

REPUBLIQUE ALGERIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITÉ SAAD DAHLEB-BLIDA-

FACULTÉ DE MEDECINE



DÉPARTEMENT DE PHARMACIE

MACROLIDES ET RESISTANCES AUX ANTIBIOTIQUES

THÈSE

Pour l'Obtention du Diplôme de docteur en Pharmacie

Présenté par :

– M^{elle} Bouadi Nassira

- M^{elle} M'hisset khaoula.

Encadré par : Dr. H. FAROU

Assistant en anesthésie-réanimation

Soutenu le: 07/10/2021

Membres du jury :

La présidente : DR. BENOUAR.S. Maitre assistante en biochimie médicale.

L'examinatrice : DR. BENAMARA.M. Maitre assistante en microbiologie médicale.



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سبحانك لا علم لنا إلا ما علمتنا
إنك أنت العليم الحكيم

سورة البقرة: الآية 31

Remerciements

A mon Dieu le tout puissant: Qui nous a toujours soutenues et fortifiées dans notre parcours scolaire. C'est à Dieu que je dois ce succès aujourd'hui, à lui soit la gloire

À notre encadreur qui a proposé le thème de cette thèse Nous avons eu le grand plaisir de travailler sous votre direction, nous vous remercions de nous avoir guidées

Nous tenons également à remercier les membres de jury pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant de juger notre travail

Nos remerciements vont particulièrement à Dr. M. Benamara ayant accepté de faire partie des membres de jury. Nous sommes très honorées de sa présence, qu'elle trouve ici le témoignage de notre profonde reconnaissance.

En fin, nous remercions toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.

Merci à toutes et à tous





Dédicaces

A mes parents, Belgacem et Fatma

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'estime, le respect et l'amour éternel que je vous porte. Vous avez toujours été le meilleur exemple à suivre pour vos qualités humaines, votre persévérance et votre sérieux. Ce travail soit le gage de ma reconnaissance et de ma gratitude. Que Dieu le Tout Puissant puisse vous bénir, vous accorder une longue vie.

A mes Très Chères Sœurs: Khadîdja, Asma: Je ne peux exprimer à travers ses lignes tous mes sentiments d'amour et de tendresse envers vous. Je vous souhaite la réussite dans votre vie, avec tout le bonheur qu'il faut pour vous combler. Merci pour votre soutien et vos encouragements tout au long de mes études.

A mes très chères frères Boulafaa, Abdelkader, Ahmed et Karim : qui n'ont jamais cessé de prier pour moi, qui ont toujours été à mes côtés et m'ont tendu la main dans les moments les plus difficiles. Acceptez donc ici l'hommage de ma gratitude et mon grand merci.

A mes chers nièces et neveux Ashraf, Bahaa Eldine, Seujoud, Sidra et Belgacem : je vous aime beaucoup et que dieu vous protège

Aux maris de mes sœurs Makki et Miloud et aux femmes de mes frères Thlidja, Zakraouia et Manina : je vous souhaite la réussite dans votre vie avec tout bonheur, santé et du succès

A toute ma famille paternelle et maternelle « Bouadi et M'hisset » : mes chers oncles, tantes, cousins et cousines, vous avez de près ou de loin contribué à ma formation.

A mon binôme et ma cousine « M'hisset khaoula » : Pour toutes ces années passées ensemble, tous les moments vécus ensemble, pour ton amitié pour ton soutien.

Nassira



Dédicace :

A ALLAH

Tout puissant
Qui m'a inspiré, Qui m'a guidé dans le bon chemin
Je vous dois ce que je suis devenu
Louanges et remerciements
Pour votre clémence et miséricord

A ma mère : MHISSET Khadîdja *Aucune phrase, aucun mot ne saurait exprimer à sa juste valeur le respect et l'amour que je te porte. Tu m'as entouré d'une grande affection, et tu as été toujours pour moi un grand support dans mes moments les plus difficiles. Sans tes précieux conseils, tes prières, ta générosité, ton dévouement, je n'aurais pu surmonter le stress de ces longues années d'étude. J'espère que tu es fière de moi et trouves ici le fruit de longues années de sacrifices pour m'aider à avancer dans la vie. À travers ce modeste travail, je vous remercie et prie Dieu le tout puissant qu'il vous garde en bonne santé et te procure une longue vie que je puisse te combler à mon tour.*

À mon père, MHISSET Brebeh

Décédé trop tôt, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils. il est pour moi l'exemple de droiture, de lucidité et de persévérance, il a été toujours un grand support dans ma vie, jamais je n'oublierai ses efforts, ses affections et sa générosité. J'espère que, du monde qui est sien maintenant, il apprécie cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part de sa fille qui a toujours prié pour Le salut de son âme. Puisse dieu, le tout puissant, l'avoir en sa sainte miséricorde.

À ma belle-sœur: GHATTI-MHISSET Oum nail :

Pour leur tendresse, toute l'affection qu'elles m'ont donnée et pour leurs précieux encouragements.
À mon cher petit neveu ;Mohamed
À ma chère petite nièce , Khadidja

A mes chers frères : Ahmed, Hamza, Nassro

vos encouragements et votre amour ont été une grande source de motivation et de force pour moi je vous présente à travers ce travail mes sentiments de fraternité et amour.

À mon binôme et ma chère amie ; Ma cousine BOUADI Nassira :

*Pour ton aide, tes efforts et encouragements durant ces six ans, je te dédie ce travail en te souhaitant
un avenir plein de réussite et de bonheur.*

A mes chères nièces : Nedjma-Siham-Saousen- Wieem

A ma famille

*Je vous dédie ce travail qui représente à la fois
la résultante de mes efforts et le fruit
de votre soutien, en témoignage de mes sentiments
les plus sincères d'affection et d'estime*

A mes amis

*Pour tous les moments de joie
qu'on a partagée ensemble
je vous souhaite une vie pleine de succès
santé et bonheur*

Sommaire

Listes de tableaux

liste des figures

liste des abréviations

TABLE DES MATIERES

La partie théorique :

Introduction

CHAPITRE 01 : Généralités sur les antibiotiques

LES ANTIBIOTIQUES :

1-définition.....	01
2- mode d'action.....	01
3- le spectre d'activité.....	01
4- la nature chimique.....	01
5- classification des antibiotiques selon le mode d'action	05

CHAPITRE 02 : Antibiorésistance.

1- Définition.....	11
2- Types de la résistance bactérienne.....	12
3- Mécanismes de la résistance bactérienne aux ATBs.....	13
3.1-Les mécanismes biochimiques	13
3.2-Les mécanismes génétiques de la résistance bactérienne aux antibiotiques.....	19
4- Les principales causes de la résistance bactérienne.....	22

CHAPITRE 03 : LES MACROLIDES

1- Définition et généralités	24
2- Caractères physicochimiques.....	24
3- Les macrolides à 14 atomes	27
4- Les macrolides à 15 atomes	29
5- Les macrolides à 16 atomes	29
6- Les kétolides	31
7- Les apparentées aux macrolides	31
8- La pharmacocinétique.....	32
9- pharmacodynamique des macrolides	33
10- Les germes sensibles aux macrolides	35
11 -Impact de large utilisation des macrolides	35

CHAPITRE 04 : la résistance bactérienne aux macrolides

1- Mécanisme de la résistance bactérienne aux macrolides.....	37
2- Distribution des gènes de résistance.....	48
3- Le rôle de pharmacien dans La prévention de la résistance.....	51

La partie pratique :

I / Objectif

II / Matériel et méthodes.....	54
--------------------------------	----

Le type, lieu et durée de l'étude.....	55
--	----

Outils et technique de collecte.....	55
--------------------------------------	----

Les macrolides étudiés	55
------------------------------	----

III / Résultats et commentaires.....	57
--------------------------------------	----

Souches isolées de prélèvements à visée clinique au niveau du laboratoire central du CHU Blida.....	57
---	----

Etablissement de l'état des lieux de la résistance bactérienne aux macrolides au niveau de CHU-Frantz FANON BLIDA de 2016 jusqu'à 2020.....	58
---	----

Profil de résistance selon l'antibiotique	59
---	----

S .aureus et résistance aux macrolides	59
--	----

Chez les <i>S. aureus</i>	59
---------------------------------	----

Chez <i>MRSA</i>	59
------------------------	----

Comparaison entre les taux de résistance aux macrolides chez souches méticillorésistantes et méticillinosensibles.....	60
--	----

A l'érythromycine.....	60
------------------------	----

A clindamycine.....	61
---------------------	----

Limite des études

Conclusion

Résumé

Références

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 : classification de la famille des β -lactamases.....	15
Tableau 02 : Mutations de l'ARNr 23S associées à des résistances aux MLS chez les bactéries.....	42
Tableau 03 : Stratégies de prévention selon approche multidisciplinaire.....	51
Tableau 04 : Base de données de <i>S. aureus</i>	58
Tableau 05 : Base de données de <i>MRSA</i>	58
Tableau 06 : description de la population d'étude (souches <i>S.aureus</i> isolées et taux de méticillino-résistants).....	59
Tableau 07 : Comparaison entre les taux de résistance à l'érythromycine chez souches méticillino-résistantes et méticillino-sensibles	60
Tableau 08 : Comparaison entre les taux de résistance à la clindamycine chez les souches méticillino-résistantes et méticillino-sensibles	62

Liste des figures

Figure 01 : structure de base des β –lactamines.....	02
Figure 02 : structure des aminosides.....	02
Figure 03 : structure de base des tétracyclines.....	02
Figure 04 : structure chimique de l'érythromycine.....	03
Figure 05 : structure chimique de chloramphénicol.....	03
Figure 06 : structure chimique de quinolone.....	04
Figure 07 : structure chimique de fosfomycine.....	04
Figure 08 : structure chimique de la vancomycine.....	04
Figure 09 : les différents mécanismes d'action des antibiotiques.....	05
Figure 10 : Cible des antibiotiques et mécanismes de résistance.....	13
Figure 11 : Représentation schématique des cinq familles de pompes à efflux bactériennes.....	19
Figure 12 : Structure chimique du picromycine.....	24
Figure 13 : structure de Génine, désosamine, cladinose, disaccharide.....	25
Figure 14 : Structure chimique macrocycle à 14 chainons, macrocycle à 16 chainons.....	25
Figure 15 : Macrocycle à 15 chainons.....	26
Figure 16 : Structure de base des kétolides.....	26
Figure 17 : Structure chimique de l'érythromycine.....	27
Figure 18 : la structure chimique du Dirithromycine / roxithromycine/ clarithromycine ...	28
Figure 19 : la structure chimique de l'azithromycine.....	29
Figure 20 : Structure chimique des macrolides à 16 atomes.....	30
Figure 21 : Représentation partielle de la structure secondaire des domaines V et II de l'ARN 23S.....	39
Figure 22 : Localisation ribosomal de protéine L4 et L22 dans la sous unité 50S.....	41
Figure 23 : Structure de protéine L4 et L22 de <i>Haloarcula marismortui</i>	41
Figure 24 : Inactivation d'érythromycine par phosphorylase, glycosylase ou estérase.....	47
Figure 25 : description de la population d'étude (souches <i>S.aureus</i> isolées et taux de méticillino-résistants).....	59
Figure 26 : L'évolution de la résistance de <i>MSRA</i> au l'Erythromycine et la clindamycine.....	60
Figure 27 : l'évolution de la résistance de <i>MRSA</i> à l'érythromycine et la clindamycine.....	59
Figure 28 : Comparaison entre les taux de résistance à l'érythromycine chez souches méticillino-résistantes et méticillino-sensibles	61
Figure 29 : Comparaison entre les taux de résistance à la clindamycine chez souches méticillino-résistantes et méticillino-sensibles	62

Liste des abréviations

AAC : acétyltransférases
ABC : ATP-binding-casette
ABMR : *Acinetobacter baumannii*
ADN : acide désoxyribonucléique
ANT : nucléotidyltransférase
APH : phosphotransférase
ARN : acide ribonucléique
ATB : antibiotique
ATP : adénosine triphosphate
BGN : bacille à gram négatif
BGP : bacille à gram positif
BLSE : β -lactamase à spectre élargi
C1G : céphalosporine de première génération
C2G : céphalosporine de deuxième génération
C3G : céphalosporine de troisième génération
CAT : chloramphénicol Acétyl-transférase
CMI : Concentration minimale inhibitrice multirésistant
E.coli : *Escherichia coli*
EP : espace periplasmique
G : N-acétylglucosamine
M : N-acétylmuramique
MC : membrane cytoplasmique
MDR : pompe multiple drug-résistance
ME : membrane externe
MFS : Major Facilitator super fammilly
M testé : les macrolides testés
OriT : origine transférer
Pa : *Pseudomonas aeruginosa*
PLP : protéines liant les pénicillines
RND : Résistance/ nodulation , cell/division
S : substrat
SARM : *Staphylocoque aureus* résistant à la méticilline
SCN : *Staphylocoque à coagulase négatif*
SMR : Small-multi-drug- résistance
SRD : pompe specific drug- résistance
TRT : traitement

Introduction :

La résistance bactérienne aux antibiotiques augmente régulièrement et menace directement et gravement la santé publique au niveau mondial. Très peu de nouveaux antibiotiques ont été produits ces dernières années et très peu sont attendus dans un avenir proche. Si les causes de cette augmentation de la résistance aux antibiotiques sont multiples, la consommation très élevée, erronée ou inadaptée d'antibiotique en sont les causes principales.

Les macrolides font partie d'une des grandes familles d'antibiotique largement utilisé en milieu hospitalier ou en ambulatoire ; La première génération des macrolides est utilisée depuis les années 1950, plusieurs efforts pour l'amélioration de la pharmacocinétique, de la sensibilité des germes à cette classe ont permis de développer d'autres molécules.

Utilisée surtout pour les infections pleuropulmonaires et ceux de la filière génito-urinaire, la consommation globale des macrolides n'a fait qu'augmenter année après année et avec elle le risque d'émergence de souches bactériennes résistantes à ces dernières.

Comment ont évolué les résistances du *Staphylococcus aureus* aux macrolides dans nos structures hospitalières ?

Pour pouvoir répondre à cela, nous nous sommes intéressées à l'étude des profils de sensibilités et résistances du *Staphylocoque* aux macrolides depuis des prélèvements bactériologiques issus des patients hospitalisés au niveau de CHU-FRANTZ FANON, BLIDA et des patients externes.

Chapitre 01 : Généralités sur les antibiotiques

Les antibiotiques :

1- Définition :

On appelle « Antibiotique » (ATBs) toute substance chimique d'origine naturelle ou biologique élaborée par un organisme vivant (champignon, bactéries) ou substance chimique produite par synthèse ou substance semi synthétique obtenue par modification chimique d'une molécule de base naturelle et ayant les propriétés suivantes :

- activité antibactérienne
- activité en milieu organique
- bonne absorption et bonne diffusion dans l'organisme **(les antibiotiques ;sous la coordination de pr.K.Rahal 2013)**

2- Mode d'action :

Quelle que soit leurs origine, naturelle, semi synthétique ou synthétique. Les ATBs se caractérisent par une toxicité sélectivement dirigée contre les bactéries et l'exerçant à de faible concentrations, ont la propriété d'interférer directement avec la prolifération des micro-organismes à des concentrations tolérées par l'hôte **(les antibiotiques ;sous la coordination de pr.K.Rahal 2013).**

Un ATB est dit bactériostatique s'il freine la multiplication des bactéries sans les détruire radicalement et bactéricide s'il provoque la mort bactérienne **((les effets indésirable des antibiotiques; actualité pharmaceutique novembre 2014 S0515-3700(14)71366-7.pdf s. d.) .**

3- Le spectre d'activité :

Liste des espèces bactériennes sur lesquelles l'antibiotique est actif. Aucun ATB n'est efficace contre toutes les bactéries, certains agissent contre un petit nombre d'espèces(spectre étroit), tandis que d'autres sont actifs contre un large spectre d'organismes des bactéries (bacilles et coque gram+ et gram) **(<https://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/antibiotique/11230> s. d.).**

4- La nature chimique :

Très variables, elles sont basées souvent sur une structure de base.la classification selon la nature chimique nous permet de classer les ATBS en famille**(les antibiotiques ;sous la coordination de pr.K.Rahal 2013)**

A. les β –lactamines :

Ces ATBS présentent en commun le cycle tétragonal de l'azétidin2-one ; appelé également bêta-lactame : amide cyclique à quatre chaînon, c'est une structure de base des déférents molécules qui appartient au la famille de bêta-

lactamines((Médicaments antibiotiques, Lavoisier internationales 1992,11,rue Lavoisier-F 75384 Paris Cedex 08 s. d.).

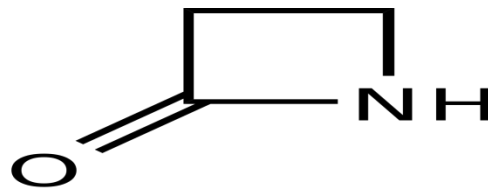


Figure 01 : Structure de base des β –lactamines (β –lactame)((Médicaments antibiotiques, Lavoisier internationales 1992,11,rue Lavoisier-F 75384 Paris Cedex 08 s. d.) s. d.) .

B. les aminosides :

les aminosides ou bien les Aminoglycosides ; sont des hétérosides naturels formés par l’union d’une génine du groupe des aminocyclitols avec généralement plusieurs oses dont l’un au moins est un aminosucre (osamine)(antibiotique:pharmacologie et therapeutiques, *coordinateurs; Catherine Gaudy, Jacques Buxeraud. 2005*).

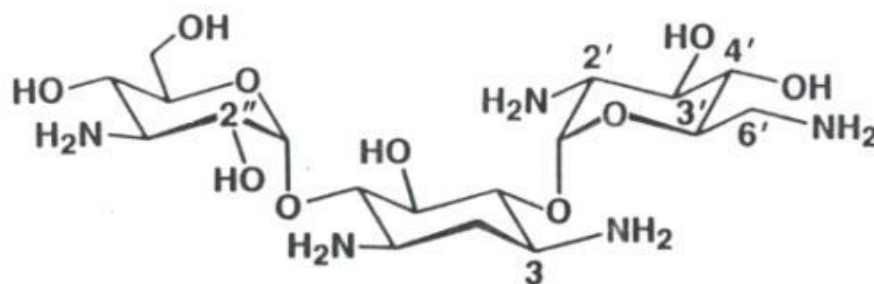


Figure 02 : structure des aminosides(Médicaments antibiotiques, Lavoisier internationales 1992,11,rue Lavoisier-F 75384 Paris Cedex 08 s. d.).

Tétracyclines :

Ont un noyau fondamental naphtacène en commun, portent diverses substitutions oxygénées et azotées(medicaments antibiotiques s. d.).

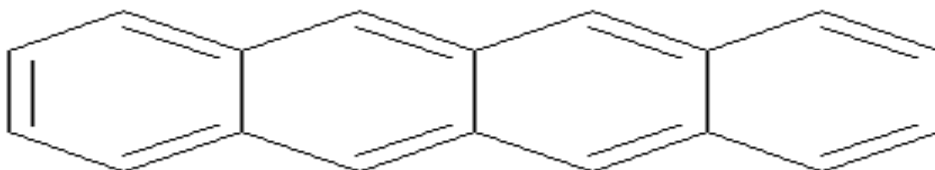


Figure 03 :structure de base des tétracycline(.(Médicaments antibiotiques, Lavoisier internationales 1992,11,rue Lavoisier-F 75384 Paris Cedex 08 s. d.).

Les macrolides :

Ont une structure hétérosidique caractérisée par une génine à macrocycle lactonique (Médicaments antibiotiques, Lavoisier internationales 1992,11,rue Lavoisier-F 75384 Paris Cedex 08 s. d.).

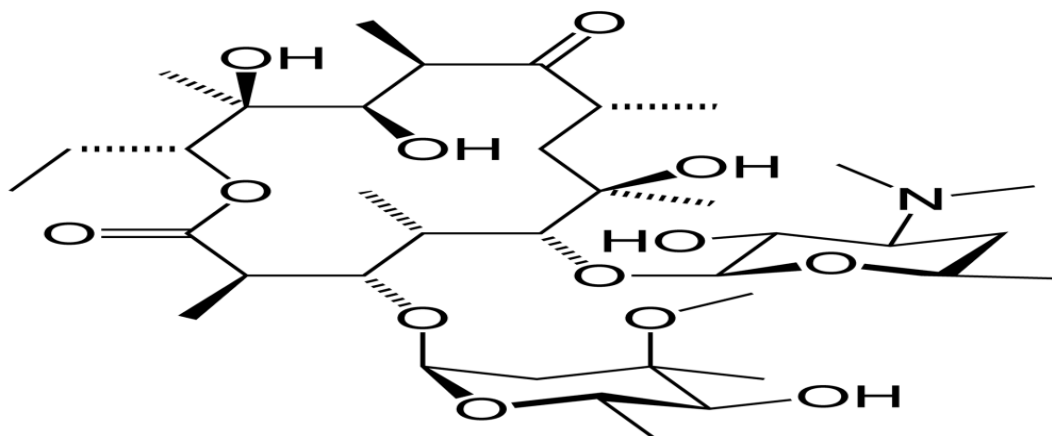


Figure 04 : Structure chimique de l'érythromycine (Médicaments antibiotiques, Lavoisier internationales 1992,11,rue Lavoisier-F 75384 Paris Cedex 08 s. d.).

Le chloramphénicol et dérivés :

On l'appelle aussi le chloromycétine ; est un des rares composés naturels comportant un groupe nitré, ainsi qu'un groupe gem-dichloré (médicaments antibiotiques, Lavoisier internationales 1992,11,rue Lavoisier-F 75384 Paris Cedex 08 s. d.).

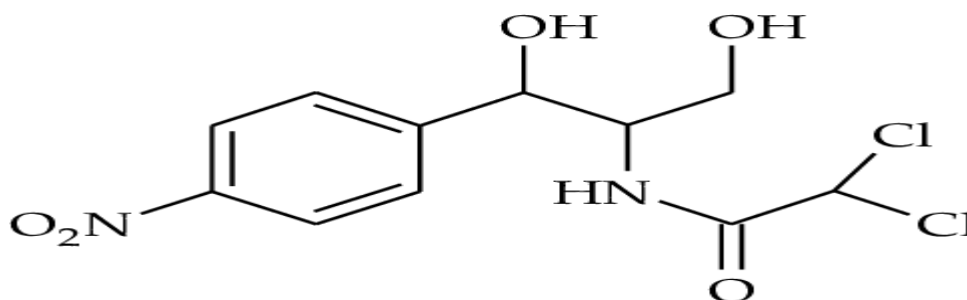


Figure 05 : structure chimique de chloramphénicol (Médicaments antibiotiques, Lavoisier internationales 1992,11,rue Lavoisier-F 75384 Paris Cedex 08 s. d.).

C. Quinolones :

L'acide nalixidique est le chef de file, sont des séries apparentées à la benzo-4-pyridone et de structure générale dérivant de l'acide dihydro-1,4 oxo-4quinidine carboxylique-3 ((antibiotique: pharmacologie et thérapeutiques, coordinateurs; Catherine Gaudy, Jacques Buxeraud, PHARMA 2005 s. d.). .

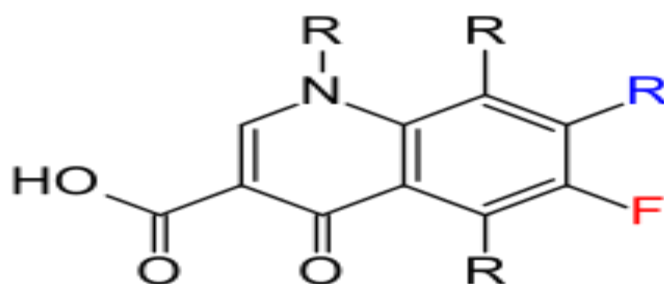


Figure 06 :structure chimique de quinolone(**Médicaments antibiotiques, Lavoisier internationales 1992,11,rue Lavoisier-F 75384 Paris Cedex 08 s. d.)**

D. La fosfomycine : non classe !!!

A une structure époxydique, donc très réactive(**médicaments antibiotiques, Lavoisier internationales 1992,11,rue Lavoisier-F 75384 Paris Cedex 08 s. d)**

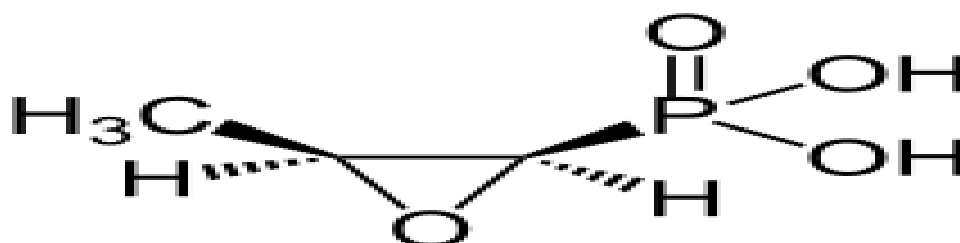


Figure 07 : Structure chimique de fosfomycine(**Médicaments antibiotiques, Lavoisier internationales 1992,11,rue Lavoisier-F 75384 Paris Cedex 08 s. d)**

E. Les glycopeptides :

Sont de volumineuses molécules de poids moléculaire élevé, il s'agit heptapeptides dont la structure de base est très voisine(**antibiotique:pharmacologie et thérapeutiques coordinateurs; Catherine Gaudy, Jacques Buxeraud. 2005)**

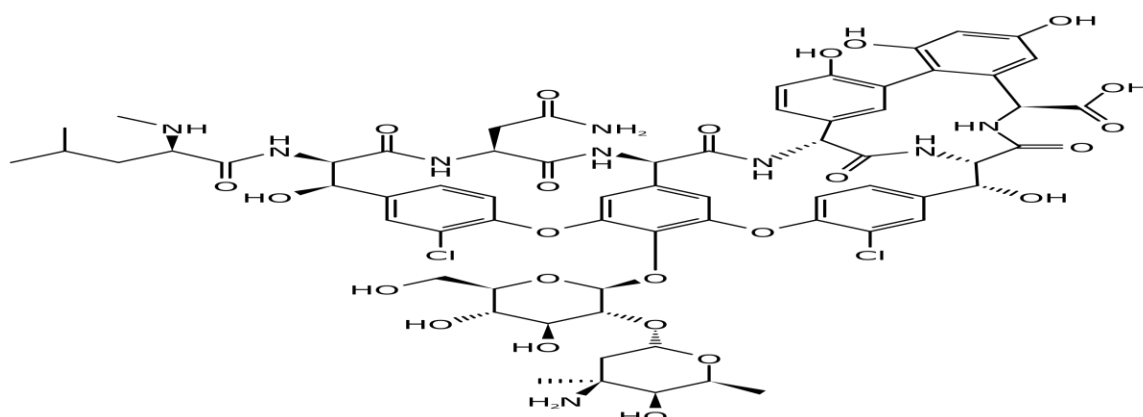


Figure 08 : Structure chimique de la Vancomycine(**Médicaments antibiotiques, Lavoisier internationales 1992,11,rue Lavoisier-F 75384 Paris Cedex 08 s. d)**

F. Les polymyxines :

Sont des ATBS peptidiques cycliques isolés de la *Bacillus polymyxa*

5- La classification des antibiotiques selon le mode d'action :

La toxicité sélective des ATBs pour les bactéries s'explique par l'inhibition spécifique d'une étape précise d'une fonction bactérienne. On peut ainsi les classer en quatre grandes catégories :

- 1-les inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne.
- 2- les inhibiteurs du fonctionnement des membranes.
- 3-les inhibiteurs de la synthèse protéique
- 4-autres mécanismes.

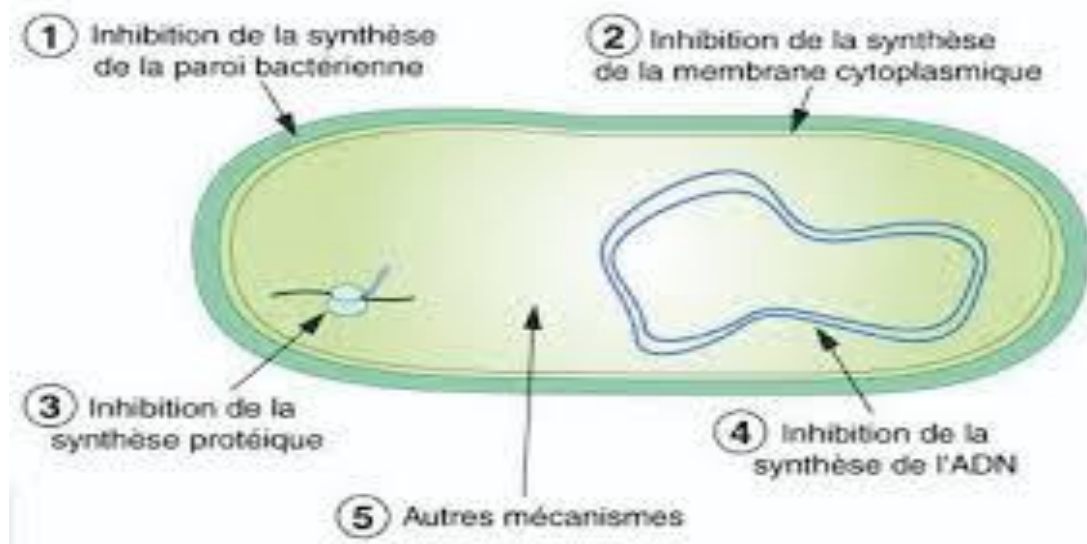


Figure 09 : les différents mécanismes d'action des antibiotiques(antibiotique, les famille les effets indésirables , Professeur Jacques Buxeraud, 2014 s. d.)

Les inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne :

Trois classes antibiotiques sont concernées : les B-lactamines, les glycopeptides et la fosfomycine.

Les B-lactamines :

Ils se fixent sur des protéines de la membrane cytoplasmique : les protéines liant les pénicillines(PLP).Ce sont les cibles des β -lactamines. Ces PLP sont les enzymes impliquées dans la synthèse du peptidoglycane : les transpeptidases, les carboxypeptidases et transglycosylases.

Les β -lactamines présentent une analogie structural avec un constituant du peptidoglycane en formation, un dipeptide qui est le substrat naturel de ces enzymes(**Antibiotique:pharmacologie et thérapeutique,coordinateurs; Catherine Gaudy, Jacques Buxeraud 2005**).

L'inhibition des PLP aboutit à l'inhibition de formation de ponts pentacycliques responsables de la structure réticulée de la paroi, qui active le système autolytique de la bactéries et entraîne sa lyse . (**les antibiotiques ;sous la coordination de pr.K.Rahal 2013**)

Les inhibiteurs de la β -lactamase sont des molécules de β -lactamines d'une très faible activité antibiotique mais ayant la propriété de se lier irréversiblement à certain β -lactamase qu'elles neutralisent. Ces molécules sont utilisées en association avec une molécule de β -lactamines qu'elles protègent alors de l'action de β -lactamase (Augmentin : acide clavulanique+amoxicilline)(**Antibiotique en pratique clinique, E.BERGOGNE-BEREZIN, PDELLAMONICA 1999**).

Les glycopeptides :

Les glycopeptides se fixent sur la partie peptidique du peptidoglycane (dipeptide terminal Dala-Dala). cette fixation empêche le fonctionnement normal des transpeptidases et transglycosylases, entraînant l'arrêt de la synthèse du peptidoglycane et secondairement la mort de la bactérie (action bactéricide).

Les fosfomycine :

La fosfomycine est un inhibiteur de la synthèse des précurseurs du peptidoglycane à un stade très précoce. Elle a une structure proche du phosphoénolpyruvate(PEP) et interfère avec la pyruvate-UDP-N-acétylglucosamine transférase qui vient normalement greffer le pyruvate du PEP sur l'uridine diphosphate N-acétylglucosamine pour former un précurseur de l'acide N-acétylmuramique, l'un des deux constituants majeurs du peptidoglycane. C'est un ATB bactéricide.(**Antibiotique:pharmacologie et thérapeutique, coordinateurs; Catherine Gaudy, Jacques Buxeraud 2005**)

Les inhibiteurs du fonctionnement des membranes :

Les polymyxines :

Sont les seuls ATBS ayant une activité sur les enveloppes membranaires. parmi les polymyxines A,B,C,D,E,F,K,M,P ,S et T, seules la polymyxines B et la polymyxines E(colistine) sont utilisées actuellement.la polymyxines est utilisée en usage local en association avec molécules.

La fixation des polymyxines au niveau des composés lipidiques des membranes ; elles possèdent une charge positif et agissent comme des agents tensio-actif.

Elles agissent sur la membrane externe puis membrane cytoplasmiques ; en se fixant sur les phospholipides membranaires où la rupture de la barrière osmotique, elles sont des bactéricides à fortes doses.

Spectre antibactérien :

Ces molécules ne sont actives que sur les bactéries à gram négatif.

Les espèces habituellement sensibles sont : certain *entérobactéries*, *E. coli*, *Salmonella spp.* *Shigella spp*, *Klebsiella spp*, *Citrobacter spp*, *Enterobacter spp*.
Et autres espèces (*P.aeruginosa* et *Acinetobacter baumanii*)

Les inhibiteurs de synthèse ou de fonction des acides nucléiques :

Quinolones, fluoroquinolones, Rifamycines, nitrofuranes, Novobiocine, Nitro-imidazolés.

Quinolones et fluoroquinolones :

Les quinolones de première génération ne possèdent pas de fluor à l'exception de la fluméquine.

Les quinolones de deuxième génération portent un atome de fluor en position 6, on les appelle fluoroquinolones.

La troisième et quatrième génération ne sont pas encore utilisés.

Spectre antibactérien :

Les quinolones sont actives sur la plupart des entérobactéries ; alors que les bactéries à Gram+ sont résistantes.

Les fluoroquinolones sont actives sur *Staphylocoques*, *Streptocoques*, *pneumocoque*, *bacilles à Gram+ sauf bacillus*, *mycobactéries*, *Brucella*.

Rifamycines :

Mode d'action :

Sont des inhibiteurs de la transcription de l'ADN en ARN messager par inhibition de l'ARN polymérase, sont des bactériostatiques. Seulement deux molécules sont commercialisées ; Rifamycine et Rifamycine SV.

Spectre antibactérien :

Les Rifamycines sont actives sur les *mycobactéries* (antituberculeux), bactéries à Gram+ à développement cellulaire et sur les divers bacilles – dont *Brucella*.

Nitrofuranes :

Les molécules commercialisées :

Infections urinaires : Nitrofurantoïne, Hydroxyméthyl-nitrofurantoïne.

Infections intestinales : Furazolidone, Nifuroxaside.

Mode d'action :

Les nitrofuranes agissent directement sur l'ADN provoquant diverses lésions ; coupures et substitution de base, par la réduction du groupement nitro par certaines bactéries aérobies produisant des dérivés réduits capables de provoquer des lésions de l'ADN.

Spectres d'activités :

Les bactéries habituellement sensibles sont : *E. coli*, *E. faecalis*, *S. saprophyticus*, *Proteus spp*, *Klebsiella spp*.

Nitro-imidazolés

Le métronidazole a été utilisé initialement pour ses propriétés antiparasitaires avant que ses propriétés antibactériennes ne soient découvertes.

Mode d'action :

Le métronidazole est activé par réduction de son groupement nitro chez les bactéries anaérobies qui présentent les conditions de potentiel d'oxydoréduction favorables et l'enzyme pyruvate-ferrédoxine oxydoréductase indispensable à cette réaction. Il en résulte une production de dérivés réduits qui vont diffuser vers l'ADN bactérien et l'oxyder au niveau de régions riches en adénine et thymine. Cette oxydation provoque des coupures des brins d'ADN responsables de la mort des bactéries.

Spectre antibactérien :

Les imidazoles ont une activité sur la plupart des bactéries anaérobies strictes : *Bacteroides SPP*, *Fusobacterium SPP*, *Prevotella SPP*, *Clostridium SPP*, *Peptostreptococcus*, *Veillonella*.

Un ATB non classé : Novobiocine

Il agit sur *Staphylocoque*, cocci à Gram négatives par l'inhibition de la réplication de l'ADN en empêchant la fixation d'atp sur l'ADN-gyrase (**Antibiotique:pharmacologie et thérapeutique, coordinateurs; Catherine Gaudy, Jacques Buxeraud 2005**)

Les inhibiteurs de la synthèse protéique :

Les aminosides :

Leur cible principale est le ribosome, se fixe sur la sous unité 30S des ribosomes, constituée de 21 protéines et d'un ARN ribosomal 16S pour y perturber la lecture des codons de l'ARN messager lors de la traduction des protéines. Ils agiraient aussi en inhibant la synthèse de l'ARN. (**Antibiotique:pharmacologie et thérapeutique, coordinateurs; Catherine Gaudy, Jacques Buxeraud 2005**)

C'est une famille d'antibiotiques bactéricides qui comprend : *Streptomycine*, dihydrostreptomycine. Néomycine, paromomycine, framycétine (voie locale). Kanamycine, tobramycine, dibécacine, amikacine. Gentamicine, sisomycine, nétilmicine. spectinomycine. (**les antibiotiques ;sous la coordination de pr.K.Rahal 2013**)

Spectre activité :

Est large et concerne essentiellement les bactéries à Gram- aérobies et les bacilles à Gram+, avec notamment les *entérobactéries*, *Corynebacterium*, *L.monocytogenes* et *SARM*. Deux aminosides doivent être considérés à part : la streptomycine en raison de son action sur les Mycobactéries et la spectinomycine en raison de son action sur *N.gonorrhoeae*. (**Antibiotique:pharmacologie et thérapeutique, coordinateurs; Catherine Gaudy, Jacques Buxeraud 2005**)

Tétracyclines :

Mode d'action :

Ces sont des inhibiteurs des synthèses protéiques ARN dépendantes .ils se fixent au niveau de la sous-unité 30S des ribosomes bactériens en empêchant la fixation des aminoacyl-t-ARN sur le ribosome. Il en résulte le blocage de la synthèse protéique par inhibition de la phase d'élongation.(Médicaments antibiotiques s. d.)Ils sont des bactériostatiques qui comprend :

- Oxytétracycline, chlortétracycline. Doxycycline, minocycline (bactéricide)
- Glycylcyclines : Tigécycline. **(les antibiotiques ;sous la coordination de pr.K.Rahal 2013)**

Spectre antibactérien :

Les tétracyclines sont des antibiotiques a spectre très large, qui comprend des espèces bactériennes a Gram positives et Gram négatives, l'emploi clinique des tétracyclines a progressivement décliné en raison de l'énorme développement des pénicillines et céphalosporines,

Phénicolés :

Mode d'action :

Bactériostatiques agissent sur les sous unités 50S des ribosomes, inhibition de la polymérase**(les antibiotiques ;sous la coordination de pr.K.Rahal 2013).**

Spectre d'activité :

Le chloramphénicol et thiamphénicol sont agissent sur les bactéries a Gram+ et Gram-, en Algérie, ils sont réservés au traitement des fièvres typho-paratyphoïdique**(les antibiotiques ;sous la coordination de pr.K.Rahal 2013).**

Antibiotique non classé : acide fusidique

La structure générale de l'acide fusidique est voisine de celle des hormones stéroïdes, mais il n'a pas les mêmes propriétés.

Mode d'action :

L'acide fusidique inhibe la synthèse protéique en se fixant sur le facteur d'élongation. Cette liaison empêche la fixation de nouveaux amino-acyl-ARNt, la poursuite de la synthèse protéique est bloquée.

Spectre antibactérien :

Cet ATB est bactériostatique, il peut être bactéricide à concentration plus élevée. Son activité bactéricide reste relativement lente.

Son spectre antibactérien est étroit, se limitant essentiellement aux bactéries à Gram+, en particulier les *Staphylocoques*, et les germes a Gram+ anaérobie ; *peptococcus*, *peptostreptococcus*, *Nocardia*, *corynébactéries*, *Clostridium*, *Neisseria*, *legionella*, *Haemophilus*.

Autres mécanismes :

Inhibiteurs de la synthèse des folates (inhibition compétitives) :

Les sulfamides :

Sulfapyridine, Sulfafurazole, Sulfaméthoxypyridazine, Sulfaméthoxazole, Sulfaméthizole, sulfaguanidine.

Mode d'action :

Cet ATB est un bactériostatique, dont la cible est une enzyme, la dihydroptéroate synthétase. Il agit comme un analogue (structural) qui va entrer en compétition avec l'acide para-aminobenzoïque (PABA) au départ de la synthèse de l'acide tétrahydrofolique (forme réduite de l'acide folique, indispensable à l'activité biologique). La dihydroptéroate synthétase a plus d'affinité pour les sulfaméthoxazole que le PABA, il va donc préférentiellement choisir l'antibiotique.

Spectre antibactérien :

Ils actifs sur les bactéries à Gram- mais il existe beaucoup de résistance vis-à-vis de ces ATBs.

Triméthoprimé :

Le triméthoprimé quant à lui va se lier à une autre enzyme importante pour la synthèse des folates, c'est la dihydrofolate réductase. Il va ainsi bloquer son action de réduction de l'acide DHF en acide THF, car il a une très forte affinité pour cette enzyme.

Sulfamides + triméthoprimé :

Le Bactrim® ou cotrimoxazole est une association de deux antibiotiques, le sulfaméthoxazole et le triméthoprimé qui agissent en synergie sur le métabolisme de l'acide folique de la bactérie.

L'acide folique a un rôle dans le transfert des groupes monocarbonés nécessaires, notamment, à la synthèse des bases puriques et d'une base pyrimidique, la déoxythymidine. Il sert aussi dans la synthèse des protéines de la paroi cellulaire bactérienne. Les bactéries, contrairement à nous, n'ont pas développé de système de transport pour l'incorporation de l'acide folique provenant de l'environnement. En agissant ensemble dans le Bactrim®, les deux antibiotiques vont bloquer la seule voie de synthèse de l'acide folique pour la bactérie qui dépend de cette voie métabolique pour pouvoir se multiplier et se développer. On comprend mieux pourquoi le Bactrim® est un antibiotique bactériostatique.

CHAPITRE 02 : Antibiorésistance

1)- Introduction :

Depuis l'introduction de la pénicilline au cours des années quarante du siècle passé, un grand nombre d'agents antibactériens ont été développés et commercialisés à des fins thérapeutiques, réduisant ainsi la morbidité et la mortalité humaine importantes associées aux infections bactériennes observées avant « 1^{ère} ère des antibiotiques » **(Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité » MUYLEAERT A., MAINIL, 2012.)**.

Cependant, l'efficacité remarquable de ces ATBs a motivé leur utilisation massive et répétée en santé humaine et animale. Cela a créé une pression sur les populations bactériennes, entraînant l'apparition de souches résistantes. En effet, lorsqu'on emploie un ATB, seules survivent et se reproduisent les bactéries dotées de systèmes de défense vis-à-vis de cette molécule **(La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important ! Sylvie Carle, 2009 s. d.)**.

Ce phénomène de la résistance bactérienne aux antibiotiques est aussi ancien que la découverte des premiers antibiotiques, La résistance à la pénicilline est développée dans les années 1950, aux céphalosporines de première génération dans les années 1970 et aux céphalosporines de troisième génération dans les années 1990. Au cours des dernières années, la fréquence et l'ampleur des infections causées par des bactéries résistantes ont augmenté autant en milieu hospitalier qu'en milieu communautaire **(La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important ! Sylvie Carle, 2009 s. d.)**.

Aujourd'hui, ces résistances sont devenues massives et préoccupantes, pouvant conduire à des problèmes de prise en charge et d'impasse thérapeutique pour le traitement des patients. selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) ce phénomène est qualifié de « problème de santé publique et une grave menace qui touche tous les pays **(stratégies actuelles de lutter contre la resistance.DOI: 10.1016/j.antinf.2017.01.003,Article in Journal des Anti-Infectieux · February 2017 s. d.)**

2)- Définition :

La résistance aux antimicrobiens est un terme tout à fait relatif. En effet, il existe un grand nombre de définitions pour l'expression « résistance bactérienne aux ATB », qui sont basées sur différents critères (génétiques, biochimiques, microbiologiques et cliniques). Les définitions les plus fréquemment employées se fondent sur les critères microbiologiques (résistance in vitro) et sur les critères cliniques **(résistance in vivo)(Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité » MUYLEAERT A., MAINIL, 2012 s. d.)**.

Définition microbiologique : Un micro-organisme est considéré « résistant » lorsque sa concentration minimale inhibitrice (CMI) est plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce (**Bactériologie Générale, responsable d'enseignement : Pr. P. BERCHE . 2003 pdf s. d.).**

Par conséquent, la résistance est une propriété qui ne peut être étudiée que par comparaison d'au moins deux souches, dont l'une de référence souvent appelée souche sauvage et développée en laboratoire à partir d'individus prélevés dans la nature, d'une même espèce ou d'un même genre, cultivées dans les mêmes conditions (**Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité » MUYLEAERT A., MAINIL, 2012. s. d.).**

Définition clinique : une souche est qualifiée de résistance lorsqu'elle survit à la thérapie antimicrobienne mise en place, se manifeste par une absence d'amélioration des signes et symptômes (fièvre, état général, etc.) après environ 72 heures de traitement. Elle est plus pertinente dans la pratique médicale courante puisqu'elle se traduit par un échec thérapeutique lors de la prise d'un antibiotique (**GUIDE_RESISTANCE_2012_web_FR.pdf, https://www.inesss.qc.ca/fileadmin/doc/INESSS/Outils/Guides_antibio_II/GUIDE_RESISTANCE_2012_web_FR.pdf s. d.).**

3)- Types de résistance bactérienne :

3.1. Résistance naturelle (intrinsèque) :

Les gènes de résistance font partie du patrimoine génétique de la bactérie. La résistance naturelle est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce. Ce type de résistance est détecté dès les premières études réalisées sur l'antibiotique afin de déterminer son activité et contribue à définir son spectre antibactérien.

Cette résistance peut être due à l'inaccessibilité de la cible pour l'antibiotique, à une faible affinité de la cible pour l'antibiotique ou encore à l'absence de la cible. Par exemple, la résistance des entérobactéries et du *Pseudomonas* aux macrolides ou des bactéries à gram négatif à la Vancomycine est naturelle.

La résistance bactérienne naturelle est permanente et d'origine chromosomique. La résistance naturelle est stable, transmise à la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire, mais elle n'est généralement pas transférable d'une bactérie à l'autre (transmission horizontale) (**La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important ! Sylvie Carle. 2009 s. d.)**

3.2. Résistance acquise :

La résistance acquise se définit comme une caractéristique propre à quelques souches bactériennes d'un genre ou d'une espèce particulière, provoquant l'émergence et la diffusion de résistances au sein de populations de germes normalement sensibles. On décrit deux phénomènes majeurs à la base de l'acquisition de résistances par modifications du génome bactérien, à savoir, les mutations responsables des résistances endogènes, et l'acquisition horizontale de matériel génétique étranger responsable des résistances exogènes (**Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité » MUYLEAERT A., MAINIL, 2012. s. d.).**

Ces processus de sélection et de transfert sont d'autant plus efficaces que l'ATB est présent en concentration trop faible ou pendant un temps trop court. C'est pourquoi les médecins insistent pour que les prescriptions d'ATBs soient respectées à la lettre, c'est-à-dire à la dose et pendant la durée indiquées sur l'ordonnance([https://www.vidal.fr/Résistance aux antibiotiques/VIDAL s. d.\)](https://www.vidal.fr/Résistance%20aux%20antibiotiques/VIDAL%20s.%20d.))

Certaines bactéries peuvent être porteuses de plusieurs facteurs de résistance. Contre plusieurs ATBs et même contre plusieurs classes d'ATBs, on parle alors de bactéries multirésistantes([https://www.vidal.fr/Résistance aux antibiotiques/VIDAL s. d.\)](https://www.vidal.fr/Résistance%20aux%20antibiotiques/VIDAL%20s.%20d.)).

4)- Mécanismes de la résistance bactérienne aux antibiotiques :

4.1. Les mécanismes biochimiques :

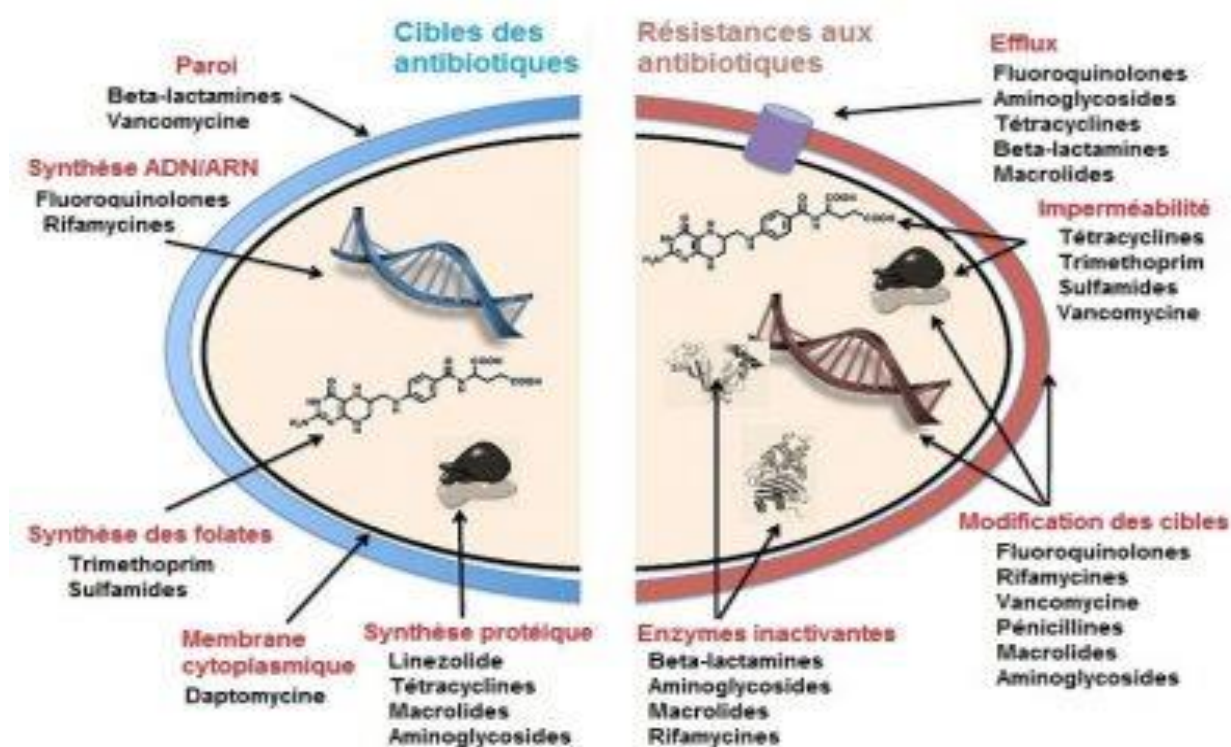


Figure 10 :cible des antibiotiques et mécanismes de résistance(Antibiotiques, antibiorésistance et environnement 2018)

4.1.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique :

certaines bactéries synthétisent des enzymes qui inhibent l'action des ATBs en dégradant ou en modifiant ce dernier(**Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries, Lavoisier SAS 2017, DOI 10.1007/s10298-017-1118-z s. d.)**). On appelle inductible une résistance qui se produit à la suite d'une exposition à un agent d'une classe pharmacologique donnée et constitutive lorsque les gènes à l'origine de la résistance s'expriment en permanence, même en l'absence de tout ATB.

pour les β -lactamines : Production de β -lactamases : Les β -lactamases sont des enzymes produites par les bactéries et sécrétées dans l'espace periplasmique des Gram- ou dans le liquide extracellulaire par les Gram+ ,ces enzymes inactivent les lactamines en détruisant le lien amide sur le cycle lactame(**Antibiothérapie en pratique clinique, E.BERGOGNE-BEREZIN,PDELLAMONICA 1999**).

Deux familles de β -lactamases ont une incidence clinique :

-la première est constituée par les pénicillinases libérées par les bactéries à Gram - qui sont nombreuses : (TEM chez les *entérobactéries*, OXA et PSE principalement chez *Pseudomonas*, SHV, CARB), qui présentent affinité préférentielle pour la benzylpénicilline, les aminopénicillines, les carboxypénicillines et les uréidopénicillines. Mais sont totalement inactivées par les inhibiteurs à condition que leur niveau de synthèse soit bas. Néanmoins ont été isolées des souches d'*E. Coli* résistantes à l'association amoxicilline+acide clavulanique après mutation du gène TEM.

-la seconde est formée par les céphalosporinases produites par *Enterobacter*, *Proteus*, *Pseudomonas* et *Acinetobacter*...,qui hydrolysent majoritairement les céphalosporines de première génération et certaines de deuxième génération, dégradent également la pénicilline G et les aminopénicillines, mais n'entravent pas l'action des uréidopénicillines.(**Antibiotique:pharmacologie et thérapeutique, coordinateurs; Catherine Gaudy, Jacques Buxeraud 2005**).

Ainsi, la β -lactamases de *S. aureus* inactive pratiquement toutes les pénicillines à l'exception de pénicilline M et elle est sensible aux inhibiteurs de β -lactamases.

Des β -lactamases à spectre étendu(BLSE) apparues à la suite de modifications affectant les plasmides codant pour certaines TEM et SHV, hydrolysent tous les β -lactames jusqu'aux céphalosporines de troisième génération, mais respectent les céphamycines et l'imipénème. Elles sont présentes surtout chez *Klebsiella pneumoniae*.(**Antibiotique:pharmacologie et thérapeutique,coordinateurs; Catherine Gaudy, Jacques Buxeraud 2005**)

La résistance a évolué rapidement, et la substitution d'un petit nombre d'acides aminés des β -lactamases a permis ensuite à un certain nombre de bactéries de devenir encore plus résistantes, les β -lactamases médiée par le gène AmpC ou céphalosporinases de haut niveau.

Récemment, l'hyperproduction de céphalosporinases chromosomiques de très haut niveau a conféré également une nouvelle sorte de résistance aux C3G. Ces enzymes ne détruisent pas l'antibiotique mais inhibent l'accès à son site d'action. Elles sont synthétisées chez des espèces naturellement productrices de céphalosporinases inductibles (*entérobactéries*, *Pseudomonas aeruginosa*) qui, à la suite d'une mutation, en produisent en très grandes quantités.

La production de carbapénémases ou de métallobetallactamases par les BGN peut les rendre résistantes à toutes les β -lactamines, y compris les Carbapénèmes.

L'augmentation progressive de résistance aux pénicillines, aux C1G,C2G avec l'apparition des BLSE, puis la diminution de l'efficacité des inhibiteurs de β -lactamases et finalement la

production de carbapénémases inactivant les Carbapénèmes restreignent considérablement l'arsenal thérapeutique et rendent le traitement ATB des infections résistantes de plus en plus complexe. **(La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important ! Sylvie Carle, 2009 s. d.)**

types de β -lactamases	antibiotiques inactivés	ne sont pas inactivés
Pénicillinases	Pénicilline	Cloxacilline, céphalosporines.
Céphalosporinases de bas niveau	Pénicillines, C1G et parfois C2G.	C3G, céphamycines (Céfoxitine, céfotétan), Carbapénèmes.
	Pénicillines, C1G, C2G, C3G.	Céphamycines (Céfoxitine, céfotétan), Association avec un inhibiteur
Céphalosporinases de haut et très haut niveau (hyperproductive)	Pénicillines, C1G, C2G, C3G, céphamycines (Céfoxitine, céfotétan) et association avec inhibiteur	Céfépime
Carbapénémases	Toutes les	Fluoroquinolones (parfois résistance associée).

Tableau 01 : La classification de la Famille de β -lactamases

Pour les aminosides : L'inactivation enzymatique des Aminoglycosides représente le mécanisme essentiel des résistances observées. Trois types d'enzymes sont impliquées ; des acétyltransférases (AAC) qui acétylent une fonction aminée de la molécule en présence d'acétyl-CoA, des nucléotidyltransférases (ANT) qui transfèrent un reste adényle sur un hydroxyle en présence d'adénosine triphosphate (ATP), des phosphotransférases (APH) qui phosphorylent un hydroxyle en présence d'ATP.

Les gènes codant pour ces enzymes sont naturellement présents sur le chromosome bactérien, ce qui explique la résistance naturelle de *Entérocooccus faecium* et *Serratia marcescens*, mais peuvent transférés par les plasmides à l'origine d'une résistance acquise, on les rencontre fréquemment chez les *entérobactéries*, les *Pseudomonas* et encore plus fréquemment chez les *Staphylococcus*. **(Antibiotique: pharmacologie et thérapeutique, coordinateurs; Catherine Gaudy, Jacques Buxeraud 2005)**

Pour les Phénicolés : La résistance au chloramphénicol est due essentiellement à la production par certains germes d'une enzyme capable d'inactiver la molécule par acétylation.

Les Entérobactéries deviennent généralement résistantes au chloramphénicol en acquérant des plasmides de résistances qui codent la production de chloramphénicol acétyl-transférase(CAT), qui provoque l'acétylation des groupements alcooliques.

Cette modification rend l'antibiotique incapable de se fixer sur le site récepteur de la sous-unité 50S du ribosome de la bactérie. Trois types distincts d'acétyl-transférase sont codés par les plasmides des bactéries à Gram-, chez les *staphylocoques* existe quatre types(inductibles) **(Médicaments antibiotiques, Editions Médicales Internationales allée de la croix-bossée F 94234 Cachan Cedex. s. d.).**

4.1.2. Altération (ou modification) des sites de liaison :

Après la pénétration cellulaire de l'antibiotique, il existe une étape de reconnaissance de la cible. C'est à ce niveau qu'intervient ce type de résistance.

Il s'agit ;soit d'une résistance naturelle avec la mauvaise affinité de certains ATBs pour les cibles comme les *mycoplasmes* pour les β -lactamines et l'Aztréonam a peu d'affinité pour les PLP des BGP et les bactéries anaérobies strictes, de même les quinolones de 1^{ère} génération ont peu d'affinité pour ADN gynase des *Staphylocoques* et *Pseudomonas*, soit de résistance acquise avec modification des cible et perte d'affinité des ATBs pour ces cibles**(Antibiotique:pharmacologie et thérapeutique,coordinateurs; Catherine Gaudy, Jacques Buxeraud 2005).**

Et voici quelques exemples de cette résistance :

-altération des protéines de liaison aux pénicillines(PLP) aussi connues sous PBP

(PenicillinBindingProein) : ce phénomène réduit l'affinité de la cible (PLP) pour les β -lactamines soit par une mutation des gènes chromosomiques, soit par l'acquisition de gènes supplémentaires (gène *mecA*) exprimant de nouvelles PLP (la PLP 2a ou 2').

Ce mécanisme de résistance est important chez les cocci à Gram +, comme *Staphylococcus aureus* et *streptococcus pneumoniae*, alors qu'il serait beaucoup plus rare chez les bactéries à Gram-. Parmi les BGN, la résistance par altération des PLP s'observe chez les espèces du genre *Neisseria* et plus rarement, chez *Haemophilus influenzae*.

- **altération des sites de liaison ribosomaux** : modification intracellulaire de la sous-unité ribosomale ciblée chez les staphylocoques et les streptocoques peut atténuer les effets antibactériens des macrolides, acide fusidique, des aminosides ou du chloramphénicol. Cette altération cause une inhabilité d'inhibition de la synthèse protéique et de croissance bactérienne pour les ATBs qui ne peuvent plus se lier au site ribosomal.

-**altération de l'ADN-gynase et de topoisomérase** : l'ADN-gynase et la topoisomérase IV sont des enzymes nécessaires à l'activité des quinolones. Des mutations spontanées d'un seul acide aminé de l'ADN gynase chez les staphylocoques, les entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et les mycobactéries engendre la résistance.

-altération des précurseurs cibles de la paroi cellulaire bactérienne : chez les entérocoques on a deux phénotypes de résistance VanA et VanB :

-VanA regroupe des souches pour lesquelles le niveau de résistance est plus élevé pour la Vancomycine et la teicoplanine, cette résistance à haut niveau est d'origine plasmidique (plasmide VanA), transférable par conjugaison et permet la synthèse d'une protéine enzymatique hydrolysant D-ala-D-ala terminal, empêchant la fixation des glycopeptides.

-VanB rassemble des souches résistantes à la Vancomycine mais sensible à la teicoplanine (résistance à bas niveau). la production par Certaines souches de staphylocoques à coagulase négative (SCN) d'un biofilm (le « slime ») pourrait expliquer certains résistance à glycopeptides(**ANTIBIOTIQUE AGENTS ANTIBACTERIENS ET ANTIFONGIQUES, préfacé par J.Acar, M.Glauser et Ph.Moreillon s. d.).**

-Altération des enzymes cibles : la résistance provient de mutation chez la bactérie au niveau des chaînes métaboliques : mutation chez *staphylocoques* sur la sous-unité β de la RNA polymérase cible de la rifampicine ; mutations portant sur l'affinité pour le triméthoprim (TMP) de la dihydrofolate réductase ; mutations de la dihydroptéroate synthétase (DHPS) cible des sulfamides(**Antibiotique en pratique clinique , E.BERGOGNE-BEREZIN,PDELLAMONICA 1999)**

4.1.3. Réduction de la perméabilité cellulaire :

Contrairement aux bactéries gram positives, dont la structure enveloppante est assez simple, composée d'une paroi externe épaisse de peptidoglycane que les antibiotiques traversent par simple diffusion, les bactéries gram négatives jouissent quant à elles d'une enveloppe plus complexe et plus difficilement franchissable.

Ainsi, au sein des bactéries gram négatives, les antibiotiques hydrophiles pénètrent dans la bactérie via des protéines transmembranaires nommées porines, alors que les molécules hydrophobes diffusent simplement à travers la couche phospholipidique.

La membrane externe de certaines BGN telles que *P. aeruginosa* et entérobactéries est moins perméable que celle d'autres espèces, ce qui lui confère la résistance naturelle aux molécules hydrophobes telles la pénicilline M et G, macrolides, rifampicine, acide fusidique et glycopeptides.

On décrit également ce type de phénomène pour expliquer la résistance aux Aminoglycosides, parmi, les germes anaérobies. Ainsi que le faible niveau de sensibilité clinique (résistance intrinsèque à bas niveau) observé vis-à-vis de cette famille de composés.

En outre, des mutations au niveau des gènes qui codent pour les porines et qui conduisent à leur perte, ou à la réduction de leur taille ou encore à une diminution de leur expression, se traduiront par l'acquisition de bas niveaux de résistance vis-à-vis de nombreux antibiotiques.

Citons comme exemples, la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à l'imipénème qui est lié à la diminution de production de la porine OprD et la réduction de l'expression de la porine OmpF chez *E. coli* qui entraîne une réduction de sensibilité aux quinolones, aux bêta-lactames, aux tétracyclines et au chloramphénicol. (**Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité » MUYLEAERT A., MAINIL, 2012. s. d.)**)

4.1.4. Pompes à efflux :

Ce type de résistance explique le non accumulation des ATBs à l'intérieur de la bactérie. ATB rentre dans la bactérie, mais, avant qu'il puisse se fixer sur sa cible, il est pris en charge par des protéines transmembranaires connues sous le terme de pompes à efflux ou transporteurs actifs et excrété vers l'extérieur de la bactérie, est un mécanisme nécessitant de l'énergie.

La résistance provient de la réduction de concentration en antimicrobien dans le cytoplasme de la bactérie, ce qui prévient et limite l'accès de l'antibiotique à sa cible. On classe ces pompes à efflux sur base notamment de leur spécificité de substrats et de la source d'énergie employée.

Certains de ces transporteurs sont très spécifiques et on les appelle pompes SDR (pour specific -drug-resistance), alors que d'autres agissent sur une multitude de molécules et on les nomme pompes MDR (pour multiple-drug-resistance).

Les pompes SDR, généralement responsables de hauts niveaux de résistance et dont les gènes sont portés par des éléments génétiques mobiles, représentent un important mécanisme de résistance d'*E. Coli* aux tétracyclines, de *staphylocoque* vis-à-vis des macrolides et *P.aeruginosa* vis-à-vis des β -lactamines.

Les pompes MDR, généralement responsables de bas niveaux de résistance et dont les gènes sont fréquemment chromosomiques, Les transporteurs bactériens de type pompe à efflux capables de transporter les antibiotiques les plus importants sont regroupés dans deux superfamilles : celle des ABC (ATP-binding-casette) transporteurs (transporteurs primaires) et celle des transporteurs utilisant le potentiel électrochimique membranaire [transporteurs secondaires de la famille des SMR (SmallMultidrugResistance), MFS (Major FacilitatorSuperfamily), RND (Resistance/Nodulation/cell Division), MATE (Multidrug And Toxic compound Extrusion)].

On distingue ainsi les pompes à efflux utilisant leur énergie soit par la dissipation d'un gradient de protons (SMR, MFS, RND) ou d'ions Na^+ (MATE), soit par hydrolyse de l'ATP (ABC).

Les pompes d'efflux présentes chez les bactéries à Gram positif ne sont constituées que de transporteurs localisés dans la membrane cytoplasmique, directement responsables de l'efflux vers l'espace sous-jacent au peptidoglycane, à partir duquel les molécules peuvent diffuser vers l'extérieur.

Chez les bactéries à Gram négatif, du fait de la compartimentation de la paroi, on trouve des systèmes d'efflux mettant en jeu des complexes protéiques tripartites (systèmes appartenant à la famille des RND). En effet, la paroi des bactéries à Gram négatif est constituée de deux membranes (la membrane cytoplasmique et la membrane externe entourant le

peptidoglycane) qui délimitent un compartiment intermédiaire appelé l'espace periplasmique. Cette organisation particulière implique que le transporteur localisé sur la membrane cytoplasmique soit associé à une protéine située au niveau de la membrane externe par l'intermédiaire d'une protéine de liaison. Ces trois protéines s'assemblent pour former un canal traversant l'espace periplasmique et les deux membranes.

Permet ces bactéries on a *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis des quinolones et *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis de triméthoprim, tétracycline, chloramphénicol. (AIRES 2011)

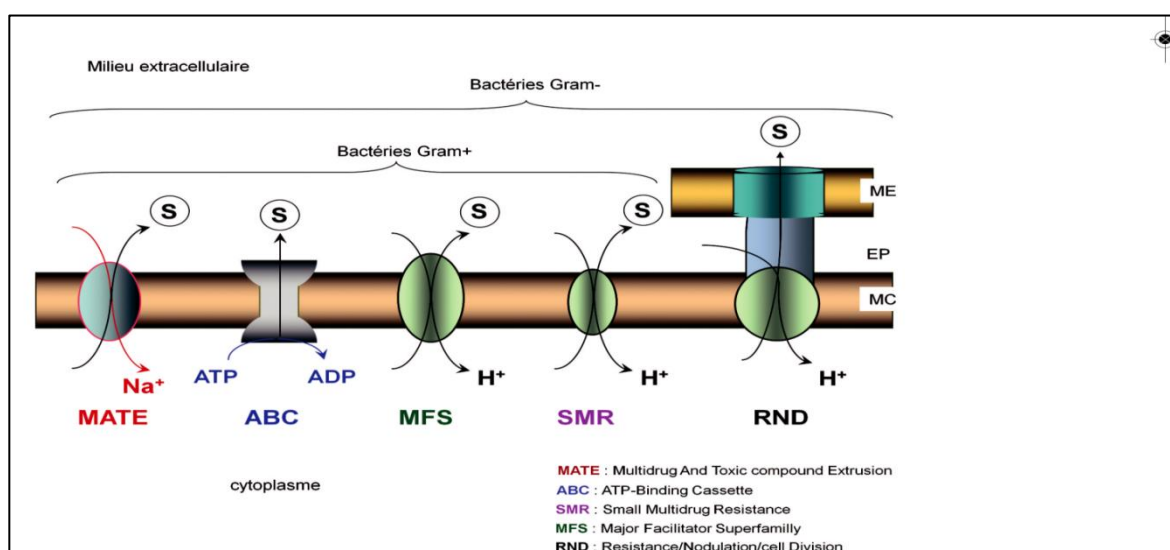


Figure 11: Représentation schématique des cinq familles de pompes à efflux bactériennes. ME, membrane externe ; EP, espace periplasmique ; MC, membrane cytoplasmique ; S, substrat.

4.2. Les mécanismes génétiques de la résistance bactérienne aux antibiotiques :

4.2.1. Les supports génétiques et mécanismes d'acquisition de la résistance aux antibiotiques :

La résistance aux agents antimicrobiens est due soit à une modification de l'information génétique « endogène » par mutation chromosomique, soit à l'acquisition de matériel génétique « tels que les plasmides et/ou transposons.

- **Mutation chromosomique :** Elles peuvent se produire spontanément lors de la réplication de l'ADN par le remplacement d'une base de l'ADN par une autre et donne lieu à des protéines biochimiquement modifiées conférant une résistance spontanée à une famille d'antibiotique.

Ce type de mutation est plus étudiée chez *Escherichia coli* dont la mutation du gène *gyrA* lui confère une forte résistance vis-à-vis de rifampicine. Chez *Pseudomonas aeruginosa*, une

mutation dans le gène mexR cause la répression de l'opéron mexAB-oprM et confère la multirésistance à cette souche pathogène.

Les β -lactamases à spectre élargi sont capables d'hydrolyser les céphalosporines de troisième génération, telles que la ceftazidime, la Céfotaxime et le céftriaxone. Ces enzymes résultent de mutations ponctuelles des gènes de β -lactamases de type TEM-1 ou SHV-1.

Un autre cas de mutation ponctuelle est celui des β -lactamases IRT (inhibitor resistant TEM) résistantes aux inhibiteurs de β -lactamases. Ces composés sont utilisés en combinaison avec des pénicillines pour préserver l'efficacité des pénicillines même vis-à-vis des bactéries productrices de β -lactamases.

A noter que cet événement est stable c'est-à-dire que cette résistance va passer aux générations suivantes de bactéries, donc à la descendance. On parle alors de transmission verticale. **(Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries, DOI 10.1007/s10298-017-1118-z s. d.)**

-Acquisition de gènes de résistance :

La résistance bactérienne par acquisition d'information génétique exogène représente la majorité des cas isolés en clinique et s'observe aussi bien chez les bactéries à gram positif qu'à gram négatif.

L'acquisition de nouveau matériel génétique peut se faire soit par échange direct de matériel chromosomique, soit par échange d'éléments mobiles (plasmides, transposons ou intégrons). Dans ce dernier cas, les gènes de résistances retrouvent dans un fragment d'ADN bactérien situé à l'extérieur et sur certains éléments mobiles du chromosome, tels les plasmides.

Cette forme de résistance est transférable d'une bactérie à l'autre et même à des bactéries d'espèces différentes (Le transfert horizontal).

Le transfert d'un seul plasmide augmente aussi le risque d'une résistance à plusieurs médicaments. Par exemple, le *Shigella*, responsable de la diarrhée, peut transférer un plasmide avec résistance à quatre ou cinq antibiotiques différents. Les gènes ou les groupes de gènes de résistance peuvent s'acquérir par transformation, transduction ou Les mécanismes de transfert de gènes de résistance : conjugaison.

4.2.2. Les mécanismes de transfert de gènes de résistance :

Le transfert de gènes dans le monde bactérien peut se faire par trois processus :

-Conjugaison, il s'agit d'un transfert total ou partiel de matériel génétique (chromosome ou plasmide) suite à un contact entre 2 bactéries, l'une sera donatrice dite « mâle » F⁺ et l'autre sera réceptrice dite « femelle » F⁻. Le facteur F (pour fertilité) correspond à un plasmide dit conjugatif possédant notamment des gènes qui codent pour la synthèse de pili sexuels. Les pili sexuels vont se comporter comme des câbles d'amarrage d'une bactérie F⁺ à une bactérie F⁻.

Il possède aussi des gènes qui codent pour des protéines qui empêchent l'attachement des pili sexuels et donc l'amarrage de deux bactéries F+ entre elles (exclusion de surface) et des gènes permettent la synthèse et le transfert de l'ADN.

La conjugaison va donc faire intervenir des pili sexuels pour l'amarrage d'une bactérie F+ et d'une bactérie F-, le transfert peut alors débuter sur le plasmide au niveau du site appelé "origine de transfert" ou *oriT*, il y a ouverture du plasmide pour libérer un brin d'ADN monocaténaire. Il sera par la suite "déroulé" pour pénétrer dans la bactérie réceptrice puis le brin complémentaire est synthétisé, aussi bien chez la bactérie donatrice que chez la bactérie réceptrice.

Finalement, le facteur F persiste chez la bactérie donatrice qui demeure F+ et une copie du facteur F a été acquise par la bactérie réceptrice qui devient F+. Le mécanisme le plus utilisé pour le transfert des gènes de résistance aux antibiotiques est celui de la conjugaison.

-Transformation : La transformation "naturelle" ou physiologique est le premier modèle connu de transfert de matériel génétique. Les bactéries dites en état de compétence vont avoir la capacité de fixer et d'absorber l'ADN fourni par une autre bactérie, il ne s'agit cependant que de fraction d'ADN, autrement dit tout le génome n'est pas transféré à la bactérie compétente.

Par la suite une recombinaison a lieu afin d'intégrer l'ADN « étranger » à l'ADN de la cellule bactérienne hôte. Ainsi de nouveaux caractères sont intégrés et pourront être transmis aux bactéries filles, donc c'est une acquisition durable. Néanmoins il faut savoir que ce phénomène est limité à quelques espèces dont *N gonorrhoea* ou le *S pneumoniae*.

-Transduction. Il s'agit d'un transfert d'ADN bactérien par l'intermédiaire de bactériophages ; Ce sont des virus de bactéries, qui existent sous la forme virulente ou tempérée. Les phages virulents vont se multiplier dans la bactérie (ou la bactérie va réaliser leur réplication) et sont capables de la lyse de la bactérie. Les phages tempérés s'intègrent dans le chromosome bactérien sans induire de réplication. Le phage se répliquera que si la bactérie se réplique. On parle alors de prophage pour le bactériophage et la bactérie qui en est porteuse, une bactérie lysogène.

Dans une population de bactéries lysogènes, il arrive qu'un prophage se libère du chromosome bactérien, il devient alors virulent, se multiplie, provoque la lyse de la bactérie et peut infecter de nouvelles bactéries. Si, au cours de sa libération, le prophage emporte avec lui plusieurs gènes bactériens (exemple : un gène de R), il peut y avoir transfert par le bactériophage de gènes bactériens d'une bactérie à une autre. C'est ce qu'on appelle la transduction.

5- les principales causes de la résistance bactérienne :

Plusieurs facteurs sont impliqués dans l'émergence de la résistance bactérienne aux antibiotiques à l'échelle mondiale notamment:

5.1. Prescription inappropriée des antibiotiques (Mésusage des antibiotiques) :

L'usage abusif des ATBS ou leur utilisation inadapté peut être représenté par les prescriptions non adaptées aux pathologies pour lesquelles l'antibiotique est prescrit par exemple pour les infections virales qui possède les même symptômes que les infections bactériennes, qui lié aussi aux problèmes d'identifications bactériennes dus à l'équipement insuffisant des laboratoires rendent le diagnostic précis difficile face à une situation infectieuse.

Aussi les prescriptions des posologies inefficaces (pour une durée trop courte et/ou à une dose trop faible), l'automédication « la prise de ATBs de sa propre initiative ou sur la suggestion d'une autre personne, qui n'est pas un professionnel de santé certifié », l'accès libre aux antibiotiques et le non observance des patients à leurs traitements constituent des facteurs qui favorisent l'apparition et la propagation de la résistance bactériennes aux antibiotique(*Microbiologie médicale II, Morein, Nikolas, Merim, Kumars, et Gerald Dunders.: stérilisation, diagnostic de laboratoire et réponse immunitaire. Cambridge Stanford Books.*)

5.2. Usage abusif dans le secteur agroalimentaire :

L'augmentation des besoins alimentaires pour une population mondiale de plus en plus nombreuse a conduit à utiliser en routine dans les élevages des ATBs, ce qui favorise la propagation des souches résistantes par la réduction du nombre de bactéries sensibles présentent dans le microbiote intestinal des animaux. Cette sélection des bactéries résistantes sera d'autant plus importante que le nombre d'animaux traités sera grand.

Ces bactéries résistantes peuvent être transmises à l'homme via plusieurs facteurs notamment la consommation et le contact avec des animaux porteurs des bactéries résistantes, comme salmonelles. Provoquant des infections difficiles à traiter, ce qui entraîne des taux de morbidité et de mortalité plus élevés(**Développement et Santé | La résistance aux antibiotiques : un problème mondial majeur de santé publique s. d.)**

5.3. Dissémination des souches résistantes :

Elle se fait essentiellement par contacts interhumains. Ceux-ci sont favorisés par l'urbanisation croissante des pays en développement qui favorise la promiscuité, avec des conditions d'hygiène insuffisantes.

Les lieux de soins jouent également un rôle crucial. L'association de patients fragiles, d'une utilisation intensive et prolongée d'ATBs avec des règles d'hygiène souvent déficientes favorise l'émergence de bactéries résistantes, qui sont responsables « d'infections nosocomiales » difficiles à traiter ou à prévenir.

Beaucoup de bactéries sont transmises par déplacements accrus des patients(transferts de patients colonisés ou infectés entre les hôpitaux et milieu communautaire) et par les voyages internationaux(**La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important ! Sylvie Carle, 2009 s. d.).**

5.4. Pression de sélection exercée par les antimicrobiens :

La flore présente chez une personne normale comprend des milliards de souches microbiennes, parmi lesquelles certaines sont sensibles et d'autres sont résistantes. L'utilisation d'ATBs pour traiter une infection agit non seulement sur l'agent pathogène spécifique responsable de la maladie, mais décime également des populations d'organismes sensibles dans l'ensemble du corps (tube digestif en particulier). Les souches résistantes prospèrent et se répandent, augmentant le risque, pour le patient de contracter dans l'avenir une infection résistante(**Développement et Santé | La résistance aux antibiotiques : un problème mondial majeur de santé publique s. d.)**

Chapitre 03: les macrolides

1- Définition et généralités :

Les macrolides sont une classe des ATBs utilisé plus depuis 50ans, l'expression macrolide provient de macro (large) et de olide (cycle lactonique).

La chimie des composés macrocycliques a débuté en 1926 quand *Ruzicka élucida* les structures de *Civetones* et *Muscone* comme des cétones Macrocycliques.

En 1927 *Kerchbauma* isolé les premiers lactones macrocycliques *exaltolide* et *Ambrettolide* de racine de l'angélisa et de l'huile de la semence de l'ambrette, respectivement. La découverte de ces huiles végétales du musc a éveillé l'intérêt de trouver des méthodes de synthèse. Les macrolides ont prouvé leur importance commerciale dans l'industrie du parfum.

La grande percée de la chimie des macrolides a débuté en 1950 quand *Brockmann et Henkel* ont isolé le premier macrolide antibiotique la *picromycine* d'une culture de l'Actinomyces. **(les macrolides et leur aparenté pdf s. d.).**

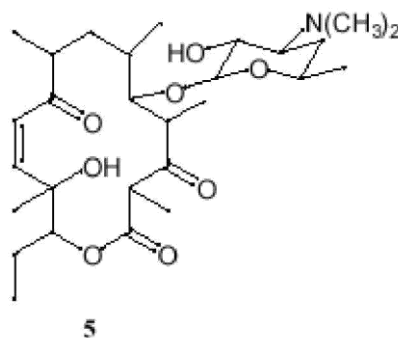


Figure 12 : la Structure chimique du picromycine**(les macrolides et leur aparenté pdf s. d.).**

Depuis la découverte de l'érythromycine en 1952, la classe des macrolides s'est enrichie au fil des années de l'*azithromycine*, de la *clarithromycine*, de la *dirithromycine*, de la *miocamycine*, de la *roxithromycine* et de la *Spiramycine*. **(les macrolides et leur aparenté pdf s. d.).**

2- Caractères physicochimiques :

Les macrolides sont des hétérosides lipophiles de poids moléculaires élevé qui sont constitués d'une génine qui est un macrocycle lactonique oxygéné comportant divers substituant (fonction alcool, cétone, méthyle, éthyle) et d'une partie osidique constituée au minimum de 2 oses déshydroxylés (des déoxyoses) ; au moins un ose aminé (D-désosamine) et au moins un ose neutre (de type cladinose) ou bien un disaccharide. Au moins un des

oses et toujours diméthylamine, ce qui confère à ces molécules un caractère basique faible. **(les macrolides et leur apparenté pdf s. d.).**

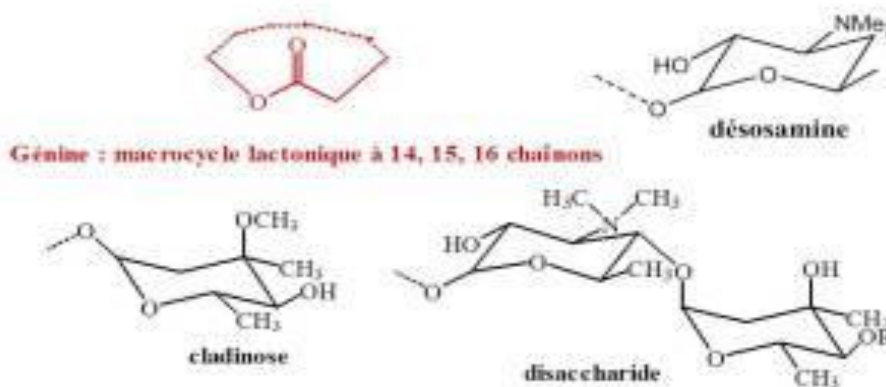


Figure 13 : la structure chimique des génine ; désosamine ; cladinose ; disaccharide. **(les macrolides et leur apparenté pdf s. d.).**

Donc les macrolides sont des bases faibles (pKa de 8-9) présentées sous forme de poudre amère très peu soluble dans l'eau, ces molécules présentent donc la possibilité de former des sels hydrosolubles, du fait de la présence de fonctions alcools sur la génine et des oses possibilité de former des esters (antibiotiques agents s. d.).

A pH acide c.-à-d. au milieu gastrique, on observe une instabilité des macrocycles naturels à 16 chaînons et surtout des macrolides hémisynthétiques à 14 ou 15 chaînons **(les macrolides et leur apparenté pdf s. d.).**

Classiquement on distingue trois groupes suivant le nombre de chaînons de la génine lactonique :

Macrolides dont la génine possède 14 chaînons : substituée en 4 par un cladinose (dérivé de L-mycarose) et en 6 par D-désosamine ; c'est le cas de l'érythromycine, la roxithromycine, clarithromycine, dirithromycine, télithromycine.

Macrolides dont la génine possède 16 chaînons ; substituée en 6 par un disaccharide et une double liaison en 11 et 13 ; c'est le cas de la Josamycine, midécamycine, Spiramycine.

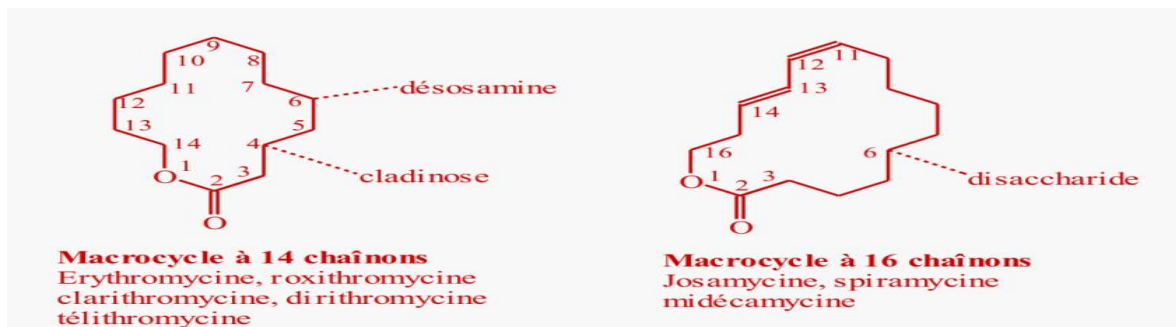


Figure 14 : les macrocycles à 14/16 chaînons. (DESC-octobre-2005-portier.pdf s. d.).

Macrolides dont la génine possède 15 chaînons et correspond au groupe des azalides avec un représentant : azithromycine qui est un macrolide hémisynthétique dérivé de l'érythromycine (DESC-octobre-2005-portier.pdf s. d.).

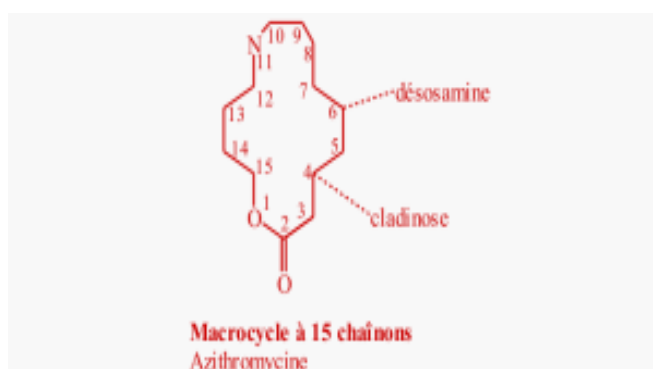


Figure 15 : macrocycle à 15 chaînons. (DESC-octobre-2005-portier.pdf s. d.).

Actuellement on ajoute deux groupes, les nouvelles molécules ; les kétolides, dont la génine possède 14 chaînons, qui ne possèdent pas de cladinose mais ont un groupement céto (antibiotiques agents s. d.).

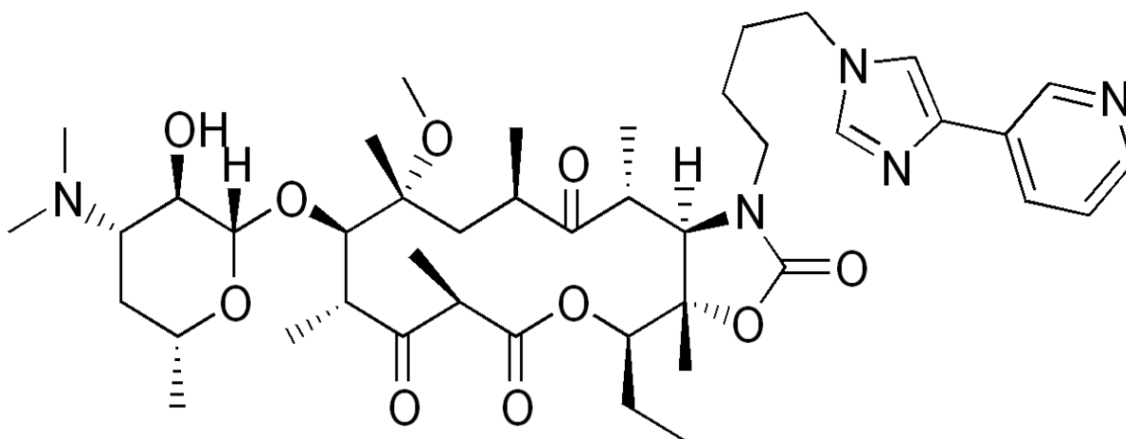


Figure 16 : Structure de base des kétolides (<https://fr.wikipedia.org/wiki/K%C3%A9tolide> s. d.)

L'autre groupe est les apparentées des macrolides, qui semblent aux macrolides, spectrale et structurale ; les synergistines et les lincosamides(macrolides.pdf s. d.)

3- Macrolides 14 atomes de carbone :

Les dérivés naturels :

Les dérivés naturels sont représentés par l'érythromycine et la troléandomycine, cette dernière n'étant plus commercialisée,

L'érythromycine a été découverte par les chercheurs d'Eli Lilly dès 1952. Cette molécule répondait à l'attente, elle était active sur les souches de *S-aureus* productrices de pénicillinase, cette caractéristique a permis sa commercialisation rapide aux Etats-Unis(antibiotiques agents s. d.). Elle présente un mélange d'antibiotiques macrolides élaborés par une souche de *Streptomyce serythreus* (**Erythromycin - A Medical Dictionary, Bibliography, and Annotated Research Guide to Internet References by ICON Health Publications, Copyright ©2004 by ICON Group International, Inc.)**

L'érythromycine produite dans le milieu de fermentation est un complexe moléculaire qui comporte au moins six molécules différentes, de A à F, seule l'érythromycine A possède une activité antibactérienne suffisante pour être utilisée en thérapeutique.

Quand on parle de l'érythromycine substance pure, on trouve qu'est une poudre blanche ou faiblement jaune ou cristaux incolores ou faiblement jaune, faiblement hygroscopiques. Peu soluble dans l'eau, la solubilité diminue avec l'élévation de température, facilement soluble dans l'éthanol, soluble dans le méthanol.

L'érythromycine présente le phénomène du polymorphisme(**Pharmacopée Européenne 9^{eme} Edition tome II mise en application 01-2021 s. d.)**).

L'érythromycine est une génine lactonique portant plusieurs fonctions OH en 7,12,13 et une fonction cétone en 10, également des groupes alkyles(méthyle en position 3,5,7,9,11,13, éthyle en 14)(les macrolides et leur apparenté pdf s. d.).

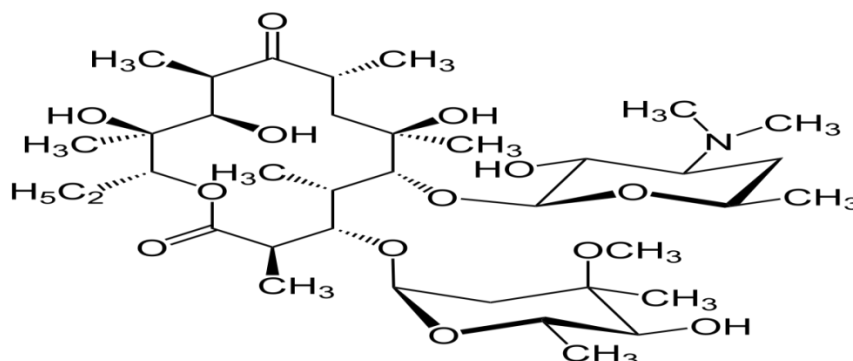


Figure 17 : Structure chimique de l'érythromycine

(https://www.google.com/search?q=erythromycine&client=firefox-b-d&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=2ahUKEwjNsbSq_vHvAhUGQRUIHRcuB2wQ_AUoAXoECAEQAw&biw=1366&bih=626#imgsrc=3CLNJNisy1cD_M s. d.)

L'érythromycine A pour des raisons chimiques différentes, est peu stable en milieu acide, ce qui entraîne une biodisponibilité médiocre et surtout très variable en fonction du niveau de l'acidité gastrique. la structure chimique de l'érythromycine A permet sa dégradation en milieu acide et les deux produits de dégradation, l'hémicétale d'érythromycines A et le spirokétal d'érythromycine A sont bactériologiquement inactifs mais l'hémicétale possède la propriété biologique de stimuler le péristaltisme intestinal, il est en partie responsable des troubles gastro-intestinaux imputables à l'érythromycine **(antibiotiques agents s. d.)**.

L'érythromycine A est la molécule la plus active parmi les dérivés naturels mais elle possède l'inconvénient d'être bactériostatique ou d'être lentement bactéricide.

L'érythromycine A est insoluble dans l'eau, ce qui fait un grand problème dans les formes galéniques **(antibiotiques agents s. d.)**.

Utilisation sous forme protégé d'esters d'érythromycine : succinate d'éthyle ou de type propionate seule ou associée à un sulfamide (pédiazole), posologie usuelle: 2 à 3 g/j.

Et sous forme de microgranules gastrorésistants d'érythromycine base dihydratée ex : logécine, à posologie plus faible : 500mg/j.

Il doit être pris de préférence juste avant les repas **(Vidal 2020 s. d.)**.

Les drives semi-synthétiques :

Des dérivés semi-synthétiques ont donc été développés pour limiter ces inconvénients. Ainsi, la clarithromycine a pu être produite par le remplacement de la fonction 6-hydroxyle par une fonction 6-méthoxyle, stabilisant la molécule en milieu acide et Un autre dérivé, la roxithromycine, produit du remplacement de la fonction cétone en position 9 par une fonction éther-oxyme, présente les avantages d'être à la fois stable en milieu acide, très bien assimilée par voie orale.

Tout en ayant une demi-vie d'élimination plus longue (12 heures) **(ERYTHROMYCINE ET NEOMYCINE, LOUVAIN MEDICAL (119: 259-286, 2000)**.

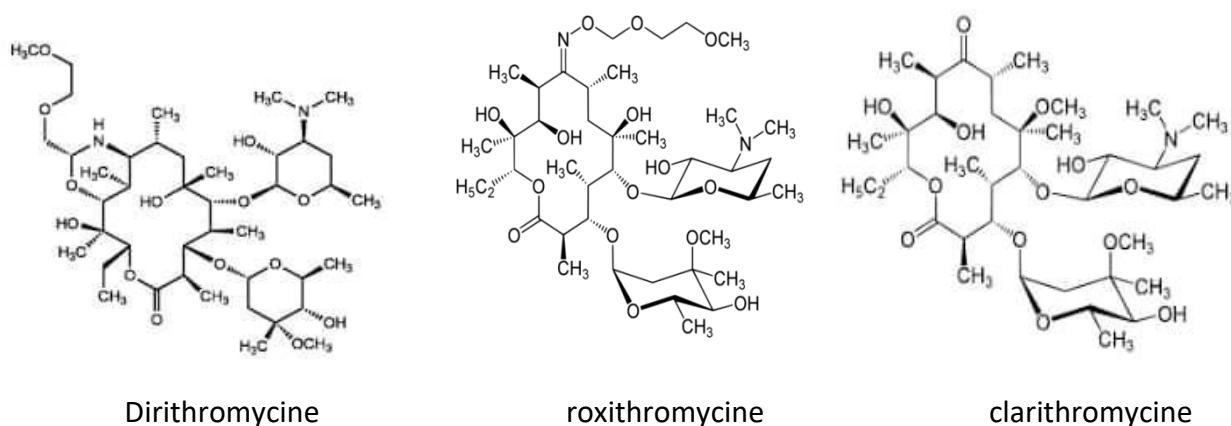


Figure 18 : la structure chimique des dirithromycine/roxithromycine/clarithromycine. **(ERYTHROMYCINE ET NEOMYCINE, LOUVAIN MEDICAL (119: 259-286, 2000)**.

4- Macrolides 15 atomes de carbone :

Ces antibiotiques semi-synthétiques dérivent de l'érythromycine A par extension du cycle lactone, ce qui produit une molécule à 15 chaînons appelée azalide. Le chef de file de cette famille est l'Azithromycine, produite par ajout d'un atome d'azote substitué par un groupement méthyle en position 9. Cette molécule présente une grande stabilité en milieu acide.

A cause de leur stabilité en milieu acide il y aura augmentation de l'absorption, elle a une demi-vie augmentée à plusieurs jours, et une accumulation rapide dans les tissus et une pénétration améliorée dans la membrane externe des bactéries à Gram négatif, ce qui augmente son efficacité vis-à-vis de ces micro-organismes par rapport l'érythromycine (**ERYTHROMYCINE ET NEOMYCINE, LOUVAIN MEDICAL (119: 259-286, 2000).**

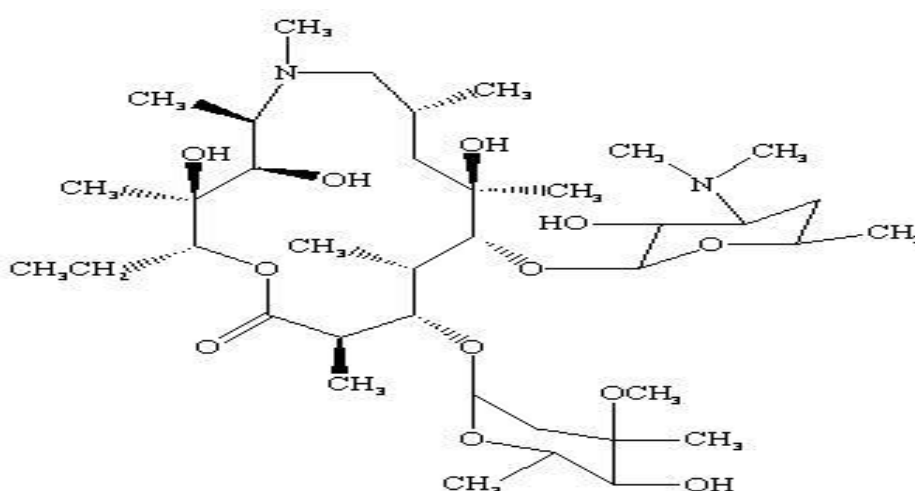
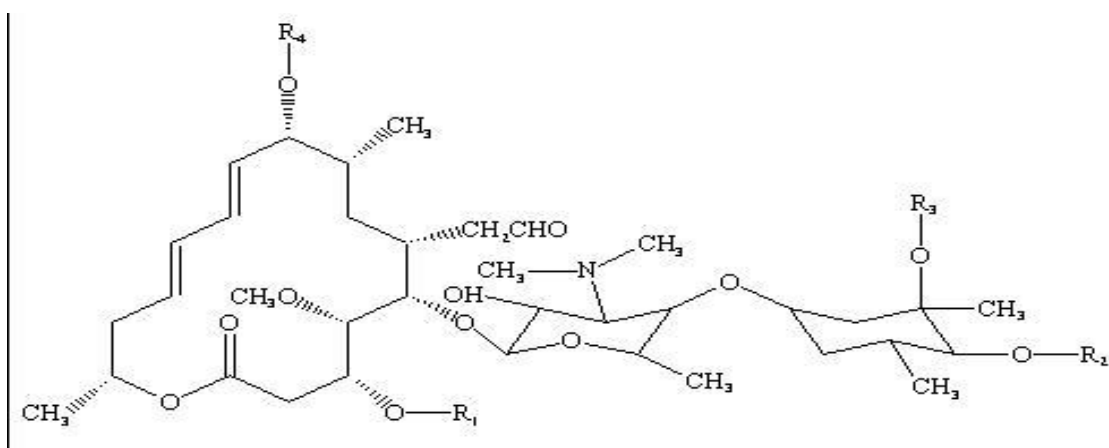


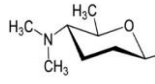
Figure 19 : la structure chimique de l'azithromycine. (**ERYTHROMYCINE ET NEOMYCINE, LOUVAIN MEDICAL (119: 259-286, 2000).**

5- Macrolides 16 atomes de carbone :

La Josamycine, la Spiramycine et la midécamycine sont des macrolides à 16 atomes d'origine naturelle produits par différentes espèces de *Streptomyces* et caractérisés par la présence d'un résidu disaccharidique en position 5 du noyau lactonique.

Des molécules semi-synthétiques telles que la miocamycine et la rokitamycine ont été obtenues à partir de ces antibiotiques naturels midécamycine A1 et leucomycine A5 (**ERYTHROMYCINE ET NEOMYCINE, LOUVAIN MEDICAL (119: 259-286, 2000).**



	R1	R2	R3	R4
Spiramycine	H	H	H	
Josamycine	acétyle	isovaloryl	H	H
MidécamycineA1	propionyl	propionyl	H	H
Miocamycine	propionyl	propionyl	acétyl	acétyl
Rokitamycine	H	n-butyryl	propionyl	H

O

Figure 20: Structure chimique des macrolides à 16 atomes. (Macrolide antibiotique, Schönfeld et Kirst 2002).

6- Les kétolides :

Les kétolides sont des nouveaux dérivés semi-synthétiques de l'érythromycine A formant une classe à part de macrolides à 14 atomes. Ils sont caractérisés par la présence d'une fonction cétone (kéto) en position 3 du noyau lactonique à la place du résidu Cladinoce, Le chef de file des kétolides est la télithromycine, commercialisée depuis 2001 sous le nom de Ketek® (Aventis) Un autre kétolides, l'ABT 773 ou céthromycine, est en cours de développement.

Plusieurs modifications ont été apportées à la molécule d'érythromycine A pour en améliorer les propriétés antibactériennes et pharmacocinétiques et donner naissance à la télithromycine. Le sucre en position 3 a été supprimé et le résidu 3-hydroxyle a été oxydé en cétone. La suppression du sucre diminue l'activité antimicrobienne mais elle est compensée par les autres modifications et elle stabilise l'antibiotique en empêchant l'induction de la résistance de type MLSB chez les souches portant un gène *erm* inducible.

De plus, pour la télithromycine, un groupement méthyle a été fixé sur le groupement 6-hydroxyle pour éviter une hémikétalisation avec le nouveau groupement 3-kéto, ce qui stabilise la molécule en milieu acide. Enfin, un cycle carbamate, fixé sur les carbones 11 et 12 du noyau lactonique, augmente l'activité antimicrobienne des kétolides. Dans le cas de la télithromycine, une chaîne latérale imidazolyl pyridinyl butyle est fixée sur l'azote du carbamate. Ces structures aromatiques hétérocycliques augmentent l'affinité des molécules pour leur cible, le ribosome, ce qui améliore leur activité antimicrobienne même sur les souches résistantes à l'érythromycine

7- Les apparentés aux macrolides :

Les lincosamides:

Les lincosamides sont constitués d'un acide aminé, la L-proline, substitué par une chaîne alkyle en position 4, et d'un sucre comportant un atome de soufre (lincosamine), reliés entre eux par une liaison amide.

Le principal représentant naturel de ce groupe est la lincomycine, produite par *Streptomyces lincolnensis*. Il existe également un dérivé semisynthétique chloré de cette molécule, la clindamycine

Les streptogramines:

Egalement appelées synergistines, les streptogramines sont composées d'un mélange d'au moins deux types de molécules, les streptogramines A et B, agissant en synergie pour devenir parfois bactéricides alors que chacune individuellement n'est que bactériostatique.

Les streptogramines A sont des macrolactones cycliques polyinsaturées alors que les streptogramines B sont des hexadepsipeptides cycliques. La pristinamycine est une streptogramine naturelle produite par *Streptomyces pristinaespiralis*. Elle est composée de 30% de pristinamycine I (streptogramine B, mélange de pristinamycine IA, IB et IC) et de 70% de

pristinamycine II (streptogramine A, mélange de pristinamycine IIA et IIB) Du fait de son insolubilité dans l'eau, cet antibiotique ne peut être administré que par voie orale. Une nouvelle streptogramine hydrosoluble et injectable a donc été récemment commercialisée. Elle associe deux dérivés semi-synthétiques de la pristinamycine IA et IIA qui sont respectivement la quinupristine (streptogramine B, substitution par un Pristinamycine IIA Quinupristine Dalfopristine Pristinamycine IA52groupement qui nuclidinythiométhyle) et la dalfopristine (streptogramine A, substitution par un groupement diéthylaminoéthylsulfone)

8- La pharmacocinétique des macrolides :

Absorption :

Du fait d'une certaine instabilité en milieu acide, même si plusieurs d'entre eux sont beaucoup plus résistants que l'érythromycine, il est préférable de prendre les macrolides per os avant un repas au moins 15 minutes, ou plus de deux heures après.

Dans l'ensemble, leur absorption est moyenne avec une biodisponibilité autour de 40 %.

Leur biodisponibilité va dépendre de leur stabilité au PH gastrique, de leur résorption intestinale et d'un éventuel effet de premier passage hépatique. La clarithromycine est très stable en milieu acide, l'Azithromycine et la roxithromycine vont subir 20 à 30% de dégradation au niveau de l'estomac et leur absorption sera diminuée si elles sont administrées au cours d'un repas, l'érythromycine sera complètement dégradée par dégradation du macrocycle et cyclisation intramoléculaire et son métabolite intermédiaire sans activité antibiotique peut être incriminé dans les effets indésirables digestifs liés à l'érythromycine.

Parmi les molécules subissant un effet de premier passage hépatique, on retrouve l'Azithromycine, la clarithromycine dont certains métabolites sont actifs (métabolites déméthylés de l'azithromycine et le 14-hydroxycarithromycine par exemple).

La plupart des macrolides sont substrats de la protéine d'efflux glycoprotéine-p, ce qui contribue aux interactions médicamenteuses imputables aux macrolides.

Distribution :

Compte tenu de leur lipophile, les macrolides ont une bonne diffusion dans de nombreux tissus et en intracellulaire. Ils se concentrent dans les phagocytes, ou les concentrations d'azithromycine et de clarithromycine peuvent être 400 à 800 fois supérieures à celles du sérum. Leur pénétration tissulaire est également importante (poumons, prostate, sphère, ORL, peau, foie, rein, sauf dans le LCS du fait de leur taille) ou ils peuvent atteindre des concentrations 10 à 100 fois supérieures à celles du sérum, leur relargage à partir des tissus est lent et l'azithromycine, présente des propriétés particulières du fait de sa structure chimique. Sa demi-vie tissulaire est très longue, de deux à quatre jours, permettant une administration unique par jour et une durée de traitement raccourcie dans la plupart de la situation.

Ils se lient préférentiellement à α -1-glucoprotéine, dans des proportions variables selon les molécules (80 à 95% pour l'érythromycine et la roxithromycine, 10 à 30% pour les autres macrolides)(**verdier 2018 s. d.**).

Métabolisme :

La roxithromycine n'est pas métabolisée au niveau hépatique, les autres macrolides passent par voie du CYP450 3A4. Pour chaque molécule sauf l'érythromycine, on retrouve un ou plusieurs métabolites bactériologiquement actifs.

Le 14-hydroxyclearithromycine a la particularité de présenter une additivité, voire une synergie avec la molécule-mère, la clarithromycine, tandis que les autres métabolites ont globalement une activité antibactérienne inférieure à celle de la molécule-mère correspondante. Le métabolisme de la clarithromycine en 14-OH est saturable à concentration élevées.

Il est important de noter que tous les macrolides, sauf la Spiramycine, forment via le CYP3A4 des métabolites de type nitroalcanes, qui ont la capacité d'interagir avec le fer ferreux du CYP3A4. Cela forme donc un complexe qui va inhiber l'activité de ce cytochrome, ainsi, ces molécules, inhibitrices du CYP3A4 feront l'objet de nombreuses interactions médicamenteuses d'origine pharmaceutique.

Elimination :

La voie principale d'élimination des macrolides est la voie biliaire, les demi-vies d'élimination sont très variables : deux à trois heures pour l'érythromycine, la Josamycine et la clarithromycine, huit à dix heures pour la roxithromycine et la Spiramycine et plus de deux jours pour l'Azithromycine.

L'insuffisance hépatique contre-indique l'usage des macrolides. En revanche, l'insuffisance rénale ne demandera pas d'adaptation posologique particulière, excepté pour la clarithromycine du fait du risque d'accumulation de son métabolite actif 14-OH-clarithromycine.

9- Pharmacodynamique des macrolides :

Les macrolides sont des ATBs à spectre étroit, principalement actifs sur les bactéries intracellulaires. Ils sont particulièrement bien tolérés, y compris au cours de la grossesse. L'évolution des résistances bactériennes a limité leurs indications en monothérapies. Les principales indications de monothérapies en première intention sont représentées par la pneumonie de l'adulte de moins de 40 ans sans facteur de risque et les infections à chlamydia. Dans la plupart des autres indications, ils sont utilisés en seconde intention, lorsqu'une autre classe ne peut être utilisée, ou en association. Ils possèdent des indications pour la prophylaxie de certaines infections.

a- Pénétration dans les bactéries :

La pénétration des macrolides dans la bactérie semble s'effectuer par diffusion passive car aucun transporteur spécifique n'a été mis en évidence.

L'interaction avec les bactéries à Gram positif est facilitée par l'absence de membrane externe, pour les bactéries à Gram négatif, la diffusion passive est restreinte par le lipopolysaccharide, molécules amphipathique lipophile.

Les macrolides gagnent l'espace periplasmique par les porines qui régulent le flux des molécules suivant leur hydrophile ; leur charge et leur taille.

La variation de structure des porines selon les espèces bactériennes explique en partie la sensibilité aux différents macrolides.

Pour atteindre leur cible, le ribosome bactérien, les macrolides gagnent le cytoplasme en traversant la bicouche lipidique de la membrane interne par diffusion passive. Ce mécanisme met en jeu un différentiel de PH entre l'intérieur et l'extérieur du cytoplasme. La charge des macrolides varie en fonction du PH et les formes non protonées passent rapidement la bicouche lipidique pour atteindre le milieu interne plus acide. Ceci conditionne également l'accumulation préférentielle des macrolides dans les polynucléaires neutrophiles, les macrophages et les lysosomes.

b- Mécanismes d'action intracellulaire :

Le ribosome bactérien est formé par deux sous-unités 30s et 50s, cette dernière est constituée par l'ARN ribosomal (ARNr) 23s et de nombreuses protéines de liaison, le tunnel formé par les domaines I à V de l'ARNr 23s et des protéines ribosomales (dont L4 et L22), permet l'élongation de la chaîne polypeptidique.

Les macrolides agissent en inhibant la synthèse protéique bactérienne de deux manières :

- A un stade précoce de la synthèse protéique, ils se fixent sur la sous-unité 50S du ribosome bactérien et bloquent l'assemblage des deux sous-unités 30s et 50s.
- Ils inhibent la traduction de l'ARN messager par le ribosome bactérien, le site de liaison de l'érythromycine A est localisé à proximité du tunnel qui permet la synthèse des polypeptides, en bloquant sa sortie du tunnel, la liaison stœchiométrique de l'érythromycine à la sous-unité 50s, par formation de pont hydrogènes avec des résidus adénines de l'ARNr 23S empêche l'élongation de la chaîne polypeptidique, ce qui entraîne un décrochement prématuré du peptidyl-tRNA. (rammaert 2006 s. d.)

10- Les germes sensibles aux macrolides :

Le spectre antibactérien, assez vaste, est essentiellement ciblé sur les germes à Gram positif car ils pénètrent mal au travers de la membrane externe des bactéries à Gram négatif, à quelques exception près (très utiles en clinique : *Neisseria spp*, *Helicobacter pylori*, *Campylobacter*, *Legionella pneumoniae* entre autres).

- Bactéries intracellulaires ; *Chlamydomphila sp*, *Mycoplasma sp*, *Legionella pneumophila*, *Bartonella benselae*.
- Cocci à Gram négatif : *Streptocoques bêta hémolytiques*, SARM.
- Bacille à Gram positif : *Corynbacterium diphteriae*, *Actinomyces*.
- Cocci à Gram négatif : *Branbamella catarrbalis*, méningocoque.
- Bacilles à Gram négatif : *H. pylori* (la clarithromycine), *Campylobacter jejuni*, *Bordetella pertussis*, *Treponem pallidum*.

Les macrolides ont également une activité sur *Toxoplasma gandi* (la Spiramycine).

Ils seront inactifs sur *Pseudomonas sp* et sur les Entérobactéries du fait de l'imperméabilité de la paroi bactérienne.

Ce sont des ATBs bactériostatiques dont certains et selon les souches bactériennes, à forte concentrations atteignables par voie intraveineuse, deviennent bactéricides(**verdier 2018 s. d.**).

11- Impact de large utilisation des macrolides :

L'administration prolongée de faibles doses de macrolides pose la question de l'apparition de souches bactériennes résistantes aux macrolides. Chez les patients traités par macrolides à long terme, l'émergence de souches d'*Haemophilus influenzae*, de *Staphylococcus aureus* de *Streptococcus pneumoniae* et de *Streptococcus milleri*, résistantes aux macrolides a été décrite.

Le cas des mycobactéries atypiques est plus compliqué.

Les chercheurs suggéraient qu'un traitement par macrolides prolongé pourrait augmenter la prévalence des infections à mycobactéries atypiques.

L'induction d'une résistance aux macrolides chez les mycobactéries non tuberculeuses est un sujet d'inquiétude potentiel, l'azithromycine semblant induire moins de résistances des mycobactéries que la clarithromycine (**Traitement prolongé par,lesmacrolides,dans,les;bronchopathies,chroniques,2013 Long-term macrolide therapy in chronic airway diseases**).

.

Chapitre 04 : Résistance aux macrolides

Les macrolides sont connus depuis 15 décennies et, depuis l'introduction de l'érythromycine dans la thérapie, un certain nombre de ces molécules ont été développées pour un usage clinique. Pendant des années, ces antibiotiques ont représenté une alternative majeure à l'utilisation des pénicillines et des céphalosporines pour le traitement des infections dues aux micro-organismes à Gram positif (principalement les streptocoques b-hémolytiques et les pneumocoques).

En 1956, peu après l'introduction de l'érythromycine en thérapie, une résistance est apparue chez les staphylocoques et les premières souches de pneumocoque résistantes à l'érythromycine ont été rapportées aux Etats-Unis en 1967 et en France en 1976. Dans le contexte de l'époque qui était l'utilisation de l'érythromycine en première intention dans le traitement des infections respiratoires basses, la proportion de pneumocoques résistants aux macrolides s'est rapidement accrue pour dépasser 20 % à la fin des années 1980 (**Diversity of Ribosomal Mutations Conferring Resistance to Macrolides, Clindamycin, Streptogramin, and Telithromycin in Streptococcus pneumoniae** ».Canu' et Leclercq s. d2002.).

Peu après l'émergence des premières souches résistantes, le mécanisme de résistance à l'érythromycine a été rapidement reconnu comme étant une modification de la cible ribosomale par une méthylase codée par un gène transposable. Ce mécanisme est resté longtemps unique jusqu'à ce que, récemment, un nouveau mécanisme de résistance à l'érythromycine par efflux de l'antibiotique soit caractérisé. **Des mutations de la cible ribosomale des macrolides ont aussi été rapportées chez des souches cliniques2002(Canu' et Leclercq s. d.)**

Cependant, le développement mondial de la résistance aux macrolides avec de grandes variations, selon le pays et l'espèce bactérienne, a parfois contraint à limiter l'utilisation de ces antibiotiques à certaines indications. Bien que l'évolution de la classe des macrolides ait été marquée, dans les années 1990, par le développement de macrolides semi-synthétiques présentant une pharmacocinétique et une tolérance améliorées, ces nouveaux dérivés se sont révélés incapables de vaincre la résistance à l'érythromycine. En revanche, notre connaissance croissante des mécanismes moléculaires de la résistance aux macrolides a conduit l'industrie pharmaceutique à concevoir des dérivés, tels que les kétolides, qui ont une activité contre certains types d'organismes résistants à l'érythromycine(**Dr. Roland Leclercq, CHU de Caen, Service de Microbiologie, Avenue Coûte de Nacre, Caen cedex, 14033, France (leclercq-r@chu-caen.fr)2002. s. d.)**

1- Mécanismes de résistance aux macrolides :

Les mécanismes de résistance aux macrolides connus pour les différentes bactéries en pathologie humaine comprennent des mécanismes de modification de la cible (*staphylocoques*, *streptocoques*, *M. pneumoniae* et anaérobies), d'efflux (notamment pour *Streptococcus pneumoniae*, le *Streptocoque A*, les *staphylocoques* et les coryné bactéries) et des inactivations de l'anti biotique (pour les *Staphylocoques* et les *Entérocoques*).

1. Modification de la cible :

-Méthylation de la cible ribosomale des macrolides : le phénotype MLSB :

La modification de cible est le mécanisme de résistance à l'érythromycine le premier connu et reste longtemps unique. Ce type de résistance résulte de l'acquisition d'un gène *erm* (erythromycin ribosome methylase) en règle transposable chez le pneumocoque. Ce gène code pour une méthylase ribosomale qui utilisent la S-adénosylméthionine comme donneur de méthyle pour mono- ou diméthyliser l'ARN ribosomal 23S en un seul site- l'adénine 2058-(Le résidu, adénine 2058, est situé dans une région conservée du domaine V de l'ARN ribosomal 23S et un point de contact essentiel pour les macrolides). Sa modification réduit l'affinité de l'érythromycine pour sa cible soit en empêchant son accès soit en modifiant la structure du site de fixation. La résistance conférée est croisée entre l'érythromycine et les antibiotiques du groupe MLS, du fait de leurs sites de fixation qui sont communs ou se chevauchent. Pour cette raison, ce phénotype de résistance croisée est dénommé MLSB (Co-résistance à large spectre aux macrolides, aux lincosamides et aux streptogramines B) (**Macrolide antibiotic, Schönfeld et Kirst 2002**).

En plus d'être le premier mécanisme reconnu de résistance à l'érythromycine dans les souches pathogènes, les *Erm* méthylases sont le plus répandu des mécanismes de résistance aux antibiotiques MLSB (**Macrolide antibiotic, Schönfeld et Kirst, 2002**).

Le niveau de résistance conféré par les méthylases ribosomales à des macrolides spécifiques dépend du mode de Méthylation du résidu adénine et de la structure du macrolide. La monométhylation ou la diméthylation du résidu adénine conduit à deux phénotypes de résistance différents, respectivement MLSB-I et MLSB-II, codés par des gènes *erm* spécifiques. Le phénotype MLSB-I est caractérisé par un niveau élevé de résistance à la lincomycine, une résistance intermédiaire à la spiramycine et une sensibilité limite à la tylosine (un autre macrolide à 16 chaînons) ; le phénotype MLSB-II est défini par un niveau élevé de résistance croisée à tous les antibiotiques MLSB (**Macrolide antibiotic, Schönfeld et Kirst 2002**).

Les gènes *erm*

Un large éventail de micro-organismes, y compris les espèces à Gram positif, les bactéries à Gram négatif éloignées phylogénétiquement, les spirochètes, les anaérobies et les producteurs

de macrolides (*Streptomyces* et *Saccharopolyspora*) expriment des méthylases Erm. la méthylation d'un résidu unique dans l'ARNr 23S est effectuée par une diversité de méthylases Erm. Près de 40 gènes erm ont été signalés jusqu'à présent ; ces éléments sont le plus souvent portés par des plasmides et des transposons dans les bactéries pathogènes.

Chez les pneumocoques résistants à l'érythromycine, deux déterminants erm ont été rapportés, erm(B) et erm(A). Ce dernier n'a été décelé que chez une seule souche isolée en Grèce. Le déterminant erm(A) a été initialement décrit chez *Streptococcus pyogenes* sous le nom de ermTR, puis considéré comme appartenant à la classe de gène erm(A) du fait de son appartenant au gène erm(A) de staphylocoque. Chez le pneumocoque, le gène erm(A) conférait une résistance de bas niveau à l'érythromycine et la clindamycine. Le gène erm(B) est plus répandu, initialement appelé ermAM, ce déterminant a d'abord été caractérisé chez une souche de *Streptococcus sanguis* A1 contenant le plasmide pAM77 isolée d'une plaque dentaire en 1978. Il est largement distribué chez les streptocoques et entérocoques. chez *S. pneumoniae*, il est porté par des transposons conjuguais de Tn1545 (**Diversity of Ribosomal Mutations Conferring Resistance to Macrolides, Clindamycin, Streptogramin, and Telithromycin in *Streptococcus pneumoniae*** », Canu' et Leclercq s.2002d.).

Aussi erm(C) est plus répandu chez les staphylocoques, tandis que les anaérobies hébergent le gène erm(F) (**Macrolide antibiotic**, Schönfeld et Kirst 2002).

Mécanismes d'induction :

La synthèse de méthylase peut se faire de façon constitutive ou inductible. Dans le cas de la résistance constitutive, l'ARN messager d'erm (B) est synthétisé sous une forme active et sa traduction permet la méthylation « constitutionnelle » des ribosomes (expression permanente). Par contre, dans le cas de la résistance inductible, l'ARN messager de erm(B) est synthétisé sous une forme inactive. En présence d'inducteurs, cet ARN messager devient actif et permet la synthèse de méthylase. Dans le cas d'erm (B) chez le pneumocoque, les inducteurs sont l'ensemble des macrolides commercialisés à noyau à 14, 15 et 16 atomes, les lincosamides et les streptogramines B (MLS_{Bi}) ; R croisée aux MLS_B. Dans le cas d'erm(A) et erm (C) Chez les staphylocoques les seuls inducteurs sont M à 14 ou à 15 atomes, L et M16 (kétolides) restent actifs ((fixation domaine II de ARNr23S) (**macrolide antibiotic**, Schönfeld et Kirst 2002).

Les kétolides sont de mauvais inducteurs des souches de streptocoques et de staphylocoques. Il est important de noter que l'utilisation de non-inducteurs comme les macrolides à 16 dans l'environnement clinique a entraîné la sélection de mutants constitutivement résistants.

La distinction entre phénotypes inductibles et constitutifs n'a pas d'intérêt pratique pour les macrolides classiques car aucun ne peut être employé du fait de la résistance croisée. Elle est importante pour les ketolides (**Canu' et Leclercq s. d.**).

-Mutations ribosomales :

Deux principaux types de mutations ont été décrits :

a) Mutations dans l'ARNr 23S

Les mutations répertoriées sont situées majoritairement dans le domaine V et plus rarement dans le domaine II de l'ARNr 23S.



Figure 21 : représentation partielle de la structure secondaire des domaines V et II de l'ARN 23S. Les bases dont la mutation est associée à la résistance aux macrolides sont entourées. (Annie Canu,¹ Brigitte Malbruny,² Maeïlle Coquemont,² Todd A. Davies,³ Peter C. Appelbaum,³ and Roland Leclercq^{2*} s. d.).

Pour le domaine V :

La plupart du temps, le nucléotide concerné est l'adénine 2058 du domaine V, ou les positions voisines 2057 et 2059. Ces mutations ont été décrites aussi bien chez des mutants sélectionnés in vitro que chez des souches cliniques résistantes isolées chez des patients traités avec des MLS. Les mutations de la base 2611 sont également répandues chez les souches résistantes, mais d'autres positions également situées dans la boucle centrale de l'ARNr 23S, au cœur du centre peptidyl transférase, ont été décrites, comme les bases 2062, 2609, 2610 et 2613 appartenant au site de fixation des MLS au ribosome (Annie Canu,¹ Brigitte Malbruny,² Maeïlle Coquemont,² Todd A. Davies,³ Peter C. Appelbaum,³ and Roland Leclercq^{2*} s. d.).

Les mutations aux positions 2058 et 2059 confèrent les plus hauts niveaux de résistance. Les mutations A2058G/U ou C confèrent une résistance croisée aux MLSB, tandis que l'action synergique des streptogramines n'est pas affectée et que la fixation des kétolides reste efficace. Les mutations A2059G/C confèrent plutôt une résistance de type ML (macrolide antibiotic, Schönfeld et Kirst 2002).

En général, les mutations aux autres positions de la boucle centrale du domaine V confèrent une résistance de plus bas niveau aux MLS. Certaines (2609, 2610, 2613) n'ont pour l'instant été observées que chez des mutants *in vitro* et jamais chez des souches cliniques, sans doute parce que leur niveau de résistance ne suffit pas à leur survie en présence d'un traitement antibiotique. D'autres positions, notamment 2451, 2503, 2505, 2506, 2585 et 2586 ont été identifiées comme participant à la fixation des MLS au ribosome par des expériences d'empreinte chimique ou par cristallographie mais aucune mutation de ces positions n'a été associée à une résistance aux macrolides *in vitro* ou *in vivo* (**macrolide antibiotic, Schönfeld et Kirst 2002**).

Pour le Domaine II :

Quelques positions dont la mutation confère la résistance à un ou plusieurs MLS ont été identifiées. En particulier, une mutation U754A confère une résistance de bas niveau à l'érythromycine et à la télithromycine chez *E. coli*. D'autre part, la délétion A752 associée à une mutation en position 2058 provoque une résistance croisée aux macrolides à 14 et 15 atomes et à la télithromycine. Ces observations confirment l'importance du domaine II de l'ARNr 23S dans le mécanisme d'action des kétolides, mais elles sont infirmées par une étude récente qui montre que les mutations associées du domaine II et du domaine V de l'ARNr 23S ne sont pas suffisantes pour conférer une résistance significative aux kétolides.

b) Mutations dans les protéines ribosomales

Des mutations des protéines ribosomales L4 et L22 ont également été identifiées comme responsables de la résistance à l'érythromycine. Ces protéines sont codées respectivement par les gènes *rplD* et *rplV* de l'opéron S10 et se situent à proximité immédiate du centre peptidyl transférase, cible des MLS. Chez *E. coli*, par exemple, qui possède 7 copies du gène *rrl*, la majorité des mutants résistants à l'érythromycine générés en laboratoire présentent des altérations dans l'une ou l'autre de ces protéines (**Annie Canu,¹ Brigitte Malbruny,² Maeïlle Coquemont,² Todd A. Davies,³ Peter C. Appelbaum,³ and Roland Leclercq^{2*} s. d.**).

◆Protéine ribosomale L4

Cette protéine a été modélisée par cristallographie aux rayons X chez la bactérie *Thermotoga maritima*. Elle présente, en plus de l'alternance feuillets β /hélices α , une grande boucle désordonnée de 55 acides aminés, qui correspond à la structure la plus conservée chez les bactéries et pourrait prendre une forme structurée dans le ribosome. Elle interagit avec l'ARNr principalement au niveau des domaines I et II mais également au niveau du domaine V de l'ARNr 23S. Elle joue également un rôle dans la régulation de sa propre expression en agissant sur l'opéron S10 qui code pour 11 protéines ribosomales, dont elle fait partie. Les mutations de cette structure conférant une résistance aux MLS sont situées dans la région conservée. Elles ont été décrites aussi bien chez des souches de laboratoire que chez des souches cliniques. Elles sont particulièrement présentes chez certaines souches cliniques de *S. pneumoniae* isolées en Europe de l'est, où 15,6% des souches sont touchées par ce phénomène, les mutations

retrouvées leur conférant une résistance de type MSB. Ces mutations provoqueraient en fait un effet indirect en modifiant la structure tridimensionnelle du ribosome, modifiant ainsi le site de fixation des antibiotiques. Ces ribosomes présentent d'ailleurs un rétrécissement de l'entrée du tunnel de sortie des polypeptides.

◆Protéine ribosomale L22 :

La structure de cette protéine a été modélisée par cristallographie aux rayons X chez la bactérie *T. thermophilus*. Il s'agit d'une petite protéine formée de 3 hélices α et 3 feuillets β . Elle présente la particularité d'être constituée d'un cœur hydrophobe compact d'où émane une épingle β formée par deux de ses feuillets β , dont la longueur est constante chez toutes les espèces. Cette boucle constitue en partie la paroi interne du tunnel peptidique au sein du ribosome bactérien et elle jouerait un rôle dans les premières étapes de l'assemblage du ribosome en maintenant à proximité les domaines V et II de l'ARNr 23S (Annie Canu,¹ Brigitte Malbruny,² Maelle Coquemont,² Todd A. Davies,³ Peter C. Appelbaum,³ and Roland Leclercq^{2*} s. d.).

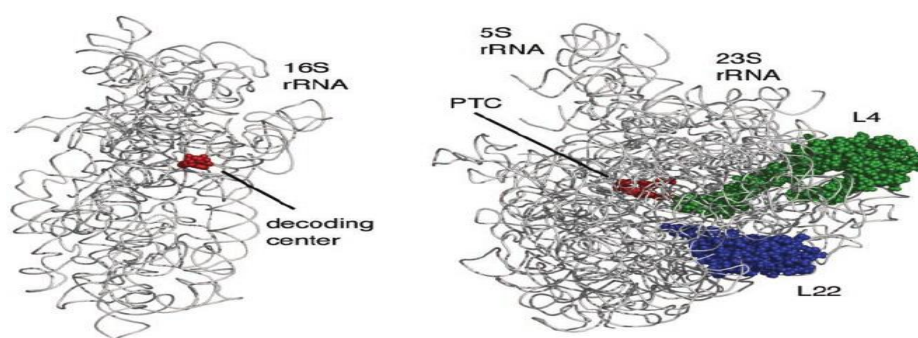


Figure 22: Localisation ribosomale de protéine L4 et L22 dans la sous unité 50S de ribosome (Annie Canu,¹ Brigitte Malbruny,² Maelle Coquemont,² Todd A. Davies,³ Peter C. Appelbaum,³ and Roland Leclercq^{2*} s. d.).



Figure 23 : Structure de protéine L4 et L22 de *Haloarcula marismortui* (Annie Canu,¹ Brigitte Malbruny,² Maelle Coquemont,² Todd A. Davies,³ Peter C. Appelbaum,³ and Roland Leclercq^{2*} s. d.).

Position	Bactérie	Mutation	Phénotype	Références
752	<i>S. pneumoniae</i>	délétion A752	M14, M15, Tel	(Canu <i>et al.</i> 2002)
754	<i>E. coli</i>	U754A	Ery ^{BN} , Tel ^{BN}	(Xiong <i>et al.</i> 1999)
2032+	<i>Helicobacter pylori</i>	A2032G+G2057A	Ery, Cli	(Bartkus <i>et al.</i> 2003)
2057	<i>E. coli</i>	G2032A+G2057A	M14, M15	(Douthwaite, 1992)
2057	<i>E. coli</i>	G2057A	M14	(Ettayebi <i>et al.</i> 1985)
	<i>Propionibacterium acnes</i>	G2057A	Ery ^{BN}	(Ross <i>et al.</i> 1997)
2058	<i>H. pylori</i>	A2058G/C/U		(Wang et Taylor, 1998)
	<i>Mycobacterium abcessus</i>	A2058G	Clr	(Jamal <i>et al.</i> 2000)
	<i>Mycobacterium avium</i>	A2058G/C/U	Clr	(Wallace, Jr. et al. 1996)
	<i>Mycobacterium chelonae</i>	A2058C/G	Clr	(Meier et al. 1994)
	<i>Mycobacterium intracellulaire</i>	A2058G/C/U	Clr	(Burman et al. 1998)
	<i>Mycobacterium kansasii</i>	A2058U	Clr, Azi	(Sander et al. 1997)
	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	A2058G	Clr	(Okazaki et al., 2001)
	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	A2058G	ML	(Ross <i>et al.</i> 1997)
	<i>S. pneumoniae</i>	A2058G/U	MLS _B	(Canu <i>et al.</i> 2002)
	<i>Propionibacterium</i> spp.	A2058G	MLS _B	(Nagai <i>et al.</i> 2000 ; Tait-Kamradt
	<i>Treponema palladium</i>	A2058G	M14, M15	(Stamm et Bergen, 2000)
2059	<i>H. pylori</i>	A2059G/C	Clr, Azi	(Versalovic <i>et al.</i> 1996;
	<i>M. avium</i>	A2059G/C	Clr, Azi	(Wallace, Jr. et al. 1996)
	<i>M. abcessus</i>	A2059G/C	Clr	(Wallace, Jr. et al. 1996)
	<i>M. chelonae</i>	A2059G	Clr	(Jamal <i>et al.</i> 2000)
	<i>M. intracellulaire</i>	A2059G/C	Clr, Azi	(Sander <i>et al.</i> 1997)
	<i>M. smegmatis</i>	A2059G	Clr	(Pereyre <i>et al.</i> 2002)
	<i>M. pneumoniae</i>	A2059G/C	ML	(Ross <i>et al.</i> 1997)
	<i>Propionibacterium</i> spp	A2059G	ML	(Tait-Kamradt et al. 2000a)
	<i>S. pneumoniae</i>	A2059G	ML	(Tait-Kamradt et al. 2000a)
2609	<i>E. coli</i>	U2609C	Ketolides	(Garza-Ramos <i>et al.</i> 2001)
2611	<i>E. coli</i>	C2611U	Ery	(Vesteret Douthwaite 2001)
	<i>S. pneumoniae</i>	C2611A	M15, M16, S _B	

Tableau 02. Mutations de l'ARNr 23S associées à des résistances aux MLS chez les bactéries
Pathogènes (**Macrolide antibiotique, Schönfeld et Kirst 2002**)

Efflux des macrolides :

On pensait à l'origine que la membrane externe des bactéries Gram-négatives, qui présente une faible perméabilité aux molécules hydrophobes de haut poids moléculaire (dont les macrolides, les lincosamides et les streptogramines), était seule responsable de la résistance intrinsèque. Cependant, avec la découverte de nombreuses pompes multirésistantes, il est maintenant reconnu que certaines pompes codées par le chromosome jouent un rôle important dans la résistance intrinsèque aux composés hydrophobes (**Macrolide antibiotique, Schönfeld et Kirst 2002**).

Les pompes d'efflux qui sont souvent en partie responsables de la résistance intrinsèque aux antibiotiques chez de nombreuses espèces bactériennes peuvent avoir des spécificités de substrat exceptionnellement larges comme la pompe d'efflux AcrAB-TolC d'*E. Coli*, ou elles peuvent avoir une spécificité de substrat étroite comme la pompe Mef(A) des *streptocoques*. Dans tous les cas, une protéine résidant dans la membrane cytoplasmique agit seule ou de concert avec d'autres protéines pour pomper ses substrats hors de la cellule, quatre classes de pompes d'efflux peuvent être définies :

Pompes RND :

Les membres de la famille résistance/nodulation/division (RND) sont communs chez les bactéries Gram-négatives et ont une taille de sous-unité de - 1000 acides aminés codant pour 12 régions membranaires. Le mécanisme de pompage comporte généralement trois composants : 1) une protéine qui forme un canal dans la membrane cytoplasmique (AcrB, AcrF, AmrB, MexB, MexD, Mex Y et MtrD), 2) une protéine de liaison située dans le périplasme et facilitant l'exportation entre la membrane interne et la membrane externe (AcrA, AcrE, AmrA, MexA, MexC, MexY, et MtrC), et 3) une porine de membrane externe dédiée ou généralisée qui dirige vers l'extérieur le transport d'un large éventail d'antibiotiques vers l'environnement extracellulaire (TolC, Omp2, OprA, OprM, OprJ, OprM, et MtrE).

Les gènes *acrAB-tolC*, *acrAB-omp2*, *amrAB-oprA*, et *mexAB-oprM* sont codés par le chromosome et exprimés de manière constitutive, fournissant une résistance intrinsèque aux macrolides pour *E. coli*, *Haemophilus influenzae*, *Burkholderia pseudomallei*, et *P.aeruginosa*, respectivement. Récemment, on a décrit chez *P. aeruginosa* la protéine *mexX*, qui code pour une protéine de fusion membranaire, et la protéine *mexY*, qui code pour une pompe de la membrane interne, qui s'apparie avec la protéine TolC chez *E. coli* ou la protéine OprM chez *P. aeruginosa* pour former une autre pompe RND (**Macrolide antibiotique, Schönfeld et Kirst 2002**).

Pompes SMR :

La famille des petites protéines multirésistantes est composée de protéines dont la taille des sous-unités est de 100 acides aminés, avec quatre segments transmembranaires (TMS). Plusieurs membres de la famille SMR confèrent une résistance à l'érythromycine. Un système d'efflux codé par le chromosome qui a été identifié chez *E. coli* est *emr(E)*, qui catalyse l'efflux de l'érythromycine et de la tétracycline, en plus des cations monovalents lipophiles (**Macrolide antibiotique, Schönfeld et Kirst 2002**).

Pompes MFS :

Des transporteurs physiologiques conférant la résistance aux macrolides comprennent la pompe multirésistante Mdf(A) d'*E. coli*, qui confère un niveau de résistance quatre fois plus élevé à l'érythromycine et la pompe Cmr de *Corynebacterium glutamicum* appartenant à la famille MFS (Major Facilitator Superfamily), sont connus chez les BGP.

Chez les *pneumocoques*, La résistance acquise aux macrolides par efflux actif a émergé il y a quelques années. Le seul gène caractérisé chez cette espèce est gène *mefE*. Son proche apparentement avec gène *mefA* de *Streptococcus pyogenes*, les deux sont groupés dans une même classe appelée *mef(A)*, qui appartient à la famille MFS.

La pompe comporte douze domaines membranaires qui se localisent dans la membrane cytoplasmique. L'efflux tire son énergie de la force proton motrice. La spécificité de cette pompe fait que la résistance n'affecte que les macrolides à noyau à 14 et 15 atomes. La résistance est inducible par ces macrolides. Les souches restent parfaitement sensibles aux macrolides à 16 atomes, aux lincosamides et aux streptogramines B, même après induction par l'érythromycine, car ces antibiotiques ne semblent pas être des substrats de la pompe. La résistance de niveau souvent modéré à l'érythromycine associée à la sensibilité à la spiramycine ou à la josamycine et à la clindamycine sans antagonisme entre ces antibiotiques et l'érythromycine définit le phénotype M(**Macrolide antibiotic, Schönfeld et Kirst 2002**).

Pompes ABC :

Les transporteurs ABC possèdent généralement plusieurs domaines, deux domaines membranaires qui forment un canal et deux domaines de liaison à l'ATP situés à la surface cytosolique de la membrane ou sur une protéine distincte de celle qui forme le canal transmembranaire. Les pompes de cette superfamille se distinguent des autres classes en ce qu'elles sont alimentées par l'hydrolyse de l'ATP.

Le déterminant de la résistance dans les souches présentant un phénotype MSB (résistant aux macrolides et à la streptogramine B inducible) a été identifié à l'origine comme *msr(A)* chez *S. epidermidis*. Seul pouvait conférer le phénotype MSB lorsqu'il était cloné dans une souche naïve de *S. aureus* RN4220(**Macrolide antibiotic, Schönfeld et Kirst 2002**).

Le cas des streptogramines et de la télithromycine :

La résistance à l'érythromycine A corrompt aussi l'activité des nouveaux macrolides qui en sont dérivés (azithromycine, roxithromycine, dirithromycine et clarithromycine). Les macrolides à noyau à 16 atomes offrent l'intérêt de rester actifs en cas de phénotype M(efflux), mais ce phénotype est rare chez les *pneumocoque* en France(**les macrolide: une diversité de mécanisme de résistance 2002Canu' et Leclercq s. d.**).

En théorie, au moins trois approches devraient permettre de surmonter le mécanisme majeur de résistance à l'érythromycine par production de méthylase : l'utilisation d'inhibiteur de méthylase, l'association synergique à un autre ATB actif, l'utilisation de dérivés des macrolides non inducteurs ou ayant des sites de fixation alternatifs. La première approche

n'est pas utilisable du fait de la toxicité des produits, la deuxième approche est celle des streptogramines et la troisième celle des Kétolides **((les macrolide: une diversité de mécanisme de résistance 2002,Canu' et Leclercq s. d.).**

Les streptogramines sont composées de l'association de facteur A et de facteur B. Ces deux composés agissent en synergie bactéricide contre les *pneumocoques*. L'activité bactéricide de la streptogramine injectable quinupristine-dalfopristine est très précoce contre les *pneumocoques*, se produisant pour plus de 50 % des souches sensibles à l'érythromycine en moins de deux heures. Dans le cas des souches de phénotype MLSB, bien que le facteur B soit atteint, la synergie entre les facteurs A et B est conservée. Aussi bien l'activité bactériostatique que l'activité bactéricide précoce de quinupristine-dalfopristine sont similaires à celles observées pour les souches sensibles à l'érythromycine. Le mécanisme qui permet la conservation de la synergie même quand le ribosome est méthylé n'est pas connu avec exactitude **((les macrolide: une diversité de mécanisme de résistance 2002,Canu' et Leclercq s. d.).**

Chez les souches sensibles au facteur B, la fixation du facteur A augmenterait fortement l'affinité du facteur B pour son site en induisant un changement de conformation de ce dernier. Ce site de forte affinité existerait même en cas de méthylation de l'adénine 2058. La conservation de l'activité bactéricide de l'association alors que le facteur B est inactif peut surprendre si l'on considère l'exemple du *staphylocoque* où elle est diminuée dans le même cas. Cette différence pourrait s'expliquer de façon hypothétique par l'expression inductible de la résistance au facteur B chez le *pneumocoque* qui implique un temps de latence nécessaire à l'induction de la synthèse de méthylase. Le facteur A présent mettrait à profit ce temps pour inhiber les synthèses protéiques et empêcher ainsi l'expression de la méthylase **((les macrolide: une diversité de mécanisme de résistance 2002,Canu' et Leclercq s. d.).**

La télithromycine se montre active contre une majorité de *pneumocoques* résistants à l'érythromycine. Deux modifications structurales de la télithromycine qui la différencient de l'érythromycine A apparaissent importantes pour expliquer son activité sur les *pneumocoques* de phénotype MLSB. Le remplacement du L-cladinoses par une fonction cétone fait perdre ou fortement diminuer l'effet inducteur de l'antibiotique. La présence d'une chaîne 11 - 12-carbamate modifiée par une chaîne alkyle est responsable d'une affinité accrue pour le domaine II. Cette fixation alternative qui a été démontrée chez *E. coli*, explique sans doute que la mutation de l'adénine 2058 chez le *pneumocoque* confère un niveau moindre de résistance à la télithromycine qu'à l'érythromycine (CMI multipliées par rapport à une souche sensible de 16 à 128 fois au lieu de plus de 1000 à 2000 fois, respectivement). De la même façon, il a été démontré chez *E. coli* que la fixation sur le ribosome méthylé était augmentée de 3 000 fois du fait de cette fixation alternative. C'est la combinaison de ces deux propriétés qui permet à la télithromycine d'être active vis-à-vis des *pneumocoques* qui ont pour leur quasi-totalité une expression inductible de la résistance MLSB. Il est probable que l'affinité de la télithromycine pour le domaine II lui permet de n'être affectée que modestement par la production basale de méthylase variable de souche à souche **((les macrolide: une diversité de mécanisme de résistance 2002,Canu' et Leclercq s. d.).**

La résistance constitutive reste cependant une Pierre d'achoppement pour les ketolides. En ce qui concerne la résistance aux macrolides par efflux, la télithromycine est un faible inducteur ou substrat de MefA en comparaison avec l'érythromycine, la clarithromycine et l'azithromycine(**(les macrolide: une diversité de mécanisme de résistance 2002,Canu' et Leclercq s. d.).**

Inactivation des enzymes :

La résistance par inactivation a été décrite chez *s. aureus*, *S. haemolyticus*, *E. coli*. Des enzymes inactivants les macrolides ont été mis en évidence, qu'il s'agisse d'enzymes phosphorylant glycosylants le groupement 2'OH du D-désosamine ou par hydrolyse du cycle lactonique (estérases).

Estérases :

Courvalin et al. Ont décrit deux estérases (I et II) isolées à partir des BGN qui hydrolysent le noyau lactonique de l'érythromycine A et de l'oléandomycine. La vitesse d'hydrolyse varie en fonction des substituants en C-9, C-6, C-11. Par rapport à l'érythromycine A, la clarithromycine est plus vite hydrolysée (V= 26,2) que la roxithromycine (V= 15,7) mais moins que l'érythromycine A.

Les études génétiques ont mis en évidence que les gènes producteurs de ces enzymes ont pour support un plasmide. L'estérase I est le produit du gène *erc A* et est constitué de 349 acides aminés, alors que l'estérase II est le produit du gène *erc B* et est constituée de 419 acides aminés.

Les enzymes produits de gènes *erc A* et *erc B* ont été isolés principalement de *E. coli* mais également de certaines souches de *K. pneumoniae*. Ainsi que la souche de *S. aureus* 01A1032 produisait une estérase voisine de *erc B*. cet enzyme n'est pas capable d'hydrolyser l'azithromycine mais elle hydrolyse principalement les macrolides à 14 et 16 chaînons alors que *erc A* et *erc B* n'hydrolysent que les macrolides à 14 chaînons(**ANTIBIOTIQUES AGENTS ANTIBACTERIENS ET ANTIFONGIQUES. edition Marketing S.A, 1999.préfacé par J.Acar, M.Glauser et Ph.Moreillon s. d.).**

2'OH glycosyltransférase :

La résistance aux macrolides de *Streptomyces lividans* implique au moins deux gènes : *erm* et *mgt*. Ils sont liés sur le chromosome et leur expression est transcrite et exprimée simultanément. Le produit du gène *erm* est une méthyltransférase qui introduit un groupement méthyl sur A-2058 d'ARNr 23S. Le gène de *Streptomyces lividans* produit une glycosyltransférase qui inactive les macrolides en utilisant l'UDP-glucose ou l'UDP galactose comme cofacteur(**ANTIBIOTIQUES AGENTS ANTIBACTERIENS ET ANTIFONGIQUES. edition Marketing S.A, 1999.préfacé par J.Acar, M.Glauser et Ph.Moreillon s. d.).**

Cette inactivation est sélective des macrolides à 16 chaînons possédant comme sucre aminé le D-mycaminose (tylosine, desmycosine,...) .l'inhibition par fixation sur le groupement 2'OH desmycamino est maximum quand la molécule est monosaccharidique en C-5 du noyau lactonique. Cette enzyme a également été décrite chez *S. vendargensis* (**ANTIBIOTIQUES AGENTS ANTIBACTERIENS ET ANTIFONGIQUES. edition Marketing S.A, 1999.préfacé par J.Acar, M.Glauser et Ph.Moreillon s. d.).**

2'-O-phosphotransférases :

Les premières entrées dans la littérature montrent que différentes souches de *Streptomyces* peuvent phosphoryler des macrolides à 14 et 16 chaînons. La résistance élevée à l'érythromycine chez les bactéries entériques gram-négatives peut également être attribuée à la synthèse de macrolides 2'-phosphotransférases qui ajoutent du phosphate au groupe hydroxyle 2' de la désosamine ou du mycaminose. Mph(A), mph(B), et mph(C) codent pour trois macrolides phosphotransférases différentes ; mph(A) et mph(B) ont été trouvées dans des bactéries entériques, tandis que mph(C), jusqu'à récemment, n'avait été décrite que dans quelques souches de *S. aureus*(**Macrolide antibiotic,Schönfeld et Kirst 2002).**

Mph(A) a été décrite à l'origine dans *E. coli* Tf418A, et mph(K) a été décrite plus tard dans *E. coli* 209K. La Mph(A) et la Mph(K) sont identiques à 98,3 % en termes d'homologie d'acides aminés et ont été repliées en une seule classe, appelée Mph(A) La Mph(A) semble être une enzyme inductible qui inactive préférentiellement les macrolides à 14 et 15 chaînons. Ces protéines ont une faible homologie globale avec d'autres enzymes phosphotransférases, mais il existe une forte homologie de deux régions C-terminales qui sont conservées dans toutes les phosphotransférases(**Macrolide antibiotic,Schönfeld et Kirst 2002).**

La phosphotransférase Mph(B) a été décrite dans *E. coli* où elle inactive les macrolides à 14, 15 et 16 membres. Dans la souche BM2506 d'*E. coli*, la mph(B) est hébergée sur deux plasmides, pTZ3721 et pTZ3723, qui peuvent tous deux être transférés de façon conjugale à *E. coli*(**Macrolide antibiotic,Schönfeld et Kirst 2002).**

La présence de Mg²⁺ est essentielle à l'activité de mph-2' et le site actif de l'enzyme doit comporter une phénylalanine, une tyrosine, un tryptophane ou une histidine(**ANTIBIOTIQUES AGENTS ANTIBACTERIENS ET ANTIFONGIQUES. edition Marketing S.A, 1999.préfacé par J.Acar, M.Glauser et Ph.Moreillon s. d.).**

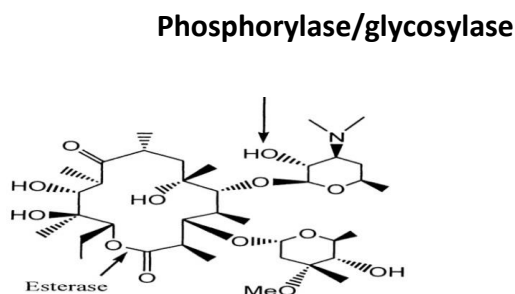


Figure 24 : inactivation d'érythromycine par phosphorylase, glycosylase ou estérase(**ANTIBIOTIQUES AGENTS ANTIBACTERIENS ET ANTIFONGIQUES. edition Marketing S.A, 1999.préfacé par J.Acar, M.Glauser et Ph.Moreillon s. d.).**

02 -Distribution des gènes de résistance :

La distribution des gènes de résistance aux macrolides a été étudiée chez des souches isolées dans divers pays. Les prélèvements d'origine des souches sont souvent variés ou non précisés, nuisant à l'homogénéité des études, et le contexte de la fréquence de la résistance des pneumocoques à l'érythromycine ne sont pas toujours précisés. Ces études ont permis de montrer que la prévalence des gènes *erm*(B) et *mef*(A) différait selon le pays. L'un ou l'autre de ces gènes est présent seul la plupart du temps.

Cependant, l'existence de souches de *S. pneumoniae* contenant à la fois *erm*(B) et *mef*(A) rapportée. Ces souches ont généralement un phénotype MLS, qui masque le phénotype M et les deux déterminants sont détectés par PCR ou par hybridation ADN/ADN. Des souches ayant le phénotype M et contenant les deux gènes ont été rapportées. Les souches résistantes à l'érythromycine qui associent *erm*(B) et *mef*(A) sont peu fréquentes en France : de 0 à 2,8 % selon l'étude. Elles disséminent clonalement en Afrique du Sud, représentant près d'un tiers des souches résistantes à l'érythromycine dans les établissements privés.

En Europe, les souches de *pneumocoques* résistantes à l'érythromycine contiennent majoritairement un déterminant *erm*(B) seul (96,3 % à 100 %). Le gène *mef*(A) seul est rarement décelé (0 à 3.1 %). La Belgique et l'Italie ont une distribution similaire, avec un pourcentage plus élevé de souches résistantes par efflux dans ce dernier pays. Le Canada et les Etats-Unis présentent des distributions différentes. Dans ces pays, les gènes *mef*(A) sont au moins aussi fréquents que les gènes *erm*(B). Le phénotype d'efflux a émergé très rapidement dans ce pays. Les raisons de ces différences entre Europe et Amérique du Nord ne sont pas connues.

Des différences dans la consommation des macrolides pourraient être incriminées : en France, l'utilisation des macrolides à 16 atomes pourrait conduire à la sélection préférentielle de souches de type MLS, du fait de leur résistance à ces antibiotiques. Cette hypothèse n'est pas cohérente avec l'observation qu'en France environ la moitié des souches de *S. pyogènes* résistantes à l'érythromycine possèdent le gène *mef*. La dissémination de souches clonales hébergeant le transposon Tn154.5 pourrait rendre compte de la prévalence des souches MLS.

La présence des gènes *erm* et *mef* rend compte de la presque totalité de la résistance à l'érythromycine chez les pneumocoques. Dans un petit nombre de cas, aucun gène connu n'est détecté. Ces cas pourraient correspondre à des mutations ribosomales. Ce mécanisme apparaît donc rare. Cependant des souches possédant une mutation de L4 ont été rapportées avec des fréquences de 21 % parmi les souches résistantes à l'érythromycine en Europe de l'est (les macrolides: une diversité de mécanisme de résistance 2020, Canu' et Leclercq s. d.).

04 - Prévention de la résistance :

Rôle du pharmacien

L'émergence de résistance, bien qu'étant un phénomène naturel d'adaptation des micro-organismes à leur environnement, peut être accélérée par divers facteurs. Toute mauvaise utilisation des antimicrobiens, tout usage abusif et traitement trop court, toute posologie insuffisante, activité trop faible et maladie ne relevant pas du médicament en question renforcent considérablement la probabilité que la bactérie ou d'autres micro-organismes s'adaptent et se multiplient au lieu de disparaître. En tant que pharmaciens, nous devons nous assurer que les antibiotiques soient utilisés de façon appropriée.

Au-delà de la délivrance des médicaments prescrits par le médecin sur l'ordonnance, le pharmacien a également un rôle dans le bon usage des médicaments et des antibiotiques en particulier. Ses conseils lors de la dispensation concernant le respect des modalités d'administration (respect des doses et durée d'administration ...) et la survenue possible d'effets secondaires et d'interactions médicamenteuses peuvent contribuer à limiter l'émergence de la résistance bactérienne aux antibiotiques.

Mais les missions du pharmacien consistent aussi à jouer un rôle dans la prévention des infections pour limiter le recours à l'antibiothérapie. Il peut ainsi informer les patients sur les effets protecteurs de la vaccination et les règles d'hygiène, comme le lavage des mains avec les solutions hydroalcooliques, l'usage de gants ou le port de masque en cas d'infections respiratoires, à mettre en place au quotidien pour limiter la transmission des infections.

Enfin, une autre source de la résistance vient de l'utilisation inappropriée des antibiotiques par les patients eux-mêmes lors de l'automédication à domicile. Le pharmacien devra demander au patient de ramener à la pharmacie les médicaments non utilisés à la fin de leur traitement.

Précautions lors de la délivrance d'antibiotiques :

Le pharmacien ne peut se permettre de laisser partir les patients avec leur traitement sans recueillir des informations sur le malade et sans apporter d'explications. Ainsi, lorsque nous recevons une ordonnance prescrivant un traitement antibiotique, il est important de faire un interrogatoire le plus complet possible sur le patient pour savoir:

- Pourquoi le médecin lui a prescrit ce traitement.
- Si le patient a des antécédents d'allergie avec cet antibiotique ou un autre car il peut exister des réactions allergiques croisées entre différentes familles d'antibiotiques, comme l'allergie croisée entre les pénicillines et les céphalosporines.
- S'il y a d'autres traitements (chroniques ou aigus) chez le patient pour savoir si des interactions médicamenteuses existent.

Une fois que nous savons que l'antibiotique a bien été prescrit sans risque pour le patient, nous pouvons vérifier l'âge et le poids du malade pour savoir si la posologie est adaptée et

suffisante. En effet, l'une des principales causes de l'apparition de résistances des bactéries face aux antibiotiques est la présence de l'antibiotique à de trop faible concentration. De plus, il faudra être vigilant sur le fait que le patient comprenne l'importance de respecter les modalités d'administration de son traitement antibiotique, le temps nécessaire et qu'il ne l'arrête pas trop tôt parce que les symptômes auront disparu (**Antibiorésistance, quels rôles pour le pharmacien d'officine 2016, Actualités pharmaceutiques ATB16.pdf s. d.**).

Ainsi, le pharmacien d'officine joue un rôle important dans la prévention contre la mauvaise utilisation des antibiotiques.

Stratégies de prévention :

La prévention de la résistance doit s'effectuer selon une approche multidisciplinaire. Quatre stratégies pour prévenir ou retarder l'émergence de résistance ont été établies et sont présentées au tableau :

Stratégies	moyens	Effets
Lutte contre les infections	Vaccination, retrait rapide des cathéters.	Prévient infection, réduit exposition aux antimicrobiens, émergence, sélection de souche résistantes.
Diagnostic adéquat et traitement efficace des infections	Identification rapide du pathogène, détermination de la sensibilité, sélection, posologie et durée optimales du traitement, consultation des spécialistes au besoin	Contribue à réduire risque d'émergence et de sélection de micro-organismes résistants.
Utilisation judicieuse des antimicrobiens	Utilisation des données de sensibilité locale en Traitement empirique, programmes de Surveillance quantitative et qualitative de l'usage des antibiotiques, traitement de l'infection et non- contamination ou colonisation, cesser le traitement si l'infection est résolue ou non probable.	Prévient usage abusif d'antimicrobiens à large spectre et traitements inutiles.
Prévention de la transmission	Dépistage des patients/du personnel colonisés, identification précoce des micro- organismes résistants, isolement et lavage des mains, barrières préventives importantes (gants, masque, blouse), communication entre les établissements lors du transfert d'un patient colonisé, bon rapport nombre de patients/membres du personnel, espacement des lits.	Permet de réduire la transmission des micro-organismes résistants d'une personne à l'autre, permet de réduire la résistance à grande échelle, préserve l'efficacité des antibiotiques courants.

Tableau 03 : Stratégies de prévention selon approche multidisciplinaire (La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important ! Sylvie Carle s. d.2009)

La partie pratique



I/Objectifs

I – l’objectif principal :

-Etablir l’état des lieux de la résistance aux macrolides chez les souches appartenant à l’espèce *S aureus* isolées au niveau de l’unité de bactériologie du laboratoire central du CHU-Frantz fanon- Blida- et l’évolution de cette résistance sur une période de 5 ans.



II/Matériel et méthodes

1 - Type, lieu et durée de l'étude :

Type et durée de l'étude :

Il s'agit d'une étude rétrospective observationnelle, s'étalant sur une période de 05 ans de janvier 2016 à décembre 2020.

Lieu de l'étude :

Depuis la base de données de l'unité de microbiologie du laboratoire centrale du CHU-Frantz fanon- Blida

2. Outils et technique de collecte :

Les informations ont été exportées depuis le logiciel whonet 5 .6 vers un fichier *.xls à partir duquel les données ont été analysées.

3. Macrolides étudiés :

Les macrolides testés pour le *S aureus* sont : **l'Erythromycine et la Clindamycine**



III/Résultats et commentaires

Souches isolées de prélèvements à visée clinique au niveau du laboratoire central du CHU Blida :

Chez l'ensemble des souches *S. aureus* isolées:

Année	2016	2017	2018	2019	2020
Souches isolées	240	299	328	340	173
Souches testées pour l'érythromycine	233	298	327	334	172
Souches testées pour clindamycine	152	190	327	334	171
Souches non sensibles à l'érythromycine	50	57	51	42	41
Souches non sensibles à clindamycine	18	28	30	23	20

Tableau 04 : la base de données de *S. aureus*.

Chez les souches *S. aureus* méticillinoresistantes MRSA :

Année	2016	2017	2018	2019	2020
Souches isolées	52	87	81	89	68
Souches testées pour l'érythromycine	52	87	80	86	67
Souches testées pour clindamycine	23	58	81	86	67
Souches non sensible à l'érythromycine	17	33	21	19	23
Souches non sensible à clindamycine	05	16	14	07	10

Tableau 05 : La base de données de MRSA.

Chez les souches *S. aureus* méticillinosensibles :

Année	2016	2017	2018	2019	2020
Souches sensibles à la méticilline isolées	104	206	247	245	105
Souches testées pour l'érythromycine	99	206	247	242	105
Souches testées pour clindamycine	57	126	246	243	104
Souches non sensibles à l'érythromycine	18	21	30	21	18
Souches non sensibles à clindamycine	06	10	16	15	10

Tableau 06 : La base de données de *S. aureus* méticillinosensibles.

Etablissement de l'état des lieux de la résistance bactérienne aux macrolides au niveau de CHU-Frantz FANON BLIDA de 2016 jusqu'à 2020 :

1. Souches *S. aureus* isolées et taux de *méticillinorésistants* :

Année	2016	2017	2018	2019	2020
Nombres de <i>S. aureus</i> isolée	240	299	328	340	173
Nombres de MRSA isolée	52	87	81	89	68
Taux de MRSA/ <i>S. aureus</i>	21,66%	29,09%	24,69%	26,17%	39,30%

Tableau 06 : Description de la population d'étude (souches *S. aureus* isolées et taux de *méticillinorésistants*)

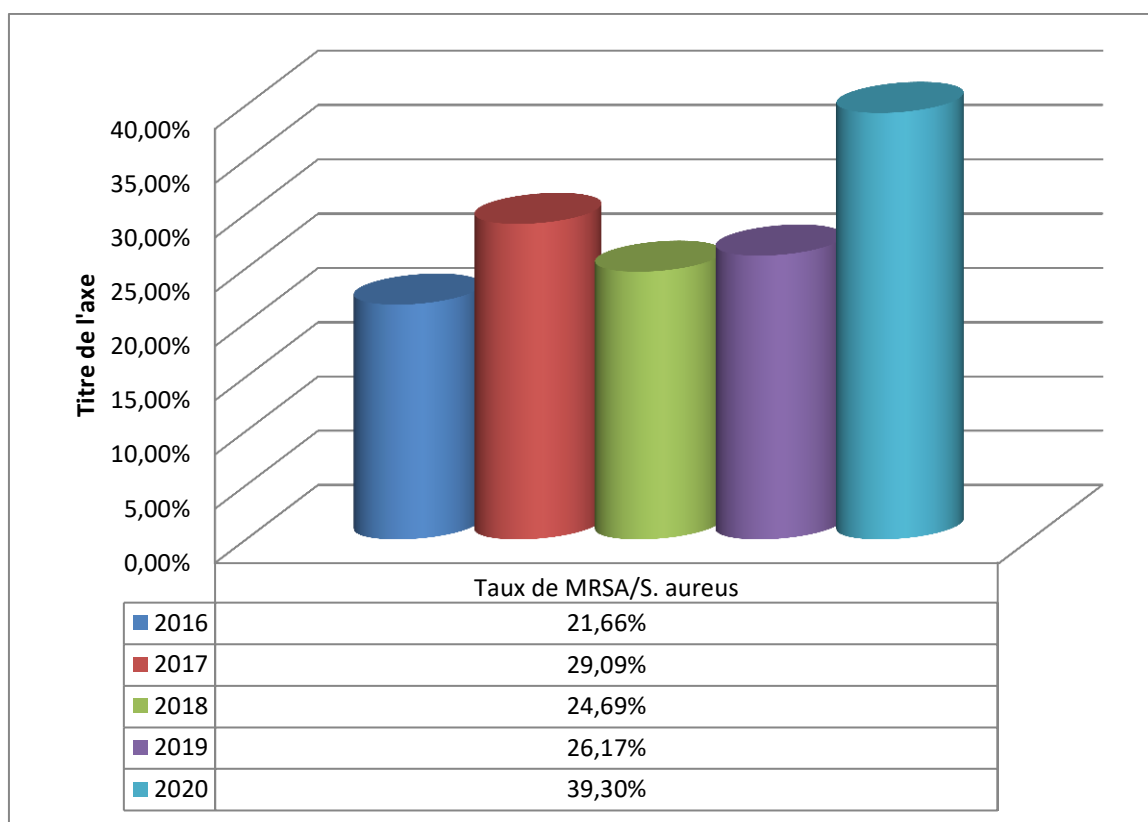


Figure 25 : Description de la population d'étude (souches *S. aureus* isolées et taux de *méticillinorésistants*)

Le taux de *méticillino-résistance* des souches *S.aureus* isolées est passé de 21.67% en 2016, à 39 .30% en 2020 a qui revient à dire que ce taux a pratiquement doublé en l'espace de 5ans.

Rappelons que nous ne pourrons utiliser les β -lactamines comme traitement pour les souches de *MRSA* positif, et que dans ce cas les macrolides seraient une alternative.

2. Profil de résistance selon l'antibiotique :

Staphylococcus aureus et résistances aux macrolides

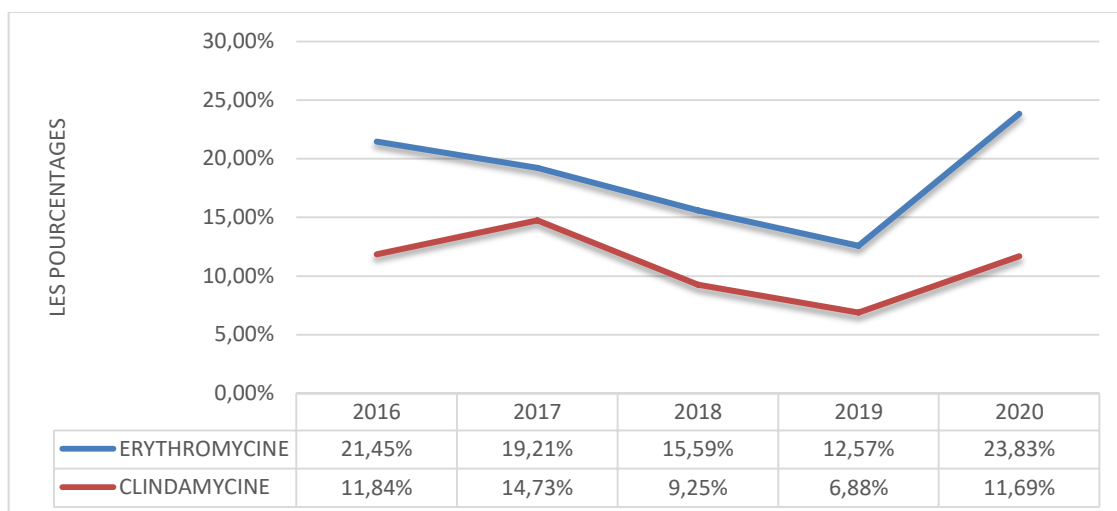


Figure 26 : L'évolution de la résistance de *S. aureus* à l'érythromycine et à la clindamycine.

- Nous notons que les taux de résistance à l'érythromycine sont plus importants que ceux de la clindamycine.
- Le taux de la résistance de *S. aureus* à la clindamycine est augmenté de 2016-2017, puis il diminue de 2018-2019 et augmente en 2020.
- Le taux de la résistance de *S. aureus* à l'érythromycine est en diminution claire de 2016-2019, puis il re-augmente en 2020.

S. aureus meticillinoresistantes MRSA :

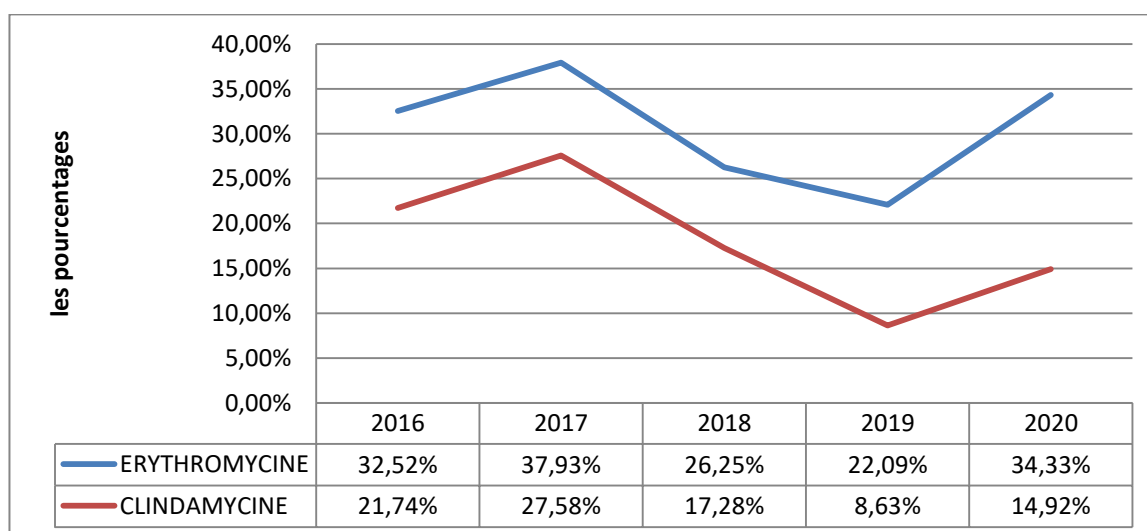


Figure 27 : L'évolution de la résistance de *MRSA* à l'Erythromycine et à la clindamycine.

- Le taux de la résistance de *MRSA* à l'érythromycine et à clindamycine est augmenté de 2016-2017, après va diminuer de 2018-2019 et augmente en 2020.

Comparaison entre les taux de résistances aux macrolides chez souches méticillinorésistantes et les souches méticillinosensibles.

A l'érythromycine :

Année	2016	2017	2018	2019	2020
Taux de résistance à l'érythromycine chez les souches méticillinosensibles	18,18%	10,19%	12,14%	08,68%	17,14%
Taux de résistance à l'érythromycine chez les souches méticillinorésistantes	32,69%	37,93%	26,25%	22,09%	34,33%

Tableau 07 : Comparaison entre les taux de résistances à l'érythromycine chez souches méticillinorésistantes et les souches méticillinosensibles.

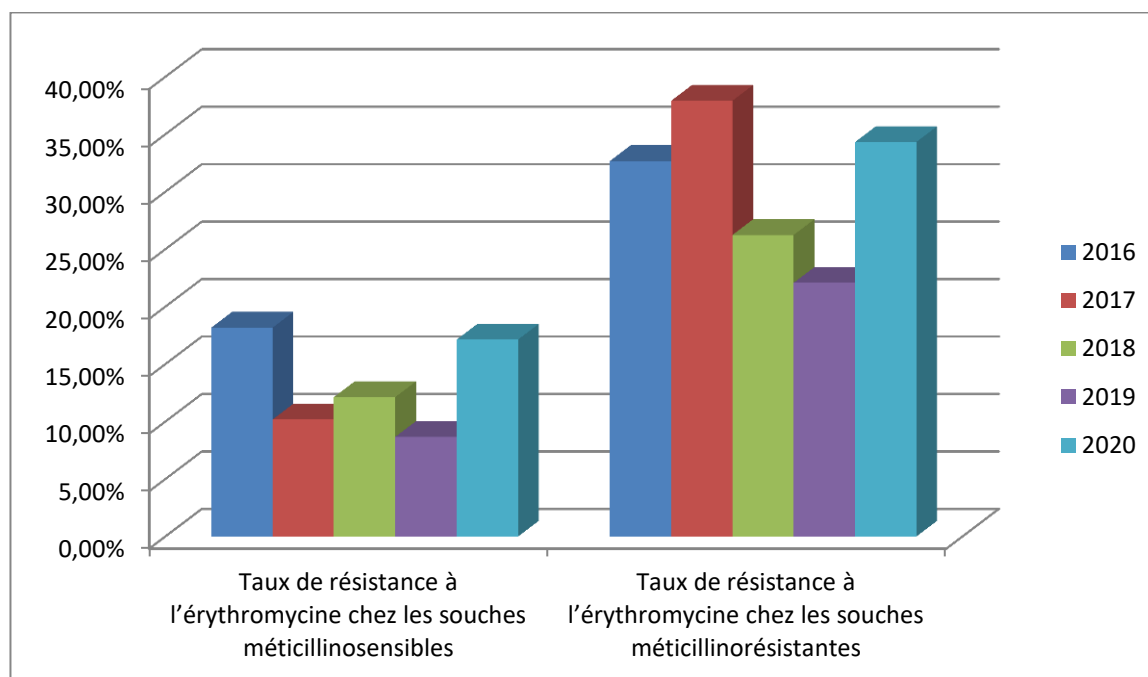


Figure 28 : comparaison entre les taux de résistances au l'érythromycine chez souches méticillinorésistantes et les souches méticillinosensibles.

A la clindamycine :

Année	2016	2017	2018	2019	2020
Taux de résistance à clindamycine chez les souches <i>méticillinosensibles</i>	10,52%	07,93%	06,50%	06,17%	09,61%
Taux de résistance à clindamycine chez les souches <i>méticillino-résistantes</i>	21,74%	27,58%	17,28%	08,63%	14,92%

Tableau 08 : comparaison entre les taux de résistances à la clindamycine chez souches *méticillino-résistantes* et les souches *méticillinosensibles*.

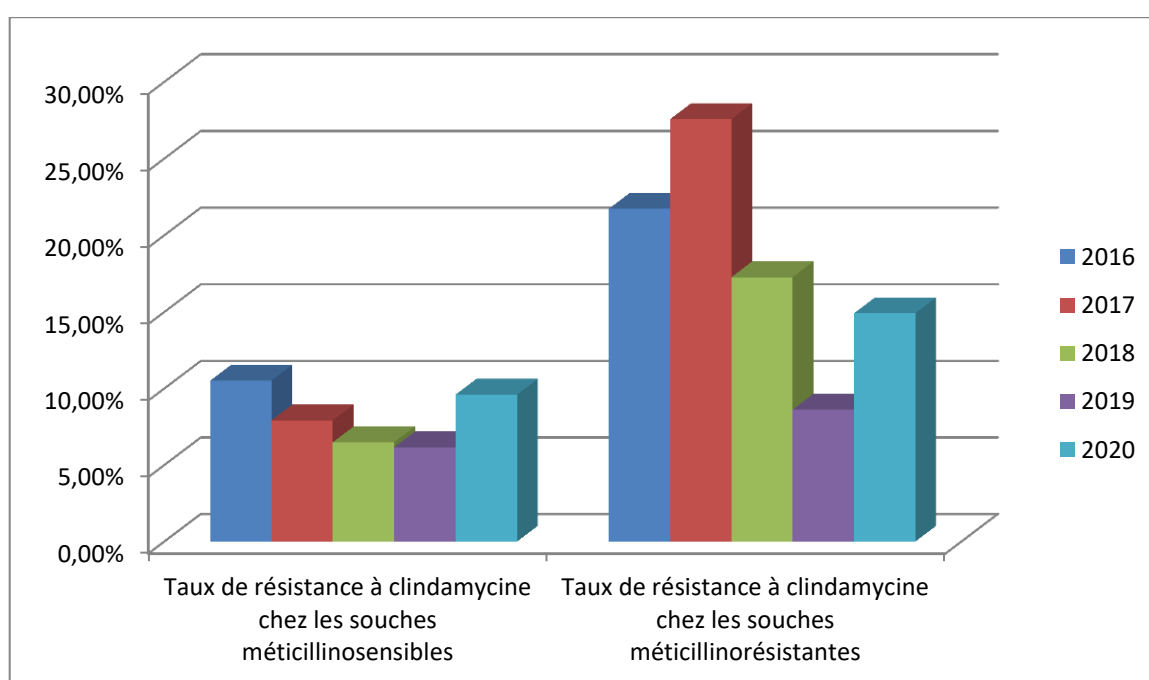


Figure 29 : comparaison entre les taux de résistances à la clindamycine chez souches *méticillino-résistantes* et les souches *méticillinosensibles*.

- On constate que la résistance aux macrolides (érythromycine, clindamycine) est plus importante chez les *MRSA* par rapport les *S. aureus* *méticillino-sensibles*.

Limite des études :

Dans ce travail une étude rétrospective a été réalisée pour répondre à des hypothèses, dont la principale est de déterminer l'impact de l'utilisation des macrolides sur l'évolution du pourcentage des résistances de *S. aureus* et *MRSA* isolées, année après année.

Certaines difficultés sont survenues durant notre étude. Il s'agit de :

- Pas tous les macrolides sont testés.
- La quantité de macrolide prescrite ou administrée par an reste manquante
- Certains prélèvements sont faits après l'initiation d'une antibiothérapie qui n'est pas souvent précisée.

Conclusion :

L'émergence rapide de la résistance bactérienne aux antibiotiques face à un manque de la création de nouvelles molécules antimicrobiens constitue aujourd'hui une barrière dans le domaine médical qui menace la santé publique et limite le choix de l'antibiothérapie par les professionnels de la santé ce qui engendre une prolongation des hospitalisations, une augmentation des dépenses médicales, et par la suite une hausse de mortalité d'où l'intérêt de résoudre ce problème le plus tôt possible.

Face à cette situation inquiétante, une prise de conscience est indispensable donc il est grand temps que toutes les instances concernées, et à leur tête, les médecins, les pharmaciens qui jouent un rôle majeur pour limiter le phénomène de l'automédication et les patients prennent conscience de la gravité du problème de la résistance.

Résumé

La résistance bactérienne est une préoccupation majeure et le bon usage des ATBs est une priorité de santé publique mondiale.

Pour cette raison on s'est intéressé à savoir la situation épidémiologique actuelle de CHU- FRANTZ FANON – BLIDA-. En précisant la résistance bactérienne aux macrolides et les résultats de leur utilisation anarchique.

Les données ont été recueillies sur une période de 5 ans du 2016-2020. Il s'agit une étude rétrospective durant la période on a constaté que la résistance de *S. aureus* est augmentée malgré que les souches isolées sont diminués pour l'érythromycine de 21,45% à 23,83%. Avec une perturbation des pourcentages de la résistance à clindamycine.

La résistance des *S. aureus* à la *méticilline* est en développement claire et continué.

Les mots clés :

Bactéries, antibiotiques, résistance, macrolides.

ABSTRACT:

Bacterial resistance is a major concern and the proper use of ATBs is a global public health priority.

For this reason we were interested in the current epidemiological situation of CHU- FRANTZ FANON - BLIDA-. We were interested in the bacterial resistance to macrolides and the results of their anarchic use.

The data were collected over a period of 5 years from 2016-2020. This is a retrospective study during which it was found that the resistance of *S. aureus* is increased although the isolated strains decreased for erythromycin from 21.45% to 23.83%. With a disruption in the percentages of clindamycin resistance.

Resistance of *S. aureus* to *metcillin* is clearly developing and continuing.

ملخص :

تعد المقاومة البكتيرية مصدر قلق كبير، ويمثل الاستخدام الصحيح للمضادات الحيوية اولوية عالمية للصحة العمومية. لهذا السبب كنا مهتمين بمعرفة الوضع الوبائي الحالي للمركز الاستشفائي الجامعي فرونتز فانو بالبليدة ، من خلال تحديد المقاومة البكتيرية للماكروليد و نتائج استخدامها الفوضوي.

تم جمع البيانات على مدى 5 سنوات من 2016-2020. هذه الدراسة باثر رجعي , خلال هذه الفترة وجدت زيادة في مقاومة المكورة العنقودية الذهبية على الرغم من انخفاض السلالات المعزولة للاريثروميسين من 21.45% الى 23.83%, مع اضطراب في النسب المئوية لمقاومة الكليندامايسين

تتطور مقاومة المكورات العنقودية الذهبية للميثيسيلين بشكل واضح ومستمر.

Référence :

Les antibiotiques :

-Antibiotique: pharmacologie et thérapeutiques, coordinateurs; Catherine Gaudy, Jacques Buxeraud, PHARMA 2005 s. d.

- Antibiothérapie en pratique clinique. 2eme édition. E.BERGOGNE-BEREZIN, PDELLAMONICA. 1999.

-« <https://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/antibiotique/11230> ».

-les antibiotiques ; sous la coordination de pr. K. Rahal. 2013.

-medicaments antibiotiques, Lavoisier internationales 1992,11, rue Lavoisier-F 75384 Paris Cedex 08.

-« les effets indésirable des antibiotiques; actualité pharmaceutique novembre 2014 S0515-3700(14)71366-7.pdf ».

La resistance aux antibiotiques :

AIRES, Julio. 2011. « Bacteria efflux pumps: characterization and molecular modelisation for which perspectives? » <https://doi.org/10.4267/2042/48096>.

-*Antibiotique:pharmacologie et thérapeutique, coordinateurs ; Catherine Gaudy, Jacques Buxeraud. 2005.*

-« Antibiotiques, antibiorésistance et environnement ». 2018. *Encyclopédie de l'environnement*. <https://www.encyclopedie-environnement.org/sante/antibiotique-antibioresistance-environnement/> (16 avril 2021).

-« Bactériologie Générale, responsable d'enseignement: Pr. P. BERCHE, 2003 ».

-« Développement et Santé | La résistance aux antibiotiques : un problème mondial majeur de santé publique ». <https://devsante.org/articles/la-resistance-aux-antibiotiques-un-probleme-mondial-majeur-de-sante-publique> (14 avril 2021).

-« GUIDE_RESISTANCE_2012_web_FR.pdf,https://www.inesss.qc.ca/fileadmin/doc/INESSS/Outils/Guides_antibio_II/GUIDE_RESISTANCE_2012_web_FR.pdf ».

-« [https://www.vidal.fr/Résistance aux antibiotiques/VIDAL](https://www.vidal.fr/Résistance%20aux%20antibiotiques/VIDAL) ». VIDAL. <https://www.vidal.fr/> (22 mars 2021).

-« La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important, 2009 ! Sylvie Carle ».

-*Médicaments antibiotiques*. Editions Médicales Internationales allée de la croix-bossée F 94234 Cachan Cedex.

-Morein, Nikolas, Merim Kumars, et Gerald Dunders. *Microbiologie médicale II: stérilisation, diagnostic de laboratoire et réponse immunitaire*. Cambridge Stanford Books.

-préfacé par J.Acar, M. Glauser et Ph. Moreillon. *ANTIBIOTIQUES AGENTS ANTIBACTERIENS ET ANTIFONGIQUES*. edition Marketing S.A, 1999.

-« Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries, Lavoisier SAS 2017,DOI 10.1007/s10298-017-1118-z ».

-« Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité » MUYLEAERT A., MAINIL J.g. 2012 »

-« stratégies actuelles de lutter contre la resistance. DOI: 10.1016/j. antinf.2017. 01.003, Article in Journal des Anti-Infectieux · February 2017 ».

Macrolides

-« Impact de la pandémie COVID-19 sur les consommations hospitalières en antibiotiques, étude monocentrique d'un ESR métropolitain .2020

-« Traitement prolongé par les macrolides dans les bronchopathie chronique, 2014».

-antibiotiques agents.

-« Les principaux macrolides, DESC-octobre-2005-portier.pdf ».

-« Erythromycin - A Medical Dictionary, Bibliography, and Annotated Research Guide to Internet References by ICON Health Publications 2004 ».

-« ERYTHROMYCINE ET NEOMYCINE, LOUVAIN MEDICAL, 2000».

-« <https://fr.wikipedia.org/wiki/K%C3%A9tolide> ».

-« https://www.google.com/search?q=erythromycine&client=firefox-b-d&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=2ahUKEwjNsbSq_vHvAhUGQRUIHRcuB2wQ_AUoAXoECAEQAw&biw=1366&bih=626#imgrc=3CLNJNisy1cD_M ».

-«Les points sur les stratégies Médicamenteuses contre la COVID19, 2020».

-les macrolides et leur apparenté PDF.

-« COVID 19 et maladies CV, Haeck, RMLG Avril 2020 macrolides.pdf ».

-Pharmacopée Européenne 9 eme Edition tome II mise en application 01-2021.

-« Rammaert 2006 ».

-« Verdier 2018 ».

-Vidal2020.

La résistance aux macrolides :

-«Antibiorésistance, quels rôles pour le pharmacien d'officine 2016, ActualitespharmaceutiquesATB16.pdf ».

-Annie Canu,¹ Brigitte Malbruny,² Maëlle Coquemont,² Todd A. Davies,³ Peter C. Appelbaum,³ and Roland Leclercq^{2*}. « Diversity of Ribosomal Mutations Conferring Resistance to Macrolides, Clindamycin, Streptogramin, and Telithromycin in *Streptococcus pneumoniae* ».

-Canu', A, et R Leclercq.2002 « Les macrolides : une diversité de mécanismes de résistance ». .

-« La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important, 2009 ! Sylvie Carle ».

-préfacé par J.Acar, M.Glauser et Ph.Moreillon. *ANTIBIOTIQUES AGENTS ANTIBACTERIENS ET ANTIFONGIQUES*. edition Marketing S.A, 1999.

-Schönfeld, Wolfgang, et Herbert A. Kirst, éd. 2002. *Macrolide Antibiotics*. Basel: Birkhäuser Basel. <http://link.springer.com/10.1007/978-3-0348-8105-0> (6 mai 2021).

