

LES MECANISMES DE RESISTANCE BACTERIENNE

P.a. Zied Hajjej – D. Salma Kamoun

J
C
O
R
2016

POURQUOI DES TRUCS DE MICROBIO???



POUR MIEUX LE
COMBATTRE

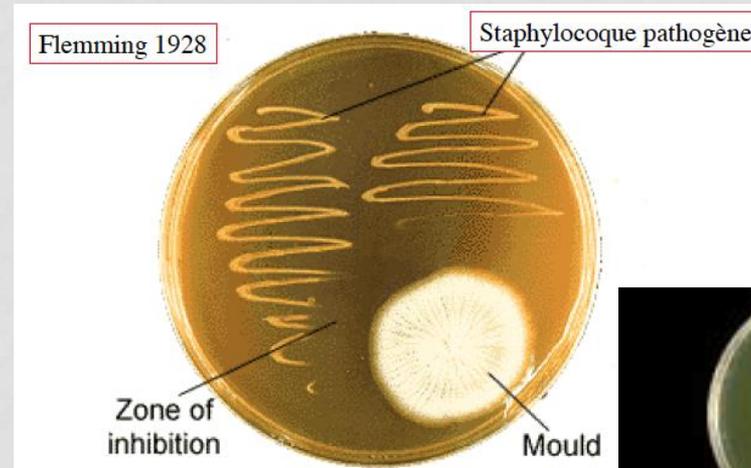
BIEN CONNAITRE
SON ENNEMI



LE MONDE BACTERIEN

- Age des bactéries : 3.5 milliards d'années
- Les premiers hommes : 3.5 millions d'années (Mille fois moins longtemps)
- Bactéries hautement adaptables (« tous terrains »)
 - Plasticité du génome (éléments mobiles)
 - Nombre (des milliers d'espèces)
 - Lieux (partout)

DECOUVERTE DES ATB



MECANISMES DE RESISTANCE

RESISTANCE NATURELLE

- Présente chez toutes les souches de l'espèce
- Stable
- Phénotype « sauvage »
- Toujours chromosomique

RESISTANCE ACQUISE

- Propre à certaines souches de l'espèce
- Instable le plus souvent
- Phénotype « anormal »
- Chromosomique (mutation)
- Acquisition de nouveaux gènes



RESISTANCE ACQUISE: CHROMOSOMIQUE

- MUTATION
- Événement rare: 10^{-6} à 10^{-9} (non provoquer par les ATB mais sélection dans les situations à fort inoculum ou dans le tube digestif)
- Événement stable et héréditaire, indépendant, non transmissible à d'autres espèces
- Toutes les mutations ont pour conséquence la perte ou la modification d'une protéine structurale ou enzymatique → contre sélection en l'absence d'ATB



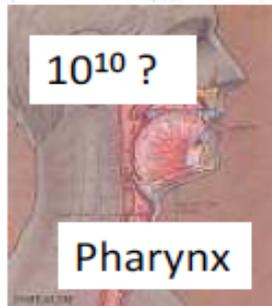
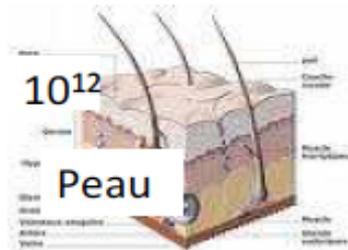
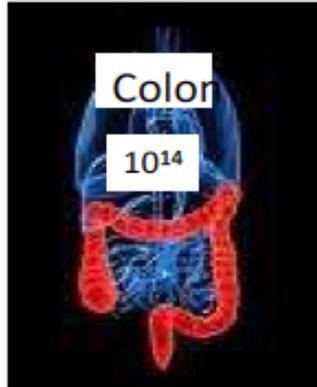


RESISTANCE ACQUISE : EXTRA-CHROMOSOMIQUE

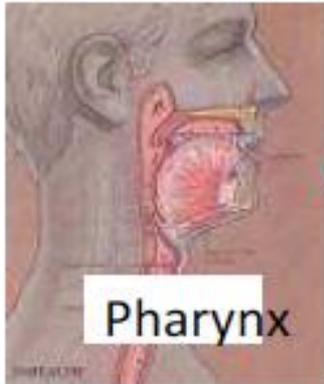
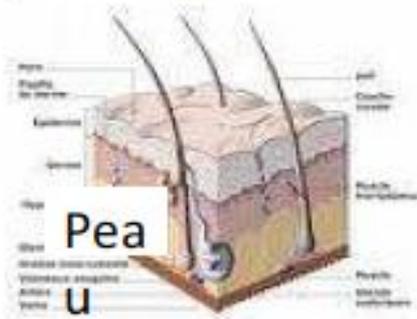
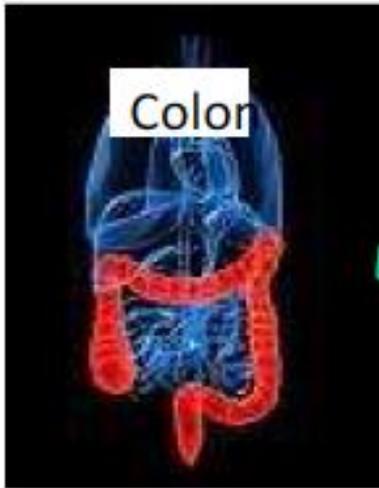
- Éléments génétiques mobiles: plasmides, transposon, intégron
- Résistance riche et diverse, fréquente avec différents moyens parfois associés entre eux
- Transmission horizontale et verticale: **CONTAGIEUSE**
- Responsable de phénomènes épidémiques
- Résistance liée à la synthèse de protéines additionnelles → bactérie normale (VS mutant fragile) → pas ou peu de contre sélection en l'absence d'antibiotique



QUELLES BACTERIES?

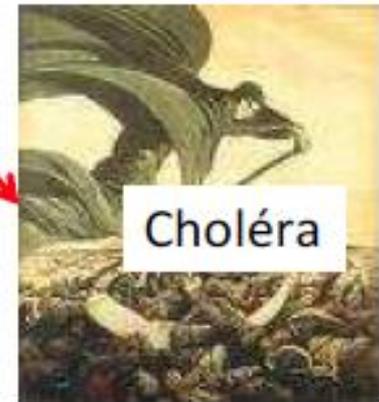


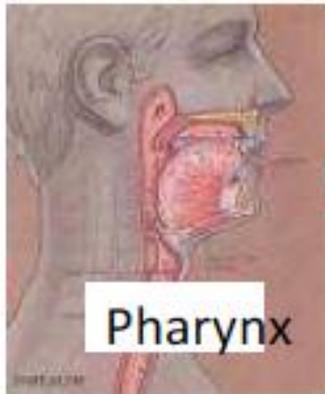
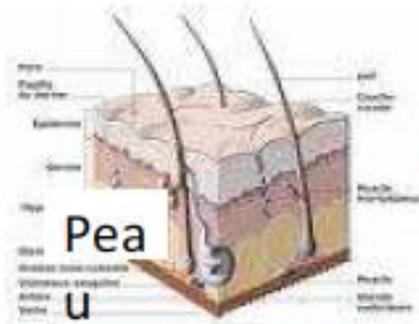
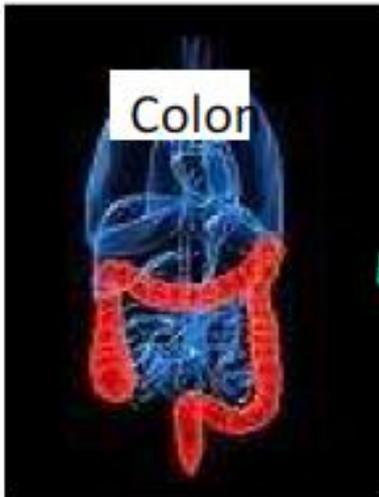
Bactéries
commensales



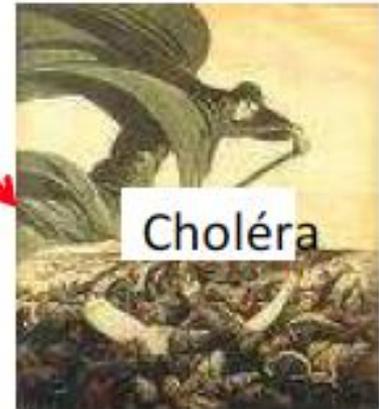
Bactéries pathogènes

Bactéries commensales





Bactéries pathogènes



Bactéries commensales

Bactéries opportunistes



ESKAPE - ESCAPE

Bad Bugs, No Drugs: No ESCAPE Revisited

TO THE EDITOR—It was with appreciation that I read your update from the Infectious Diseases Society of America in the January 2009 issue of the journal that highlighted the impact of the ESKAPE pathogens (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Enterobacter* species) as a group of particularly troublesome bacteria having the ability to “escape” the effects of current antimicrobial agents [1]. I would, however, like to offer a “friendly amendment” and suggest that, moving forward, the term “ESKAPE” be changed to “ESCAPE” (*E. faecium*, *S. aureus*, *Clostridium difficile*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, and Enterobacteriaceae).



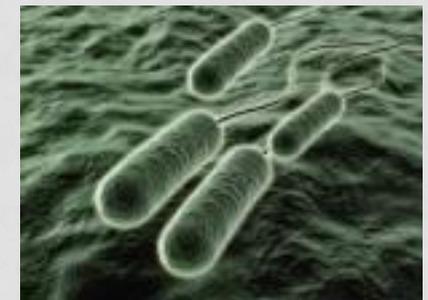
AB



E COLI



KP



PYO

ETAT DE LA RESISTANCE EN TUNISIE

Tableau 1: Nombres et pourcentages de résistance aux antibiotiques des principaux bacilles à Gram négatif
Données globales

Bacilles à Gram Négatif	Nb %	Amp	Amc	Tic	Tec	Ctx	Caz	Ert	Imp	Gm	An	C	Cs	Nal	Ofx	Cip	Sxt	Tig
<i>A. baumannii</i>	282	RN	RN	264	232	RN	271	RN	256	222	225	RN	0	RN	286	280	188	222
	%	RN	RN	93.6	82.2	RN	96.1	RN	90.7	78.7	79.8	RN	0	RN	94.3	92.2	59.7	79.1
<i>K. pneumoniae</i>	219	RN	147	RN	147	142	156	64	36	111	58	47	2	154	154	151	107	0
	%	RN	67.1	RN	67.1	64.8	71.2	29.2	16.4	50.7	26.4	21.6	0.9	70.3	70.3	68.9	49.1	0
<i>E. coli</i>	188	144	87	144	87	47	40	1	1	31	11	35	0	66	66	65	73	0
	%	77.4	46.7	77.4	46.7	25.2	21.5	0.5	0.5	16.6	5.9	18.6	0	35.4	35.4	35.6	39.5	0
<i>P. aeruginosa</i>	171	RN	RN	121	98	RN	71	RN	71	74	88	RN	0	RN	156	84	RN	RN
	%	RN	RN	70.7	57.3	RN	41.5	RN	41.5	43.2	51.4	RN	0	RN	91.2	49.1	RN	RN
<i>E. cloacae</i>	68	RN	RN	44	32	39	43	11	4	33	2	20	0	39	39	30	23	0
	%	RN	RN	64.7	47	57.3	63.2	16.1	5.9	48.5	2.9	29.1	0	57.3	57.3	44.1	47.9	0

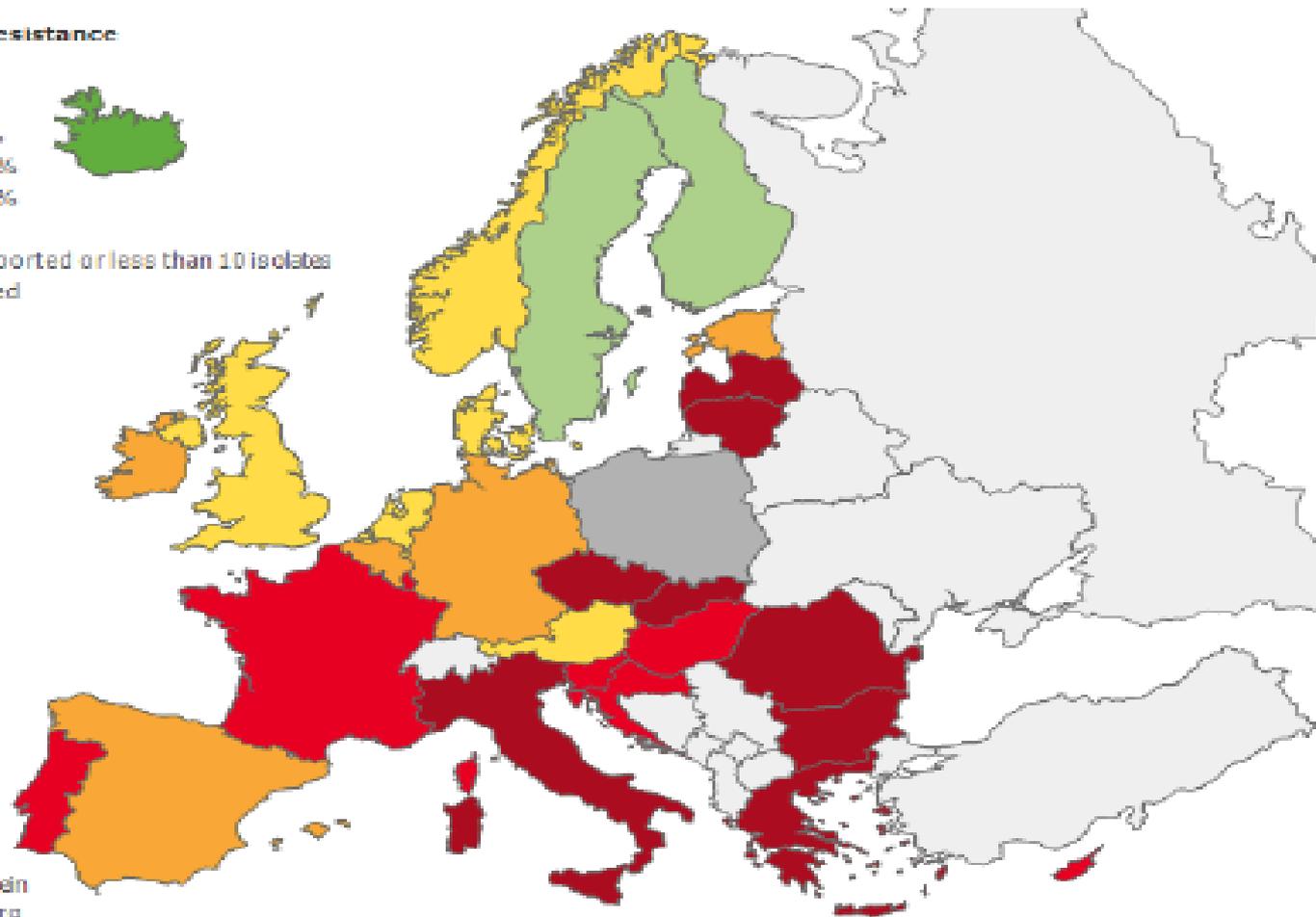
**Données cumulées de
Charles Nicolle- La Rabta- HMPIT (2013)**

Proportion of 3rd gen. cephalosporins Resistant (R) *Klebsiella pneumoniae* Isolates in Participating Countries in 2014

Percentage resistance

- < 1%
- 1 to < 5%
- 5 to < 10%
- 10 to < 25%
- 25 to < 50%
- ≥ 50%
- No data reported or less than 10 isolates
- Not included

- Liechtenstein
- Luxembourg
- Malta

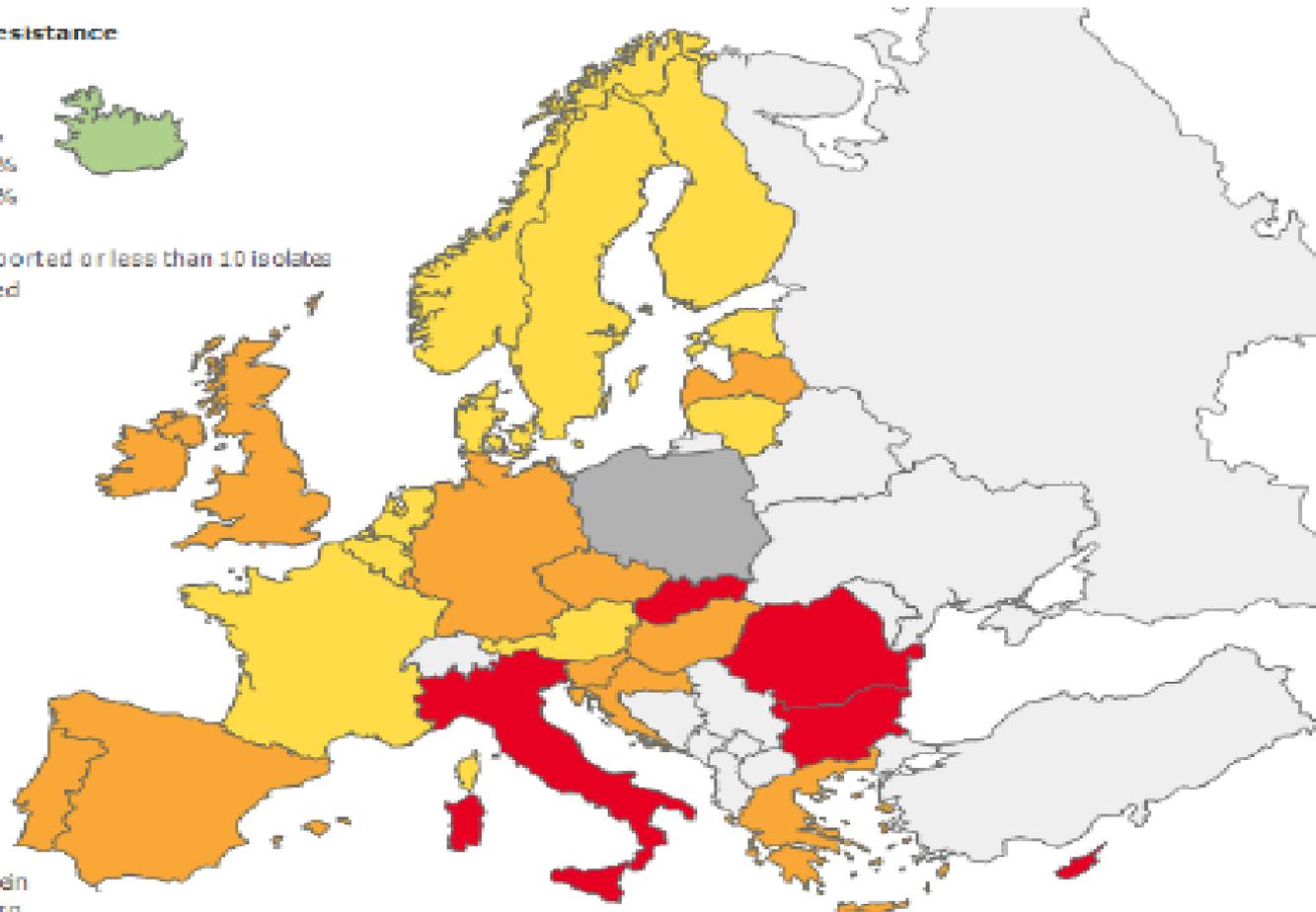


Proportion of 3rd gen. cephalosporins Resistant (R) *Escherichia coli* Isolates in Participating Countries in 2014

Percentage resistance

- < 1%
- 1 to < 5%
- 5 to < 10%
- 10 to < 25%
- 25 to < 50%
- ≥ 50%
- No data reported or less than 10 isolates
- Not included

- Liechtenstein
- Luxembourg
- Malta

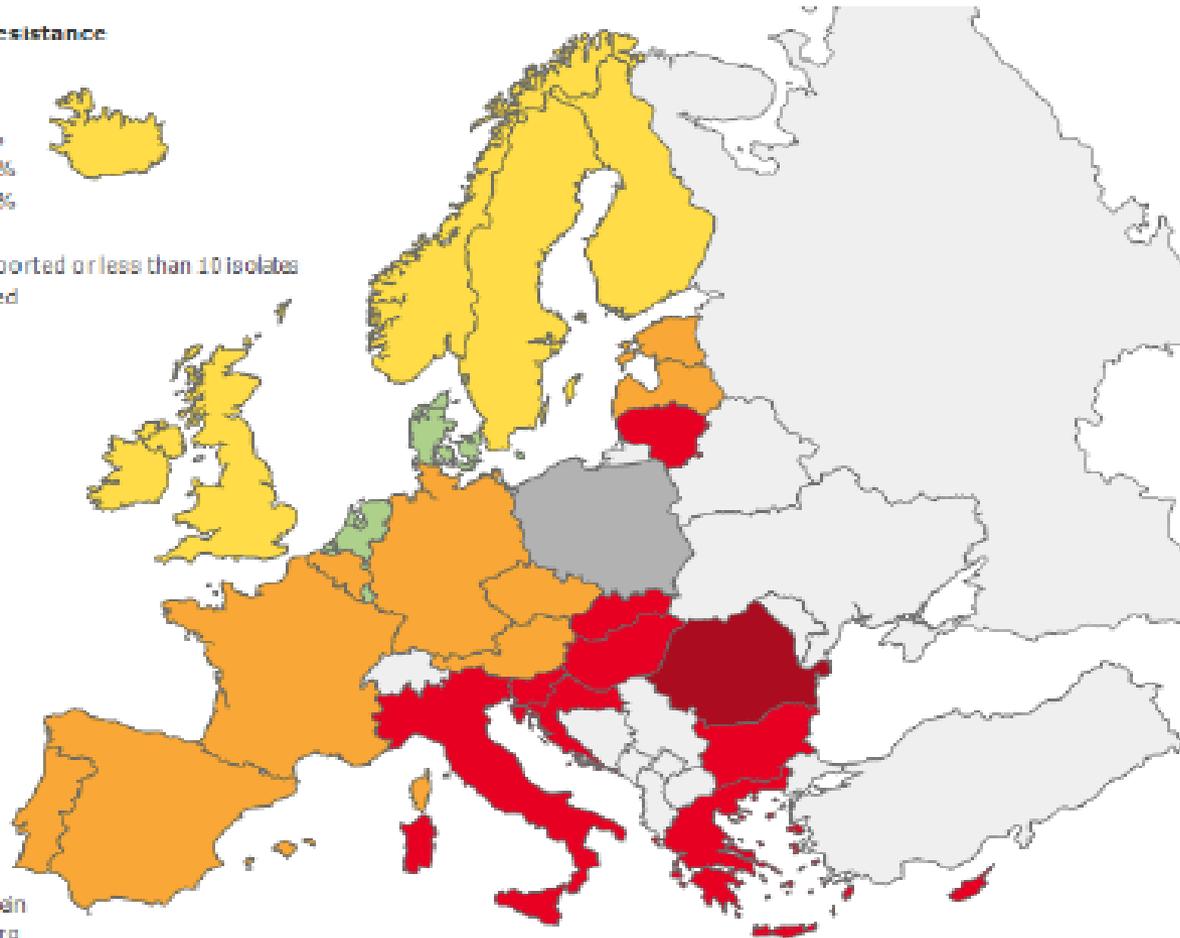


Proportion of Carbapenems Resistant (R) *Pseudomonas aeruginosa* Isolates in Participating Countries in 2014

Percentage resistance



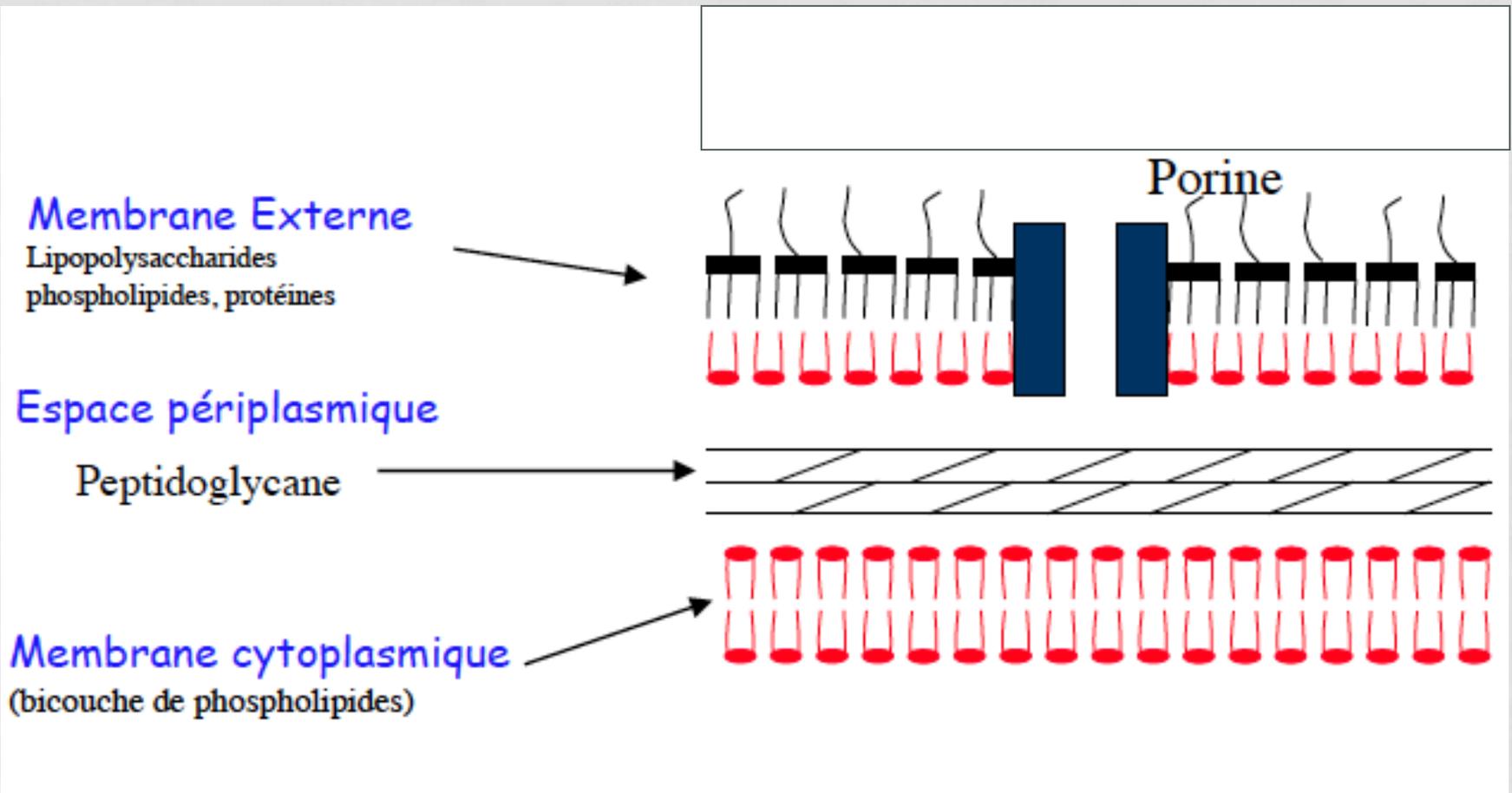
■ Liechtenstein
■ Luxembourg
■ Malta



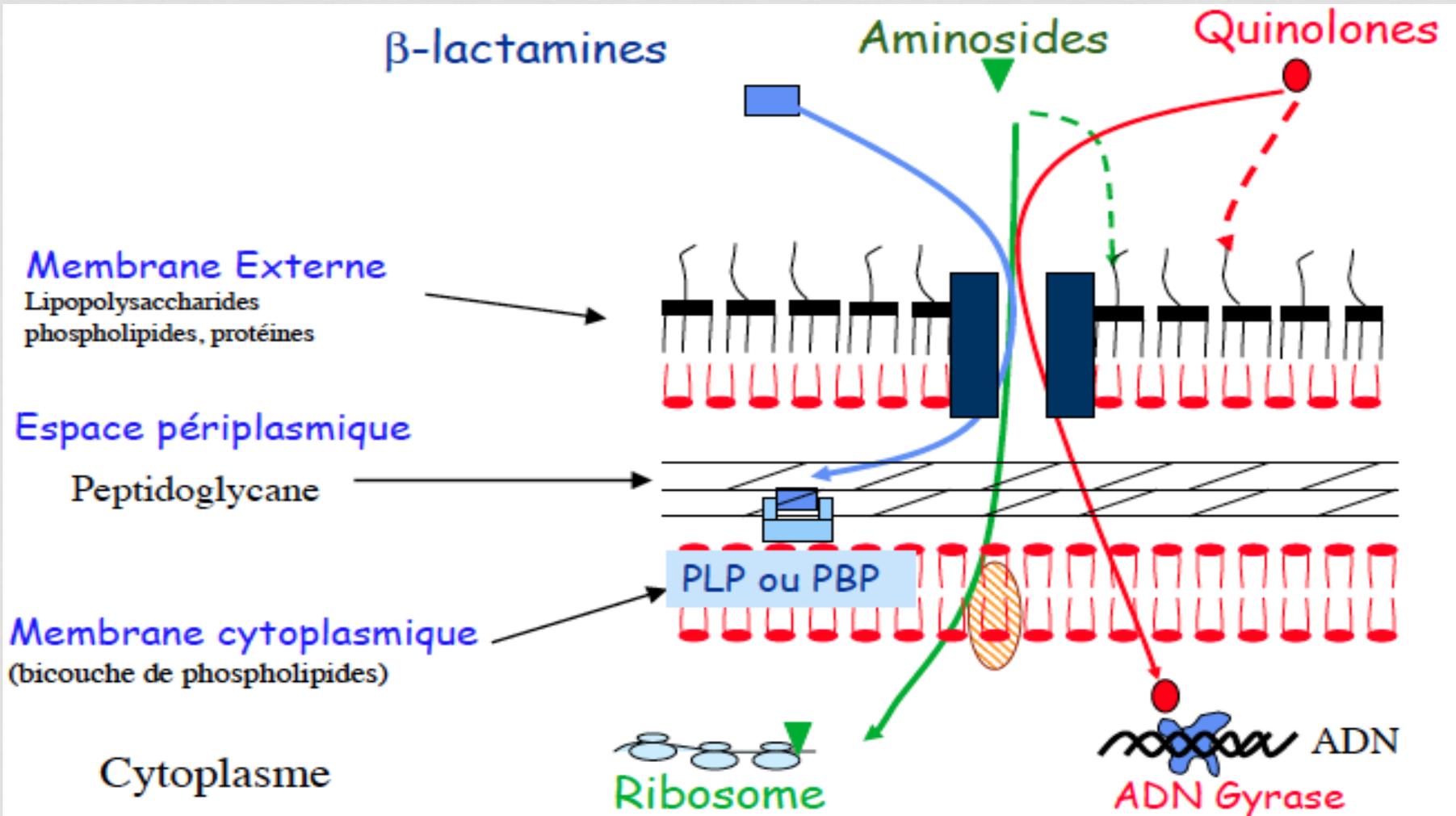
NIVEAUX DE RESISTANCE

- Résistance = possibilité de croître en présence d'une concentration d'antibiotique plus élevée que la concentration qui inhibe la majorité des souches de la même espèce
- Bas niveau de résistance = croissance stoppée par de faibles concentrations d'antibiotiques
- Haut niveau de résistance = croissance stoppée avec de fortes concentrations d'antibiotiques

LA PAROI DES BGN



PENETRATION ET CIBLE DES TROIS CLASSES D'ATB



ENZYMES INACTIVANT LES ATB

Les bétalactamases

LES BETA-LACTAMASES

- Pénicillinases : substrat **préférentiel** les pénicillines G, les aminopénicillines, les carboxypénicillines et les uréidopénicillines
- Céphalosporinases : hydrolysent **principalement** les céphalosporines de 1^{ère} génération, et certaines C2G, mais aussi les pénicillines G et les aminopénicillines



Spectre d'action plus étendu si
production de bétalactamases
importante

- Carbapénèmases : Classe A B et D

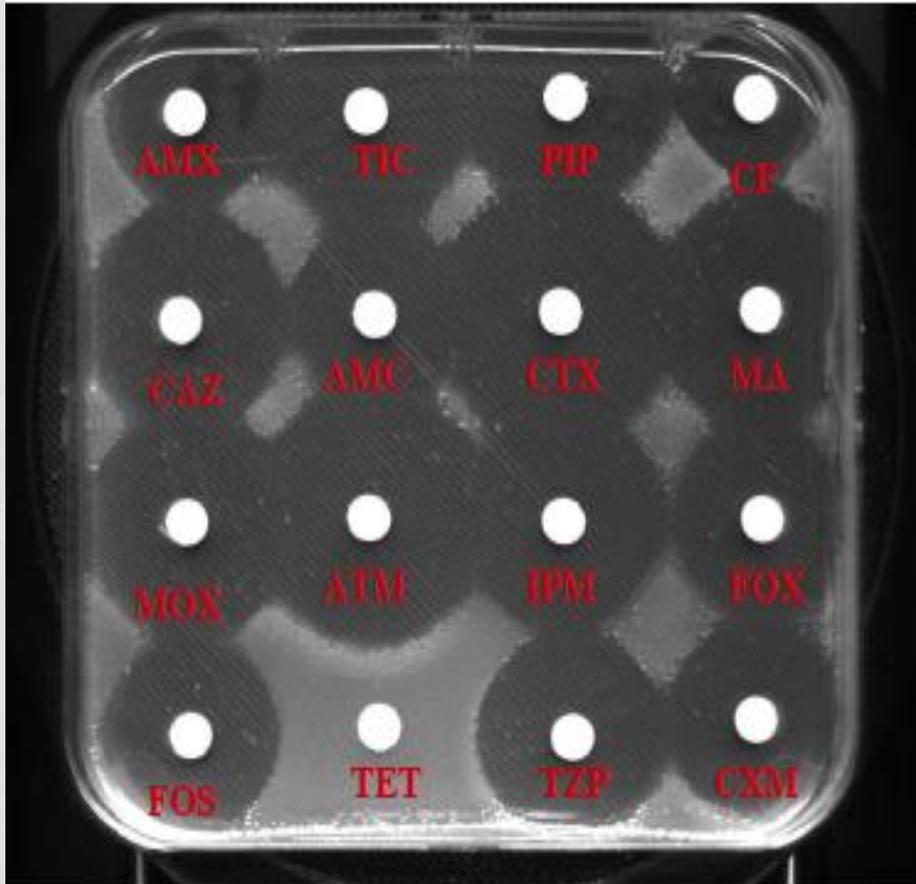
LES BETA-LACTAMASES DES BGN

- Plusieurs groupes, dénomination non consensuelle:
 - TEM du nom du malade chez qui on a isolé la première souche porteuse de ce type d'enzyme
 - SHV pour sulfhydril-variable
 - OXA hydrolysant l'oxacilline
 - PSE pseudomonas specific enzyme
 - PSE1 et PSE4 = CARB2 et CARB1 car action préférentielle sur les carboxypénicillines

LES BETA-LACTAMASES DES BGN

- Les TEM sont surtout présentes chez les entérobactéries
- Les pseudomonas produisent principalement des PSE ou des OXA
- Les pénicillinases sont inactivées par les inhibiteurs
- En 1991 isolement de E Coli résistant à l'association amoxicilline + acide clavulanique → mutation sur le gène codant la bétalactamase TEM = TRI

E COLI S - E COLI IRT



E Coli sauvage



E Coli IRT

PENICILLINASES CHROMOSOMIQUES

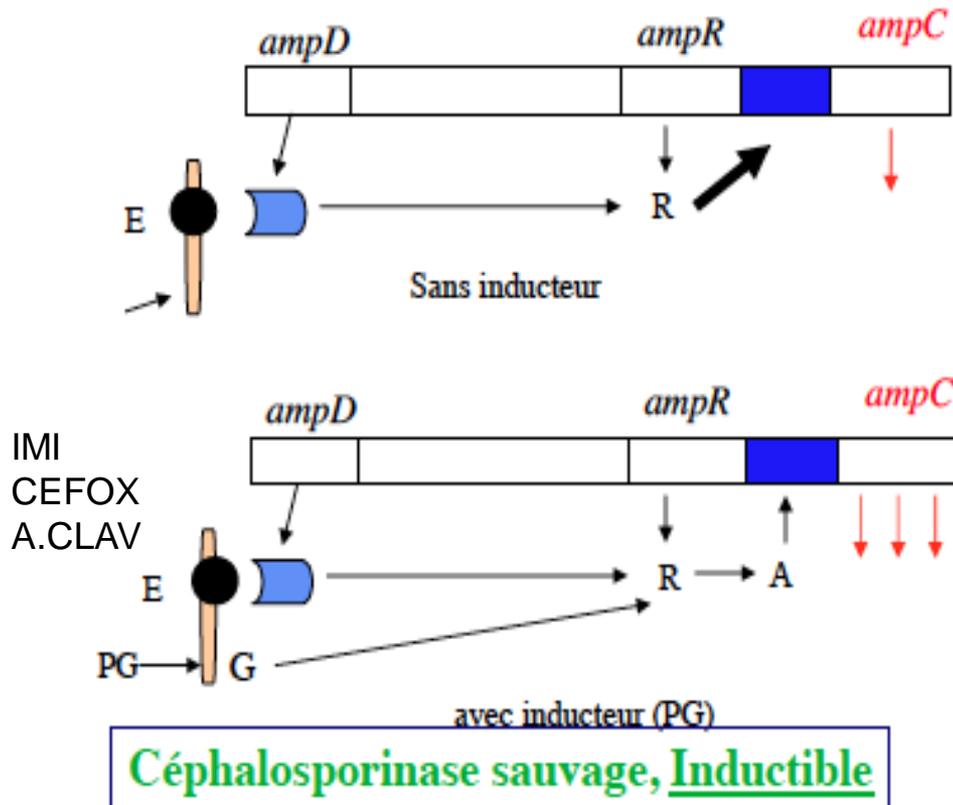
- Spécifiques des espèces *Klebsiella* et *Levinea*
- Pénicillinases constitutives type SHV1
- Résistance **naturelle** aux pénicillines A et aux carboxypénicillines
- Bas niveau de production = sensibilité aux autres BL
- Sensibles aux inhibiteurs

LES CEPHALOSPORINASES

- Gène chromosomique
- Localisation périplasmique
- Produites à bas niveau par : Enterobacter, Citrobacter, Proteus, Providencia, Morganella, Pseudomonas, Acinetobacter, Serratia
- Résistance aux aminopénicillines et C1G
- N'altèrent pas la sensibilité C2G, C3G, acyluréidopénicillines, monobactams et carbapénèmes.

CEPHALOSPORINASE INDUCTIBLE

Système de régulation inductible faisant intervenir 5 gènes : *ampC*, *ampD*, *ampR*, *ampG*, et *ampE*

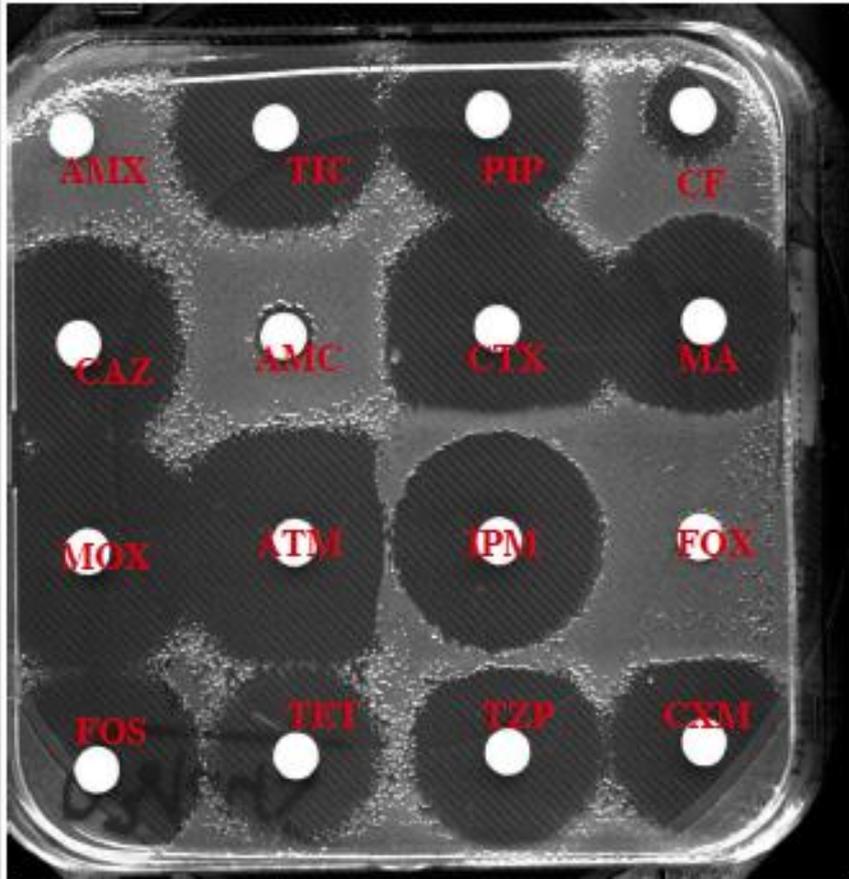


Céphalosporinase inductible : IPM = Imipénème, CAZ = Cefazidime

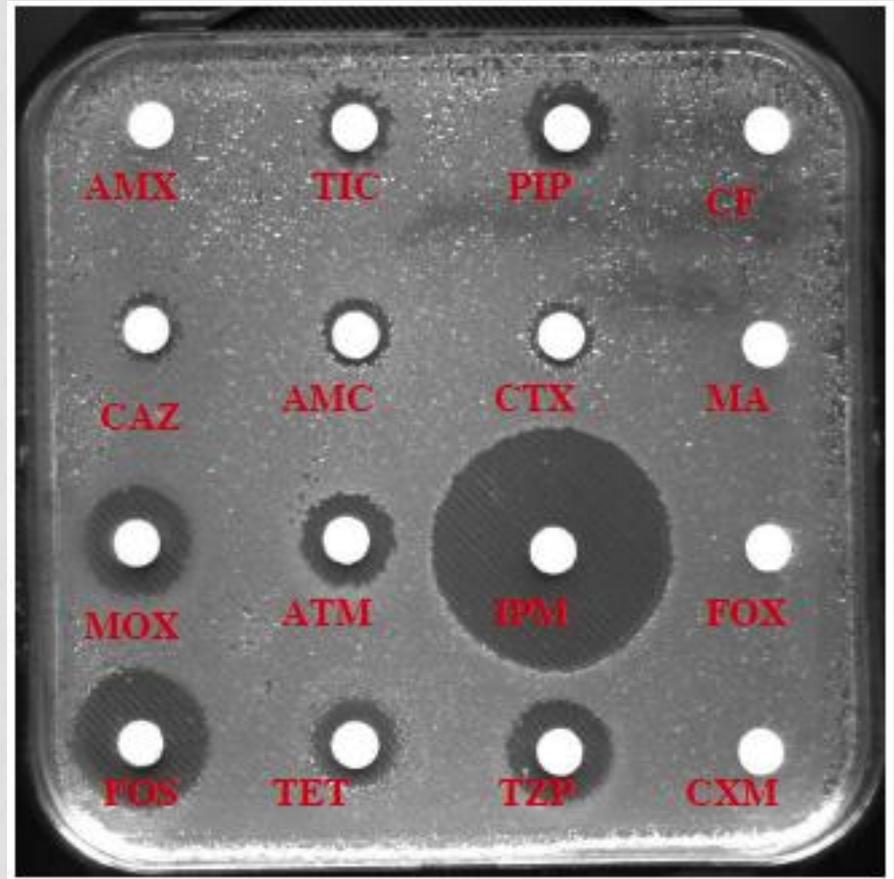
CEPHALOSPORINASE DÉREPRIMÉE

- Perte (par mutation) du contrôle de la production de céphalosporinase
- *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*
- Résistance à toutes les BL sauf les aminopénicillines et les carbapénèmes
- Mutation en cours de traitement adapté → Echec thérapeutique

ENTEROBACTER CLOACAE



Céphalosporinase sauvage



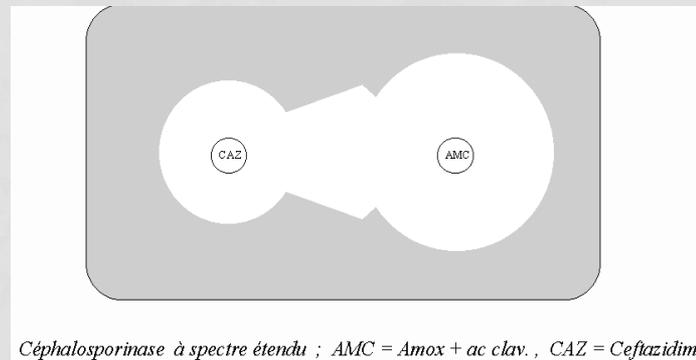
Céphalosporinase déréprimée

CEPHALOSPORINASE CHEZ E COLI

- 7 % des souches
- Céphalosporinase non inductible
- Mutation → augmentation de la production de la céphalosporinase naturelle chromosomique
- Inactive les pénicillines A, les C1G et la céfoxitine
- C2G , C3G, aztréonam et pénèmes actifs
- Carboxy et uréidopénicillines activité légèrement diminuée mais suffisante

BETALACTAMASES A SPECTRE ETENDU

- Plasmides modifiés TEM1, TEM2, SHV1 ou SHV2
- Hydrolysent toutes les bétalactamines sauf les céphamycines (in vitro) et l'imipenem
- Plasmidiques → transférables
- Sensibles aux inhibiteurs
- KP +++, Enterobacter, Citrobacter, E Coli



CARBAPENEMASES

- Classe A:
 - Chromosomiques: NmcA, Sme, IMI-1, SFC-1
 - Plasmidiques: KPC, IMI-2, GES
 - Hydrolyse des carbapénèmes
 - Partiellement inhibées par l'acide clavulanique
 - Multirésistance +++ surtout aux BL
 - KP ++, plus rarement E Coli

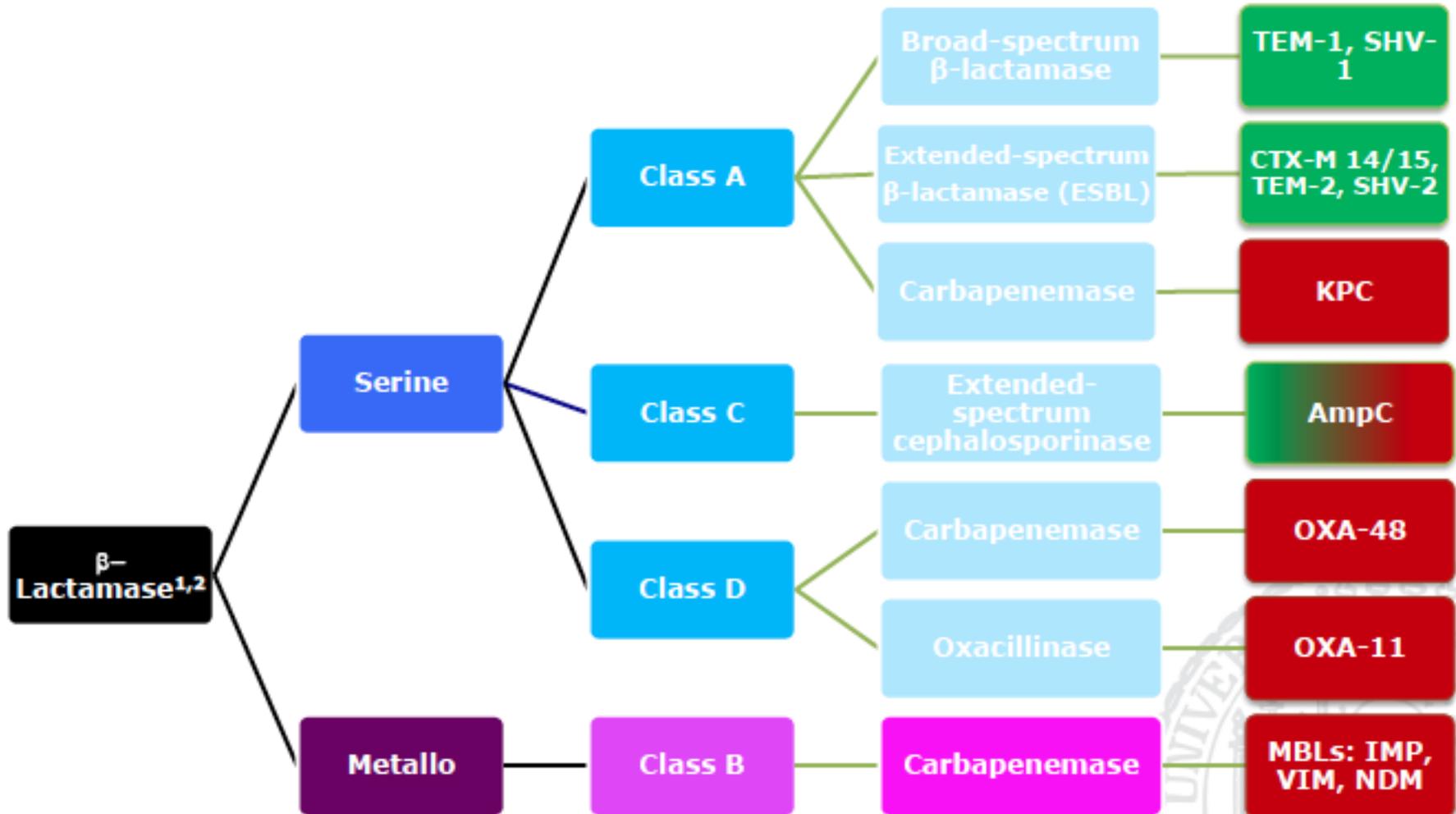
CARBAPENEMASES

- Classe B Metallo- β - Lactamases (MLBs)
 - Verona integron-encoded MLB (VIM) le plus fréquent, IMP, NDM-1
 - Hydrolysent toutes les BL sauf aztreonam
 - Activité inhibée par EDTA mais pas par l'acide clavulanique
 - Surtout KP +++, rarement E Coli
 - Réservoir = sous continent indiens > 1.4 millions de personnes

CARBAPENEMASES

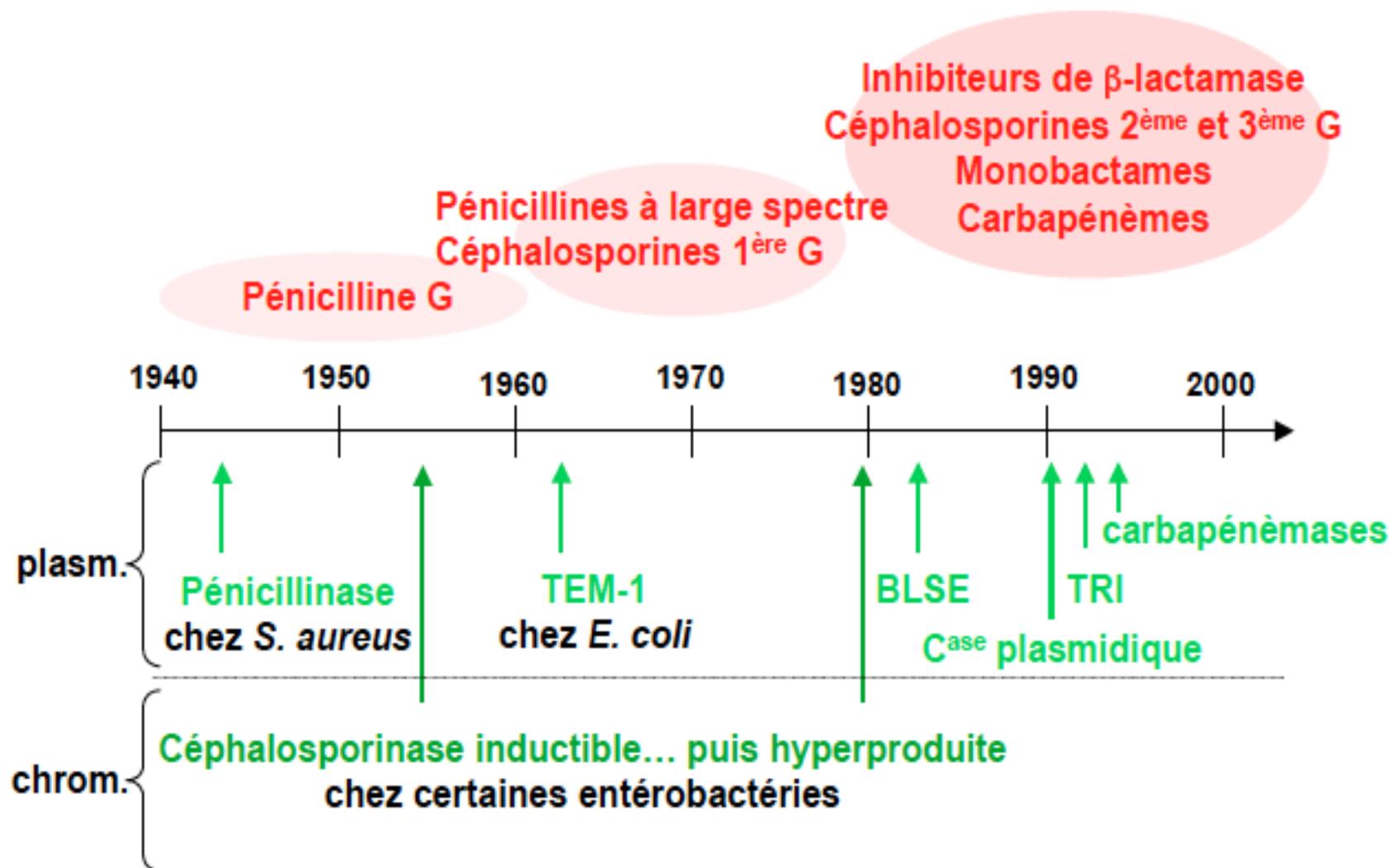
- Classe D , OXA -48
 - Plasmidique
 - Hydrolyse faible des carbapénèmes, l'aztréonam et des céphalosporines à large spectre
 - Non inhibées ni par EDTA ni par acide clavulanique
 - Le plus souvent KP et E Coli
 - Resistance souvent associée à BLSE et imperméabilité

« Betalactamasologie »



Evolution des β -lactamases

sous la contrainte des β -lactamines élaborées par l'industrie pharmaceutique



RESISTANCE NATURELLE DES ENTEROBACTERIES AUX B- LACTAMINES

0	Pas de β -lactamases	<i>Salmonella, Proteus mirabilis</i>
1	Céphalosporinase non exprimée (<i>ampC</i>)	<i>E. coli, Shigella sp.</i>
2	Pénicillinase chromosomique	<i>Klebsiella, C. diversus</i>
3	Céphalosporinase inductible (<i>ampC</i> chromosomique inductible)	<i>Enterobacter, Morganella, C. freundii, Hafnia, Serratia, Providencia</i>
4	<i>ampC</i> chromosomique inductible + pénicillinase chromosomique	<i>Yersinia enterocolitica, Serratia fonticola</i>
5	Céphalosporinase chromosomique inhibée par l'acide clavulanique	<i>Proteus vulgaris, Proteus penneri</i>
6	β -lactamase chromosomique à large spectre, inhibée par l'acide clavulanique	<i>Rahnella aquatilis Kluyvera spp.</i>

Acquisition de la résistance par des éléments mobiles

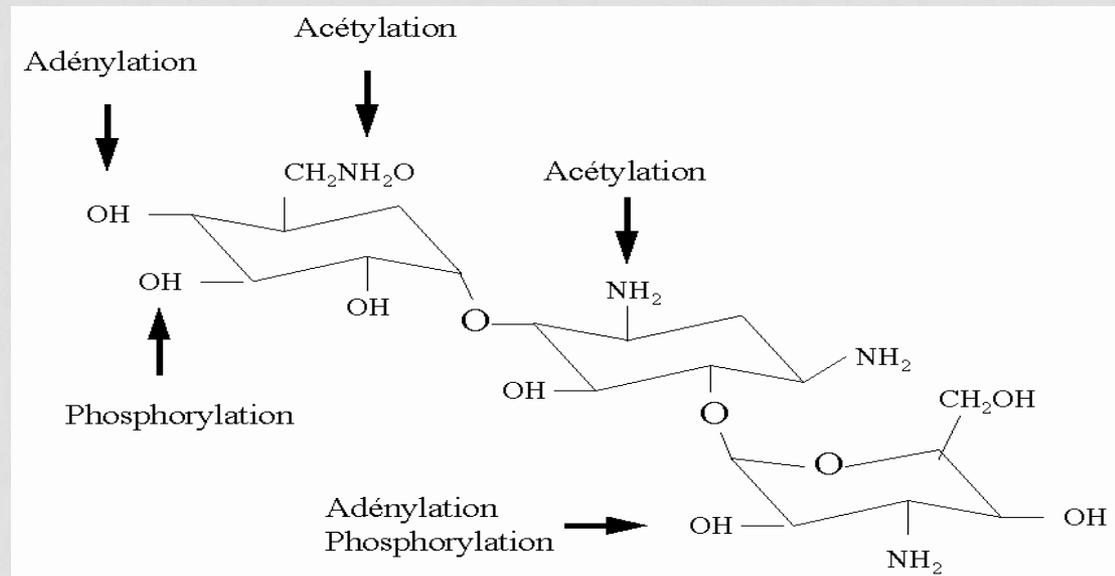
- Pénicillinase haut niveau : TEM, SHV..
Toutes les entérobactéries
- Résistances aux inhibiteurs : IRT (mutants résistants de TEM),
E. coli dans les urines
- β -lactamases à spectre élargi :
» mutants de TEM ou de SHV ex : TEM3 ou SHV2...
Klebsiella pneumoniae, *E. coli*, *Salmonella*, *E. aerogenes*
- β -lactamases à spectre large : +++++
» CTX-M
E. coli, *Salmonella*, *K. pneumoniae*, *C. freundii*...
- Céphalosporinases : CMY2, ACC....
K. pneumoniae, *Salmonella*, *E. coli*
- Carbapénémases : KPC, IMP, VIM,
K. pneumoniae, *E. cloacae*, *E. coli*...

ENZYMES INACTIVANT LES ATB

ENZYMES INACTIVANT LES AMINOSIDES

ENZYMES INACTIVANT LES AMINOSIDES

- Constitutives intracellulaires et non diffusibles
- Codées par un plasmide → transférables
- Ne modifient l'antibiotique qu'après sa pénétration dans la bactérie
- Une vingtaine de formes différentes; trois classes en fonction de la réaction qu'elles catalysent



Résistance par diminution de la
perméabilité

Résistance par diminution de la perméabilité

- Modifications quantitatives ou qualitatives touchant les porines
- Résistance acquise souvent croisées à plusieurs familles d'antibiotiques
- Concerne : Entérobactéries (E Coli, P. Mirabilis, E. Cloacae), Pseudomonas, haemophilus..
- Modification d'une porine spécifique → Pseudomonas R aux BL
- Concerne aussi les aminosides, les quinolones, sulfamides..

Résistance par modification de la
cible

Résistance par modification de la cible

- MODIFICATION DES PLP:
 - PLP = enzymes d'assemblage du peptidoglycane
 - Fixation BL aux PLP → inactivation → altération de la paroi
 - Résistance par diminution de l'affinité ou par augmentation de leur production
 - Concerne surtout les CGP

Résistance par modification de la cible

- MODIFICATION DE LA CIBLE RIBOSOMALE:
 - Liaison de l'ATB au ribosome → entrave à la synthèse protéique
 - Mutation → diminution de l'affinité du site de fixation de l'ATB
 - Résistance aux tétracyclines, macrolides, fucidine.. Rarement les aminosides

Résistance par modification de la cible

- Altération de la synthèse des acides nucléiques:
 - Quinolones paralysent activité de l'ADN gyrase
 - Mutation rendant les enzymes insensibles à ces ATB
 - Rifamycines bloquent l'ARN polymérase (transcriptase)
 - Mutation → transcriptase modifiée

PRINCIPAUX MECANISMES DE RESISTANCE

	β -lactamines	Aminosides	Quinolones
<ul style="list-style-type: none"> ■ Défaut de pénétration de l'antibiotique <ul style="list-style-type: none"> Porines Membrane Interne (Transport actif) 	+ /	+ +	+ /
<ul style="list-style-type: none"> ■ Inactivation par des enzymes <ul style="list-style-type: none"> Hydrolytique Modificatrice 	<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">+++</div> /	/ <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">+++</div>	/ /
<ul style="list-style-type: none"> ■ Diminution de l'affinité de la cible 	(+)	+	<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">+++</div>
<ul style="list-style-type: none"> ■ Efflux actif 	+	+	++

PRINCIPALES BGN MDR

- ***Pseudomonas aeruginosa***

- AmpC production, efflux pumps (MexAB-OprM, etc), outer membrane porin changes (i.e., loss of OprD), Metallo-Beta-Lactamase production (e.g., *bla*_{VIM}, *bla*_{IMP}), *gyrA/parC* mutations, aminoglycoside-modifying enzymes (AME), ESBL/KPC production

- **Enterobacteriaceae (*Klebsiella* species, *E. coli*, *Enterobacter* species)**

- **ESBL, Klebsiella-producing-carbapenemase (KPC-2, -3, -4, etc.) production, New Delhi Metallo-Beta-Lactamase (NDM-1, -2), VIM, IMP, AmpC, outer membrane porin changes, plasmid mediated quinolone resistance gene (*qnrA*)**

- ***Acinetobacter* species**

- AmpC, ESBL (TEM-1, SHV-type, CTX-M-type), and serine (*bla*_{OXA}) and metallo (*bla*_{VIM}, *bla*_{IMP}) carbapenemase production, outer membrane porin changes, AME, *gyrA/parC* mutations, efflux pumps

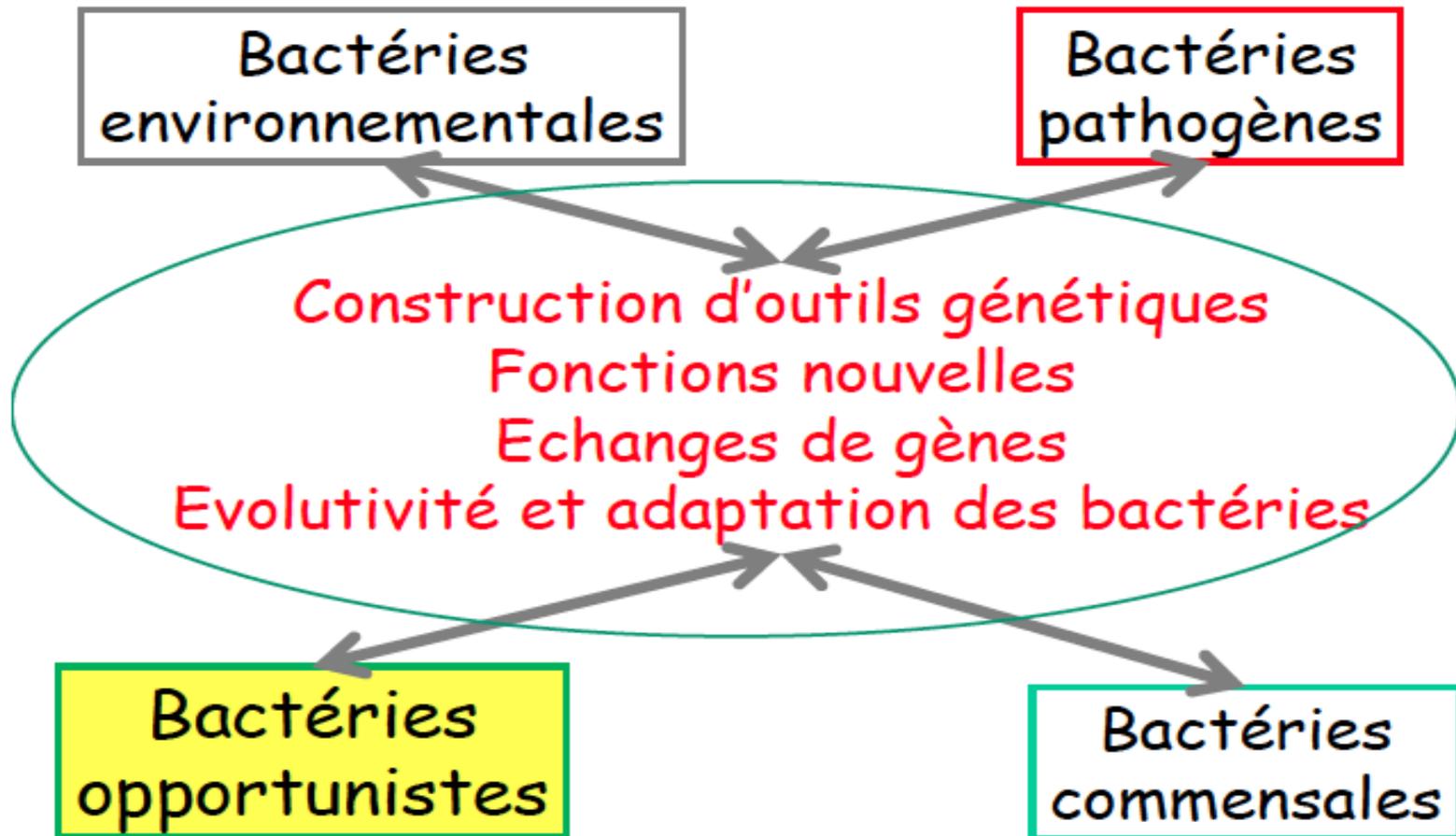
- **Other multidrug resistant, non-fermentative bacteria**

- *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia* complex

AU TOTAL

- La pression de sélection par les antibiotiques n'est qu'un « avatar » de plus...
- Les solutions de résistance étaient déjà toutes trouvées ou presque...
- Les bactéries se sont facilement « adaptées »
- Il n'y a pas une bactérie de plus sur terre (ni probablement une de moins) qu'avant l'utilisation des antibiotiques....

PRESSION DE SELECTION



ATTENTION

- Phénomène massif:

- Homme
- Animal
- Agriculture



- Phénomène évolutif:

- La consommation s'accroît régulièrement
- Et entraîne un accroissement de la résistance

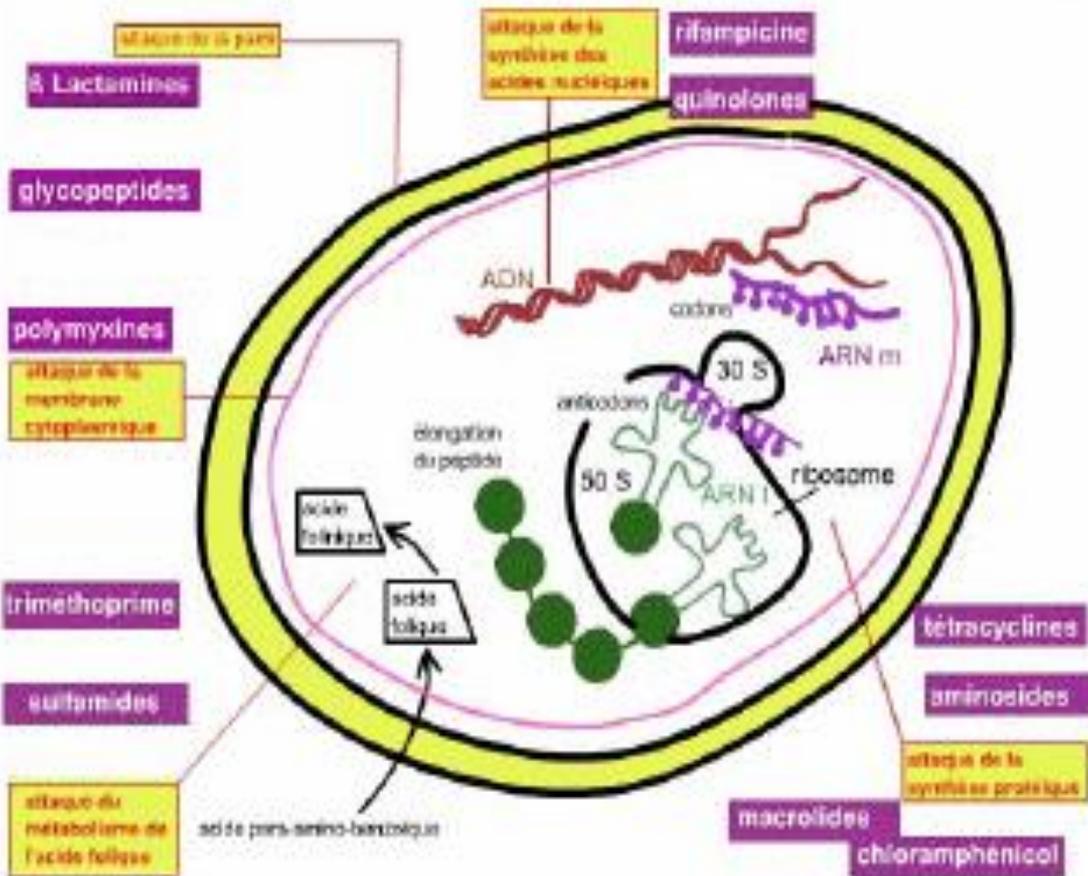
MERCI POUR VOTRE
ATTENTION

C'est les microbes qui
auront le dernier mot! *

(Pasteur)



MODES D'ACTION DES ATB



- Synthèse du peptidoglycane
- Altération de la paroi
- Sur la synthèse des protéines
- Sur la synthèse des acides nucléiques
- Sur le métabolisme intermédiaire

MODES D'ACTION DES ATB

