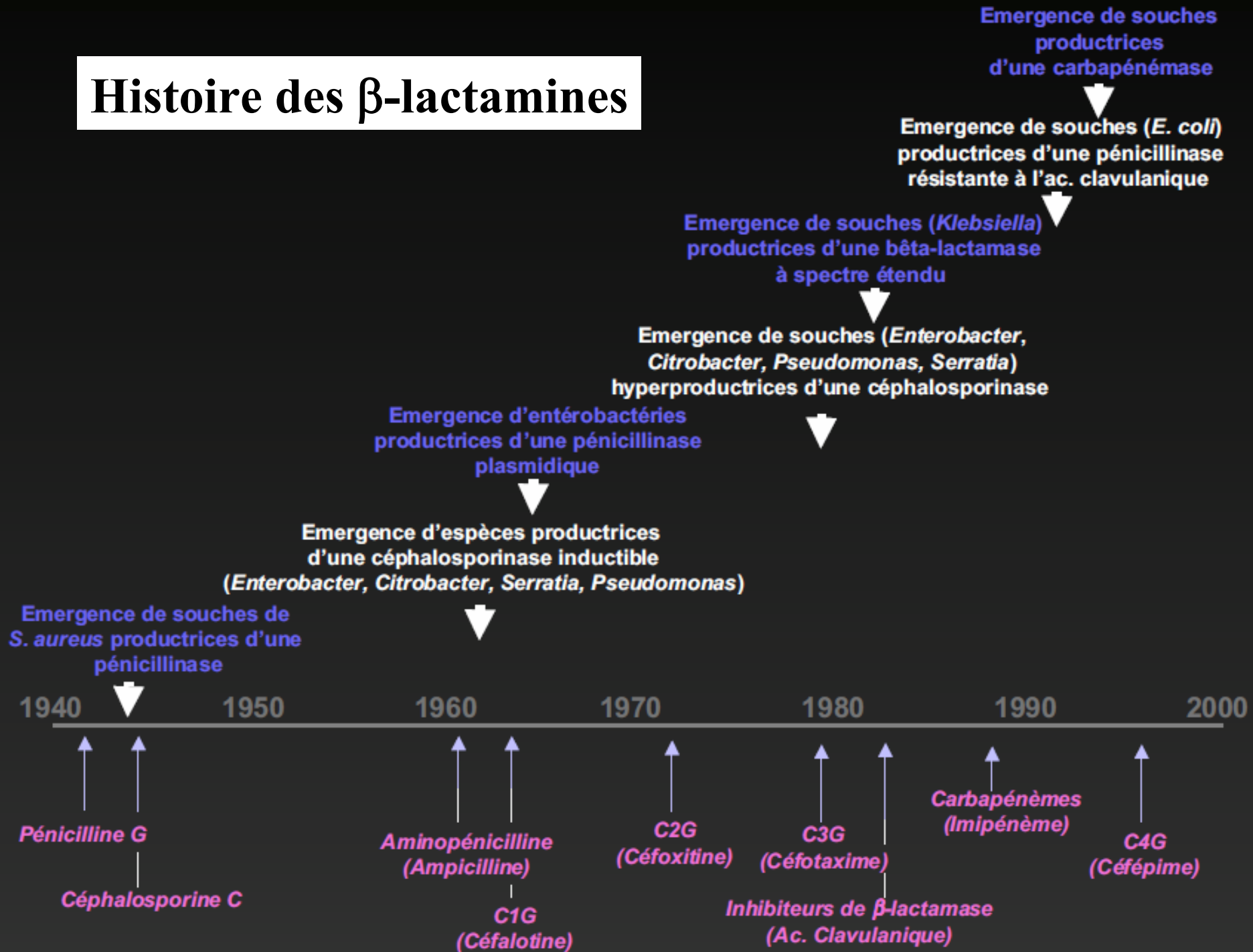
Inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases

Céphalosporines

Fluoroquinolones



# Histoire des $\beta$ -lactamines



# La Multirésistance

## Définition

**Résistance à plusieurs antibiotiques?**

**Combien?**

**Combien encore actifs?**

## Principales bactéries multirésistantes

**SAMR**

**Entérobactéries BLSE**

**Entérobactéries céphalosporinase dérégulée**

***P. aeruginosa* résistant à ceftazidime**

**Entérocoques résistants aux glycopeptides**

***A. baumannii* résistant à imipénème**

**Bactéries environnement : *S. maltophilia*, *B. cepacia*...**

# **L 'Hôpital : réservoir de bactéries multirésistantes**

## **Pression de sélection par antibiothérapie**

**mutants résistants monothérapie**

**antiothérapie large spectre**

**doses trop faibles**

**durée de l 'antibiothérapie**

## **Dissémination des clones résistants**

### **Autres facteurs :**

**durée de séjour**

**sévérité de la maladie**

**procédures invasives**

**.....**

## **L 'Hôpital : réservoir de bactéries multirésistantes comment le réduire ?**

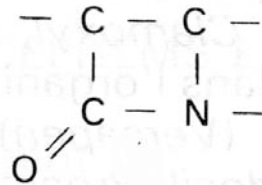
- **Au laboratoire savoir détecter les BMR  
avec faible expression de la résistance**
- **Repérer les malades porteurs de BMR  
outil d'alerte quotidienne /informatique**
- **Prendre rapidement les mesures d 'intervention  
service d 'hygiène et CLIN**
- **Prévenir apparition de la sélection  
bon usage des antibiotiques**
- **Participer à des réseaux de surveillance**

# $\beta$ -lactamines

Les molécules, leur structure, leur spectre d'activité :

**Molécules : bactéricides, temps dépendant**

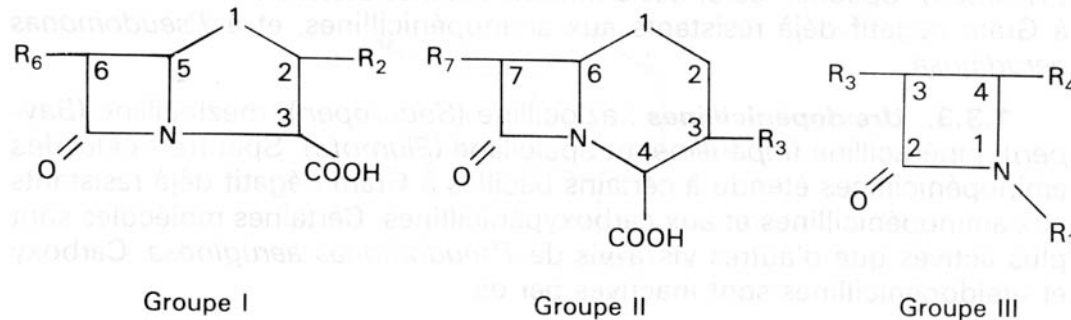
**Noyau  $\beta$ -lactam :**



**les penams : pénicillines, carbapenems, clavams**

**les cephems : céphalosporines (1<sup>ère</sup>, 2<sup>ème</sup>, 3<sup>ème</sup>, 4<sup>ème</sup> génération)**

**les monobactams : azactam (seule molécule)**



**Le développement des molécules : élargir le spectre de la pénicilline G et résister aux mécanismes de résistance.**

## Les pénicillines : pénams 1= S

Pénicilline G et pénicillines par voie orale (pénicilline V)

Activité sur : Bactéries Gram+, Cocci Gram-

Pénicilline M : oxacilline,

Activité sur : Staphylocoques Résistant à PénicillineG

Pénicilline A : ampicilline, amoxicilline

Activité élargie sur: bacilles gram- (sauf *P.aeruginosa*)

Carboxypénicilline : ticarcilline, Uréidopénicilline : piperilline

Activité élargie sur: bacilles gram- et *P.aeruginosa*

## Les pénicillines + inhibiteurs de $\beta$ -lactamase (clavams pénams 1= O)

amoxicilline+a.clavulanique

ticarcilline+a.clavulanique

piperilline+tazobactam

Activité élargie sur bactéries qui ont une pénicillinase sensible aux inhibiteurs

## **Les céphalosporines : céphems 1=S**

**groupe 1 : céfalotine, céfaclo, céfazoline, céfalexine ...**

Activité sur bactéries Gram+, et certains bacilles gram-

**groupe 2 : céfuroxime, céfamandole**

Activité sur bactéries Gram+, et certains bacilles gram-  
céfoxitine, céfotétan

Activité sur bactéries Gram+, certains bacilles gram-, et anaérobies

**groupe 3 : céfotaxime, ceftriaxone, céfixime**

Activité sur bacilles gram- : Entérobactéries, pas sur *P. aeruginosa*  
céfopérazone, **ceftazidime**

Activité sur bacilles gram- : Entérobactéries, et sur *P. aeruginosa*

**groupe 4 : céfépime, cefpirome**

Activité sur bacilles gram- : Entérobactéries, et sur *P. aeruginosa*  
(molécules peu sensibles aux céphalosporinases)

## **Les carbapénèmes : pénams 1= C**

**Imipénème**, Méropénème, Ertapénème, Doripénème

Spectre très large sur bactéries gram+ et gram-,  
Ertapénème pas actif sur *P.aeruginosa*

## **Les monobactams**

Aztreonam

Activité sur bacilles gram- : entérobactéries, et sur *P. aeruginosa*  
Inactif sur gram+ et anaérobies



## Cible des $\beta$ -lactamines = PLP Protéines liant les pénicillines

Ces protéines correspondent aux transpeptidases, carboxypeptidases et glycosyltransférases impliquées dans la synthèse du peptidoglycane et sont insérées dans la membrane cytoplasmique en laissant leur site enzymatique dans l'espace périplasmique.

La fixation des  $\beta$ -lactamines sur ces PLP est responsable de l'arrêt de la synthèse du peptidoglycane,  
**par analogie structurale entre  $\beta$ -lactamine et le dipeptide d'alanine.**

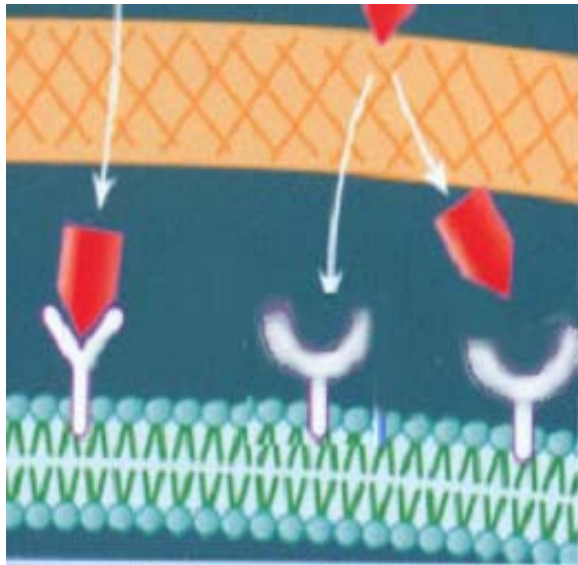
Il y a une inhibition de type compétitif :

les  $\beta$ -lactamines agissent sur des bactéries en phase de croissance.

Les PLP varient en nombre et en variété selon les espèces bactériennes

**Chaque  $\beta$ -lactamine a une affinité maximale variable pour ces différentes PLP**

# Mécanismes de résistance des $\beta$ -lactamines



**PLP modifiée**

## Modification de cible

résistance acquise pour les cocci Gram<sup>+</sup> :

*S. Pneumoniae* /pénicilline G

en modifiant plusieurs PLP

*S. aureus* : une résistance à l' oxacilline  
en exprimant une nouvelle PLP (PLP 2a),  
sous la dépendance du gène *mecA* :

**les souches SARM sont alors résistantes**

**à l'ensemble des  $\beta$ -lactamines**

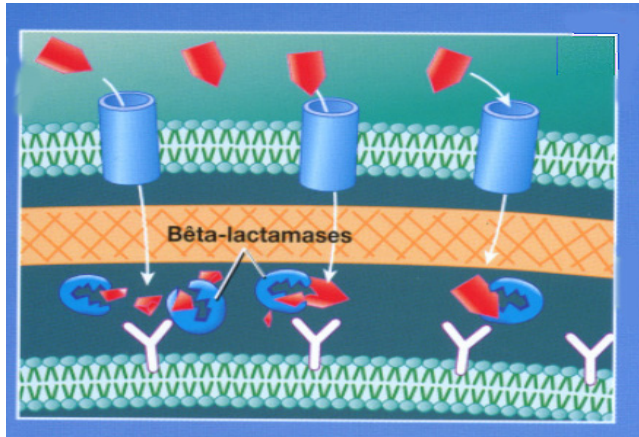
**sont classées dans les bactéries multirésistantes**

la résistance naturelle pour certaines espèces

Les Entérocoques et les Céphalosporines , l'Oxacilline

Les cocci Gram<sup>+</sup>, Anaérobies et l'Aztréonam

# Mécanismes de résistance des $\beta$ -lactamines



## Inactivation enzymatique

**Les  $\beta$ -lactamases** : Enzymes qui hydrolysent le cycle  $\beta$ -lactam des  $\beta$ -lactamines :

Première pénicillinase décrite chez *S. aureus*

Plus de 200  $\beta$ -lactamases retrouvées chez les Gram + et Gram - :

Pénicillinase, Céphalosporinase,

$\beta$ -lactamase,  $\beta$ -lactamase à spectre étendu : BLSE

Elles se caractérisent par leur structure de protéine :

PM 30-40 kDa, Composition aa, Point isoélectrique, structure du site actif ,

et par leur propriété enzymatique :

Spectre activité sur les différentes  $\beta$ lactamines hydrolysées,

$V_{max}$ ,  $K_m$ , Sensibilité ou Résistance aux inhibiteurs

(acide clavulanique, tazobactam).

## Exemples de $\beta$ - lactamases

### Chez les cocci Gram+ : Staphylocoques

Première  $\beta$ -lactamase décrite après l'introduction de la Pénicilline G en 1944

Résistance acquise plasmidique, très fréquente, (90%)

Spectre d'action: Pénicilline G, Ampicilline,

Sensibilité aux inhibiteurs (A. clavulanique)

### Chez les bacilles Gram-

Les  $\beta$  - lactamases sont très nombreuses.

Leur classification repose sur le spectre d'activité

pénicillinases, céphalosporinases,

$\beta$  - lactamases à spectre étendu (aux CIIG): BLSE

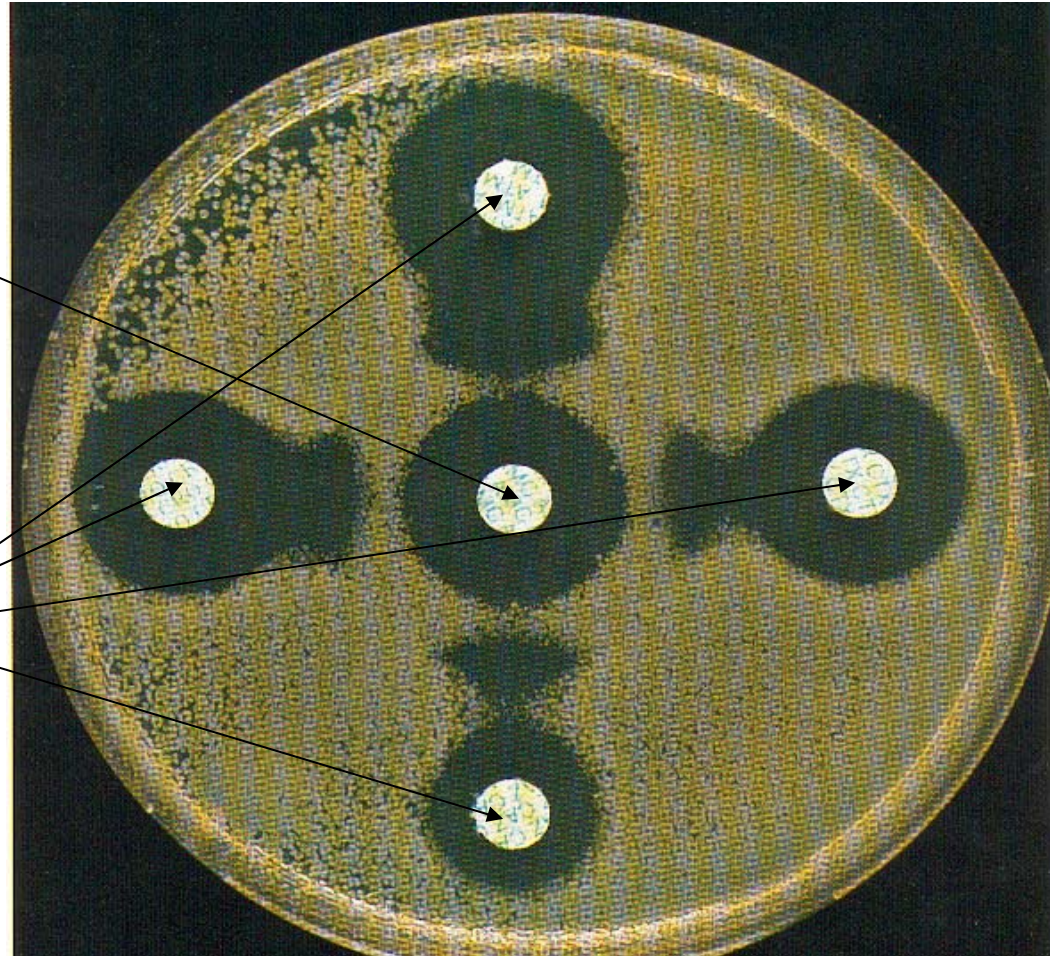
imipénémases

résistance naturelle et acquise des Entérobactéries, de *P. aeruginosa*

**Béta-lactamase à spectre étendu : BLSE**  
*Klebsiella pneumoniae*

A.clavulanique

Céphalosporine  
3ème génération



# Les glycopeptides

## Les molécules, leur structure, leur spectre d'activité :

2 molécules : la vancomycine et la teicoplanine

Leur structure comprend une partie glucidique + acides aminés :  
les plus grosses molécules parmi les antibiotiques

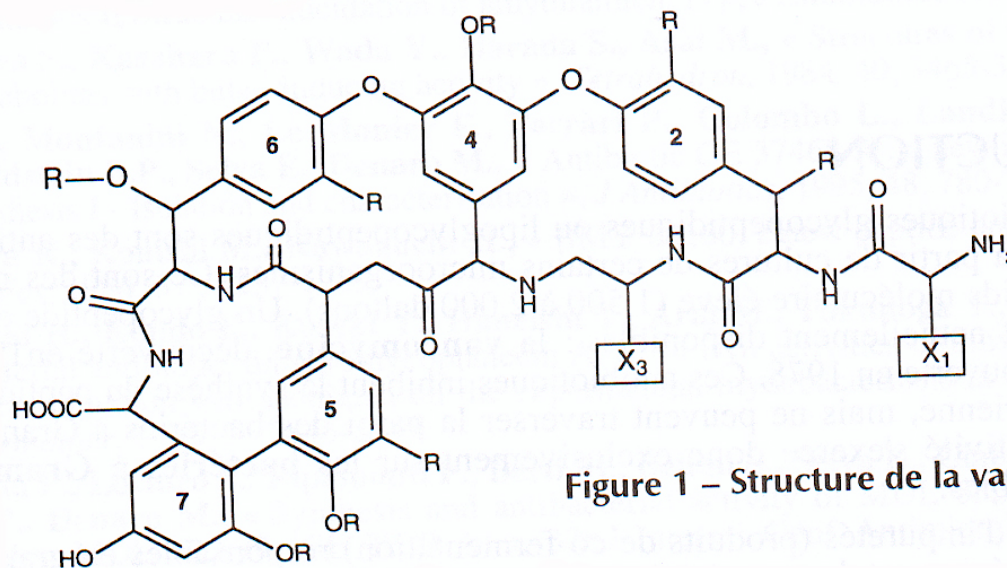


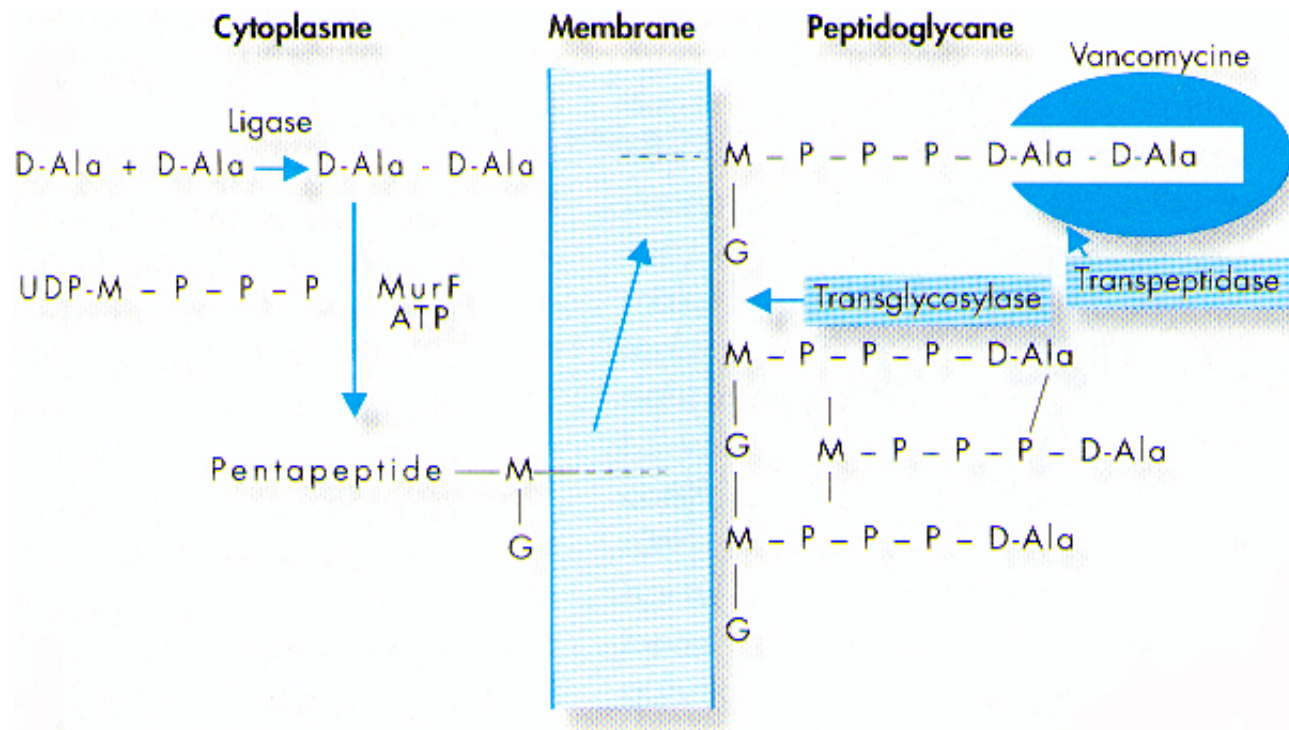
Figure 1 – Structure de la vancomycine

Spectre d'activité étroit : les bactéries Gram+

Activité : Bactéricide, Temps dépendant.

## Cible des glycopeptides :

dipeptide terminal : D-alanine-D-alanine du pentapeptide  
au niveau du précurseur du peptidoglycane  
à la surface externe de la membrane cytoplasmique.



# Mécanismes de résistance des glycopeptides

Vancomycine



- P - P - D-Ala - D-Lac

**modification de cible :**

substitution dipeptide D-alanine-D-alanine  
par le depsipeptide D-alanine-D-lactate,  
affinité plus faible, synthèse de la paroi possible.

Il est apparu chez les Entérocoques en 1987.

Plusieurs niveaux d'expression sont décrits:

mécanisme génétique est connu : détection par PCR des gènes

USA souches d' *Enterococcus faecium* multirésistantes

En France épidémies souches ERV (entérocoques R à vanco)

Depuis 1997, des souches de *Staphylococcus aureus* sont décrites

avec une sensibilité diminuée aux glycopeptides :

souches GISA (Glycopeptides Intermédiaires *Staphylococcus aureus*).

Le mécanisme n'est pas encore connu : épaissement de la paroi

Très rares souches de *S aureus* avec le même mécanisme que les entérocoques



# Les aminosides

## Les molécules, leur structure, leur spectre d'activité :

Leur structure est à base de sucres aminés

Les principales molécules sont :

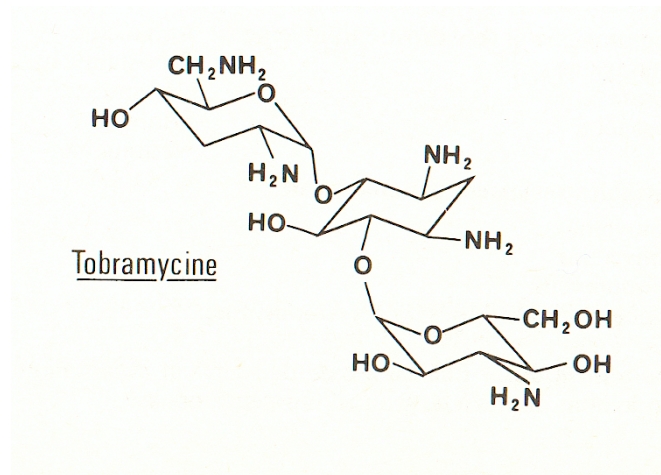
Streptomycine, **Gentamicine**, **Netilmicine**, **Tobramycine**, **Amikacine**

**Antibiotiques bactéricides et concentration dépendant**

**Antibiotiques à large spectre :**

Cocci gram+ : Staphylocoques

Les streptocoques, entérocoques, sont toujours résistants : les aminosides ne passent pas la membrane cytoplasmique, par contre l'association est synergique avec les  $\beta$ -lactamines et glycopeptides



## **Cible des aminosides : la sous-unité 30 S du ribosome**

Ils se fixent de façon irréversible sur le ribosome et inhibent la traduction en provoquant des erreurs de lecture de l'ARN messager.

Ils doivent pénétrer la membrane cytoplasmique par un phénomène actif nécessitant de l'énergie qui n'existe pas chez les anaérobies, streptocoques, entérocoques.

# Mécanismes de résistance des aminosides

Le mécanisme le plus fréquent est

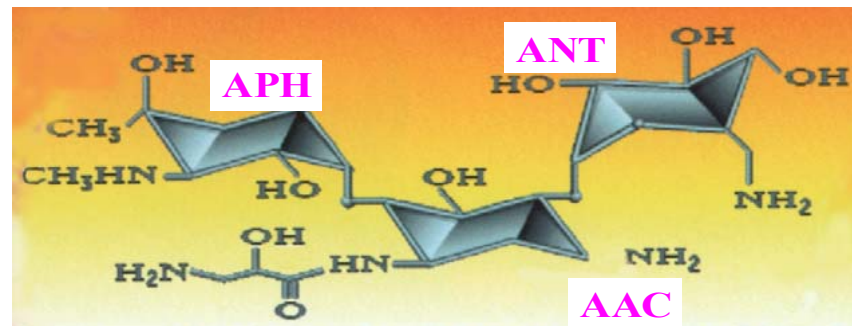
**une inactivation enzymatique des aminosides**

résistance acquise des Staphylocoques, Bacilles Gram-.

Ces bactéries peuvent synthétiser des enzymes qui vont modifier la structure de l'aminoside :

par phosphorylation, nucléotidylation d'un groupement OH ou acétylation d'un groupement NH<sub>2</sub>

## Inactivation enzymatique



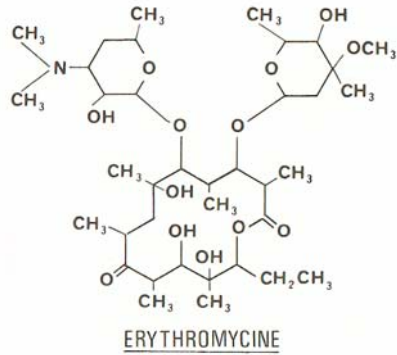
Aminosides

Enzymes modificatrices :

APH : phosphotransférase

ANT : nucléotidyltransférase

AAC : acétyltransférase



## Les macrolides

Le spectre des macrolides est étroit

Cocci Gram+ et Gram-

Bactéries à multiplication intracellulaire :

*Legionella, Chlamydia,*

*Campylobacter*

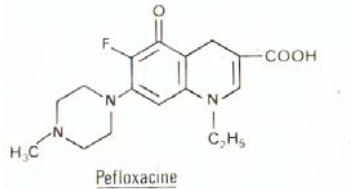
Mycoplasmes

Les kétolides nouvelles molécules, la télithromycine

Activité sur :

Pneumocoque Erythro R

*H. influenzae*,.



## Les quinolones : ATB bactéricides

### 1ère génération : Acide nalidixique,

spectre : entérobactéries, infection urinaire

### 2ème génération : fluoroquinolones

#### Norfloxacin, Ofloxacin, Ciprofloxacin

spectre s'étend à d'autres bacilles gram- (*P.aeruginosa*), aux Staphylocoques, aux *Legionella*, *Haemophilus*, intracellulaires : *Chlamydia*, Rickettsies Mycobactéries,

Activité meilleure : CMI plus basse sur les Entérobactéries

Amélioration des caractères pharmacocinétiques

### 3ème génération :

#### Lévofloxacin, Moxifloxacin,

Elargissement du spectre vers les streptocoques (*S. pneumoniae*)

# Les quinolones

## Cible des quinolones : les topoisomérases

Les topoisomérases (ADN gyrase, Topoisomérase IV) enzymes qui interviennent dans le maintien de la bonne conformation de l'ADN.

## Mécanismes de résistance

Les mécanismes résultent de mutations chromosomiques

### - **Modification de cible**

Les topoisomérases sont modifiées

**La résistance est croisée** avec l'ensemble des quinolones mais avec une augmentation des CMI différentes pour les quinolones de 1ère génération et les fluoroquinolones

### - **Efflux**

La résistance par efflux actif touche d'avantage les molécules hydrophiles (Ciprofloxacine)