

La résistance aux antimicrobiens

4.1. Généralités

En général, la résistance aux antibiotiques est un caractère propre à la bactérie qui, en tant que tel, s'exprime par la synthèse ou non de protéines. Elle intervient grâce à deux événements génétiques majeurs bien distincts (Bryan, 1998). Elle peut être naturelle, souvent d'origine chromosomique, ou peut être due à une mutation ou à un transfert horizontal d'éléments génétiques mobiles tels que les plasmides, les intégrons et les transposons, on parle dans ce cas, de résistances acquises:

- ✓ Dans la résistance naturelle, l'antibiotique n'a pas de cible ou ne peut pas l'atteindre : la pénétration de l'antibiotique est empêchée (membranes imperméables, absence d'un système de transport) ou inactivée (présence de beta-lactamases chromosomiques). Cette résistance est une caractéristique intrinsèque de la bactérie.
- ✓ Dans la résistance induite par mutation, une altération du chromosome entraîne la synthèse des protéines modifiées, rendant par exemple les membranes imperméables, ou alors le système de transport devient inaccessible à l'antibiotique, ou encore la dérégulation des bêta-lactamases et une modification de la cible (enzyme ou ribosome) qui ne peut plus fixer l'antibiotique.
- ✓ Dans la résistance d'origine plasmidique, l'acquisition d'une information génétique supplémentaire permet la synthèse de protéines additionnelles, dont la présence modifie la structure des membranes ou, dont l'activité enzymatique se révèle capable de modifier la cible ou d'inactiver l'antibiotique. Tout comme le chromosome, le plasmide, élément génétique autonome peut aussi subir des mutations (par exemple l'apparition des beta-lactamases modifiées qui ne sont plus inactivées par les beta-lactamines) (Roy, 2001 ; Seyfarth and Schicklmaier, 1999).

Pour le clinicien comme pour l'épidémiologiste, seuls les mécanismes de résistances acquis sont pertinents. Ce sont ces mécanismes de résistance qui nécessitent d'être détectés et surveillés et seulement eux seront adressés dans la suite de ce document.

4.2. Mécanismes de résistance aux antimicrobiens

Les protéines mises en cause dans cette résistance aux antibiotiques sont le plus souvent spécifiques d'une classe d'antibiotiques et peuvent être responsables de résistance multiples aux antibiotiques ou MDR (multidrug resistance). Depuis l'avènement de l'antibiothérapie, l'utilisation des antibiotiques semble s'accompagner inexorablement de l'émergence de bactéries résistantes. Cette résistance peut être le résultat de mutations spontanées, avec activation ou modification de déterminants chromosomiques, déjà présents dans le génome bactérien, ou la conséquence de l'acquisition de gènes situés sur des éléments génétiques mobiles. Ces résistances peuvent avoir un spectre étroit, limité à un ou quelques antibiotiques de structure voisine, mais on observe, depuis plusieurs années, l'émergence de mécanismes de résistances croisées à des médicaments de structures et de modes d'actions différents. Les bactéries sont ainsi parvenues à développer trois types de mécanismes de résistances aux antibiotiques :

- ✓ Le premier résulte de la production d'enzymes inactivatrices des antibiotiques (ex : β -lactamases) (tableau 19).

- ✓ Le deuxième consiste en la modification des cibles des antibiotiques empêchant l'action de ces derniers, comme par exemple la résistance aux fluoroquinolones par modification des topoisomérases de classe II (tableau 20).
- ✓ Enfin, le troisième mécanisme est la réduction des concentrations intracellulaires d'antibiotiques (tableau 21). Ce dernier phénomène peut être dû à une imperméabilité (ex : résistance à l'imipénème par modification ou perte de la porine OprD chez *Pseudomonas aeruginosa*) et/ou à un transport actif vers l'extérieur de la cellule, via des transporteurs membranaires appelés pompes d'efflux (Casin *et al.*, 1999 ; Cattoir, 2004 ; Giraud, *et al.*, 2000).

Tableau 19 : Mécanismes de résistance aux β -lactamines (Frye et Fedorka-Cray, 2007)

Gènes	Déterminant génétique	Mechanisme (s)	Phénotype de résistance
Chromosome ou plasmide	Gènes codant la β -lactamase	inactivation enzymatique	Les β -lactames (les types et niveau d'expression des β -lactamases déterminant la résistance aux β -lactames individuelles)
Chromosome	Gènes codant pour le PLP	Cibles d'altérations	Les β -lactames
Chromosome	Gènes codant pour la pompe d'Efflux	Efflux Actif dû à la sur-expression de la pompe d'efflux MDR	Multiple antibiotiques incluant les β -lactames
Chromosome	Gènes codant pour les Porines	Diminution de l'Efflux dû à la perte des porines	Multiple antibiotiques incluant les β -lactames
Chromosome	Gène <i>oprD</i> de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> codant une chaîne protéique spécifique	Diminution de l'Efflux dû à la perte des <i>oprD</i>	Les Carbapénèmes, les β -lactames

Tableau 20 : Mécanismes biochimiques de résistance aux antibiotiques (Bryan, 1998)

Antibiotiques	Résistance chromosomique	Résistance extra-chromosomique
Aminosides	Diminution de la perméabilité Modification de la cible (protéine S12 de la sous-unité 30 S)	Inactivation enzymatique par des acétyltransférases, des nucléotidyltransférases et des phosphotransférases
Bêta-lactamines	Diminution de la perméabilité Diminution d'affinité des PLP Augmentation de la synthèse des PLP Synthèse de nouvelles PLP Inactivation enzymatique par des céphalosporinases	Inactivation enzymatique par diverses bêta-lactames
Glycopeptides		Modification de la cible (synthèse de D-alanine-D-lactate au lieu du dipeptide D-alanyl-D-alanine) Hydrolyse du dipeptide D-alanyl-D-alanine
Macrolides et apparentés		Méthylation de l'ARNr 23S
Phénicolés	Diminution de la perméabilité	Efflux actif spécifique Inactivation enzymatique par des chloramphénicol acétyltransférases
Quinolones	Diminution de la perméabilité Modification de la cible (gène <i>gyrA</i> , <i>gyrB</i> ou <i>parC</i>)	
Rifampicine	Modification de la cible (ARN polymérase ADN dépendante)	
Sulfamides	Diminution de la perméabilité Modification par mutation de la dihydroptéroate	Dihydroptéroate synthétase additionnelle et sans affinité pour les sulfamides
Tétracyclines	Diminution de la perméabilité	Efflux actif spécifique
triméthoprime	Diminution de la perméabilité Modification par mutation de la dihydrofolate réductase	Dihydrofolate réductase additionnelle et insensible au triméthoprime

Tableau 21: Mécanismes d'efflux dans la résistance bactérienne aux antibiotiques (Cattoir, 2004)

Antibiotique	Cible bactérienne	Mécanismes de résistance			
		Inactivation enzymatique	Modification de la cible	Imperméabilité cellulaire	Efflux actif
Inhibition de la synthèse de la paroi (peptidoglycane)					
β-Lactamines	PLP ^a	+++	++	++	++
Glycopeptides	Précurseurs D-Ala-D-Ala ^b		+++		
Inhibition de la synthèse protéique					
Aminosides	ARN ribosomal 30S	+++	++	+	+
MLS	ARN ribosomal 50S	+	+++		++
Tétracyclines	ARN ribosomal 30S		++		+++
Phénicolés	ARN ribosomal 50S	++			++
Oxazolidinones	ARN ribosomal 50S		++		
Inhibition de la synthèse ou du fonctionnement de l'ADN					
Fluoroquinolones	Topoisomérases		+++		++
Rifamycines	ARN polymérase		+++		+
Sulfamides	DHFS ^c		++		+
Triméthoprim	DHER ^d		++		+

a = Protéine liant les pénicillines ou protein bindin penicillin (PBP) ; *b*= Précurseurs pentapeptidiques du peptidoglycane constitués d'un motif D-Ala-Ala ; *c*= Dihydrofolate synthase ; *d*= Dihydrofolate réductase ; MLS= Macrolides, Lincosamides, Streptogramines.

4.3. Modalités d'acquisition de résistance

Plusieurs mécanismes de transfert vertical et horizontal entre bactéries, de gènes codant la résistance aux antibiotiques, ont été décrits. Les mécanismes de transfert horizontal de gènes s'effectuent généralement entre une bactérie donneuse et une bactérie receveuse. Parmi ces modalités, on rencontre les processus de transformation, de transduction, de conjugaison et de mutation. Ce transfert entre bactéries implique donc l'intervention d'éléments génétiques mobiles, tels que les plasmides, les transposons et les intégrons qui jouent un rôle prépondérant dans la dissémination des résistances (Roy, 2001).

4.3.1. La transformation

Elle intervient à la suite de la fixation et de l'absorption par une bactérie réceptrice, dite compétente, de l'ADN libre présent dans l'environnement. L'ADN exogène absorbé se recombine avec l'ADN de la receveuse dont le résultat est l'apparition de nouveaux caractères génétiques stables. Ce phénomène semble toute fois rare, à cause de la dénaturation rapide de l'ADN libre dans l'environnement (Winokur *et al.*, 2001).

4.3.2. La transduction

La transduction s'observe surtout entre les souches appartenant à une même espèce bactérienne. Elle correspond à un transfert partiel d'ADN bactérien grâce aux bactériophages. Plusieurs études ont montré que, *Salmonella* Typhimurium DT104 pouvait transférer de manière efficace ses gènes de résistance par transduction. Ce phénomène est peut être à l'origine du transfert de SGI1 (*Salmonella* genomic island 1) au sein du genre *Salmonella* (Gebreyes et Thakur, 2005 ; Mulvey *et al.*, 2006).

4.3.3. La conjugaison

Elle s'effectue par contact préalable entre une bactérie donneuse et une bactérie receveuse, permettant ainsi le transfert du matériel génétique plasmidique. Le transfert de plasmide peut intervenir entre deux espèces différentes comme *Salmonella* et *Escherichia*

pour le gène codant la résistance aux céphalosporines *cmy-2*, ou à l'intérieur d'une même espèce (Schwarz et Chaslus-Danclas, 2001 ; Winokur *et al.*, 2001).

4.3.4. La mutation

L'apparition de mutations est un phénomène rare (de l'ordre de 10^{-6} à 10^{-12}) et très spontané (Catry *et al.*, 2003). Une résistance acquise par mutation se transmet verticalement au sein du clone bactérien et peut conférer aux bactéries la capacité de résister à l'action de certains antibiotiques (Peyret, 1994).

4.4. La mesure de la résistance aux antimicrobiens

L'antibiogramme est conçu pour prédire la sensibilité des bactéries aux antibiotiques. Il permet de classer une souche pathogène en catégorie clinique sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R). L'antibiogramme sert également à la surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne et peut orienter l'identification bactérienne par la mise en évidence de résistances naturelles. Différentes techniques sont utilisées dont la plus courante est la méthode de diffusion en milieu gélosé, pour évaluer l'activité inhibitrice de plusieurs anti-infectieux représentatifs des principales familles d'antibiotiques sur une souche bactérienne, en mesurant les diamètres d'inhibition autour de disques chargés en antibiotique.

La surface d'un milieu de culture (en général Mueller-Hinton), estensemencée en nappe avec une culture bactérienne pure, un disque de papier buvard imprégné d'antibiotique est ensemencé sur la surface de la gélose qui commence à diffuser au sein de la gélose, en créant un gradient de concentration décroissant au fur et à mesure que l'on s'éloigne du disque, après incubation de 18-20 heures. Le diamètre d'inhibition suit une loi inverse à la valeur de la CMI (concentration minimale inhibitrice).

- ✓ Si le diamètre mesuré est inférieur au diamètre critique inférieur, la souche est résistante.
- ✓ Si le diamètre mesuré est supérieur ou égal au diamètre correspondant au seuil critique supérieur, la souche est sensible.
- ✓ Si le diamètre est compris entre les deux valeurs, la souche est considérée comme intermédiaire.

Ces règles sont applicables selon les recommandations relatives à la technique et aux modalités d'interprétation suivies par des référentiels nationaux tels que : Le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie pour la France (CA-SFM), le Clinical and Laboratory Standards Institute pour les Etats-Unis (CLSI) , le British Society of Antimicrobial Chemotherapy pour la Grande Bretagne (BASC) et le Deutsches Institut für Normung (DIN) pour l'Allemagne (EFSA, 2007).

4.5. *Salmonella* et résistance aux antimicrobiens

Salmonella est naturellement sensible à tous les antibiotiques habituellement efficaces sur les bactéries à Gram négatif.

La résistance aux antibiotiques chez *Salmonella* est devenue, ces dernières décennies, matière à inquiétude pour la santé publique dans le monde (Weill *et al.*, 2004c). C'est à partir de 1997, que l'OMS signalait l'augmentation alarmante de l'incidence de souches de *Salmonella* non typhiques résistantes aux antibiotiques (WHO, 1997).

En 2002, plusieurs études comparatives de la résistance aux antibiotiques chez *Salmonella* non typhiques d'origine humaine, animale ou environnementale réalisée dans l'UE et à travers d'autres continents a montré des niveaux de multi-résistances très inquiétants (Boerlin et Reid-Smith, 2008 ; Cobbold *et al.*, 2006 ; Lauderdale *et al.*, 2006).

L'analyse de la sensibilité aux antimicrobiens des souches humaines du sérotype Typhimurium a montré des niveaux élevés et stables de multi-résistance depuis 1993. Il s'est avéré que cette multi-résistance est due à la présence d'un clone particulier, individualisé grâce à son lysotype DT104. Ce clone a intégré dans son chromosome, un îlot génomique de 43 kb, appelé *Salmonella* Genomic Island 1 (SGI1), dont une partie porte les différents gènes impliqués dans la résistance à l'ampicilline (A), *bla*_{PSE-1}, à la streptomycine (S) et à la spectinomycine, *aadA1*, au chloramphénicol (C), *floR*, aux sulfamides (Su), *sul1*, et aux tétracyclines (T), *tetG*, d'où son nom de clone «penta-résistant» ou «ACSSuT» (Cloeckaert *et al.*, 2007 ; Mulvey *et al.*, 2006 ; Weill, 2009). Il a d'abord émergé au Royaume-Uni dès 1989 dans le bétail, puis chez les volailles, moutons, porcs et chevaux et enfin chez l'homme. Il a ensuite disséminé en Amérique du Nord et dans plusieurs pays européens (Aarestrup *et al.*, 2007 ; Casin *et al.*, 1999 ; Glynn *et al.*, 1998 ; Threlfall *et al.*, 2003).

Salmonella Enteritidis, sérotype prédominant chez l'homme jusqu'en 2004 en France, est resté majoritairement multi-sensible aux antibiotiques sur la période 1993 à 2004, tandis que le sérotype Hadar, souvent retrouvé dans la filière avicole, présentait des niveaux élevés de multi-résistance aux antibiotiques (Weill, 2009).

Ces dernières années, de plus en plus de sérotypes de *Salmonella* ont acquis des résistances diverses à plusieurs familles d'antibiotiques tels que les beta-lactamines (Weill *et al.*, 2004), les aminosides, les quinolones (Cloeckaert et Chaslus-Dancla, 2001), les fluoroquinolones (Walker *et al.*, 2000), les céphalosporines, etc., molécules de choix lorsqu'un traitement s'avère nécessaire lors des infections systémiques à *Salmonella* (Stevens *et al.*, 2006 ; Threlfall, 2002 ; Weill, 2009).

Depuis 2000, c'est le cas de *Salmonella* Kentucky résistante à haut niveau aux fluoroquinolones, qui a été identifiée chez l'homme en France, au Danemark, en Grande-Bretagne et aux USA. Les patients étaient le plus souvent de retour d'un voyage au Maghreb. Cette souche appelée ST198 serait apparue dans les années 90 en Egypte, aurait ensuite acquis petit à petit tous ses déterminants de multi-résistance dont la résistance à la ciprofloxacine en 2000. Ensuite elle semble s'être disséminée rapidement à l'ensemble du continent africain à partir de 2005, puis au Moyen-Orient et maintenant en Asie (Le Hello *et al.*, 2011, Guillon *et al.*, 2013). Elle a également été détectée dans des élevages de volaille : des poulet en Ethiopie en 2007 (Le Hello *et al.*, 2011), des poules pondeuses en Algérie en 2009 (Bouzidi *et al.*, 2011), des dindes au Maroc dès 2006 (Bouchrif *et al.*, 2008) et en Pologne en 2010 (Wasyl *et al.*, 2012). Devant l'émergence mondiale de cette souche hautement résistante aux antibiotiques, plusieurs microbiologistes dont Le Hello *et al.* (2013), suggèrent d'inclure cette souche à la liste des sérotypes ciblés par les programmes de contrôle et d'éradication des salmonelles en filière avicole.