

République Algérienne Démocratique et Populaire

*Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique*



Université Saad Dahleb Blida-1

Faculté de Médecine

Département de Pharmacie



Thèse présentée en vue de l'obtention du titre de

« Docteur en pharmacie »

Intitulée:

ÉTUDE DES MÉTHODES DE LA RÉSISTANCE BACTÉRIENNE AUX ANTIBIOTIQUES

Présenté par:

DJADJ

Mokhtar

DRAOUCI

El Kassim

FERAH

Abdallah Ryadh

Devant le jury suivant :

- Dr MAHFOUD Mohamed.....Encadreur
- Dr RABHI Ayoub.....Président de Jury
- Dr BENKACIMI Nouara.....Examinatrice

Année universitaire : 2019/2020

A decorative border composed of black and grey floral and vine motifs, including leaves, berries, and swirling lines, framing the central text.

Remerciements

En préambule à ce travail nous tenons à remercier Dieu le tout puissant et le miséricordieux pour sa bénédiction qui nous a insufflé la force et le courage nous ayant permis de poursuivre notre formation ainsi que le discernement et la volonté pour dépasser toutes les difficultés.

A notre maître et directrice de thèse,

Monsieur le Docteur MAHFOUD Mohammed

Maître assistant en Microbiologie

Votre amour pour le travail bien fait, votre désir de valoriser la profession, nous ont guidé vers vous, pour solliciter vos services à assurer notre encadrement.

Nous ne saurions oublier l'intérêt que vous avez apporté à notre formation. Votre simplicité, et votre disponibilité nous ont été d'un apport généreux et précieux.

Trouvez ici cher maître, notre entière gratitude et soyez assuré de notre reconnaissance éternelle.

A notre président de jury,

Monsieur le Docteur RABHI Ayoub

Maître assistante en Microbiologie

Nous vous remercions vivement avec une absolue sincérité pour le fait d'avoir daigné accepter d'être le président de jury aux fins de superviser notre thèse de fin d'études.

A nos membres de jury,

Madame la Docteure BENKACIMI Nouara

Maître assistante en Néphrologie

Veillez agréer notre profond respect et haute estime pour le fait d'avoir daigné accepter d'être les membres du jury.

A decorative border composed of intricate black and white scrollwork, leaves, and three butterflies. The butterflies are positioned at the top-left, bottom-right, and bottom-center of the border. The central text is set within the white space of this border.

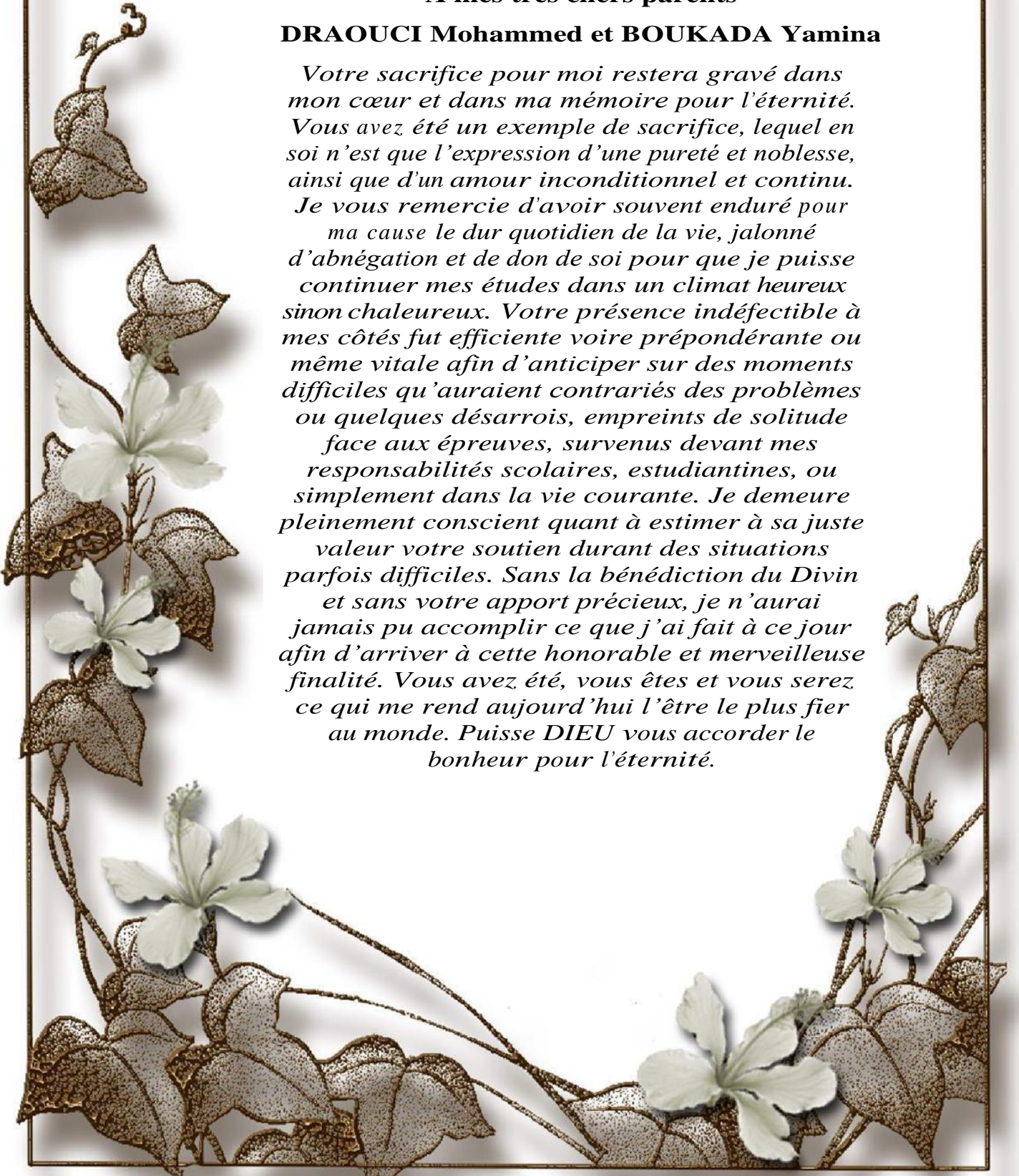
Dédicaces



A mes très chers parents

DRAOUCI Mohammed et BOUKADA Yamina

Votre sacrifice pour moi restera gravé dans mon cœur et dans ma mémoire pour l'éternité. Vous avez été un exemple de sacrifice, lequel en soi n'est que l'expression d'une pureté et noblesse, ainsi que d'un amour inconditionnel et continu. Je vous remercie d'avoir souvent enduré pour ma cause le dur quotidien de la vie, jalonné d'abnégation et de don de soi pour que je puisse continuer mes études dans un climat heureux sinon chaleureux. Votre présence indéfectible à mes côtés fut efficiente voire prépondérante ou même vitale afin d'anticiper sur des moments difficiles qu'auraient contrariés des problèmes ou quelques désarrois, empreints de solitude face aux épreuves, survenus devant mes responsabilités scolaires, estudiantines, ou simplement dans la vie courante. Je demeure pleinement conscient quant à estimer à sa juste valeur votre soutien durant des situations parfois difficiles. Sans la bénédiction du Divin et sans votre apport précieux, je n'aurai jamais pu accomplir ce que j'ai fait à ce jour afin d'arriver à cette honorable et merveilleuse finalité. Vous avez été, vous êtes et vous serez ce qui me rend aujourd'hui l'être le plus fier au monde. Puisse DIEU vous accorder le bonheur pour l'éternité.



***A mes très chers frères et sœurs
Fatma Zohra, Imen, Khadidja, Houda et Farouk,***

A travers ces lignes, je tiens à leur exprimer mes vifs et sincères sentiments d'amour et de tendresse. Puissent la fraternité et l'amour se perpétuer en défiant le temps et illuminer toujours le cercle familial éclairé à l'horizon par le sourire réconfortant de l'astre parental. Je vous souhaite la réussite dans votre vie, et d'être comblés de bonheur. Merci d'être toujours présents à mes côtés et de m'avoir continuellement encouragé.

***A toute la famille DRAOUCI
et à toute la famille BOUKADA***
Merci pour votre amour et vos encouragements.

A tous mes ami(e)s et collègues

En cet événement je dédie une pensée heureuse, à l'intention de tous mes ami(e)s et collègues, qui exprime de la haute considération où se mêlent et s'entrechoquent respect, bonté, loyauté et sincérité. Par cette occasion, je tiens à formuler à leur encontre le vœu qu'ils aient pleinement un avenir radieux et prospère.

***A toute l'administration générale,
tous corps confondus, dépendante
du Département de pharmacie.
Laboratoire central. Hôpital
Frantz fanon***

Je suis fier de faire partie de cette grande famille qui m'a offert une expérience exceptionnelle et précieuse, et m'a permis une intégration honorable pour m'élever dans le monde de la pharmacie.

***A tous ceux que j'ai omis de citer
involontairement,***

DRAOUCI EL Kassim



*Je dédie ce modeste travail en signe de respect
et de reconnaissance :*

*A mes très chers parents auxquels revient
mérite, pour leur amour inconditionnel, leurs
précieux conseils, leur tendresse, leur soutien et
leurs prières*

*A mes sœurs **Kawthar** et **Ferdaousse**, pour
leurs soutiens et leurs encouragements.*

*A toute ma famille "**MADANI** et **FERAH**"*

*A mes chers amis « **Djalil, Abdelrezzak,
Oussama, Youcef, Sidahmed, Abdelrahim,
Halim, Abdelmoumen** »*

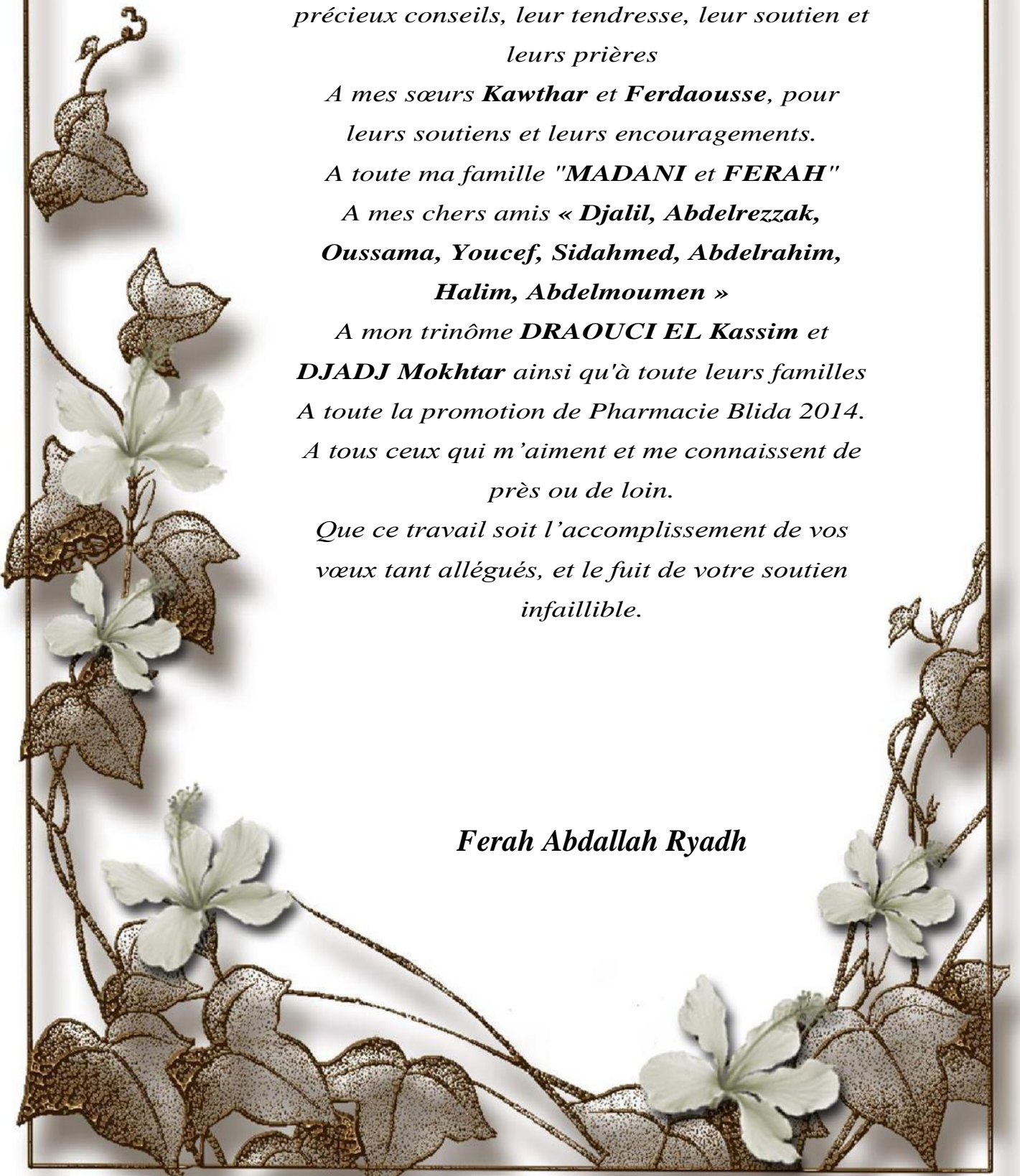
*A mon trinôme **DRAOUCI EL Kassim** et
DJADJ Mokhtar ainsi qu'à toute leurs familles*

A toute la promotion de Pharmacie Blida 2014.

*A tous ceux qui m'aiment et me connaissent de
près ou de loin.*

*Que ce travail soit l'accomplissement de vos
vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien
infaillible.*

Ferah Abdallah Ryadh



Je dédie ce modeste travail

*A ma chère mère qui est ma raison de vivre, ma force, ma
volonté et la source de tout ce qui est beau en moi
En témoignage de ses prières, sa bénédiction, sa patience et
ses sacrifices. Que DIEU te garde, te comble de santé et te
donne longue vie*

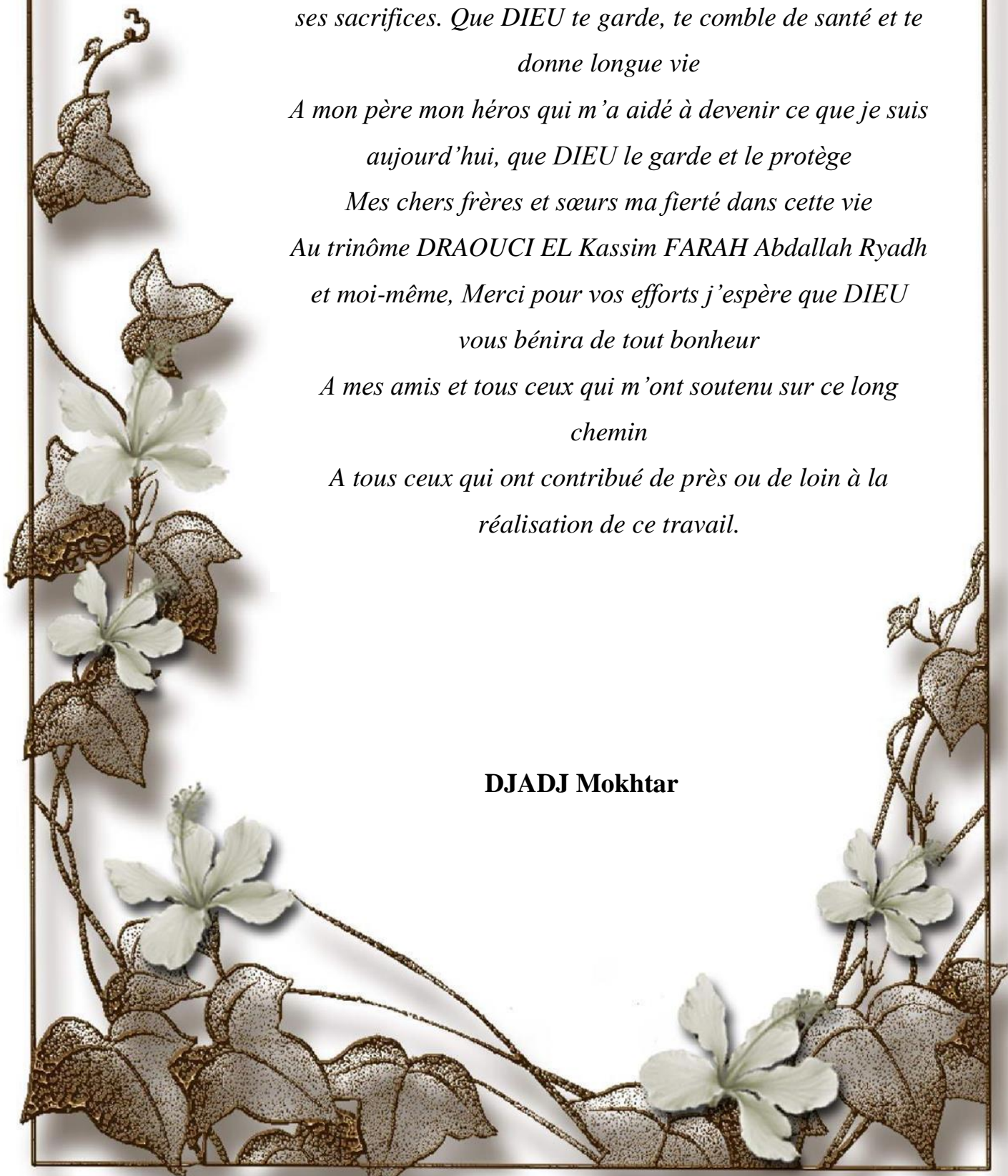
*A mon père mon héros qui m'a aidé à devenir ce que je suis
aujourd'hui, que DIEU le garde et le protège*

*Mes chers frères et sœurs ma fierté dans cette vie
Au trinôme DRAOUCI EL Kassim FARAH Abdallah Ryadh
et moi-même, Merci pour vos efforts j'espère que DIEU
vous bénira de tout bonheur*

*A mes amis et tous ceux qui m'ont soutenu sur ce long
chemin*

*A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la
réalisation de ce travail.*

DJADJ Mokhtar



Résumé

La découverte des antibiotiques durant la première moitié du 20^{ème} siècle marque une avancée indéniable dans l'itinéraire de la recherche médicale si ce n'est qu'elle s'inscrit presque en lettres d'or dans le parcours de la médecine pour être considérée comme une incontestable évolution si ce n'est qu'elle pourrait être élevée au niveau d'une véritable révolution dans la mesure où leur apport a été probant dans le traitement des maladies infectieuses. Seulement dans la mise en pratique de ce remède, un inconvénient se présenta pour mettre un peu d'ombre sur leur efficacité, quant à une résistance plus ou moins coriace opposée par des bactéries rebelles qui freinent la thérapeutique entamée. Laquelle résistance quoiqu'étant un phénomène naturel est sujette à une célérité causée par un usage inopportun ou incongru des antibiotiques chez l'homme ou en agroalimentaire. La résistance bactérienne dans tous les pays du monde demeure tout de même pour la médecine un obstacle sinon une gêne pour parvenir à la panacée. Les situations sans lueur d'espoir ou sans issue thérapeutique et qui ne sont pas uniques ou occasionnelles notamment dans les établissements de santé où des bactéries comme *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas Aeruginosa*, Entérobactéries productrices de bêta-lactamases et *staphylococcus aureus* résistant à la méticilline, restent à l'origine de l'excès de morbi-mortalité.

Les efforts en matière de savoir, de connaissance et même de recherche doivent être entrepris en ce domaine délicat, et si conjugués à une prévoyance méticuleuse sans failles qui accompagnerait le travail quotidien sur le terrain, permettront de maîtriser ou mieux encore d'annihiler ce phénomène et réussir la préservation de l'efficacité des antibiotiques. En conséquence, nous avons estimé nécessaire d'étudier cette problématique par une révision approfondie sur l'emploi adéquat des antibiotiques, leur mode d'action, leur processus de résistance ainsi que les moyens déployés par les microbiologistes afin de les mettre en évidence. L'objectif à atteindre serait une bonne prise en charge des patients conditionnée par la mise en œuvre effective de tous les acteurs ainsi que de tous les facteurs nécessaires à la composante Santé qui en osant son unité fera l'unanimité autour d'elle pour s'asseoir sur le siège et arriver à gouverner et gérer l'entité des bactéries multirésistantes.

Abstract

The discovery of antibiotics during the first half of the 20th century marks an undeniable advance in the itinerary of medical research that it has been written in golden letters in the course of medicine to be considered as an undeniable development that can be raised to the level of a real revolution insofar as their contribution has been convincing in the treatment of infectious diseases. Only in the implementation of this remedy, a drawback arises to put a little shade on their effectiveness, as for a more or less tough resistance opposed by rebellious bacteria which slow down the therapy started. That resistance, although being a natural phenomenon, is spreading faster due to the inappropriate or incongruous use of antibiotics in humans or in the food industry. Bacterial resistance in all countries of the world still remains for medicine an obstacle if not a hindrance to achieving the panacea. Situations with no glimmer of hope or no therapeutic outcome and which are not unique or occasional, particularly in healthcare establishments where bacteria such as *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas Aeruginosa*, *Enterobacteriaceae* producing beta-lactamases and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, is the origin of the excess morbidity and mortality.

The efforts in terms of knowledge and research must be undertaken in this delicate field, and if, combined with a meticulous foresight without failing which would accompany the daily work in the field, will make it possible to control or better still to annihilate this phenomenon. and succeed in preserving the efficiency of antibiotics. As a result, we felt that it is necessary to study this issue through an in-depth review of the appropriate use of antibiotics, their mode of action, their resistance process as well as the means deployed by microbiologists to highlight them. The objective to be achieved would be a good care of the patients conditioned by the effective implementation of all the persons involved as well as all the factors necessary for the Health component which by daring its unit to be unanimous around it to sit on the seat and get to govern and manage the entity of multidrug resistant bacteria.

ملخص

ان اكتشاف المضادات الحيوية اثناء النصف الأول من القرن العشرين سجل تطورا ملحوظا في ميدان البحث الطبي حيث انه كتب بحروف من ذهب في مسار الطب وبذلك فرض تقدما حاسما يعتبر كثورة لا يمكن انكارها إذا ما رأينا نتائج على الامراض المعدية. هذه القفزة النوعية قابلها عائق لا يقل أهمية

والذي يتمثل في مقاومة البكتيريا للمضاد الحيوي. هذه المقاومة حتى وأنها في الحقيقة ظاهرة طبيعية لكنها تفاقمت بسبب الاستعمال الغير مدروس لهذه المضادات الحيوية عند الانسان او في مجال التغذية الزراعية.

الوقوع في هكذا وضعيات والتي تنتهي باستحالة العلاج داخل مؤسسات استشفائية ليست امر نادر او ظرفي حيث ان البكتيريا *Acinétobacter baumannii*, *Pseudomonas Aeruginosa*, BLSE, SAMR, تبقى هي المتسبب الأصلي في كثرة الوفيات المسجلة.

هذا أدى الى التمسك بالأمل الوحيد المتمثل في اتخاذ التدابير اللازمة وتبني الجهود في مجال العلم والمعرفة والبحث الذي بدوره يمكن من التحكم الشامل وربما إبطال هذه الظاهرة والوصول الى فعالية المضادات الحيوية في اعلى المستويات. وبالتالي أصبح من الضروري دراسة هذه المشكلة من خلال مراجعة معمقة للاستخدام المناسب للمضادات الحيوية، طريقة عملها، وعملية مقاومتها، وكذلك الوسائل التي يستخدمها العلماء المختصين لتسليط الضوء عليها. سيكون الهدف المراد تحقيقه هو رعاية جيدة للمرضى والتي تشترط إشراك لجميع الجهات الفاعلة سواءا كانوا افراد او اعتاد حيث تساهم في إنجاح العمل الذي مفاده المصلحة العامة حتى يتم الوصول للسيطرة الحقيقية على البكتيريا المتعددة المقاومة.

Liste d'abréviations

AC	Acide clavulanique
ABMR	<i>Acinetobacter baumannii</i> multirésistant
ADN	Acide désoxyribonucléique
AMX	Amoxicilline
ARN	Acide ribonucléique
ATB	Antibiotique
BLSE	Béta-Lactamase à spectre élargi
BMR	Bactéries multirésistantes
C1G	Céphalosporine de 1 ^{ère} generation
C2G	Céphalosporine de 2 ^{ème} generation
C3G	Céphalosporine de 3 ^{ème} generation
CAZ	Ceftazidime
CHL	Chloramphénicol
CIP	Ciprofloxacine
CLI	Clindamycine
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CMB	concentration minimale bactéricide.
CMI	Concentration minimale inhibitrice
COL	Colistine
D-ala	D-alanine
DCI	Dénomination commune international
DHF	Dihydrofolate
EPC	Entérobactéries productrices de carbapénémases
ERG	Entérocoques résistants aux glycopeptides
ERV	Entérocoques résistants à la vancomycine
ERY	Erythromycine
FOX	Céfoxitine

FOS	Fosfomycine
FUS	Acide fusidique
GEI	Gastro-entérite infantile
GEN	Gentamicine
I	Intermédiaire
IPM	Imipenème
KAN	Kanamycine
LVX	Lévofoxacine
MALDI- TOF	Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation - Time of Flight
MDR	Multiple-Drug-résistance.
MH	Mueller- Hinton
MLS	Macrolides-Lincosamines -Streptogramines
ORL	Oto-Rhino-Laryngologie
OFX	Ofloxacine
OMS	Organisation mondiale de la santé
PAMR	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> multirésistant
PBP	Pénicilline binding proteins
PCR	Polymérase Chain Reaction.
PEN	Pénicilline
PER-1	Pseudomonas Extended Resistance
PIP	Pipéracilline
PLP	Protéine liant la pénicilline
PRI	Pristinamycine
PO	Passage oral
PSDP	Pneumocoque à sensibilité diminuée aux pénicillines
PSE	Pseudomonas Spécifique Enzyme
QDF	Quinupristine-Dalfopristine
R	Resistant
RIF	Rifampicine
S	Sensible

SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline
SASM	<i>Staphylococcus aureus</i> sensible à la méticilline
SCN	Staphylococcus coagulase négatif
SDR	specific-drug-resistance
SFC	Sepsis Flow Chip.
SI	séquences d'insertion
SIDA	Syndrome d'immunodéficience acquise
SPMR	<i>Streptococcus pneumoniae</i> multiresistants
SXT	Triméthoprim + Sulfaméthoxazole
CC	Ticarcilline + acide clavulanique
TCY	Tétracycline
TDR	Tests de diagnostic rapide
TEC	Teicoplanine
THF	Tétrahydrofolate
TIC	Ticarcilline
TOB	Tobramycine
VAN	Vancomycine

Liste des figures

- Figure 1** : SIR Alexander Fleming (prix Nobel de médecine 1945)
- Figure 2** : Mécanismes d'action des ATBs.
- Figure 3** : Structure des bêtalactamines (A. Pénicillines et B. céphalosporines).
- Figure 4** : Histoire de la résistance bactérienne au Bêtalactamines
- Figure 5** : transfert plasmidique par conjugaison
- Figure 6** : Principaux mécanismes de résistance aux ATBs
- Figure 7** : Images de Détermination de la CMI par dilution en milieu liquide
- Figure 8** : Détermination de la CMI par dilution en milieu solide
- Figure 9** : Détermination de la CMI par epsilon- Test (E- test)
- Figure 10** : Courbe représentant CMI et CMB
- Figure 11** : Concordance CMI et diamètres d'inhibition
- Figure 12** : Catégorisation de spectre d'activité d'un ATB
- Figure 13** : Différentes étapes et cycles de la technique PCR
- Figure 14** : Souche productrice d'A. Baumannii carbapénémase multi- résistante aux médicaments analysés par dosage SFC.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification d'ATBs suivant leur effet.

Tableau 2 : Les principales pénicillines, classification et spectre d'activité.

Tableau 3 : Principales céphalosporines, classification et spectre d'activité.

Tableau 4 : Principales carbapénèmes, demi-vies et spectres d'activité.

Tableau 5 : Principaux aminosides, action, spectre, cinétique et indications.

Tableau 6 : Spectre d'activité des aminosides.

Tableau 7 : Les principaux glycopeptides, demi-vies et particularités.

Tableau 8 : Les principaux macrolides, action, spectre, cinétique et indications.

Tableau 9 : Spectre d'activité des macrolides.

Tableau 10 : Spectre d'activité des quinolones.

Tableau 11 : Spectre d'activité des Streptogramines.

Tableau 12 : milieux requis pour antibiogramme de diffusion sur gélose

Tableau 13 : souches de référence recommandées pour le contrôle qualité de
l'antibiogramme

Table des matières

Introduction	1
I. Les antibiotiques :	4
I.1 Définition :	4
I.2 Historique :	4
I.3 Chronologie :	6
I.4 Classification des antibiotiques :	7
I.4.1 Critères de classification :	7
I.4.2 Classification	7
I.5 Familles d'antibiotiques :	11
I.5.1 bêta-lactamines :	12
I.5.2 Aminocyclitolides :	28
I.5.3 Glycopeptides :	33
I.5.4 Macrolides et tétracyclines et apparentés :	36
I.5.5 Tétracyclines :	43
I.5.6 Phénicolés (Le Chloramphénicol) :	45
I.5.7 Quinolones :	46
I.5.8 Polypeptides (Colistine) :	48
I.5.9 Oxazolidones (Linézolide) :	49
I.5.10 Lipopeptides (Daptomycine) :	50
I.5.11 Imidazoles (Métronidazole).....	52
I.5.12 Sulfamides (Triméthoprim)	53
II. Résistance aux antibiotiques :	56
II.1 Historique :	56
II.2 Définitions :	57
II.3 Types de résistance :	58
II.3.1 Résistance naturelle ou intrinsèque :	58
II.3.2 Résistance acquise :	58
II.4 Mécanisme de résistance :	59
II.4.1 Le mécanisme génétique de la résistance :	59
II.4.2 Le mécanisme biochimique de la résistance :	60
II.5 Mécanismes récents et mécanismes non conventionnels de résistance aux Antibiotiques : .	66
II.5.1 Résistance à la colistine.....	66
II.5.2 La résistance coopérative (Biofilm) :	67
II.6 La multirésistance :	68

II.6.1	Les principales bactéries multirésistantes :	69
III.	Chapitre 3 : Méthode de détection de la résistance bactérienne	72
III.1	Méthodes phénotypiques :	72
III.1.1	L'antibiogramme :	72
III.2	Méthodes génotypiques :	88
III.2.1	Introduction :	88
III.2.2	Tests d'Amplification des Acides Nucléiques (TAAN) par (PCR) :	88
III.2.3	Hybridation sur puces :	91
III.2.4	Le séquençage partiel ou total de gènes :	92
III.3	La confrontation phénotypique et génotypique : une adaptation nécessaire à l'interprétation des résultats :	93
IV.	Bibliographie	95

Introduction

Les antibiotiques sont considérés comme la révolution médicale de la deuxième moitié du 20^{ème} siècle car ils ont permis de faire considérablement reculer la mortalité associée aux infections bactériennes apportant ainsi un immense bénéfice à l'humanité. Le début de l'ère moderne des antibiotiques a été intimement associé à deux sommités : Sir Alexander Fleming et Paul Ehrlich (1).

Malheureusement, les bactéries ont pu développer des moyens de résistance à ces traitements. La résistance aux antibiotiques s'est progressivement développée et concerne aujourd'hui l'ensemble des bactéries pathogènes. Elle résulte de l'administration répétée d'antibiotiques chez l'homme ou l'animal qui crée des conditions, appelées « une pression de sélection » favorisant l'acquisition et la dissémination de souches résistantes aux antibiotiques. Aujourd'hui, les nouvelles molécules sont rares et il est parfois très difficile, voire impossible de traiter certaines infections.

Si la découverte des antibiotiques inscrit un progrès certes incommensurable dans la médecine, il se trouve que cette avancée ne fut ni un couronnement à tant de labeur ni une apothéose dans la recherche scientifique vu la survenue de réticences observées par cette médication à l'égard des bactéries d'où l'existence d'une véritable problématique qui rend ce remède inespéré boiteux ou borgne. La gent médicinale devant ce phénomène inattendu susurre des multi résistances conduisant à des impasses thérapeutiques qui, en conséquence, influent négativement sur le pronostic vital du patient. (2)

Ce phénomène ayant causé la mortalité de plusieurs dizaines de milliers de gens par an à travers le monde, et conjugué au manque de développement de nouveaux antibiotiques alors le risque, compte tenu de l'inexistence de solutions thérapeutiques face à une infection bactérienne, qu'il puisse devenir une constante se précise de jour en jour. Par conséquent il est devenu indispensable de circonscrire le problème en question à sa juste valeur, de mettre en relief tous les moyens nécessaires pour minimiser cette problématique. (3) (4)

Le présent s'annonce impérieux dans la mesure où un travail de base s'impose de rigueur vu le contexte de l'évolution des événements qui indique que le cercle médical est, par ces temps-ci, au pied du mur étant donné qu'il piétine tout juste devant la porte de la panacée. Ce travail consisterait à engager une véritable connaissance des antibiotiques qui toucherait leur découverte, leur évolution et leur classification. Comme il faudrait

développer, autrement dit, éclaircir, et expliquer à bon escient les processus et autres mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques. De même qu'il faudrait inclure la description méticuleuse et parcimonieuse des méthodes d'études de la résistance bactérienne aux antibiotiques.

CHAPITRE I:
LES ANTIBIOTIQUES

CHAPITRE I:
LES ANTIBIOTIQUES

I. Les antibiotiques :

I.1 Définition :

Les antibiotiques se définissent comme des molécules capables d'inhiber la croissance ou même de tuer des bactéries, sans affecter l'hôte (cellules humaines dans notre propos). Ils permettent aux défenses naturelles du corps telles que le système immunitaire, de les éliminer. Ils agissent souvent en inhibant la synthèse d'une cellule bactérienne, la synthèse de protéines, l'ADN, l'ARN, par un agent désorganisant la membrane, ou d'autres actions spécifiques (5). Les sources principales d'antibiotiques sont les champignons, mais parfois aussi les bactéries.

Au départ de molécules naturelles, cependant, des modifications chimiques sont souvent apportées (semi- synthèse) pour améliorer l'activité et/ ou modifier des paramètres pharmacocinétiques essentiels. Aujourd'hui, la plupart des antibiotiques en usage clinique sont donc obtenus par semi- synthèse (6) (7).

I.2 Historique :

Tout semble avoir commencé en 1889 où l'Allemand Rudolf Emmerich fut le premier à effectuer des essais cliniques sur une substance antibiotique, la pyocyanase (8). Découverte par hasard un an auparavant, cette substance avait la capacité de détruire de nombreuses bactéries pathogènes, dont celles de la fièvre typhoïde, du charbon, de la diphtérie, de la peste, etc. Mais l'intérêt soulevé par cette découverte retomba rapidement, le médicament étant instable et toxique. Il fut cantonné à des utilisations externes sous forme de pommade pour les dermatoses (7). Quelques années plus tard, Paul Ehrlich obtint de bons résultats sur la syphilis avec un colorant associé à de l'arsenic, le Salvarsan. Mais la toxicité de la substance et ses effets secondaires importants relativisèrent cette efficacité (9). Le milieu médical fourmillait alors de découvertes ponctuelles, d'essais cliniques, de pistes explorées puis abandonnées. La chimiothérapie semblait devoir émerger comme une révolution dans l'art de traiter les maladies, mais il restait encore aux médecins à trouver le médicament « miracle », à la fois efficace et sans effets négatifs, car l'enthousiasme du public risquait de disparaître.

En 1887, le Français Ernest Duchesne fut le premier à remarquer le pouvoir antibactérien des moisissures du genre *Penicillium* et à envisager des possibilités thérapeutiques. Mais son travail, encore trop précurseur, n'eut pas de suite (10). En 1928, à l'hôpital Sainte- Marie de Londres, le docteur Alexander Fleming redécouvrit ce phénomène.

Alors qu'il effectuait des recherches sur les staphylocoques, il remarqua dans l'une de ses boîtes de Pétri, que les colonies de staphylocoques proches de la moisissure *Penicillium* étaient mortes. Il fut le premier à publier un article sur les effets antibactériens de la pénicilline (11). (Figure 1)

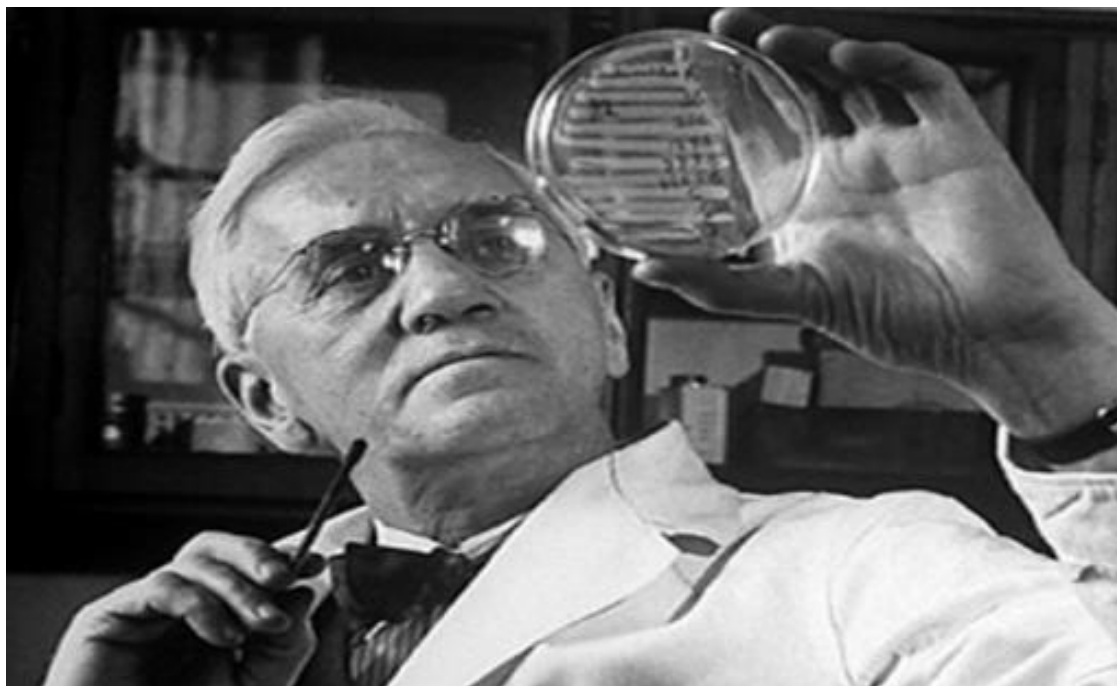


Figure 1 : SIR Alexander Fleming (prix Nobel de médecine 1945)

Quelques années plus tard, Howard Florey, Ernst Chain et Norman Heatley étendirent les travaux de Fleming ; Ils réussirent à faire produire et à purifier la pénicilline, prouvant ainsi son intérêt en tant que médicament (12). Alors que leurs recherches commençaient à être couronnées de succès, la Seconde Guerre mondiale fut déclarée. Le projet fut déplacé aux États Unis pour le préserver des bombardements allemands, et les travaux s'orientèrent vers la fabrication en grandes quantités de la moisissure produisant la Pénicilline. L'objectif était de pouvoir fournir un médicament pouvant traiter les nombreux blessés dus à la guerre. Le monde entier parla alors de la pénicilline et de ses effets miraculeux.

Dans l'inconscient collectif, les antibiotiques commencèrent à devenir le remède aux maladies infectieuses. La fin de la Seconde Guerre mondiale vit l'apparition d'un autre antibiotique célèbre, la streptomycine. Produite par un micro- organisme vivant dans le sol, *Streptomyces griseus*, cette substance fut découverte par Waksman en 1943. Elle se révéla

efficace contre les bactéries de certaines infections courantes, de la méningite et, surtout, de la tuberculose. La streptomycine fut le premier véritable médicament capable de lutter efficacement contre cette maladie chronique (7) (13).

I.3 Chronologie : (14)

1909 : Découverte du Salvarsan (606), puissant anti-syphilitique par Paul Ehrlich (1854- 1915).

1921 : Synthèse du Stovarsol (anti- microbien peu toxique dérivé de l'arsenic) par Ernest Fourneau (1872- 1949).

1928 : Découverte de l'action antibiotique du Penicillium par Alexander Fleming.

1935 : Gerhard Domagk (1895- 1964) synthétise le Prontosil anti- microbien général. Ensuite, Jacques Tréfouel (1897- 1977) et Constantin Levaditti (1874- 1953) démontrent l'activité antibactérienne des sulfamides dérivés du Prontosil.

1939 : Ernst Chain et Howard Florey obtiennent la pénicilline pure. René Dubos (1901- 1982) et Rollin Hotchkiss isolent, à l'Institut Rockefeller de New York, la thyrotricine (ou gramicidine).

1940 : Isolement de l'actinomycine par Selman A. Waksman (1888- 1973).

1944 : Découverte, par Waksman, de la streptomycine, antibiotique actif contre les bactéries Gram négatives et, surtout, contre le bacille de Koch (agent de la tuberculose).

1945 : Fleming, Florey et Chain reçoivent conjointement le prix Nobel de physiologie ou médecine pour la découverte, l'isolement et l'emploi thérapeutique de la Pénicilline.

1946 : Débuts de la préparation industrielle et de la commercialisation des antibiotiques.

1949 : Découverte des tétracyclines qui bloquent les synthèses protéiques dans les bactéries.

1965 : Développement des antibiotiques semi- synthétiques.

2000 : Synthèse totale du premier antibiotique de nouvelle génération, le Linézolide.

2017 : introduction en France de l'antibiotique zavicefta (produit par astrazenca) dans l'arsenal de lutte contre les bactéries multirésistantes

I.4 Classification des antibiotiques :

I.4.1 Critères de classification :

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères : (15) (16)

➤ **Leur origine** (biosynthétisés par des champignons, des bacilles ou des Streptomyces, issus du génie chimique).

➤ **Leur composition chimique** (dérivés d'acides aminés, hétérosidiques ou polycycliques).

➤ **Leur effet** (Antibiotiques bactéricides, Antibiotiques bactériostatiques).

➤ **Mode d'action**

De toutes ces classifications possibles, la classification la plus courante est celle par famille, possédant un certain nombre de caractères communs : composition chimique ou origine, spectre d'action similaire ou très rapproché, cibles bactériennes identiques, résistance bactérienne et sensibilisation croisée, effets indésirables rapprochés, etc. (17)

I.4.2 Classification

I.4.2.1 Classification des antibiotiques selon leur origine

Les anti-infectieux peuvent être produits de trois façons, par fermentation (naturelle), par semi-synthèse ou par synthèse chimique.

I.4.2.1.1 Fermentation ou extraction :

Les antibiotiques sont fondamentalement des substances naturelles issues du métabolisme azoté de divers micro-organismes. (17) (18) (19)

➤ **Soit des champignons inférieurs (mycètes)** : du genre *Penicillium* pour les Pénicillines, Griséofulvine et genre *Cephalosporium* pour les Céphalosporines

➤ **Soit des bactéries** : du genre *Streptomyces* (90 % des antibiotiques sont produits par des bactéries du genre *Streptomyces*) et genre *Bacillus*. Comme antibiotiques dont l'origine est bactérienne on trouve, la Bacitracine, Polymyxine-Colistine, Mupirocine, Céphamycines, Monobactames (les Monobactames obtenues initialement par extraction, sont obtenues actuellement par synthèse).

I.4.2.1.2 Semi-Synthèse :

Les antibiotiques ainsi produits par voie fermentaire sont parfois utilisés pour la préparation de dérivés artificiels voisins, mais qu'il est impossible de faire sécréter par la souche microbienne, même en recourant à des précurseurs.

Dans ce but, on fait subir certains traitements chimiques simples à des antibiotiques produits par voie fermentaire, notamment des hydrolyses pour séparer la partie fondamentale de la molécule, trop complexe pour être préparée par synthèse à un coût raisonnable ; on greffe ensuite sur ce squelette de base différents groupements particuliers grâce à des estérifications ou des amidifications. On obtient ainsi des antibiotiques de semi-synthèse.

C'est le cas des pénicillines ou des céphalosporines dont la plupart des représentants sont ainsi produits. Certains sont des pro-drogues antibiotiques, totalement dénuées par elles-mêmes d'activité biologique mais qui acquièrent leurs pouvoirs antimicrobiens après hydrolyse de la fonction ester qui a été greffée. (18) (19)

I.4.2.1.3 Synthèse chimique totale :

Certains antibiotiques dont la structure est assez simple sont produits plus économiquement par synthèse que par fermentation. C'est le cas du Florphénicol, Chloramphénicol, Monobactames, et tous les agents antibactériens de synthèse : Sulfamides, Triméthoprime, Quinolones, Nitrofuranes, etc.

Le fait que certains antibiotiques (Chloramphénicol, Aztréonam etc.) obtenus au début par fermentation sont actuellement produits par synthèse chimique, fait de plus en plus disparaître la distinction initiale entre antibiotiques et agents antibactériens de synthèse. (17) (19)

I.4.2.2 Classification des antibiotiques selon la structure chimique :

Les molécules qui présentent une structure chimique de base identique sont regroupées dans une même famille, bien que certaines ne comportent parfois qu'un ou deux représentants. (15)

I.4.2.3 Classification des antibiotiques selon l'effet :

En se basant sur les paramètres suivants : temps dépendance, concentration dépendance et l'effet post antibiotique, on distingue deux classes d'antibiotiques : Antibiotiques bactéricides et bactériostatiques : (20)

➤ **Les bactéricides** : Entraînent une destruction bactérienne (CMB≈CMI).la détermination de la mesure de la CMB (concentration minimale bactéricide)

Exemple : les bêta-lactamines, les aminosides, les quinolones, vancomycine et Sulfaméthoxazole -Triméthoprime.

➤ **Les bactériostatiques** : Arrêt de la multiplication bactérienne. (CMB très élevée).

Exemples : le Chloramphénicol, les Lincosamines, les macrolides. Les sulfamides, les tétracyclines. (Tableau 1).

Tableau 1 : Classification d'antibiotiques suivant leur effet. (20)

Action bactériostatique		- Tétracyclines - Macrolides - Sulfamides
Action bactéricide	Actifs uniquement sur les germes en voie de multiplication (septicémie, infections aiguës)	-Bêta-lactamines
	Actifs sur les germes au repos (infections chroniques), et en voie de multiplication.	- Aminosides - Colistine - Quinolones

I.4.2.4 Classification des antibiotiques selon la cible bactérienne

Le mécanisme d'action des antibiotiques est le support de leur toxicité sélective c'est ce qui les différencie des antiseptiques. Ils interviennent généralement soit au niveau de la paroi bactérienne, de la membrane cytoplasmique, de la synthèse des protéines ou des acides nucléiques (voir Figure 1). (21) [19]

I.4.2.4.1 Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse de la paroi :

La paroi bactérienne est une coque qui protège les bactéries de la pression osmotique de l'environnement. Le squelette de cette paroi est une macromolécule (le peptidoglycane). Les différences de structure de la paroi expliquent les différences de sensibilité des bactéries vis-à-vis des antibiotiques agissant à ce niveau. La destruction de la paroi entraîne la formation de

sphéroblastes qui sont des bactéries dépourvues de paroi, incapables de se développer dans un milieu hypertonique.

I.4.2.4.2 Antibiotiques agissant sur la membrane cytoplasmique :

Grâce à leur caractère amphipathique ces antibiotiques pénètrent dans la cellule bactérienne puis ils s'insèrent parmi les phospholipides de la paroi perturbant par la suite la perméabilité membranaire. (22)

I.4.2.4.3 Antibiotiques actifs sur la synthèse des protéines :

Les ribosomes des cellules procaryotes sont constitués de protéines différentes des cellules eucaryotes (sous unités lourdes et légères).

Ces antibiotiques :

- Empêchent la fixation d'un nouvel acide aminé sur la chaîne (ex: macrolides).
- Empêchent ou perturbent la liaison de certains acides aminés entraînant une erreur de lecture.
- Altèrent l'ADN nucléaire ou gênent sa réplication (ex: quinolones). (22)

I.4.2.4.4 Antibiotiques inhibiteurs des acides nucléiques :

Ils perturbent la synthèse des acides nucléiques (ADN, ARN) entraînant ainsi une modification du message génétique. Mais contrairement aux peptidoglycanes, l'ADN et l'ARN ne sont pas propres au monde bactérien. Ces antibiotiques qui agissent sur eux sont toxiques pour toutes les cellules (bactérienne ou non). (22)

I.4.2.4.5 Antibiotiques agissant par inhibition des voies métaboliques :

Les cellules procaryotes doivent synthétiser l'acide folique (les cellules eucaryotes assimilent directement cet acide apporté par alimentation. Il existe des antibiotiques qui perturbent le métabolisme de l'acide folique. (22)

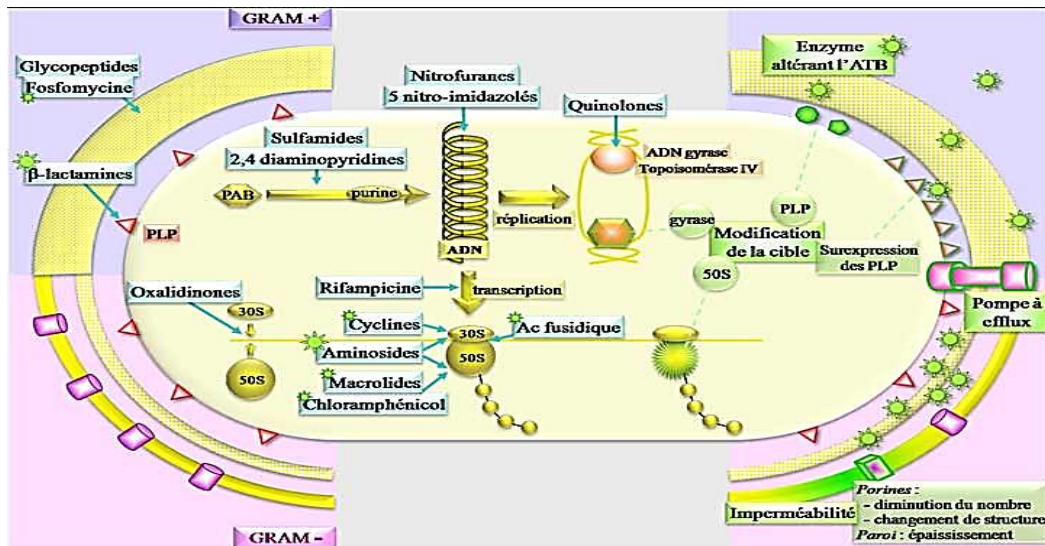


Figure 2 : Mécanismes d'action des antibiotiques.

I.4.2.5 Classification des antibiotiques selon le spectre d'activité :

Chaque antibiotique est caractérisé par un spectre qui correspond à l'éventail des germes qu'il peut toucher, à dose plus ou moins élevée. Il est différent pour chaque famille d'antibiotiques, bien qu'il puisse se recouper, en partie ou en totalité, avec celui d'autres antibiotiques, c'est à dire que les mêmes germes peuvent être sensibles à plusieurs antibiotiques à la fois. On a ainsi des antibiotiques à spectre très large, large, moyen, ou étroit. (17)

I.5 Familles d'antibiotiques :

Actuellement, il existe un nombre très important d'antibiotiques. Il est plus facile pour le praticien, en vue d'une prescription, d'avoir un classement rigoureux des molécules existantes. La posologie sera d'autant plus efficace, car le risque de prescrire deux antibiotiques aux effets redondants sera diminué. Une famille d'antibiotiques regroupe des composés dont les structures chimiques sont proches. Les modes d'action, ainsi que les spectres d'action, sont aussi semblables. Cette famille pourra ensuite être subdivisée en groupes et en sous-groupes. Cependant, il faut noter qu'il existe des antibiotiques « orphelins », n'appartenant à aucune famille tels que l'acide fusidique, la fosfomycine. (23), (24)

I.5.1 bêta-lactamines : (25)

• Chimie et mécanisme d'action :

Les bêta-lactamines ont une structure de base commune (voir Figure 7) constituée d'un cycle bêta-lactame et un cycle thiazolidine (dans les pénicillines et les carbapénèmes), ou d'un cycle bêta-lactame et un cycle dihydrothiazine (dans les céphalosporines). Le groupement attaché à l'anneau bêta-lactame (R1) détermine les caractéristiques antibactériennes spécifiques de l'antibiotique, et la structure de la chaîne latérale attachée à l'anneau dihydrothiazine (R2) détermine la pharmacocinétique et le métabolisme.

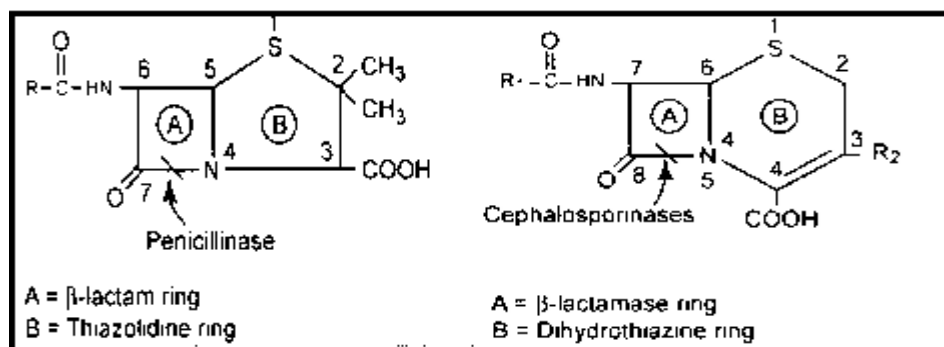


Figure 3 : Structure des bêta-lactamines (A. Pénicillines et B. céphalosporines).

Les bêta-Lactamines se lient à des différentes PBP. Les PBP représentent une famille d'enzymes importantes pour la synthèse de la paroi bactérienne, regroupant les carboxypeptidases, les endopeptidases, les transglycolases et les transpeptidases

Une forte liaison aux PBP-1. Une transpeptidase et transglycolase de la paroi bactérienne provoque la mort rapide de la bactérie. L'inhibition de cette transpeptidase empêche la réticulation du peptidoglycane de la paroi, résultant de la perte d'intégrité de la paroi bactérienne. Sans son enveloppe protectrice et suite à l'hyperosmolarité du contenu intracellulaire la bactérie se gonfle, et ensuite il y'a lyse de la membrane cellulaire.

L'inhibition de PBP-3, une transpeptidase et transglycolase qui intervient au cours de la division bactérienne, provoque la formation de longues chaînes filamenteuses des bactéries non divisionnaires et la mort bactérienne.

L'inhibition d'autres PBP bloque la synthèse de la paroi cellulaire par d'autres mécanismes, et active la lyse bactérienne.

L'activité de toutes les bêta-Lactamines nécessite une croissance active des bactéries et de la synthèse active de la paroi cellulaire. Par conséquent, les bactéries dans une phase dormante ou statique ne seront pas tuées, mais ceux qui sont en phase de croissance sont rapidement lysés. Les agents bactériostatiques qui ralentissent la croissance bactérienne inhibent l'action des bêta-lactamines, c'est pour cela dans la plupart des cas, les bactériostatiques ne devraient pas être combinés avec des bêta-lactamines.

• Toxicité

Les réactions d'hypersensibilité sont les effets secondaires les plus associés aux bêta-lactamines. Les pénicillines sont les agents qui causent la majorité des réactions allergiques, à des taux variant de 0,7% à 10%. Les réactions allergiques aux céphalosporines ont été rapportées de 1% à 3% des patients, et des pourcentages similaires ont été rapportés avec les carbapénèmes.

Toutefois, l'incidence des réactions sérieuses d'hypersensibilité immédiate, à médiation d'immunoglobulines E (IgE) sont moins fréquentes avec les céphalosporines qu'avec les pénicillines. Environ 1% à 7% des patients atteints d'allergies à la pénicilline s'avèrent également être allergiques aux céphalosporines et aux carbapénèmes.

Les pénicillines sont les plus allergisants des bêta-Lactamines parce que leurs produits de dégradation, en particulier le pénicilloyl et l'acide pénicillanique, sont capables de former des liaisons amide avec des protéines sériques. Les antigènes résultants augmentent la probabilité d'une réponse auto-immune. Les patients qui ont été sensibilisés par des expositions précédentes à la pénicilline peuvent développer une réaction d'hypersensibilité immédiate provoquée par les IgE, ce qui peut entraîner des anaphylaxies et des urticaires. Aux États-Unis, les réactions allergiques aux pénicillines entraînent 400 à 800 décès par an. En raison de ce danger potentiel, les patients ayant des antécédents d'une réaction d'hypersensibilité immédiate à la pénicilline ne devraient jamais prendre des bêta-lactamines, y compris la céphalosporine et les carbapénèmes. Des niveaux élevés d'immunoglobuline G anti pénicillines peuvent provoquer des maladies sériques, se manifestant par une fièvre, arthrite, arthralgie, urticaire et des œdèmes diffus.

D'autres toxicités moins fréquentes sont associées aux bêta-lactamines, Les pénicillines naturelles et les Imipenèmes abaissent le seuil épiléptogène et peuvent entraîner des crises tonico-cloniques. Le Ceftriaxone est excrété avec des concentrations élevées dans la bile et

peut se cristalliser, provoquant des cholécystites. Les antibiotiques contenant un anneau spécifique de Methylthiotetrazole (Céfamandole, Céfopérazone, Cefotetan) peuvent induire une hypoprothrombinémie et, en combinaison avec une mauvaise alimentation, peut augmenter les saignements post-opératoires. Le Céfépime a été associée à l'encéphalopathie et la myoclonie chez les personnes âgées. Tous les antibiotiques de large spectre augmentent le risque de colite.

En combinaison avec les aminosides, les céphalosporines démontrent une augmentation de la néphrotoxicité.

I.5.1.1 PENICILLINES :

Les pénicillines varient dans leur spectre d'activité. Les pénicillines naturelles ont un spectre étroit, les Aminopénicillines ont un spectre intermédiaire, combinées avec des inhibiteurs de bêta-Lactamase, les Carboxy/Uréidopénicillines ont un spectre très large.

I.5.1.1.1 Pénicillines naturelles

- **Pharmacocinétique**

Toutes les pénicillines naturelles sont rapidement excrétées par les reins, entraînant une courte demi-vie. En conséquence, les pénicillines doivent être administrées fréquemment, et la posologie doit être ajustée chez les patients présentant une insuffisance rénale. Le Probenécide retarde l'excrétion rénale, et cet agent peut être utilisé pour maintenir des taux sériques plus élevés.

Tableau 2 : Les principales pénicillines, classification et spectre d'activité.

<i>Pénicillines naturelles</i> (Spectre étroit)	<i>Aminopénicillines</i> (Spectre modérément large)	<i>Pénicillines résistantes aux Pénicillinases</i> (Spectre étroit)	<i>Carboxy/Uréido Pénicilline(associées)</i> (Spectre très large)
<ul style="list-style-type: none"> ➤ <i>Pénicilline G</i> ➤ <i>Procaïne Pénicilline</i> ➤ <i>Benzathine Pénicilline</i> ➤ <i>Pénicilline V-K</i> 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ <i>Ampicilline</i> ➤ <i>Amoxicilline</i> ➤ <i>Amoxicilline clavulanate</i> ➤ <i>Ampicilline sulbactam</i> 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ <i>Oxacilline</i> ➤ <i>Nafcilline</i> ➤ <i>Cloxacilline</i> ➤ <i>Dicloxacilline</i> 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ <i>Ticarcilline-clavulanate</i> ➤ <i>Piperacilline-tazobactam</i>
<p><i>Streptococcus pyogenes</i>, <i>S. pneumoniae</i>, <i>S. viridans</i>, Enterocoques pénicilline sensibles. Les germes de la flore buccale qui inclut: <i>Actinomyces israelii</i>, <i>Capnocytophaga canimorsus</i>, <i>Fusobacterium nucleatum</i>, <i>Eikenella corrodens</i>, <i>Clostridium perfringens</i>, <i>Clostridium tetani</i>, <i>Pasteurella multocida</i>, <i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>, Spirochetes: <i>Treponema pallidum</i>, <i>Borrelia burgdorferi</i>, <i>Leptospira interrogans</i>, <i>Neisseria gonorrhoeae</i>, <i>Neisseria meningitidis</i>, <i>Listeria monocytogenes</i></p>	<p>Couvrent les mêmes germes que les Pénicillines naturelles avec en plus :</p> <p><i>Escherichia coli</i>, <i>Proteus</i> Entérocoques pénicilline sensibles, <i>Salmonella p.</i>, <i>Shigella Sp.</i></p> <p>L'ajout du Clavulanate permet de couvrir aussi :</p> <p><i>H. influenzae</i>, <i>Moraxella catarrhalis</i></p> <p>Staphylocoque sensible à la méthicilline (SASM)</p>	<p>Spectre plus étroit que les Pénicillines naturelles Pas d'activité contre les anaérobies, <i>Enterococcus</i>, ou les espèces gram négatif Drogue de choix contre le <i>S. aureus</i> sensible</p>	<p>Couvrent les mêmes germes que les pénicillines naturelles avec en plus:</p> <p>Staphylocoque Méthicilline sensible (SASM) <i>E. coli</i>, <i>Proteus mirabilis</i>, <i>Kiebsiella pneumoniae</i>, <i>Enterobacter .sp</i>, <i>Citrobacter freundii</i>, <i>Serratia sp</i>, <i>Morganella sp</i>, <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, <i>Bacteroides fragilis</i>.</p>

Selon les spécialités, les pénicillines peuvent être administrées par voie intraveineuse ou intramusculaire. Certaines pénicillines sont formulées pour résister à l'acidité de l'estomac et peuvent être administrées par voie orale. Les pénicillines sont bien réparties dans le corps et sont capables de pénétrer les cavités les plus enflammées du corps. Cependant, leur capacité à traverser la barrière hémato-encéphalique en l'absence d'inflammation est médiocre. En présence de l'inflammation, des niveaux thérapeutiques sont généralement réalisable dans le liquide céphalo-rachidien.

• Spectre d'activité et recommandations du traitement

La Pénicilline G reste le traitement de choix pour *S. pyogenes* « streptocoques du groupe A » et le groupe des *S. viridans*. Il reste également l'agent le plus efficace pour le traitement des infections causées par les flores buccales. La Pénicilline G est aussi particulièrement recommandée pour *Clostridium perfringens*, *C. tetani*, *Erysipelothrix rhusiopathiae* *Pasteurella multocida* et les spirochètes, y compris la syphilis et la leptospirose (voir Tableau 2)

Cet antibiotique reste aussi le principal traitement recommandé pour le *S. pneumoniae* sensible à la pénicilline (CMI <0,1tg/ ml). Cependant, dans de nombreuses régions des États Unis, plus de 30% des souches sont modérément résistantes à la pénicilline (CMI = 0.1 -1 .tg/ ml). Dans ces cas, le Ceftriaxone, le Céfotaxime, ou pénicilline à forte dose (supérieur à 12 millions d'unités par jour) peuvent être utilisés. Moyennement les souches de *S. pneumoniae* résistantes possèdent des PBP de faible affinité, et ce défaut de liaison peut être corrigé par des taux sériques élevés de la pénicilline dans le traitement de la pneumonie, mais non de la méningite. Les infections de forte résistance à la pénicilline de *S. pneumoniae* (CMI>2 tg /ml) nécessitent un traitement à la vancomycine ou autres antibiotiques.

I.5.1.1.2 Aminopénicillines

• Pharmacocinétique

Pour les Aminopénicillines, une modification chimique de la pénicilline augmente la résistance à l'acidité de l'estomac, permettant à ces produits d'être administrés par voie orale. Ils peuvent également être administrés par voie intramusculaire ou intraveineuse.

L'amoxicilline a une excellente absorption orale : 75% contre 40% pour l'ampicilline. L'absorption n'est pas affectée par les aliments. Les pics élevés réalisables avec l'amoxicilline permettent un intervalle de traitement plus long, ce qui les rend plus pratiques par voie orale que l'ampicilline. Comme observé avec les pénicillines naturelles, la demi-vie est courte (1 h) et ces médicaments sont excrétés principalement, non modifiés, dans l'urine.

• **Spectre d'activité et recommandations du traitement :**

Le spectre d'activité des Aminopénicillines est légèrement plus large que celui des pénicillines naturelles. L'ampicilline en intraveineuse est recommandée pour le traitement de *Listeria monocytogenes*, les entérocoques sensibles. *Proteus mirabilis*, et *Haemophilus influenzae* non productrice de bêta-lactamases.

Les Aminopénicillines sont également efficaces contre *Shigella flexneri* et les souches sensibles de *Salmonella* non typhoïdique. L'amoxicilline peut être utilisée pour traiter l'otite moyenne et les sinusites. Lorsqu'ils sont combinés à un inhibiteur de bêta-lactamases (Clavulanate ou Sulbactame), les Aminopénicillines sont également efficaces contre les *S. aureus* sensibles à la méthicilline (SASM), *Haemophilus influenzae* productrice de bêta-lactamases et *Moraxella catarrhalis*. Ces deux derniers organismes sont responsables de l'otite moyenne et les sinusites. Cependant, la supériorité de l'amoxicilline-acide clavulanique sur l'amoxicilline dans l'otite moyenne et les sinusites n'a pas été prouvée (voir Tableau 2).

I.5.1.1.3 Pénicillines Résistantes aux Pénicillinases :

• **Pharmacocinétique**

Les pénicillinases-résistantes ont la même demi-vie comme la pénicilline (30 minutes) et exigent une administration à intervalles de 4 heures ou perfusion intraveineuse lente. Contrairement aux pénicillines naturelles, ces agents sont éliminés par le foie, et les doses de Nafcilline et d'Oxacilline n'ont généralement pas besoin d'être ajustées pour une insuffisance rénale. Mais l'efficacité d'excrétion hépatique du Nafcilline signifie que la dose doit être ajustée chez les patients atteints d'une insuffisance hépatique sévère. Le foie excrète l'Oxacilline moins efficacement donc l'ajustement de la dose n'est pas nécessaire.

• Spectre d'activité et recommandations du traitement :

Les modifications synthétiques pour rendre la pénicilline résistante aux bêta-lactamases produites par *S. aureus* ont réduit la capacité de ces agents à tuer la flore buccale anaérobie et les *Neisseria sp.*

Ces antibiotiques sont strictement recommandés pour le traitement des SASM. Ils sont également utilisés pour traiter la cellulite lorsque les agents pathogènes les plus probables sont *S. aureus* et *S. pyogenes*. Parce que les formes orales entraînent une diminution considérable de la concentration sérique, la Cloxacilline ou la Dicloxacilline ne doivent pas être utilisés pour traiter les infections à *S. aureus*. Ces antibiotiques oraux sont utilisés principalement pour les formes légères des infections des tissus mous ou pour compléter le traitement d'une cellulite (voir Tableau 2).

I.5.1.1.4 Carboxypénicillines et les Uréidopénicillines**• Pharmacocinétique :**

Les demi-vies de la Ticarcilline et la Pipéracilline sont courtes, et ils ont besoin d'une posologie plus fréquente. La vente de la Ticarcilline et la Pipéracilline a été abandonnée en faveur de la Ticarcilline-Acide clavulanique et Pipéracilline -tazobactam.

Une posologie toutes les 6 heures est recommandée pour la Pipéracilline-Tazobactam pour éviter l'accumulation du Tazobactam. Dans les pneumonies à *P. aeruginosa*, la dose de Pipéracilline-Tazobactam devrait être augmentée de 3,375 g toutes les 6h à 4,5 g toutes les 8 heures pour atteindre des niveaux bactéricides de Pipéracilline dans les crachats. En combinaison avec un aminoside, la Pipéracilline-Tazobactam démontre souvent une synergie contre *P. aeruginosa*. Toutefois, l'administration de la Pipéracilline-Tazobactam doit être séparée de l'administration de l'aminoside par 30 à 60 minutes.

• Spectre d'activité et recommandations du traitement :

La Ticarcilline et la Pipéracilline sont capables de résister aux bêta-Lactamases produites par *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Morganella*, *Proteus* et *Providencia*. A forte dose, la Ticarcilline et la Pipéracilline peuvent aussi tuer beaucoup de souches de *Bacteroides fragilis* et de fournir une couverture anaérobie efficace.

Ces antibiotiques peuvent être utilisés pour la couverture empirique des infections intra-abdominales modérées ou sévères. Ils ont été combinés avec un inhibiteur de bêta-lactamases (Clavulanate ou Tazobactam) pour être efficace contre les SASMs.

La Ticarcilline et la Pipéracilline sont des solutions de substitution raisonnables de la Nafcilline ou l'Oxacilline lorsque la couverture Gram négatif est également nécessaire.

Ces deux antibiotiques peuvent être utilisés à l'hôpital en cas d'une éventuelle pneumonie d'inhalation pour couvrir la flore buccale et les autres bacilles à Gram négatif semblables, et ils peuvent également être utilisés pour la prostatite aigue, les infections intra-abdominales et gynécologiques. Ils ont été utilisés pour les infections de la peau et du tissu osseux causées par une combinaison des organismes Gram négatif et Gram positif.

I.5.1.2 CEPHALOSPORINES :

Les céphalosporines sont classées en générations en se basant sur le spectre d'activité : Les céphalosporines de première génération sont surtout efficaces contre les coques à Gram positif. La deuxième génération montre une activité accrue contre les bacilles Gram négatif aérobies et anaérobies, mais elles ont une activité variable contre les Cocci Gram positif. La troisième génération démontre encore une plus grande activité contre les bacilles à Gram négatif, mais seulement une activité limitée contre les coques à Gram positif. Enfin, la quatrième génération montre un spectre d'activité plus large, en étant efficace contre les Cocci Gram positif et les bacilles à Gram négatif.

La classification des céphalosporines par génération conduit à l'hypothèse que la plus récente génération des céphalosporines est mieux que l'ancienne. Cependant, il est important de garder à l'esprit que, pour de nombreuses infections, la génération précédente des céphalosporines à spectre étroit est préférée à la plus récente des céphalosporines à large spectre.

Tableau 3 : Principales céphalosporines, classification et spectre d'activité.

1° Génération (Spectre large)	2° Génération (Spectre légèrement large)	3° Génération (Spectre large)	4° Génération (Spectre très large)
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Cefazoline ➤ Céphalexine ➤ Céphradine ➤ Céfadroxil 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Céfoxitine ➤ Cefotetan ➤ Céfuroxime ➤ Céfuroxime axétil ➤ Cefaclor 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ceftriaxone ➤ Céfotaxime ➤ Ceftazidime ➤ Céfixime ➤ Cefpodoxime 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Céfépime ➤ Cefpirorone
<p><i>Staphylococcus aureus</i> <i>Méthicillino-sensible</i> (meilleure activité), <i>Streptococcus pyogenes</i>, <i>S. pneumoniae</i> <i>Pénicilline-sensible</i>, <i>Escherichia coli</i> (certaines souches), <i>Klebsiella pneumoniae</i> (certaines souches), <i>Proteus mirabilis</i> (certaines souches)</p>	<p>Couvrent les mêmes germes que la Cefazoline mais ont une activité plus faible contre les Gram positif Couvre également : <i>Haemophilus influenzae</i>, <i>Moraxella catarrhalis</i>, <i>Neisseria Gonorrhoeae</i>, <i>N. meningitidis</i>, <i>Bacteroides fragilis</i> (certaines souches).</p>	<p>Couvrent les mêmes germes que Cefazoline mais ont une activité plus faible contre les Gram positif et plus forte contre les Gram négatif Couvrent également <i>H. influenzae</i>, <i>M. catarrhalis</i> <i>N. gonorrhoeae</i>, <i>N. meningitidis</i>, <i>Citrobacter freundii</i>, <i>Morganella sp</i>, <i>Salmonella sp</i>, <i>Shigella sp</i>.</p>	<p>Couvrent les mêmes germes que Cefazoline et le Ceftriaxone Excellente activité contre gram positif et les Gram négatif Couvrent également : <i>S. pneumoniae</i> résistant aux Pénicillines <i>Enterobacter sp</i>, <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, <i>Serratia sp</i>.</p>

I.5.1.2.1 Céphalosporines de première génération

• Pharmacocinétique

La Cefazoline, la Céphalosporine de première génération préférée par voie parentérale. Présente une demi-vie plus longue que la Pénicilline, elle est principalement excrétée par le rein.

Les céphalosporines de première génération pénètrent dans la plupart des cavités du corps, mais ils ne parviennent pas à franchir la barrière hémato-encéphalique.

Les préparations orales (Céphalexine, Céphradine, Céfadroxil) sont très bien absorbées, et atteignent des concentrations sériques maximales (0,5 g de Céphalexine se traduit par un

pic de 18 .tg/ml). L'absorption n'est pas affectée par les aliments. Les demi-vies de la Céphalexine et la Céphradine sont courtes, c'est pour cela elles nécessitent une posologie fréquente, et leurs posologies doivent être corrigées lors d'une insuffisance rénale.

- **Spectre d'activité et recommandations du traitement :**

Les céphalosporines de première génération sont très actives contre les Cocci Gram positif, y compris SASM, et ils ont également une activité modérée contre certains bacilles à Gram négatif à résistance communément acquise (voir Tableau 3). Elles sont actives contre les bactéries anaérobies de la cavité buccale, mais inefficaces pour le traitement de *B. fragilis*, *H. influenzae*, *L. monocytogenes*, SARM, *S. pneumoniae* et *Enterococcus*.

Les céphalosporines de première génération sont des alternatives efficaces à la Nafcilline ou l'Oxacilline pour les infections des tissus mous causées par SARM ou *S. pyogenes*.

La Cefazoline est aussi l'antibiotique de choix pour une prophylaxie chirurgicale. En raison de son incapacité à franchir la barrière hémato-encéphalique, la Cefazoline ne doit jamais être utilisée pour traiter des méningites d'origine bactérienne.

Les formes orales sont couramment utilisées pour traiter les infections moins sévères des tissus mous, y compris l'impétigo, le début de la cellulite et les ulcères du pied diabétique.

I.5.1.2.2 Céphalosporines de deuxième génération :

- **Pharmacocinétique**

Les céphalosporines de deuxième génération sont excrétées principalement par le rein. Elles ont des demi-vies entre 0,8 et 3,5 heures, et elles pénètrent toutes les cavités du corps.

- **Spectre d'activité et recommandations du traitement :**

Les céphalosporines de deuxième génération ont une très bonne activité contre les Gram négatif et elles traitent efficacement les SASMs et les streptocoques à l'exception des entérocoques (voir Tableau 3). Compte tenu de la disponibilité des céphalosporines de première, troisièmes et quatrièmes générations et les pénicillines, les nouvelles

céphalosporines de deuxième génération sont rarement recommandées comme traitement de première intention.

Du fait que la Céfoxitine et la Cefotetan prouvent une bonne couverture des anaérobies, y compris de nombreuses souches de *B. fragilis*, elles couvrent également les gonocoques, ces deux agents sont utilisés comme partie du traitement de première intention dans la maladie inflammatoire pelvienne.

Elles sont également utilisées pour le traitement des formes modérément sévères des infections intra-abdominales et les infections mixtes aérobie-anaérobie des tissus mous, y compris les infections du pied diabétique.

La Céfuroxime en forme orale atteint des niveaux sériques qui sont environ un dixième de ceux d'intraveineuse, et cet antibiotique est recommandé pour le traitement des infections urinaires basses et l'otite moyenne. D'autres antibiotiques oraux moins coûteux peuvent couvrir effectivement les mêmes organismes pathogènes.

La Cefaclor, une autre forme orale de deuxième génération, est inactivée par les bêta-lactamases produites par *H. influenzae* et *M. catarrhalis*. Bien que le Cefaclor ait été recommandé pour le traitement de l'otite moyenne, d'autres antibiotiques par voie orale sont généralement préférés.

I.5.1.2.3 Céphalosporines de troisième génération :

• Pharmacocinétique :

A l'exception du Ceftriaxone, les céphalosporines de troisième génération sont excrétées par le rein, le Ceftriaxone est principalement éliminé par le foie, mais à des concentrations élevées il peut être excrété par la bile. La demi-vie de ces antibiotiques varie, étant aussi courte (1,5 heures) pour le Céfotaxime mais plus longue (8 heures pour le Ceftriaxone). Ils pénètrent effectivement dans plusieurs sites du corps.

• Spectre d'activité et recommandations de traitement :

Par rapport aux céphalosporines de la première et deuxième génération, celles de la troisième génération ont une activité accrue contre beaucoup d'aérobies bacilles Gram négatif, mais ils ne couvrent pas *Serratia marcescens*, *Acinetobacter* et *Enterobacter cloacae*.

À l'exception du Ceftriaxone et Céfopérazone, les céphalosporines de troisième génération sont inefficaces contre *P. aeruginosa*.

Ces agents ont une excellente activité bactéricide contre *S. pneumoniae* (y compris les souches modérément résistantes à la pénicilline), *L. pyogenes* et autres streptocoques. Tous les antibiotiques de cette génération sont inefficaces contre *Enterococcus*, SARM, les pneumocoques très résistants à la pénicilline et *L. monocytogenes*.

Les BLSE augmentent en fréquence, et réduisent l'efficacité des céphalosporines de troisième et quatrième génération. Un grand nombre de céphalosporines de troisième génération est disponible, toutes avec des indications similaires. Des petites lacunes dans la couverture et la pharmacocinétique moins désirables ont affecté la popularité d'un certain nombre de ces médicaments.

Le Ceftriaxone et le Céfotaxime sont recommandés pour un traitement empirique des pneumonies et des méningites bactériennes communautaires acquises.

Les céphalosporines de troisième génération peuvent être utilisées en combinaison avec d'autres antibiotiques pour traiter empiriquement les patients septiques.

Le Ceftriaxone est recommandé pour le traitement de *N. gonorrhoeae*. Le Céfotaxime est éliminé par voie rénale et ne forme pas de calculs biliaires. Pour cette raison, cet agent est préférable au Ceftriaxone par certains pédiatres, en particulier pour le traitement de la méningite bactérienne chez les enfants où une forte dose thérapeutique peut provoquer la formation des calculs biliaires symptomatiques.

Le Ceftriaxone est la seule céphalosporine de troisième génération qui présente une excellente activité contre *P. Aeruginosa* ; cependant, le Céfépime de quatrième génération (et le Monobactame Aztréonam) sont les plus utilisés comme traitement anti Pseudomonas.

Le Céfixime prise par voie orale se caractérise par une longue demi-vie, ce qui nécessite une prise unique par jour. Il offre une couverture efficace contre *S. pneumoniae* (sensible à la pénicilline), *S. pyogenes*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis*, les espèces *Neisseria* et de nombreux bacilles Gram négatif, mais il est inefficace contre *S. aureus*. Son absorption n'est pas affectée par la nourriture. Cet agent est une thérapie potentielle de deuxième intention pour la pneumonie communautaire (PAC), et c'est une alternative à la Pénicilline pour le traitement de la pharyngite bactérienne.

L'autre préparation orale, le Cefpodoxime proxétil, a un spectre anti microbien similaire à celui du céfixime. De plus, il a une activité modérée contre *S. aureus*. Les indications d'utilisation sont similaires à celles du Céfixime et Il a également été recommandé comme traitement alternatif de la sinusite aiguë

I.5.1.2.4 Céphalosporines de quatrième génération :

• Pharmacocinétique :

La clairance des céphalosporines de quatrième génération ce fait par voie rénale et les demi-vies de ces agents sont similaires à celles des céphalosporines de troisième génération à élimination rénale. La substitution R2 des céphalosporines de quatrième génération contient à la fois un groupe chargé positivement et négativement qui, ensemble, ont des propriétés zwitterioniques qui permettent à ces antibiotiques de pénétrer à l'intérieur de toutes les bactéries à Gram négatif et de se concentrer dans l'espace périplasmique. Cette caractéristique permet également une excellente pénétration de tous les compartiments corporels, y compris le liquide céphalo rachidien.

• Spectre d'activité et recommandations du traitement :

Les céphalosporines de quatrième génération sont résistantes contre la majorité des bêta-lactamases (voir Tableau 3). Ces agents se lient également aux PBPs des Gram positif avec une forte affinité.

Le Céfépime a une bonne activité anti microbienne contre les bacilles à Gram négatif, y compris *P. aeruginosa* et offre une excellente couverture pour *S. pneumoniae* (y compris les souches moyennement résistantes à la pénicilline), *S. pyogenes* et SASM. Le Céfépime et le Ceftazidime donnent une couverture comparable vis-à-vis de *P. aeruginosa*. Afin de maximiser les chances de guérison des infections graves à *P. aeruginosa*, une posologie plus fréquente (toutes les 8 heures) a été recommandée. Le Céfépime n'est pas efficace contre, SARM, *L. monocytogenes*, ou *B. fragilis*.

Par rapport aux céphalosporines de troisième génération, le Céfépime est plus résistant aux bêta-Lactamases, y compris les BLSE. Il a été effectivement utilisé pour traiter les méningites à Gram négatif. Le Céfépime est efficace en monothérapie chez les patients neutropéniques fébriles, et il est un excellent agent pour la couverture initiale des infections nosocomiales.

Le Cefpirome est disponible en Europe. Il se dispose d'un spectre anti microbien semblable à celui du Céfépime, mais il est un peu moins actif contre *P. aeruginosa*.

I.5.1.3 MONOBACTAMES (Aztréonam) :

• Chimie et pharmacocinétique :

L'Aztréonam était isolé de *Chromobacterium violaceum* et ensuite modifié. Cet antibiotique a une structure distincte de celle des céphalosporines, et c'est le seul antibiotique disponible dans sa catégorie. L'Aztréonam, au lieu de deux cycles, ne présente qu'un seul cycle « structure monocyclique des bêta-Lactamines », et classé donc comme une monobactame.

En raison de sa structure unique, l'Aztréonam ne présente pas une réactivité croisée avec d'autres bêta-lactamines. Il peut être utilisé en toute sécurité chez les patients allergiques à la pénicilline. Le médicament pénètre le tissu corporel et traverse la barrière hémato encéphalique. L'Aztréonam est éliminé par voie rénale et a une demi-vie semblable à celle des céphalosporines de troisième et quatrième génération à élimination rénale.

• Spectre d'activité et recommandations du traitement

L'Aztréonam ne se lie pas aux PBP des organismes Gram positif ou anaérobies, mais plutôt il se lie, avec une forte affinité, à la PBP-3 (responsable de la formation des cloisons lors de la division bactérienne), des bacilles à Gram négatif, notamment *P. aeruginosa*. Les organismes exposés à l'Aztréonam forment de longues structures filamenteuses et meurent.

L'Aztréonam a été commercialisé comme une alternative non-néphrotoxique des aminosides. Cependant, contrairement aux aminosides, l'Aztréonam ne fournit pas de synergie avec les pénicillines contre *Enterococcus*.

L'avantage majeur de l'Aztréonam est son spectre anti microbien restreint, qui permet la survie des Gram positif normaux et des anaérobies qui peuvent lutter contre les agents pathogènes les plus résistants.

L'Aztréonam peut être utilisé pour le traitement de la plupart des infections à bacilles Gram négatif. Il a été efficace dans le traitement des pyélonéphrites, les pneumonies nosocomiales à Gram négatif, la bactériémie Gram négatif et les infections intra abdominales à Gram négatif.

Il est important, cependant, que l'Aztréonam ne fournisse aucune couverture contre les Gram positif et les anaérobies. Par conséquent, lorsque le patient est gravement infecté par des pathogènes Gram positif on l'associe à la Clindamycine, l'Erythromycine ou la pénicilline.

I.5.1.4 CARBAPENEMES : (26)

Tableau 4 : Principales carbapénèmes, demi-vies et spectres d'activité.

Antibiotiques	Demi-vie	Caractéristiques	Spectre
Imipénème/cilastatine (Tienam®)	1 heure	Cause des convulsions à forte doses	Très large
Méropénem (Meronem®)	1 heure	Moins épileptogène que l'imipénème	Très large
Ertapénem (inanz®)	4 heures	Peut être administré 1 fois/jour Ne couvre pas le <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Très large

• Chimie et pharmacocinétique :

Les carbapénèmes ont à la fois un cycle thiazolidine modifié et un changement dans la configuration de la chaîne latérale qui rend le noyau bêta-lactame très résistant à la coupure.

Leur chaîne latérale hydroxy-éthyle à une conformation TRANS plutôt que CIS, et cette configuration est supposée être responsable de la résistance remarquable à l'activité bêta-Lactamase.

A pH physiologique, ces agents ont des caractéristiques zwitterioniques qui leur permettent de pénétrer facilement dans les tissus. Les carbapénèmes se lient, avec une forte affinité, aux PBPs à poids moléculaire élevé des Gram positif et des Gram négatif.

L'Imipénem est combiné à un ratio de 1/1 avec la Cilastatine pour ralentir la dégradation rapide par la déshydro-peptidase rénale.

Le Méropénem et l'Ertapénem ne sont pas significativement dégradés par cette enzyme et ne nécessitent pas de Co-administration avec la Cilastatine. Ces médicaments sont aussi à élimination rénale.

• Spectre d'activité et recommandations du traitement

Les carbapénèmes ont un très large spectre d'activité, tuant de façon efficace la plupart des bactéries Gram positif et Gram négatif, y compris les bactéries anaérobies. L'Imipenème a légèrement une meilleure activité contre les bactéries Gram positif.

Le Méropénem et l'Ertapénem ont une activité meilleure contre des agents pathogènes Gram négatif (à l'exception de *Pseudomonas*).

Ces agents sont bactéricides non seulement contre *S. pneumoniae*, *S. pyogenes* et SASM, mais aussi contre les organismes qui ne sont pas couverts par les céphalosporines, y compris *Listeria*, *Nocardia*, *Legionella* et *Mycobacterium avium* intracellulaire (IMA). Ils ont une activité bactériostatique contre les entérocoques sensibles à la pénicilline, mais les souches les plus résistantes à la pénicilline sont également résistantes aux carbapénèmes (voir Tableau 4).

Le SARM, certaines souches de *S. pneumoniae* résistantes à la pénicilline, *Clostridium Difficile*, *Stenotrophomonas*, *Maltophilia*, *Burkholderia*, *Cepacia* sont aussi résistantes aux carbapénèmes. La résistance des bacilles à Gram négatif est le plus souvent secondaire à une perte d'une protéine de membrane externe appelé D2 qui est nécessaire pour la pénétration intracellulaire des Carbapénèmes. Un nombre croissant des souches Gram négatif qui peuvent également produire des bêta-lactamases appelées carbapénémases qui peuvent hydrolyser ces médicaments.

L'Imipenème et le Méropénem peuvent être utilisés comme traitement empirique du sepsis, et ils sont particulièrement utiles, si suspicion d'une infection poly microbienne dont la bactériémie est une forte possibilité. Ils peuvent également être utilisés pour traiter les infections intra abdominales sévères et les pyélonéphrites compliquées.

Les infections attribuées aux bacilles à Gram négatif résistants aux céphalosporines et aux aminosides peuvent être sensibles à l'Imipenème et la Méropénem. Ils sont recommandés comme traitement de première intention contre *Serratia*.

Le Méropénem peut être utilisé dans les méningites et il atteint des niveaux thérapeutiques dans le liquide céphalo rachidien, l'Imipenem n'est pas recommandé en raison de sa capacité à provoquer des convulsions.

En général, l'Imipenème et le Méropénem doivent être réservés pour les infections graves et les patients infectés par une bactérie très résistante et qui est sensible à cet antibiotique.

L'Ertapénem a une demi-vie plus longue (voir tableau 4) et la posologie peut être réduite à une fois par jour, ce qui en fait un agent utile pour les intraveineuses à domicile. Cet agent n'est pas efficace contre *P. aeruginosa*, mais par ailleurs il présente un spectre semblable à celui du Méropénem. Il est recommandé dans les infections intra abdominales compliquées, dans les infections pelviennes post-opératoires aiguës et les infections complexes des tissus mous.

Vu que les carbapénèmes sont des agents de très large spectre, ils tuent presque toute flore normale. La perte de la flore normale augmente le risque d'infections nosocomiales par des agents pathogènes très résistants y compris le SARM, Pseudomonas et Candida.

I.5.2 Aminocyclitolides : (25)

Tableau 5 : Principaux aminocyclitolides, action, spectre, cinétique et indications.

ATB	Action	Spectre	Cinétique	Indication
Gentamicine	Interfère avec la liaison du formyl-méthionyl-RNA avec le ribosome pour empêcher l'initiation de la traduction et induire des erreurs de lecture	❖ Bactéries aérobies à Gram négatif tractus digestif ❖ Synergie avec les β-lactamines	1. Faiblement absorbée par le tractus digestif 2. Pénétration faible dans le LCR 2. Elimination rénale 4. Ajustements de dose en cas d'insuffisance rénale	<ul style="list-style-type: none"> • Infections par les aérobies Gram négatif • Applications topiques
Tobramycine				Infections à Gram négatif aérobies
Kanamycine				Infections par les aérobies
Amikacine				Infections par les aérobies Gram négatif
Netilmycine				<ul style="list-style-type: none"> • Infections par les aérobies Gram négatif • Résistance aux enzymes inactivantes
Streptomycine				Réservée à la tuberculose
Néomycine				Applications topiques

• chimie et mécanismes d'action :

Les aminosides sont à l'origine dérivés des Streptomyces. Ces agents ont un cycle à 6 atomes de carbone caractéristique avec des substitutions par des groupements amines et ils sont très solubles dans l'eau.

A pH neutre, ils sont chargés positivement, et cette charge positive contribue pour leur activité antibactérienne. A pH faible la charge est réduite et altère l'activité.

Cette charge positive provoque également leurs liaisons aux bêta-lactamines et par la suite leur désactivation. Donc les aminosides ne devraient jamais être dans la même solution avec les bêta-lactamines.

En pénétrant dans la bactérie, les aminosides interagissent avec l'ADN et d'autres composants anioniques et entraînent leur précipitation.

Les aminosides se lient également à la sous-unité 30S d'ARN ribosomal 16S de la bactérie et interfèrent avec la traduction. Ces effets combinés sont bactéricides (voir Tableau 5).

• Toxicité

Les aminosides ont un intervalle étroit entre leurs doses thérapeutiques et toxiques, et le suivi de leurs taux sériques est généralement nécessaire pour éviter la toxicité. Ces agents sont parmi les médicaments toxiques les plus prescrits aujourd'hui, et ils doivent être évités dès la disponibilité d'un antibiotique alternatif plus sûr.

Deux toxicités majeures sont observées :

• Néphrotoxicité :

Une atteinte de la contourné proximale des tubules conduit à une réduction de la clairance de la créatinine. Les cellules de bordure en brosse du tubule proximal laissent entrer les aminosides par endocytose, l'entrée intracellulaire provoque une nécrose des cellules. Les aminosides causent une réduction importante de la filtration glomérulaire chez 5% à 25% des patients. Les facteurs de risques pour cette néphrotoxicité due aux aminosides sont : l'âge, les maladies rénales sous-jacentes, l'insuffisance hépatique, l'hypovolémie et l'hypotension. La

réexposition aux aminosides augmente le risque de cette atteinte lors de l'utilisation des doses élevées avec une posologie fréquente et qui dépasse les 3 jours.

Le risque d'insuffisance rénale augmente lors la Co-administration des aminosides avec la vancomycine, l'Amphotéricine B, la Clindamycine, Pipéracilline, les céphalosporines ou le Furosémide.

Du fait que les tubules rénaux ont un pouvoir de régénération, le dysfonctionnement rénal apparait habituellement après l'arrêt de l'aminoside et du fait que les aminosides sont principalement éliminés par voie rénale, les taux sériques d'aminosides sont utiles pour détecter une aggravation de la fonction rénale (Les taux sériques d'aminosides augmentent le plus souvent avant ceux de la créatinine).

• Ototoxicité :

Les aminosides atteignent les liquides de l'oreille interne et entraînent des dommages importants des cellules ciliées externes dans la détection des sons de haute fréquence. Cette surdité pour les Sons de haute fréquence a lieu dans 3% à 14% des patients traités avec des aminosides. Le risque est plus élevé lors d'un traitement prolongé, la plupart des cas développent cette surdité après 9 jours ou plus de traitement. Cette surdité est irréversible et elle peut même survenir quelques semaines après l'arrêt du traitement.

Le risque de l'ototoxicité dépend de l'aminoside. La Néomycine a le plus de risques de toxicité, suivie dans l'ordre décroissant de fréquence par la gentamicine, la Tobramycine, l'Amikacine et la Nétilmicine.

L'association avec le Furosémide ou la Vancomycine et l'exposition à des bruits aigus augmentent ce risque. Des études comparatives ont montré qu'une prise par jour réduit le risque toxique par rapport à une posologie de toutes les 8 heures.

Les aminosides peuvent provoquer, moins fréquemment, des blocks neuromusculaires, ils doivent être évités dans la myasthénie.

Compte tenu du risque élevé de toxicité, les aminosides devraient être utilisés seulement quand des antibiotiques alternatifs ne sont pas disponibles. Il est nécessaire que la durée du traitement doit être aussi brève que possible. Un prétraitement et un contrôle périodique d'audience de haute fréquence doit être effectués, et les niveaux sériques de la créatinine et des aminosides doivent être surveillés.

• Pharmacocinétique :

Après une perfusion intraveineuse, les aminosides prennent 15 à 30 minutes pour leur distribution dans l'organisme. Par conséquent, pour déterminer leurs taux sériques maximaux, la prise des échantillons se fait 30 minutes après l'arrêt de la perfusion. La demi-vie d'aminosides est de 2 à 5 heures, et ces agents sont éliminés par voie rénale.

L'établissement d'une bonne posologie des aminosides est plus compliqué que la plupart des autres antibiotiques, ces agents exigent une surveillance étroite.

Dans de nombreux hôpitaux, un pharmacien est sollicité pour l'ajustement de la dose en cas de thérapie prolongée et à doses multiples.

Une dose d'attaque est d'abord donnée pour atteindre rapidement un taux sérique thérapeutique, les doses d'entretien sont ensuite administrées. Ces doses sont calculées en fonction du poids corporel.

Dans le cadre de l'insuffisance rénale, la posologie doit être ajustée avec soin, et les niveaux de pics sériques doivent être surveillés et lors de l'aggravation de l'insuffisance rénale, l'intervalle du dosage doit être prolongé.

Une posologie d'une fois par jour est désormais la conduite la plus adéquate parce qu'elle réduit la concentration de l'aminoside qui s'accumule dans le cortex rénal et abaisse la fréquence de néphrotoxicité.

Du fait que les aminosides sont concentration dépendants, les niveaux de pics élevés obtenus par cette méthode augmentent l'effet bactéricide et prolongent l'effet post-antibiotique. En outre, un traitement d'une dose par jour est plus simple et moins coûteux. Ce régime a réduit l'incidence des dysfonctionnements neuromusculaires.

Pour une insuffisance rénale, la dose quotidienne doit être réduite. La surveillance des concentrations sériques est recommandée pour les deux (multi-dose et mono-dose).

Avec un traitement multi-dose, la détermination du pic plasmatique (C_{max} , évaluant l'efficacité) devrait être établie 30 minutes après l'injection intraveineuse, et pour la concentration résiduelle (C_{min} , prédictrice de la toxicité), elle est faite 30 minutes avant la prochaine injection. Ces deux paramètres doivent être établis après la troisième dose d'antibiotique pour assurer un bon équilibre de distribution dans le sang. Pour les patients gravement infectés, on procède à ces mesures, dès la première dose pour atteindre un niveau thérapeutique adéquat.

Pour une posologie à une seule prise par jour, les concentrations résiduelles doivent être surveillées pour assurer une bonne élimination. Les taux sériques après 18 heures doivent être <1 ug/ml, le prélèvement peut se faire entre 6 et 14 heures, un nomogramme, de ces valeurs, peut aider à décider la suite du traitement. Chez le patient gravement malade, le prélèvement pour la détermination du pic se fait 30 minutes après la fin de la perfusion. Afin d'assurer l'effet thérapeutique (par la Gentamicine et la Tobramycine) une concentration de 16 à 24 ug/ml devrait être atteinte.

Cette méthode n'est pas recommandée pour le traitement des endocardites à entérocoques et n'a pas été suffisamment étudiée chez la femme enceinte ou chez les patients atteints d'une ostéomyélite ou de fibroses kystiques.

Tableau 6 : Spectre d'activité des aminosides.

Gentamicine	Tobramycine	Amikacine	Streptomycine
<ul style="list-style-type: none"> • La plupart des Entérobactéries • <i>Francisella tularensis</i> Brucella sp (associée à la Doxycycline) • Synergie avec les pénicillines, la Vancomycine et le Ceftriaxone, pour <i>S. viridans</i> • Synergie avec les pénicillines et Vancomycine pour Enterococcus 	<ul style="list-style-type: none"> • La plupart des Entérobactéries • <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> (synergie avec les Pénicillines ou les céphalosporines anti <i>Pseudomonas</i>) 	<ul style="list-style-type: none"> • La plupart des Entérobactéries • <i>Mycobacterium avium</i> complexe 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Yersinia pestis</i> • <i>Francisella tularensis</i> • <i>Brucella sp</i> (associée à la Doxycycline) • <i>M Tuberculosis</i>

• Spectre d'activité et recommandations du traitement :

Les aminosides ont un effet bactéricide sur les bacilles Gram négatif aérobies, y compris les espèces de *Pseudomonas*. Leur effet est très rapide et concentration dépendante. Ce qui conduit cette posologie à une dose par jour. Les aminosides ont montré une répression persistante de la croissance bactérienne pendant 1 à 3 heures après leur élimination (l'effet -

post-antibiotique). Les aminosides ont montré également une synergie avec les antibiotiques qui agissent sur la paroi cellulaire (les bêta-lactamines et les glycopeptides). Cette synergie est observée dans le traitement des entérocoques, *S. viridans*, *S. aureus*, staphylocoques coagulase-négative, *P. aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, et *JK corynebactéries*.

Une association avec d'autres antibiotiques est généralement recommandée pour le traitement des patients gravement malades avec un syndrome septique pour assurer une large couverture des bacilles à Gram négatif.

Un aminoside associé à la Pénicilline est recommandé pour la couverture empirique de l'endocardite bactérienne.

La Tobramycine combinée avec une Pénicilline ou une céphalosporine anti *Pseudomonas* est recommandée comme traitement primaire de *P. aeruginosa*.

La Streptomycine ou la Gentamicine sont le traitement de choix de la tularémie et *Yersinia pestis*. Et chaque agent peut également être utilisé pour traiter *Brucella*. La Gentamicine associée à la Pénicilline est le traitement de choix pour les *S. viridans* et *Enterococcus faecalis* (voir Tableau 6)

I.5.3 Glycopeptides :

Tableau 7 : Les principaux glycopeptides, demi-vies et particularités.

ATB	Demi-vie	Particularités
Vancomycine	4-6 H	En intraveineuse seulement
Teicoplanine	40-70 H	<ol style="list-style-type: none"> 1. Action similaire à celle de la vancomycine 2. Utile pour germes résistants à la vancomycine 3. Posologie : 6 mg/kg/ 1V ou 1M puis 3 mg/kg/dose toutes les 24 heures

• Chimie et mécanisme d'action :

La Vancomycine et la Teicoplanine sont les glycopeptides complexes d'environ 1500 Da de poids moléculaire. Ces agents agissent principalement sur la paroi cellulaire des bactéries Gram-positif en se liant au précurseur de la D-alanine-D-alanine et l'empêchent d'être incorporé dans le peptidoglycane. La liaison de la vancomycine à ce précurseur de la paroi cellulaire bloque la transpeptidase et la transglycolase, interférant avec la formation de la paroi cellulaire et l'augmentation de la perméabilité de la cellule.

Ces agents peuvent également interférer avec la synthèse de l'ARN. Ils se lient rapidement et fortement à la bactérie et tuent rapidement les organismes en croissance. Ils ont aussi un effet post-antibiotique de 2 heures.

• Toxicité

L'effet indésirable le plus rencontré chez les glycopeptides est « le syndrome de l'homme rouge », qui survient le plus souvent lorsque la vancomycine est infusée rapidement. Le patient ressent une rougeur du visage, du cou et de la partie supérieure du thorax. Cette réaction est supposée être causée par libération massive d'histamine secondaire à une hyperosmolalité locale, mais elle n'est pas considérée comme une réaction d'hypersensibilité vraie. Une perfusion pendant 1 heure ou plus empêche généralement cette réaction. Il y a moins d'expérience sur la Teicoplanine, mais cet agent ne provoque pas de thrombophlébites importantes, et cette rougeur de la peau est rare mais l'ototoxicité de ce produit a été signalée.

• Pharmacocinétique :

Les demi-vies sont longues : la Vancomycine (4 à 6 heures) et la Teicoplanine (40 à 70 heures). Les deux médicaments sont excrétés principalement par le rein. Chez les patients atteints d'une anurie, la demi-vie de la Vancomycine augmente jusqu'à 7 à 9 jours (voir Tableau 7).

Pour la Vancomycine, les niveaux de pics devraient atteindre 20 à 50 .ug/ml, avec des concentrations résiduelles maintenues de 10 à 12 ug/ml. La Vancomycine pénètre dans la plupart des espaces tissulaires, mais ne traverse pas la barrière hémato encéphalique en absence d'inflammation. Des taux thérapeutiques dans le liquide céphalo rachidien sont obtenus chez les patients atteints de méningite. Contrairement à la Vancomycine, qui est

faiblement liée aux protéines, 90% de la Teicoplanine est liée aux protéines, ce qui explique sa clairance rénale lente. La pénétration tissulaire n'a pas été étudiée, et peu de données sont disponibles sur la pénétration dans l'os, le péritoine et le liquide céphalo rachidien.

• **Spectre d'activité et recommandations du traitement :**

La Vancomycine et la Teicoplanine ont une double couverture des SARM et SASM, et elles sont le traitement recommandé pour les SARM. Ces agents tuent aussi la plupart des souches de staphylocoques coagulase négative (*S. epidermidis*), qui sont généralement résistants à la méthicilline. Elles sont recommandées pour le traitement de la septicémie à staphylocoque coagulase-négative et l'endocardite bactérienne. Pour cette dernière infection, les glycopeptides doivent être combinés avec un ou plusieurs antibiotiques supplémentaires.

Les souches de *S. aureus* à résistance intermédiaire à la Vancomycine ont été découvertes au Japon et ont également été identifiées en Europe et aux États-Unis. Ces souches ont une CMI de 8 à 16 g/ml et une résistance croisée à la Teicoplanine. L'utilisation intense de la Vancomycine a permis la sélection de ces souches et nous avertit que l'utilisation non contrôlée des glycopeptides doit être évitée. La Vancomycine et la Teicoplanine ont non seulement une excellente activité contre *Staphylococcus*, mais aussi contre les souches pénicillino-résistantes ou susceptibles de *S. pneumoniae*, et elles sont recommandées pour le traitement empirique d'une méningite à pneumocoques pour couvrir des souches hautement résistants à la Pénicilline. Les glycopeptides sont utilisés également pour traiter efficacement *S. pyogenes*, streptocoques du groupe B, *S. viridans* et *S. bovis*, et ils sont recommandés pour le traitement de ces infections pour les patients allergiques à la Pénicilline.

Le *Corynebacterium jeikeium* (précédemment appelé *JK diphtéroïdes*) est sensible à la Vancomycine, et cet antibiotique est recommandé pour son traitement. La Vancomycine par voie orale est efficace contre *C. difficile* de l'intestin, et elle était recommandée pour le traitement de la diarrhée associée à des toxines de *C. difficile*. Cependant, en raison du risque accru de développer une résistance suite à une administration par voie orale, ce traitement n'est recommandé que pour les cas qui sont réfractaires au Métronidazole ou pour les patients atteints d'infections graves (voir Tableau 7).

La Vancomycine est fréquemment utilisée pour traiter *Enterococcus faecalis* et *E. faecium*, cependant, de nombreuses souches sont devenues résistantes. Trois gènes complexes transfèrent cette résistance. Le gène van A : qui contrôle la synthèse du peptidoglycane et

convertit la D-alanine-D-alanine (le site d'action de la Vancomycine) en D-alanine-D-lactate, réduisant nettement la fixation de la Vancomycine et la Teicoplanine. Les deux autres groupes de résistance de gènes, van B et van C, sont à l'origine de la résistance à la Vancomycine, mais ne nuisent pas à l'activité de la Teicoplanine.

I.5.4 Macrolides et kétolides et apparentés : (27)

Tableau 8 : Les principaux macrolides, action, spectre, cinétique et indications.

ATB	Action	Spectre	Cinétique	Indications
Erythromycine	Liaison au site peptidyl-transféraseinhibition, bloc de l'élongation de la chaîne polypeptidique- Peuvent bactéricide bactériostatiques	Gram + Gram – <i>Mycobacterium avium</i> , <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , et <i>chlamydia</i>	1. Absorption intestinale adéquate 2. Inactivation par pH gastrique 3. Large Distribution, sauf SNC, LCR 4. Elimination surtout biliaire 5. Interactions médicamenteuses (digoxine, cyclosporines, corticostéroïdes, etc)	Demi-vielongue (70H) chez l'enfant Traitements de 3 à 5 jours
Azithromycine				
Clarithromycine				
Télithromycine				

• **Chimie et mécanisme d'action :**

L'Erythromycine, Le membre fondateur de la famille des macrolides, a été purifiée à partir d'une bactérie du sol. Il a un cycle lactone macrocyclique à 14 atomes (qui donne naissance au nom de la classe "macrolides") fixé à deux sucres. L'Azithromycine a un cycle lactone à 15 atomes et une substitution de l'azote. La Clarithromycine résulte de la modification du groupe méthoxy sur le carbone 6 de la molécule d'Erythromycine. Ces modifications améliorent l'absorption orale et élargissent le spectre anti microbien.

La nouvelle classe d'agents macrolides, tels que les dérivés semi-synthétiques de l'Erythromycine, est appelée Kétolides. Les kétolides, représentés par la Télithromycine, ont un cycle macrolactone à 14 membres, avec un groupement cétone en position 3, avec les hydroxyles dans les positions 11 et 12, remplacés par un carbamate cyclique. Ces agents inhibent la synthèse protéique en bloquant le passage des protéines à travers le tunnel de la sortie du ribosome. Dans le cas des macrolides classiques, l'inhibition est réalisée par la liaison à un seul domaine de la sous-unité 50S du ribosome (domaine V de la molécule d'ARNr 23). En la comparant aux macrolides la Télithromycine se lie à la sous-unité 50S avec une plus grande affinité, la liaison à deux régions de la molécule d'ARNr 23S (domaines II et V), au lieu d'une région. Ce mode de liaison unique, explique l'activité anti microbienne accrue des kétolides contre les agents pathogènes résistants aux macrolides.

• **Toxicité :**

Les macrolides et les kétolides sont parmi les classes les plus sûres des antibiotiques. Les effets indésirables principaux sont liés à la capacité de ces agents de stimuler la motilité intestinale. En fait, l'Erythromycine peut être utilisée pour traiter une parésie gastrique.

Particulièrement chez les patients plus jeunes : des crampes abdominales, des nausées, des vomissements, diarrhée et gaz, sont fréquents avec l'Erythromycine. Ces symptômes sont dose-dépendants et sont plus fréquents avec les formes orales, mais peuvent également se produire avec l'administration intraveineuse. La toxicité gastro-intestinale peut être affaiblissante, forçant l'arrêt du traitement. L'Azithromycine et la Clarithromycine à des doses habituelles recommandées sont beaucoup moins susceptibles de causer ces effets indésirables.

L'administration de la Télithromycine entraîne une difficulté de l'accommodation, ce qui rend la vision floue. Les patients ont également connu une diplopie après l'administration de cet agent. Ce traitement a également entraîné l'apparition soudaine d'une hépatite sévère et parfois mortelle. Tous les patients recevant cet agent doivent donc être avertis de cet effet secondaire potentiel, et le médicament doit être prescrit uniquement pour les cas de pneumonie dont l'incidence des *S. pneumoniae* pénicillino-résistants est élevée. Dans ces circonstances une Fluoroquinolone avec couverture Gram-positif est préférable.

Les macrolides et les kétolides peuvent aggraver une myasthénie et doivent être évités chez les patients présentant cette maladie. Les macrolides prolongent l'intervalle QT, dans l'ECG, et l'administration de l'Erythromycine, occasionnellement, a été associée à une

tachycardie ventriculaire. Ces agents sont métabolisés par le système du cytochrome P450 3A4, et ils provoquent une augmentation des taux sériques des autres médicaments métabolisés par ce système, y compris la plupart des statines et les benzodiazépines de courte durée d'action.

Tableau 9 : Spectre d'activité des macrolides. (28)

Erythromycine	Clarithromycine	Azithromycine	Télithromycine
1. <i>S. pyogenes</i> . Sensible à la Pénicilline 2. <i>S. Pneumoniae</i> . 3. Flore buccale y compris les anaérobies, mais pas <i>Bacteroides fragilis</i> 4. <i>Neisseria gonorrhoeae</i> 5. <i>Neisseria meningitidis</i> 6. <i>Campylobacter jejuni</i> 7. <i>Bordetella pertussis</i> 8. <i>Legionella pneumophila</i> 9. <i>Mycoplasma pneumoniae</i> 10. <i>Ureaplasma urealyticum</i> 11. <i>Chlamydia trachomatis</i> 12. <i>Chlamydophila pneumoniae</i> 13. <i>Corynebacterium Diphtheriae</i> 14. <i>Bartonella quintana</i>	Plus, active contre: 1. <i>Streptococcus pyogenes</i> Plus, active contre PCN-sensible 2. <i>S. pneumoniae</i> 3. Tous les germes couverts par l'Erythromycine avec en plus <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Moraxella catarrhalis</i> <i>Borrelia burgdorferi</i> <i>Mycoplasma leprae</i> <i>Mycobacterium avium complex</i> <i>Toxoplasma gondii</i> <i>Helicobacter pylori</i> .	Moins active <i>S. pyogenes</i> Moins active contre PCN-sensible <i>S. pneumoniae</i> Tous les germes couverts par l'Erythromycine Plus actif contre <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Moraxella catarrhalis</i> Plus actif contre <i>Legionella Pneumophila</i> <i>M. avium complex</i> <i>Helicobacter pylori</i> <i>plasmodium falciparum</i>	Plus active contre <i>S. pyogenes</i> Active contre certains germes Erythromycine-résistants Active contre <i>S. pneumoniae</i> multiresistant Tous les germes couverts par l'Erythromycine, plus les germes Érythromycine résistants <i>S. aureus</i> Bonne activités contre : <i>Enterococcus faecalis</i> Mais pas <i>Enterococcus faecium</i> <i>H. influenzae</i> <i>Moraxella catarrhalis</i> Faible activité contre: <i>M avium complex</i>

• Pharmacocinétique

Les Stéarates, Ethylsuccinates et Estolates d'Erythromycine sont raisonnablement bien absorbées à jeun, atteignant des niveaux sériques maximaux 3 heures après l'ingestion. La Clarithromycine, l'Azithromycine et la Télithromycine sont mieux absorbées par voie orale que l'Erythromycine est ont des pics de concentrations après 1 heure.

L'Erythromycine et l'Azithromycine doivent être pris à jeun. La plupart des macrolides et des kétolides sont métabolisés et principalement éliminés par le foie. L'Azithromycine n'est pas métabolisée, étant excrétée sous forme inchangée dans la bile. De faibles pourcentages de ces médicaments sont excrétés dans l'urine. Ces agents sont largement distribués dans les tissus, dont les concentrations peuvent dépasser parfois la concentration sérique maximale, y compris la prostate et l'oreille moyenne. Les niveaux de Clarithromycine dans le liquide de l'oreille moyenne peuvent atteindre 10 fois les concentrations sériques. Les concentrations de l'Azithromycine dans les tissus dépassent les niveaux sériques d'un facteur de 10 à 100, et sa demi-vie moyenne dans les tissus est de 2 à 4 jours. Les niveaux thérapeutiques d'Azithromycine ont été estimés à persister pendant 5 jours après l'achèvement d'un traitement de 5 jours. À l'exception de l'Erythromycine en intraveineuse, ces agents ne parviennent pas à atteindre des niveaux significatifs dans le liquide céphalo-rachidien.

• Spectre d'activité et recommandations du traitement :

Les macrolides présentent une excellente activité contre la plupart des bactéries Gram positif et certaines bactéries Gram-négatif (voir Tableau 9). L'Erythromycine peut être bactériostatique ou bactéricide. L'activité bactéricide augmente lorsque les concentrations d'antibiotiques sont élevées et les bactéries se développent rapidement. Ces médicaments sont recommandés pour le traitement de la pneumonie communautaire acquise. Cependant la résistance de *S. pneumoniae* aux macrolides n'a cessé d'augmenter et se situe maintenant entre 10% et 15 1/0. La résistance est plus probable chez les souches pénicillino-résistantes intermédiaires (40% sont résistantes aux macrolides) et les souches fortement pénicillino-résistantes (60% de résistance aux macrolides). Le *S. pneumoniae* multiresistant peut être traité avec la Télithromycine parce que ce dernier possède différents sites de liaisons ribosomiques. Dans la plupart des pays, dont les États-Unis, 95% des *S. Pyogenes* sont sensibles aux macrolides. Cependant, au Japon, où les macrolides sont couramment utilisés,

60% sont résistants. Du fait que *S. aureus* peut développer une résistance après une seule mutation, les macrolides ne sont pas recommandés.

Les macrolides et les kétolides sont efficaces contre la flore buccale, y compris les bactéries anaérobies, mais ils ne couvrent pas le *B. fragilis* anaérobie de l'intestin. Les macrolides sont également le traitement de choix pour *Legionella pneumophila*, par la Télithromycine, l'Azithromycine, la Clarithromycine plus que par l'Erythromycine.

Les macrolides sont des antibiotiques primaires utilisés pour traiter les deux principaux pathogènes associés à la pneumonie atypique : *Mycoplasma pneumoniae* et *Chlamydia pneumoniae*. La Télithromycine est également efficace contre la sinusite bactérienne aiguë.

Dans de nombreux cas, L'Erythromycine peut être utilisée comme une alternative à la pénicilline chez les patients allergiques à la pénicilline. La Clarithromycine est l'une des principaux antibiotiques utilisés pour le traitement des infections à mycobactéries atypiques (IMA). L'Azithromycine en association avec d'autres antibiotiques est également recommandée pour le traitement de l'IMA complexe, et elle peut être utilisée seule pour une prophylaxie des IMAs, chez les patients atteints de VIH avec un taux de CD4 en dessous de 100 cellules/ml.

En association avec un traitement anti-acide, les traitements efficaces pour l'ulcère gastroduodéal causés par *Helicobacter pylori* comprennent l'Azithromycine ou la Clarithromycine combinées avec des sels de Bismuth et de l'Amoxicilline, le Métronidazole, ou une Tétracycline.

L'Azithromycine à forte dose (1g) traite efficacement le chancre mou, ainsi que l'urétrite et la cervicite causées par *Chlamydia trachomatis*. Une thérapie à dose unique guérit aussi l'urétrite à *Ureaplasma urealyticum* de l'homme.

I.5.4.1 Apparentés aux macrolides (Clindamycine) : (25)

- **Chimie et mécanisme d'action :**

Bien que la Clindamycine soit structurellement différente de l'Erythromycine, la plupart de leurs caractéristiques biologiques sont similaires. La Clindamycine est constituée d'un acide aminé lié à une glucosamine, et elle est obtenue en modifiant la Lincomycine. Elle a le même site de liaison ribosomique 50S utilisé par les macrolides, et inhibe la synthèse des protéines bactériennes.

• Toxicité :

La diarrhée est un problème majeur vu chez 20% des patients traités par la Clindamycine. L'incidence est la plus élevée par voie orale. Presque la moitié des patients touchés, la cause de la diarrhée est la colite pseudomembraneuse, une maladie causée par la prolifération de *C. difficile* anaérobie.

• Pharmacocinétique :

La Clindamycine est bien absorbée par voie orale, mais le médicament peut également être administré par voie intraveineuse pour atteindre des pics sériques plus élevés. La Clindamycine pénètre dans la plupart des tissus, mais elle n'entre pas dans le liquide céphalorachidien. La Clindamycine est principalement métabolisée par le foie et est excrétée dans la bile. Les concentrations thérapeutiques de la Clindamycine persistent dans les selles pendant 5 jours ou plus après l'arrêt du traitement, et la réduction de la flore Clindamycine-sensible persiste jusqu'à 14 jours. De faibles pourcentages des métabolites de Clindamycine, sont excrétés dans l'urine.

• Spectre d'activité et recommandations du traitement :

La Clindamycine est similaire à l'Erythromycine dans son activité anti-streptocoques et anti-staphylocoques. Les *S. pneumoniae* modérément résistants à la Pénicilline sont souvent sensibles à la Clindamycine. Chez les patients allergiques à la Pénicilline, la Clindamycine est une alternative raisonnable dans les pharyngites à *S. pyogenes*. Parce que son activité contre *H. influenzae* est limitée, mais n'est pas recommandée pour le traitement de l'otite moyenne. La Clindamycine se distingue des macrolides par son activité excellente contre la plupart des bactéries anaérobies. Elle est utilisée en combinaison avec un aminoside, l'Aztréonam ou une céphalosporine de troisième génération pour traiter les saletés fécales du péritoine. Cependant, d'autres schémas thérapeutiques moins toxiques paraissent aussi efficaces : La Clindamycine en association avec une céphalosporine de première génération peut être utilisée pour bloquer la production de toxines dans la cellulite grave et fasciite nécrosante causée par SASM ou *S. pyogenes*. Elle est également efficace pour le traitement des infections anaérobies pulmonaires et pleurales. La Clindamycine a également une activité significative contre *Toxoplasma gondii* et elle est recommandée comme alternative thérapeutique chez le patient allergique aux Sulfamides.

I.5.4.2 Streptogramines (synergistines) : (25)**Tableau 11** : Spectre d'activité des Streptogramines.

Espèces sensibles	Espèces inconstamment sensibles
<i>Staphylocoques, S. aureus, S. epidermidis</i> <i>Streptocoques, S. mitis, S. sanguinis, S. pyogenes, S. pneumoniae</i> <i>C. Diphtheriae, N. gonorrhoeae, N. meningitidis, H. influenzae, Listeria monocytogenes, Mycoplasmes Chlamydia, Légionnelles, Bacilles anaérobies</i>	<i>Enterococcus,</i> <i>Ureaplasma urealyticum</i>

• Chimie et mécanismes d'action :

Les Streptogramines appartiennent à la famille des macrolides. Ils sont dérivés de la Pristinamycine. La Quinupristine est un peptide dérivé de la Pristinamycine I.A et la Dalfopristine est dérivée de la Pristinamycine I.B. Une combinaison de 30/70 Quinupristine/Dalfopristine a une activité synergique optimale. Ces deux agents inhibent la synthèse des protéines bactériennes en se liant à la sous-unité 50S du ribosome bactérien. La Quinupristine inhibe l'allongement de la chaîne peptidique, et la Dalfopristine interfère avec l'activité du peptidyl-transférase. Tandis que les Pristinamycines sont des composés naturels constituant un mélange de métabolites secondaires produits par *Streptomyces Pristinaespiralis* (24-38 % Quinupristine / 54-68 % Dalfopristine), Les Virginiamycines, une autre classe, représentent également des composés naturels et constituent un mélange de métabolites secondaires produits par *Streptomyces virginiae*.

• Toxicité :

Les myalgies et les arthralgies sont les réactions indésirables les plus fréquentes et sévères, et peuvent forcer l'arrêt du traitement. Leur administration a été également associée à une hyperbilirubinémie.

• Pharmacocinétique :

Les Streptogramines sont administrées par voie intraveineuse, et elles sont métabolisées principalement dans le foie.

• Spectre d'activité et recommandation du traitement :

La Synergistine est principalement active contre les bactéries Gram positif. Elle s'est avérée être efficace dans le traitement de l'ERV et le SARM. Les Synergistines et les Oxazolidones sont le traitement de choix pour les ERV (voir Tableau 11).

I.5.5 Tétracyclines :**• Chimie et mécanisme d'action :**

Les Tétracyclines se composent de quatre cycles à 6 atomes avec des substitutions en positions 4, 5, 6, et 7, qui altèrent la pharmacocinétique des différentes formes, mais, à l'exception de la Tigécycline, ces changements n'ont aucun effet sur le spectre anti microbien.

Les Tétracyclines pénètrent dans les bactéries Gram négatif par diffusion passive à travers les porines. Elles se lient à la sous-unité 30S du ribosome et bloque la liaison de l'ARNt au complexe ribosomique de l'ARNm. Ce blocage empêche surtout la synthèse des protéines dans les bactéries, mais dans une moindre mesure, il affecte également la synthèse des protéines de cellules de mammifères, en particulier les mitochondries.

L'inhibition de la synthèse des protéines arrête la croissance bactérienne, mais ne tue pas la bactérie. Par conséquent, les Tétracyclines sont appelées « bactériostatiques ».

• Toxicité :

Des réactions de photosensibilité, une éruption rouge sur les zones exposées au soleil, peuvent se développer. Des réactions d'hypersensibilité sont moins fréquentes que les Pénicillines, mais ils se produisent. Les Tétracyclines interfèrent avec la formation de l'émail, et chez les enfants, les dents se décolorent souvent de façon permanente. Par conséquent, ces agents ne sont pas recommandés pour les enfants moins de 8 ans, ou pour les femmes enceintes. Parce que les Tétracyclines inhibent la synthèse des protéines, et elles augmentent l'azotémie chez les patients atteints d'insuffisance rénale. La Minocycline peut causer des vertiges, et cet effet secondaire a limité son utilisation. L'hypertension intracrânienne bénigne est un autre effet secondaire neurologique rare.

• Pharmacocinétique :

Les tétracyclines sont bien absorbées (70% à 80%) par le tractus gastro-intestinal, et l'alimentation interfère avec l'absorption. La Doxycycline est presque complètement absorbée dans le tractus gastro-intestinal. Le calcium ou le magnésium présent dans les anti-acides, le lait ou les multi-vitamines diminuent l'absorption des Tétracyclines, et l'ingestion simultanée de ces produits devrait être évitée. La Tigécycline est la seule qui peut être administrée par voie intraveineuse. Les Tétracyclines sont principalement éliminées par le rein, d'autres agents, y compris la Doxycycline et la Tigécycline sont éliminés par le foie.

• Spectre d'activité et recommandations du traitement :

Les Tétracyclines sont capables d'inhiber la croissance d'un large spectre de bactéries. Toutefois, pour les pathogènes les plus classiques, d'autres agents sont plus efficaces.

De fortes concentrations de Tétracyclines sont atteintes dans l'urine, donc ces agents peuvent être utilisés pour les infections des voies urinaires sans complication. La Doxycycline associée à la Gentamicine est le traitement de choix pour la brucellose. Les Tétracyclines sont également recommandées pour le traitement de la maladie de Lyme (*Borrelia burgdorferi*) et les infections à *Chlamydia* (y compris la pneumonie à *Chlamydia*, la psittacose, l'épididymite, l'urétrite, et les infections endocervicales). Les Tétracyclines sont le traitement de choix pour les rickettsioses (y compris l'ehrlichiose, la fièvre Q et le typhus). Elles sont aussi souvent utilisées en combinaison avec d'autres antibiotiques pour le traitement de la maladie inflammatoire pelvienne. Le membre le plus récemment développé de cette famille, la Tigécycline, a été dérivé de la Minocycline. La Tigécycline a un spectre d'activité plus large. Elle inhibe efficacement la croissance de nombreuses bactéries gram-positif résistantes. Cet agent démontre également une meilleure activité contre de nombreuses bactéries Gram négatif nosocomiales très résistantes, mais elle ne couvre pas efficacement les espèces *P. aeruginosa* et *Proteus. Sp.* La Tigécycline est approuvée pour les infections intra-abdominales et les infections compliquées des tissus mous.

I.5.6 Phénicolés (Le Chloramphénicol) : (25)

- **Chimie et mode d'action :**

Le Chloramphénicol est constitué d'un groupement nitro sur un cycle benzène et une chaîne latérale contenant cinq atomes de carbone. Le Chloramphénicol utilise un transport actif pour entrer dans les bactéries, et une fois dans la cellule, se lie à la grande sous-unité 50S du ribosome 70S et bloque la fixation de l'ARNt. Il inhibe la synthèse des protéines bactériennes, il est considéré comme bactériostatique pour la plupart des bactéries, mais le Chloramphénicol est létal pour *H. influenzae*, *S. pneumoniae* et *N. meningitidis*.

- **Toxicité :**

En raison de sa liaison au ribosome mitochondrial humain, cet agent a une toxicité significative de la moelle osseuse. Deux formes de toxicité médullaire ont été observées.

La première forme est liée à la dose, elle est couramment observée chez les patients recevant 4g de Chloramphénicol ou plus par jour. Le taux des réticulocytes diminue, et l'anémie se développe en association avec une augmentation du fer sérique. La leucopénie et la thrombopénie sont aussi couramment rencontrées. Ces changements sont réversibles après l'arrêt de l'antibiotique.

La deuxième forme de toxicité c'est l'anémie aplasique irréversible, elle est rare, mais souvent mortelle. Cette complication peut survenir des semaines ou même des mois après l'arrêt de l'antibiotique. Tout patient recevant le Chloramphénicol nécessite une surveillance de FNS chaque 3 jours. Si le taux des leucocytes est inférieur à 2500/mm³, le médicament doit être arrêté.

- **Pharmacocinétique :**

En raison de l'incidence élevée de l'anémie aplasique idiosyncrasique associée à l'administration par voie orale par rapport à l'administration intraveineuse, les formes orales de Chloramphénicol ne sont plus disponibles aux Etats-Unis. Le médicament est bien absorbé, et les concentrations sériques thérapeutiques peuvent être réalisées par voie orale. Le Chloramphénicol est métabolisé par le foie. Il diffuse bien dans les tissus et traverse la barrière hémato encéphalique dans les méninges non inflammatoires ainsi que inflammatoires.

un dosage sérique est disponible, et les taux sériques doivent être surveillés chez les patients atteints d'insuffisance hépatique, pour maintenir la concentration sérique entre 10 et 25 ug/ml.

- **Spectre d'activité et recommandation du traitement :**

Le Chloramphénicol a une excellente activité contre la plupart des bactéries Gram positif, à l'exception des entérocoques et *S. aureus*, ainsi que de nombreux agents pathogènes Gram négatif. Le Chloramphénicol est également très actif contre les spirochètes, ainsi que les rickettsies, *Chlamydiae* et *mycoplasmes*. Mais en raison de sa toxicité pour la moelle osseuse, le Chloramphénicol n'est pas considéré comme le traitement de choix pour aucune infection. Des agents alternatifs moins toxiques sont disponibles pour chaque indication.

Pour le patient allergique à la Pénicilline, le Chloramphénicol peut être utilisé pour la méningite bactérienne. Le Chloramphénicol peut également être utilisé comme une thérapie alternative pour les abcès du cerveau. *C. perfringens*, psittacose, rickettsioses, *Vibrio vulnificus*, et la fièvre typhoïde.

I.5.7 Quinolones : (25)

- **Chimie et mécanismes d'action :**

Les Quinolones contiennent tous deux cycles à 6 atomes avec un atome d'azote en position 1, un groupement carbonyle en position 4, et un groupement carboxyle attaché au carbone en position 3. La puissance des Quinolones est considérablement augmentée par l'addition du fluor en position 6, et l'activité contre les Gram négatif est renforcée par l'addition d'un cycle Pipérazine contenant de l'azote en position 7. Les Quinolones inhibent deux enzymes essentielles pour la synthèse de l'ADN: l'ADNgyrase, ce qui est important pour la régulation des rebondissements hélicoïdaux de l'ADN bactérien, et la ADN topoisomérase IV, qui est responsable de la séparation de l'ADN nouvellement formé dans les cellules filles. La perte de ces activités bloque la synthèse de l'ADN et entraîne la mort rapide des bactéries, l'action est concentration dépendante.

- **Toxicité :**

Les effets indésirables les plus fréquents sont doux : l'anorexie, des nausées, des vomissements et des douleurs abdominales. Les Quinolones peuvent entraîner une

arthropathie à cause des lésions du cartilage et des tendinites. Plus rarement, cette complication peut être affaiblissante, mais elle se manifeste habituellement quelques semaines ou mois après l'arrêt des Quinolones. En raison de préoccupations au sujet des lésions du cartilage chez l'enfant, les quinolones ne sont pas recommandées pour l'administration de routine en pédiatrie. La prise de la Gatifloxacin peut être associée à une sévère dérégulation de l'homéostasie du glucose et peut entraîner une hypoglycémie ou une hyperglycémie sévère. Les Fluoroquinolones sont associées à un retard concentration-dépendant dans la repolarisation cardiaque, ce qui provoque un allongement de l'intervalle QT, une condition qui peut prédisposer à la tachycardie ventriculaire. En combinaison avec d'autres agents à effet de repolarisation, la Moxifloxacin est parfois liée à des arythmies cardiaques potentiellement mortelles.

• **Pharmacocinétique :**

Les Quinolones sont facilement absorbées par voie orale, mais peuvent aussi être administrées par voie intraveineuse. La Ciprofloxacine, la Lévofloxacine et la Gatifloxacin sont éliminées essentiellement par le rein. La Moxifloxacin est partiellement métabolisée par le foie, tandis que la Gémifloxacin est principalement métabolisée par le foie. Toutes les quinolones montrent une pénétration tissulaire similaire. Etant concentrés dans les tissus de la prostate, les selles, la bile et le tissu pulmonaire, ces médicaments ont tendance à être très fortement concentrés dans les macrophages et les neutrophiles.

Tableau 10 : Spectre d'activité des quinolones.

Ciprofloxacine	Lévofloxacine, Gémifloxacin, Gatifloxacin, Moxifloxacin
<i>Pseudomonas aeruginosa, Escherichia, Enterobacter cloacae, Proteus sp, Providencia, Salmonella, y compris Salmonella typhi, Shigella. Sp, Yersinia sp, Campylobacter sp, Bacillus anthracis, Mycoplasma pneumoniae, Chlamydia sp, Ureaplasma urealyticum, Bartonella henselae, Neisseria gonorrhoeae.</i>	Même que Ciprofloxacine, avec en plus : <i>Staphylococcus aureus</i> Méthicillineo-sensible, <i>Streptococcus pneumoniae, S. pyogenes</i> <i>Enterococcus</i> Vancomycine-sensible, Gatifloxacin et Moxifloxacin: anaérobies

• Spectre d'activité et recommandation du traitement :

La ciprofloxacine est la quinolone la plus puissante contre *P. aeruginosa*. Suite à un excellent spectre Gram négatif (voir Tableau 10), la Ciprofloxacine est l'un des antibiotiques de base recommandés pour le traitement des infections des voies urinaires. Elle se concentre dans la prostate et est recommandée pour le traitement de la prostatite, et pour le traitement de l'urétrite gonococcique, elle est une alternative efficace au Ceftriaxone. La Ciprofloxacine est utilisée pour le traitement des diarrhées le plus souvent causées par les entérotoxigènes, *E. coli* et *Shigella* des voyages. Elle est le médicament de choix pour *Salmonella typhi* (fièvre typhoïde), et également recommandée pour le traitement de *Salmonella gastroenteritis* lorsque le traitement antibiotique est nécessaire. La Ciprofloxacine est le traitement recommandé pour la maladie des griffes de chat causée par *Bartonella henselae*. La Lévofloxacine, la Moxifloxacine, la Gatifloxacine, et Gémifloxacine démontrent une meilleure couverture Gram positif et ont été recommandées comme l'un des traitements de première intention pour les pneumonies communautaires chez l'adulte en bonne santé qui ne nécessitait pas une hospitalisation. A l'exception de la Gémifloxacine, ces agents peuvent également être utilisés dans l'infection des tissus mous dans lesquels on soupçonne une combinaison de bactéries Gram positif et Gram négatif. Compte tenu des profils de toxicité des trois nouveaux agents (la Moxifloxacine, la Gatifloxacine, et la Gémifloxacine), la Lévofloxacine devrait probablement être la Fluoroquinolone de choix pour ces infections. La Gatifloxacine et la Moxifloxacine démontrent une activité in vitro modérée contre les anaérobies et peuvent être envisagées pour le traitement des infections mixtes sensées inclure les anaérobies. Les indications exactes pour ces agents évoluent actuellement. Le risque de la sélection des pathogènes résistants suite à leur utilisation étant limité dans la plupart des hôpitaux.

I.5.8 Polypeptides (Colistine) : (29)

Les polymyxines des groupes d'antibiotiques polypeptidiques, découvert dans les années 1940, était parmi les premiers antibiotiques ayant une activité significative contre les bactéries Gram-négatives. La polymyxine E (colistine) et la polymyxine B sont les principaux antibiotiques de ce groupe et les seules polymyxines utilisées en clinique. Suite aux rapports sur la néphrotoxicité et la neurotoxicité dans les années 1970, ils ont été largement remplacés par d'autres antibiotiques.

- **Mécanismes d'action :**

La colistine a une structure similaire à la polymyxine B et elle est censé avoir un mécanisme d'action identique. La cible initiale de l'activité antimicrobienne des polymyxines est le composant lipopolysaccharide (LPS) de la membrane externe. Les polymyxines ont une forte charge positive et une chaîne acyle hydrophobe qui leur confèrent une haute affinité de liaison pour les molécules de LPS. Ils interagissent électrostatiquement avec ces molécules et en déplacent de manière compétitive les cations divalents, provoquant une rupture de la membrane. Le résultat de ce processus est une augmentation de la perméabilité de l'enveloppe, une fuite du contenu cellulaire et, par la suite, la mort cellulaire. Certains chercheurs soutiennent que l'interaction avec les membranes fait en effet partie de l'action des polymyxines, mais n'est pas en fait l'événement mortel. Le mécanisme exact par lequel les polymyxines induisent la destruction bactérienne est encore inconnu et de multiples cibles cellulaires bactériennes peuvent être impliquées. Les polymyxines se lient également à la partie lipidique A du LPS et, dans les études animales, bloquent de nombreux effets biologiques de l'endotoxine.

I.5.9 Oxazolidones (Linézolide) :

- **Chimie et mécanismes d'action :**

Les Oxazolidones possèdent une structure monocyclique, constitué d'un cycle à 5 atomes contenant un atome d'oxygène et un atome d'azote. L'azote se lie à un cycle à 6 atomes, et chaque composé possède des chaînes latérales spécifiques substituants les deux cycles au niveau des positions A et B. Ces agents se lient au ribosome 50S à un site similaire à celui utilisé par le Chloramphénicol. Cependant, contrairement au Chloramphénicol, ils n'empêchent pas la fixation de l'ARNt, ils bloquent l'initiation de la synthèse protéique en empêchant la sous-unité 30S de proximité de former le complexe d'initiation 70S. Les Oxazolidones sont bactériostatiques contre les staphylocoques et les entérocoques.

- **Toxicité :**

La Linézolide est le seul antibiotique commercialisé dans cette classe. Une thrombopénie réversible a été rapportée à une longue durée de traitement par cet agent, et la surveillance des taux plaquettaires est recommandée chez les patients recevant du Linézolide pendant deux semaines ou plus. Une leucopénie et une élévation des enzymes hépatiques ont

également été signalées. Parce que cet agent est un inhibiteur faible de la monoamine oxydase (MAO), l'hypertension a été rapportée en association avec l'ingestion de grandes quantités de tyramine. Les inhibiteurs de la recapture de la Pseudoéphédrine et inhibiteurs sélectifs de la sérotonine doivent être prescrits avec précaution.

- **Pharmacocinétique :**

La Linézolide est bien absorbée par voie orale, et les pics sériques sont atteints en 1 à 2 heures. Les aliments diminuent l'absorption, mais n'ont aucune influence sur le pic sérique. Une forme intraveineuse est également disponible. La Linézolide réalise une excellente pénétration dans tous les espaces des tissus, y compris le liquide céphalo rachidien. Le médicament est en partie métabolisé par le foie et excrété dans les urines.

- **Spectre d'activité et recommandation du traitement :**

La Linézolide a démontré une activité exclusive contre les organismes Gram positif. Elle a une activité bactériostatique contre *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* résistants à la vancomycine (ERV). Cet agent est également actif contre SASM et SARM, et possède une activité contre le *S. pneumoniae* résistant à la pénicilline. La Linézolide est recommandée principalement pour le traitement des ERV.

I.5.10 Lipopeptides (Daptomycine) : (25)

- **Chimie et mécanismes d'action :**

La Daptomycine est un grand lipopeptide cyclique ($C_{72}H_{101}N_{17}O_{26}$) avec un poids moléculaire de 1620 qui a été dérivée à partir de *Streptomyces roseosporus*. La Daptomycine a un mécanisme d'action qui est nettement différent à celui des autres antibiotiques. Elle se lie aux membranes bactériennes et provoque une dépolarisation rapide du potentiel de membrane. En conséquence la synthèse des protéines, d'ADN et d'ARN est inhibée. Cet antibiotique est bactéricide et provoque une action rapide concentration dépendante, mais elle n'aboutit pas à la libération systémique de la membrane cellulaire ou le contenu de la paroi cellulaire. Il démontre également l'effet post antibiotique important. Une synergie avec les aminosides, les bêta-lactamines et la Rifampicine a été observée.

• Toxicité :

La douleur musculaire et la faiblesse sont rapportées chez moins de 5% des patients. Ce médicament est également associé à une augmentation de la créatine phosphokinase (CPK). Les taux de CPK du patient doivent être contrôlés chaque semaine, et le médicament devrait être arrêté si CPK supérieur à 1000 en association avec des symptômes de myopathie, ou si CPK supérieur à 2000 en l'absence de symptômes. D'autres médicaments associés à une rhabdomyolyse, en particulier les inhibiteurs de réductase HMG-CoA réductase (Statines), ne devraient pas être administrés avec la Daptomycine. Moins fréquemment, l'administration de la Daptomycine a donné lieu à une neuropathie associée à un ralentissement de la vitesse de conduction nerveuse. Les nerfs périphériques ou crâniens peuvent être affectés. Les patients peuvent éprouver des paresthésies ou la paralysie de Bell. Cette toxicité rare a également été observée dans les études animales.

• Pharmacocinétique :

La Daptomycine est administrée par voie intraveineuse avec une dose 4 mg/kg, elle atteint des pics sériques de 58 ug/ml et 92% de la Daptomycine est liée. La capacité de pénétration de la Daptomycine dans les différents compartiments de tissus, y compris le liquide céphalo rachidien n'a pas encore été étudiée, l'excrétion est rénale.

• Spectre d'activité et recommandation du traitement :

La Daptomycine tue les organismes Gram positif aérobies et facultatifs notamment *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* (y compris l'ERV), *S. aureus* (y compris SARM), *S. epidermidis* (y compris les souches méthicillino-résistantes), *S. pyogenes* et *Corynebacterium jeikeium*. Elle est approuvée pour le traitement des infections compliquées et les infections des tissus mous par *S. aureus* (y compris SARM), de l'endocardite droite et la bactériémie. Elle n'est pas actuellement approuvée pour l'ERV, en raison des données cliniques qui sont insuffisantes. La Daptomycine est inactivée par le surfactant pulmonaire et ne doit pas être utilisée pour le traitement des pneumonies.

I.5.11 Imidazoles (Métronidazole)

- **Chimie et mécanismes d'action :**

Le Métronidazole est un nitro-imidazole avec un faible poids moléculaire qui lui permet de diffuser facilement dans les tissus. Dans une bactérie, cet antibiotique agit comme un capteur d'électrons et diminue rapidement. Les radicaux libres ainsi formés sont toxiques pour la bactérie, produisant des dommages à l'ADN et d'autres macromolécules. Le Métronidazole a une activité significative contre les anaérobies.

- **Toxicité :**

Le Métronidazole est habituellement bien toléré, mais il peut être responsable d'une réaction disulfirame avec l'alcool. Pour le potentiel mutagène de cet agent, plusieurs études ont été faites sur les mammifères et n'ont pas réussi à démontrer des anomalies importantes d'ADN. Le Métronidazole n'est pas recommandé pendant la grossesse, et il doit généralement être évité chez les patients sous Coumarine (Anticoagulant oral), car il altère le métabolisme de ce médicament.

- **Pharmacocinétique :**

Cet agent est rapidement et complètement absorbé par voie orale, mais il peut également être administré par voie intraveineuse. Des niveaux thérapeutiques sont obtenus dans tous les fluides corporels, y compris le liquide céphalo rachidien et le contenu d'abcès cérébral. Le Métronidazole est principalement métabolisé dans le foie.

- **Spectre d'activité et recommandation du traitement :**

Le Métronidazole a été utilisé principalement pour *Trichomonas vaginalis*, étant efficace pour ces deux formes topique et orale. Il est également efficace pour traiter les abcès et la giardiase amibienne. Le Métronidazole est plus létal pour les bactéries anaérobies, et il est l'antibiotique de choix pour couvrir les bactéries anaérobies. Parce que le Métronidazole n'a aucune activité significative contre les aérobies, il est habituellement administré en association avec une céphalosporine pour la couverture des aérobies. Le Métronidazole est le médicament de choix pour le traitement de la colite pseudomembraneuse due à la prolifération

de *C. difficile*. Le Métronidazole est également recommandé dans le cadre d'une thérapie d'infection gastrique ou duodénale à *Helicobacter pylori*.

I.5.12 Sulfamides (Triméthoprime)

• Chimie et mécanismes d'action :

Les sulfamides ont tous une structure analogue à l'acide para-aminobenzoïque (PABA), un substrat nécessaire à la synthèse de l'acide folique bactérien. Tous les sulfamides inhibent la synthèse de l'acide folique bactérien par inhibition compétitive de l'incorporation de PABA en acide tetrahydroptéroïque. Ces agents sont bactériostatiques. Un radical sulfonyle est fixé sur le carbone 1 du cycle à 6 chaînons, ce qui augmente l'inhibition de PABA. Des modifications dans le radical sulfonyle déterminent la plupart des propriétés pharmacocinétiques de ces composés.

Le Triméthoprime se compose de deux cycles à 6 chaînons, dont l'un a deux atomes d'azote et deux groupes amino, l'autre ayant trois groupes méthoxy-benzyle. Cet agent inhibe fortement la dihydrofolate réductase et complète les sulfamides dans l'inhibition du métabolisme des folates. L'inhibition de la dihydrofolate réductase bactérienne par la Triméthoprime est presque sélective, elle est de l'ordre de 100.000 fois plus que l'inhibition de cet enzyme chez les mammifères, minimisant ainsi la toxicité de cette molécule pour le patient.

• Toxicité :

Les réactions d'hypersensibilité représentent les cas de toxicité les plus sévères. L'éruption cutanée maculo-papuleuse, l'érythème polymorphe, le syndrome de Steven Johnson, vascularite (y compris le lupus induit), les réactions de type sérique et l'anaphylaxie ont été signalées. Une anémie hémolytique peut être associée à la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD). Les sulfamides doivent être évités dans le dernier mois de la grossesse, car ils déplacent la bilirubine conjuguée vers l'albumine plasmatique et augmentent les concentrations fœtales en bilirubine non conjuguée.

• Pharmacocinétique :

Les Sulfamides sont classés selon la durée d'action (courte, moyenne et longue), en fonction de la demi-vie. Le Sulfisoxazol a une durée d'action courte, ayant une demi-vie de 5 à 6 heures. Le Sulfaméthoxazole et le Sulfadiazine sont à durée moyenne. Tous ces agents sont généralement bien absorbés par voie orale. Les formes intraveineuses sont disponibles pour certains agents. Leur métabolisme est hépatique. Où, ils subissent une acétylation et une glucuronidation, et les métabolites sont excrétés dans les urines.

Le Triméthoprim est principalement excrété par les tubules rénaux, et de très fortes concentrations de médicament se retrouvent dans l'urine. Une partie du Triméthoprim est également excrétée dans la bile. La demi-vie du Triméthoprim est de 9 à 11 heures correspondante à la demi-vie du Sulfaméthoxazole. Le ratio de Triméthoprim au Sulfaméthoxazole fourni est de 1/5.

• Spectre d'activité et recommandation du traitement :

Les Sulfamides démontrent une activité contre les organismes Gram positif et Gram négatif, mais les résistances communautaires et nosocomiales sont très répandues. Les Sulfamides sont révélés être efficace pour le traitement empirique des infections urinaires non compliquées, mais en raison de la résistance généralisée, ils sont rarement utilisés comme traitement empirique dans d'autres infections. Les Sulfamides sont le traitement de choix pour *Nocardia asteroides*, et sont utiles en combinaison avec d'autres agents pour le traitement de *M. kansasii*.

Le Triméthoprim est généralement administré en association avec le Sulfaméthoxazole. Cette combinaison se traduit souvent par une activité nettement améliorée.

Le Sulfaméthoxazole-Triméthoprim (SMX -TMP) démontre une excellente activité contre *Listeria monocytogenes*, et il est l'antibiotique de choix chez les patients allergiques à la Pénicilline dans les listérioses. Il peut être utilisé pour traiter un certain nombre d'autres agents pathogènes Gram positif et Gram négatif. Cependant, la résistance plasmidique est commune, et pour n'importe quel agent pathogène, un traitement n'est initié qu'après confirmation de la sensibilité des tests microbiologiques. Cette combinaison est très efficace pour tuer *Pneumocystis carinii*, et SMX-TMP est le médicament de choix pour le traitement ou la prophylaxie de l'infection chez les patients immunodéprimés, notamment les patients atteints du sida.

CHAPITRE II:
LA RESISTANCE BACTERIENNE
AUX ANTIBIOTIQUES

CHAPITRE I:
LA RESISTANCE BACTERIENNE
AUX ANTIBIOTIQUES

II. Résistance aux antibiotiques :

II.1 Historique :

Travaillant sur la pénicilline, c'est dès 1940 qu'**Abraham** et Chain observent que des extraits de différentes bactéries sont capables de détruire la molécule. A cette époque la pénicilline n'avait pas encore été utilisée en thérapeutique (30). Une autre observation importante est faite par **Mary Barber** en 1949 ou elle a remarqué que des staphylocoques résistant à la pénicilline perdent spontanément et à fréquence relativement élevée l'aptitude à produire une pénicillinase alors que la réversion de ces souches, restaurant la production de l'enzyme, n'a pas lieu, (31) (La première population résistante a été celle du *staphylocoque aureus* à la pénicilline G passant de 8% en 1945 à 60% en 1949) (32). Les théories génétiques de l'époque, basées sur le schéma classique mutation sélection n'étaient pas satisfaisantes pour interpréter un tel phénomène.

On s'est alors dit qu'une combinaison de plusieurs antibiotiques créés pourraient traiter toutes sortes d'infection, et que donc le développement de nouveaux antibiotiques n'étaient plus nécessaire, jusqu'à l'apparition d'une entérobactérie multirésistante ou des *Pseudomonas* multi-résistants et les *Staphylocoques* résistants à la méthicilline. Ce fut le cas au Japon, au début des années 50, où suite à l'introduction de la streptomycine, de la tétracycline et du chloramphénicol et à leur utilisation massive, des souches résistant à ces antibiotiques apparaissent.

La troisième étape historiquement importante fut, en 1974, la découverte par **Hedges** et **Jacob** que des gènes de résistance situés sur des plasmides étaient transposables. Le premier transposon portant un gène de résistance codait pour la résistance à l'ampicilline (Tnl) (33). Depuis cette date, il est apparu que la plupart des gènes de résistance pouvaient se transposer (34). Ces transposons qui prévalent sont largement distribués sur des plasmides différents et des espèces bactériennes distinctes. Importants dans l'évolution des bactéries, ils ne sont pas sans incidence sur l'épidémiologie de la résistance aux antibiotiques.

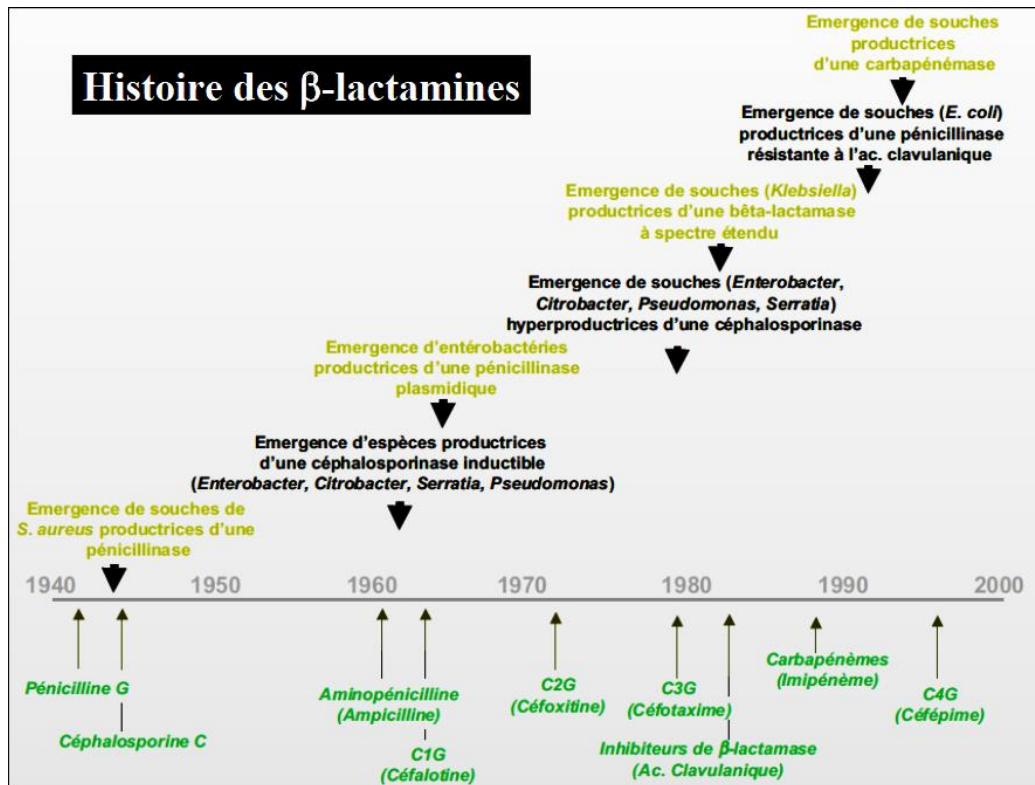


Figure 4 : Histoire de la résistance bactérienne au Bêta-Lactamines (35)

II.2 Définitions :

La résistance bactérienne n'a pas de réelle définition clinique. C'est est une définition microbiologique confrontant une concentration inhibitrice à des considérations pharmacocinétiques. (36) On parle d'une souche résistante lorsqu'elle est capable de supporter une concentration d'antibiotiques beaucoup plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce. (37) La résistance aux antibiotiques peut se produire comme un processus de sélection naturelle où la nature permet à toutes les bactéries d'avoir un certain degré de résistance à faible niveau. (38) L'émergence de la résistance aux antimicrobiens a été observée peu de temps après l'introduction de tout antibiotique nouveau (39)

D'autres définitions sont également retenues pour qualifier la résistance bactérienne aux antibiotiques :

✓ Une bactérie est dite résistante quand la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est notablement plus élevée que la concentration qu'il est possible d'atteindre in vivo sans effet toxique sur le malade.

✓ Une souche bactérienne est dite résistante quand elle supporte une concentration d'antibiotique notablement plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce ou des individus de la même culture.

✓ Ces deux dernières définitions doivent être complétées par deux autres : l'une clinique et l'autre génétique.

✓ La définition clinique associe la notion de succès et d'échec clinique. En première approximation, une bactérie résistante est une bactérie qui échappe au traitement, ce qui peut se manifester par un échec thérapeutique.

II.3 Types de résistance :

On distingue deux types de résistance bactérienne. La résistance naturelle et la résistance acquise.

II.3.1 Résistance naturelle ou intrinsèque :

C'est un caractère d'espèce qui touche toutes les bactéries de l'espèce considérée. Elle est stable, transmise à la descendance (Elle peut être due à la présence d'un gène chromosomique commun à toutes les bactéries de l'espèce) mais elle n'est pas ou peu transmissible sur un mode horizontal (d'une bactérie à l'autre au sein d'une même espèce ou entre espèces différentes). (40) Pour chaque classe d'antibiotique, il existe des espèces bactériennes pour lesquelles l'antibiotique est inactif par défaut de cible ou d'accès à la cible. Ainsi, l'absence de paroi chez les mycoplasmes rend les β -lactamines inactives vis à vis de ces bactéries. (41)

II.3.2 Résistance acquise :

Il s'agit d'un caractère qui ne concerne alors que quelques (ou parfois de nombreuses) souches d'une espèce donnée. La résistance acquise est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien. La résistance acquise résulte d'une modification du capital génétique de la bactérie, lui permettant de tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce. (42)

II.4 Mécanisme de résistance :

Les bactéries sont dotées d'une résistance aux antibiotiques grâce à des supports génétiques et des mécanismes biochimiques.

II.4.1 Le mécanisme génétique de la résistance :

Comme énoncé précédemment, tandis que la résistance naturelle fait partie du patrimoine génétique de la bactérie, la résistance acquise ne concerne qu'une proportion plus ou moins importante et variable dans le temps d'une espèce ou d'un genre. Le cas qui nous intéresse ici est celui de la résistance acquise. Ces gènes de résistance peuvent provenir de chromosomes d'autres espèces, ou être portés par des éléments mobiles (transposons, plasmides, intégrons) et être acquis par conjugaison surtout, mais également par transformation, transduction, transposition. L'acquisition de la résistance peut également être la conséquence d'une mutation chromosomique. (43)

II.4.1.1 La résistance chromosomique :

Elle résulte d'une mutation. Ce phénomène est rare (une fréquence de l'ordre de 10^{-5}), indépendant, due au hasard. Elle est transmissible ; et a donc un caractère héréditaire (transmission sur un mode vertical de bactérie-mère à bactéries-filles). Il n'est pas provoqué par la présence de l'ATB, mais ce dernier révèle la mutation de la résistance en sélectionnant les bactéries mutantes résistantes. Toutes les mutations ont pour conséquence la perte ou la modification d'une protéine structurale ou enzymatique. Une bactérie mutée est souvent contre-sélectionnée en l'absence d'ATB par un phénomène de dilution. (43)

II.4.1.2 La résistance extra chromosomique : Les plasmides

La résistance plasmidique est liée à la synthèse de protéines additionnelles et non à une modification des constituants normaux de la bactérie. Les bactéries porteuses de plasmides sont normales alors que les bactéries résistantes par mutation sont souvent fragilisées et ne sont pas ou peu contre-sélectionnées en l'absence d'ATB.

Elle résulte d'acquisition d'un plasmide qui est transféré par les pilis sexuels par contact direct entre des bactéries. Le donneur et le receveur ont à la fin du processus une copie du plasmide.

De nombreux plasmides de résistance sont conjugatifs ou transférables entre bactéries, même de différentes espèces, par simple contact ou par l'intermédiaire d'un bactériophage. Ces transferts sont à l'origine d'une dissémination très importante de la résistance au sein des populations bactériennes ce qui fait qualifier la résistance plasmidique de "contagieuse ou épidémique". Les plasmides de résistance sont susceptibles d'évoluer par acquisition ou pertes successives de déterminants de résistance portés par des éléments génétiques transposables. Les éléments génétiques transposables permettent la dissémination de gènes entre des bactéries phylogéniquement éloignées en permettant l'implantation d'un gène là où celle d'un plasmide échoue. Comme pour la résistance chromosomique, les gènes de la résistance extra-chromosomique ne sont pas induits par l'utilisation des antibiotiques qui se contentent de sélectionner les bactéries porteuses de tels gènes. Il est important de noter que la résistance extra chromosomique étant souvent une multirésistance, l'utilisation d'un seul antibiotique va sélectionner des bactéries multirésistantes qui ne sont pas contre-sélectionnées en l'absence d'antibiotique. (40)

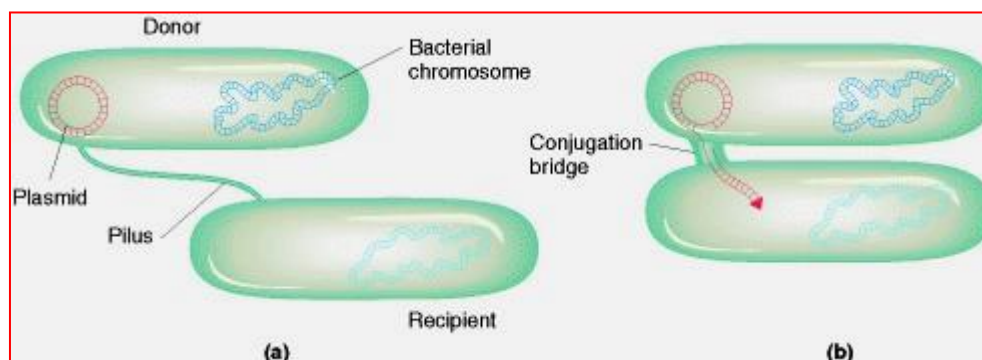


Figure 5 : transfert plasmidique par conjugaison (44)

II.4.2 Le mécanisme biochimique de la résistance :

Qu'ils soient d'origine extra-chromosomique ou inscrits dans le chromosome bactérien. Plusieurs mécanismes sont souvent impliqués simultanément dans la résistance aux antibiotiques. Il en existe quatre modes différents.

II.4.2.1 Inactivation enzymatique de l'antibiotique :

La bactérie peut produire des enzymes inactivant l'action des ATBs soit à l'extérieur de la bactérie : enzyme exocellulaire, soit à l'intérieur de la bactérie : enzyme endocellulaire ou

périplasmique. Les classes d'ATBs visées par ces enzymes sont les Bêta-lactamines les Macrolides-lincosamides-Streptogramines (MLS), les Aminosides et les Phénicolés. (45)

➤ **Les Bêta-lactamases :**

Ce mécanisme est le plus fréquent et concerne toutes les classes majeures d'antibiotiques. Ce mode de résistance implique l'inactivation de l'antibiotique (perte d'activité) par une enzyme bactérienne. Les β -lactamases catalysent l'hydrolyse du cycle β -lactame. Le résultat est une destruction du site actif de la molécule d'antibiotique. (46,47)

La classification moléculaire est basée sur la séquence d'acides aminés et divise les β -lactamases en enzymes de classe A, C et D qui utilisent la sérine pour l'hydrolyse des β -lactamines et des métalloenzymes de classe B qui nécessitent des ions zinc divalents pour l'hydrolyse du substrat. (48)

- **Classe A** : Ce sont des pénicillinases, enzymes caractérisées par la présence d'une sérine dans leur site actif, elles dégradent préférentiellement les pénicillines. Elles sont inhibées par l'acide clavulanique.

- **Classe B** : métallo-enzymes qui ne sont actives qu'en présence de Zn^{2+} . Elles sont donc inhibées par des agents chélateurs de cations bivalents. Ces enzymes ont généralement un large spectre d'activité, elles sont impliquées dans la résistance aux carbapénèmes chez *Pseudomonas aeruginosa*.

- **Classe C** : enzymes présentant surtout une activité sur les céphalosporines. Ils ne sont pas inhibés par l'acide clavulanique. C'est la Cloxacilline qui permet *in vitro* d'inhiber leur production par la bactérie, permettant ainsi de les caractériser.

- **Classe D** : ces enzymes agissent principalement sur les pénicillines. Ils sont variablement inhibés par l'acide clavulanique. Leur mise en évidence *in vitro* est difficile par les tests phénotypiques.

➤ **BLSE :**

Les β -lactamases à spectre étendu (BLSE) sont des enzymes produites par certaines bactéries les rendant résistantes à de nombreux antibiotiques incluant les C3G aztréonam. Le gène codant est présent au niveau du chromosome de bactéries particulières et transféré à d'autres populations bactériennes par l'intermédiaire de plasmides. On les trouve surtout chez *Klebsiella pneumoniae* et plus rarement chez *Enterobacter*, ou *Escherichia coli*.

➤ ***Les enzymes modifiant les aminoglycosides :***

Dans ce cas, l'inactivation enzymatique repose sur l'action de trois groupes d'enzymes, Les N-acétyltransférases (AAC : aminoside acétyl-transférase), les O-nucléotidases (ANT : aminoside nucléotidyl-transférase), les O-osphorylases (APH : aminoside phospho-transférase). Plusieurs enzymes distinctes peuvent inactiver une même position sur la molécule d'aminoglycoside, et une même bactérie peut posséder les gènes codant pour plusieurs enzymes.

Ces gènes sont parfois localisés sur le chromosome (éventuellement, sur des transposons) mais sont le plus souvent portés par des plasmides transférables. On les trouve fréquemment chez *Pseudomonas aeruginosa*, les entérobactéries et les coques à Gram (+). Leur impact clinique est exacerbé par la co-transmission fréquente de β -lactamases. (48)

➤ ***La chloramphénicol-acétylase :***

Elle confère la résistance des bactéries Gram (+) et (-) au chloramphénicol. L'usage de cet antibiotique étant très limité en raison de sa toxicité hématologique. L'impact de ce type de résistance est faible. Ce gène est, en revanche, utilisé comme outil en biologie moléculaire car il peut être inséré dans un plasmide à transférer dans une cellule eucaryote et permet de vérifier le niveau d'expression des promoteurs en mesurant l'acétylation du chloramphénicol dans le milieu de culture. (42)

➤ ***L'érythromycine estérase***

Elle inactive le cycle lactone de l'érythromycine. Ce mode de résistance plasmidique est toutefois assez rare et n'a été décrit que pour des *E. coli* ; bactérie n'entrant pas dans le spectre des macrolides. (49)

➤ ***Une fluoroquinolone-acétylase***

Certaines fluoroquinolones, comme la Norfloxacin ou la ciprofloxacine, possèdent un noyau piperazinyl en position 7 dont l'atome d'azote n'est pas substitué. Cet atome d'azote constitue la cible d'un variant enzymatique d'une acétylase (enzyme qui catalyse l'acétylation d'un groupement NH₂). Ce variant, se distingue de l'enzyme parentale par une double substitution d'acides aminés et par un spectre d'acétylation élargi vers la Norfloxacin et la

ciprofloxacine. Ce variant confère un bas niveau de résistance à ces antibiotiques. (48) On retrouve ceci notamment chez certaines entérobactéries....

II.4.2.2 Modification ou substitution de la cible bactérienne :

Ce mécanisme de résistance est décrit pour quasiment tous les antibiotiques mais de manière plus importante chez les pénicillines, les glycopeptides et les MLS pour les Gram positifs et pour la quinolone quel que soit le Gram. Lorsque la cible de l'antibiotique se trouve modifiée ou remplacée, l'agent antibactérien perd son affinité pour celle-ci et ne peut plus exercer son activité au niveau de la bactérie. On peut observer une modification partielle de la nature de la cible. Il peut également y avoir substitution de la cible par une cible de moindre affinité (changement total). Une quantité supérieure d'antibiotique sera nécessaire, pour le même effet : la CMI augmente. (43)

La modification peut aussi consister en une modification quantitative de la cible. Une hyperexpression par exemple aura pour conséquence la nécessité d'utiliser une quantité supérieure d'antibiotique pour la même efficacité d'action.

- ***Altération des PLP :***

Les PLP sont les cibles des β -lactamines. La fixation de ces dernières entraîne une inactivation de l'enzyme et donc de la synthèse de la paroi. Une résistance peut intervenir, soit par augmentation de la production de la PLP déjà présente, soit par synthèse de nouvelles PLP d'affinité diminuée. Ce type de résistance est surtout observé chez les staphylocoques méticillinorésistants, chez les pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline et plus rarement chez les entérocoques. Il s'agit de résistances mutationnelles (staphylocoques, entérocoques) ou acquises par transformation (pneumocoques). (43)

- ***Altération des sites de liaison ribosomale :***

Les ribosomes sont le lieu des synthèses protéiques. Ils peuvent être altérés dans leur structure et leur fonctionnement par la fixation d'un antibiotique. Une modification de la cible ribosomiale acquise par mutation diminue l'affinité du site de fixation de l'antibiotique et rend la bactérie résistante.

La modification de la protéine S12 de la sous-unité 30S du ribosome par substitution d'acides aminés est le siège de la résistance à la streptomycine chez *E. coli*, *S. pneumoniae* et *H. influenzae*. (50)

La méthylation des résidus adénine de l'ARN 23S confère une résistance aux MLS. Celle-ci est codée par des gènes mobiles synthétisant une méthylase Erm (*Erythromycin Ribosome Methylases*) dont l'expression peut être constitutive ou inductible. (51)

Au niveau de la sous-unité 50S des ribosomes, une méthylation confère la résistance croisée aux **macrolides, lincosamides et streptogramines** chez *S. aureus*, *S. sanguis*, *B. fragilis*, ou *C. perfringens*. Elle peut être constitutive (MLSb-c) ou inductible (MLSb-i), plasmidique ou chromosomique. De même, une altération de la liaison des **tétracyclines** d'origine encore inconnue rend résistants les bactéries Gram (+), *Neisseria* et *Campylobacter*. (52)

▪ **Altération de la synthèse des acides nucléiques :**

Des mutations spontanées peuvent avoir lieu sur les gènes codant pour ces 2 enzymes impliquées dans la réplication et la transcription chromosomique, expliquant la résistance aux Quinolones et aux rifamycines. Elles sont décrites principalement chez *E. coli* et *S. aureus* (50)

▪ **Altération des précurseurs de la paroi bactérienne :**

Les **glycopeptides** doivent leur action antibiotique à leur liaison aux extrémités D-Ala-D-Ala des chaînes pentapeptidiques des précurseurs de peptidoglycane. Des souches d'entérocoques ont acquis un ensemble de gènes conduisant à la production d'une série d'enzymes permettant la synthèse de peptidoglycane au départ d'un précurseur caractérisé par une extrémité D-Ala-D-Lac à laquelle les glycopeptides ne se lient plus (53). Suivant le phénotype de la souche, on distingue la résistance induite par l'exposition à la vancomycine ou à la téicoplanine (VanA) ou à la ancomycine seule (VanB et VanC). Le gène **VanA** confère la résistance à la vancomycine et à la téicoplanine alors que le gène **VanB** confère la résistance à la vancomycine mais en principe pas à la téicoplanine puisque celle-ci n'est pas inductrice. Le gène **VanC** ne confère la résistance qu'à la vancomycine. (54)

▪ *Altération des enzymes cibles :*

La modification de la dihydroptéroate synthétase pour les sulfamides et de la dihydrofolate réductase pour le triméthoprimé entraîne le développement d'une résistance. (55)

II.4.2.3 Excrétion de l'ATB par mécanisme d'efflux :

Le système d'efflux est un système général de détoxification des cellules eucaryotes et des bactéries. Il est destiné à évacuer les substances « jugées toxiques » par la cellule : les cytostatiques anticancéreux, les antibiotiques, (56)

De nombreux systèmes de ce type ont été identifiés chez les bactéries et rendus responsables de résistance à des antibiotiques très variés, ainsi qu'à des antiseptiques (43).

Cet efflux actif nécessite de l'énergie sous forme d'ATP (Adénosine Tri Phosphate) ou d'un gradient électrochimique transmembranaire, utilisé par des pompes à efflux ou transporteurs actifs qui réduisent la concentration intracellulaire de l'antibiotique limitant l'accès à sa cible. On distingue :

➤ **Les pompes SDR** (Specific Drug Resistance) qui confèrent un haut niveau de résistance et dont les gènes sont portés par des éléments génétiques mobiles. Elles expliquent un grand nombre de résistance et notamment celles aux tétracyclines (système *Tet*) observées chez les Gram négatifs, aux MLS (systèmes *MsrA*) et aux phénicolés.

➤ **Les pompes MDR** (Multiple Drug Resistance) qui confèrent un bas niveau de résistance et dont les gènes sont généralement chromosomiques avec pour principaux exemples le système *MexAB-OprM* chez *P. aeruginosa*, *AcrAB-TolC* chez *E. coli*, ou *QacA* chez *S. aureus*. (57)

II.4.2.4 Modification de la pénétration des antibiotiques :

Ce mode de résistance se rencontre chez les bactéries à Gram négatif du fait de leur enveloppe externe plus complexe. En effet, l'antibiotique ne peut pénétrer au niveau intracellulaire que par l'intermédiaire de canaux protéiques transmembranaires, les porines. Ce phénomène passif laisse traverser plus facilement les molécules de petites tailles, neutres et hydrophiles. Toute modification de ces porines (mutation des gènes codants, perte, diminution de leur calibre ou de leur expression) confère un bas niveau de résistance vis-à-vis de nombreux antibiotiques. Ce mécanisme de résistance peut s'appliquer sur plusieurs familles d'antibiotiques quand elles empruntent la même porine ou être spécifique lorsque le

canal est propre à une famille ; la résistance acquise de *P. aeruginosa* pour l'imipénème par perte de la porine aux carbapénèmes (OprD) en est un exemple.

La membrane interne porte elle aussi des transporteurs susceptibles de favoriser la pénétration des antibiotiques. Ainsi, les aminoglycosides polycationiques et donc très hydrophiles nécessitent l'intervention d'un transporteur anionique actif pour rejoindre leur cible intracellulaire. Un traitement au long cours par un aminoglycoside peut induire une résistance réversible par altération du système de transport. (48)

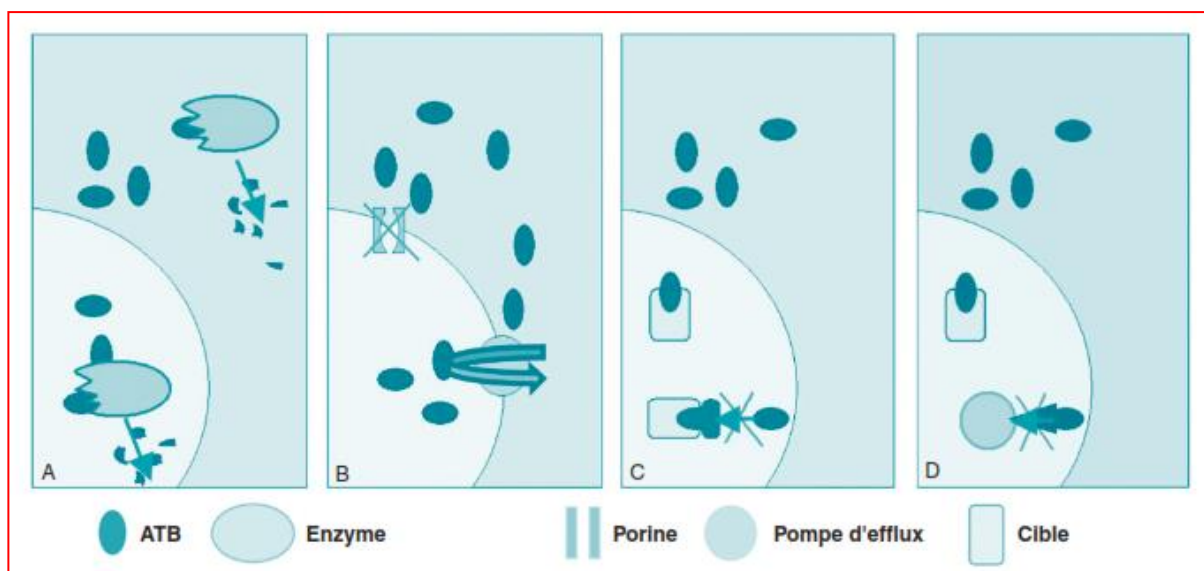


Figure 6 : Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques (58)

II.5 Mécanismes récents et mécanismes non conventionnels de résistance aux Antibiotiques :

II.5.1 Résistance à la colistine

La colistine est un antibiotique polypeptidique de la famille des polymyxines, du groupe des polymyxines E, actifs sur les membranes phospholipidiques cellulaires. Elle est produite par certaines souches de *Bacillus polymyxavar. colistinus*.

La colistine est un antibiotique ancien découvert en 1950 par des chercheurs japonais mais qui a ensuite été de moins en moins utilisée dans l'espèce humaine du fait de sa néphrotoxicité, tout en continuant à avoir un usage vétérinaire et en restant chez l'humain un

médicament de dernier recours face à des germes multi-résistants aux antibiotiques tels que le *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* et *Acinetobacter* notamment *Acinetobacter baumannii*. (59)

La colistine était, jusqu'à récemment, l'antibiotique le plus épargné par la résistance chez les bactéries Gram négatives multirésistantes ; et parfois, la seule molécule active sur un *Acinetobacter baumannii* ou bien sûr une *Klebsiella pneumoniae* productrice de carbapénémase. Très récemment, des gènes de résistance plasmidiques à cet antibiotique (gène *mcr-1* et gène *mcr-2*) ont été décrits chez de nombreuses espèces d'entérobactéries (*Salmonella*, *Escherichia coli*...) isolées en Asie du Sud-Est, en Amérique du Sud, en Afrique, au Danemark, au Royaume-Uni, au Portugal, mais aussi en France, surtout chez l'animal et dans une moindre mesure chez l'homme. Ceci nous met véritablement devant une impasse thérapeutique totale. (60)

Novembre 2015 a eu lieu la description du premier mécanisme génétique transférable de résistance à la colistine. Ce premier mécanisme est porté par le gène *mcr-1* décrit en Chine chez des porcs et des poulets, à partir de viande vendue au détail, ainsi que chez des souches bactériennes isolées chez l'humain. La prévalence de ce gène plasmidique a été estimée à environ 20% chez l'animal et autour de 1% chez l'humain. (62)

Les souches bactériennes menées d'une résistance à la colistine avec *mcr-1* a un enzyme appelé phosphatidyléthanolamine transférase qui transfère un résidu de phosphoéthanolamine au lipide A présent dans la membrane cellulaire des BGNs (modification de cible). Le nouveau lipide a une affinité beaucoup plus faible pour la colistine et les polymyxines apparentées, ce qui entraîne une activité réduite de l'antimicrobien. (62)

II.5.2 La résistance coopérative (Biofilm) :

Le principe de cette résistance est énoncé de cette manière : des populations denses de bactéries résistent à l'éradication par des concentrations d'antibiotiques considérablement plus élevées que celles nécessaires pour tuer la même population à une densité plus faible par un phénomène connu sous le nom « effet **inoculum** ». (61)

Un mécanisme d'efficacité de l'antibiotique dépendant de la densité est l'inactivation du médicament par des enzymes de résistance exprimées par des bactéries. La capacité collective de la population à inactiver le médicament dépend de plusieurs facteurs, y compris le nombre de cellules exprimant l'enzyme conférant la résistance.

La résistance coopérative devrait donc être moins efficace aux petites tailles initiales de la population, ce qui entraînerait une différence entre la concentration minimale inhibitrice (CMI) d'antibiotiques requise pour affecter les cellules individuelles et la CMI normale, généralement mesurée à l'aide d'inocula relativement élevés (10^6 UFC/mL). Ce type de résistance présente des défis et des opportunités pour l'antibiothérapie. Cette coopération peut, en effet, être perturbée par divers comportements bactériens. Affaiblir les liens de coopération au sein de communautés collectivement résistantes peut donc réduire leurs effets protecteurs ; en particulier, les biofilms abordés pour perturber ces communautés et supprimer la protection du collectif, y compris les méthodes pour interférer avec la communication intercellulaire ou quorum sensing. Les bactéries dans les biofilms peuvent :

1) Montrer une remarquable diminution de la sensibilité aux antibiotiques et autres toxines

2) Résister à des concentrations de médicaments beaucoup plus élevées que celles nécessaires pour tuer les bactéries libres à des densités comparables. (62,63)

L'inhibition de la coopération microbienne est une voie prometteuse pour les régimes de traitement qui minimisent la résistance collective ; la poursuite de la découverte de nouveaux inhibiteurs et l'utilisation de ces composés contre les communautés récalcitrantes aux antibiotiques montreront à quel degré cette promesse est susceptible d'être réalisée. (64)

II.6 La multirésistance :

Une bactérie est dite multirésistante (BMR) aux ATBs lorsqu'elle n'est plus sensible qu'à un petit nombre d'ATBs habituellement actif en thérapeutique, par l'accumulation de résistances naturelles et/ou acquises.

En pratique, une bactérie est dite BMR lorsqu'elle est sensible au moins de 3 familles d'ATBs. (65)

Les scientifiques ont découvert par la suite que les gènes de résistance étaient facilement capturés, disséminés et échangés d'une bactérie à l'autre par un système de "couper/coller" génétique de structures contenant ces gènes, appelées intégrons. Mais la dynamique de ces échanges, qui conditionne le développement des multirésistances chez les bactéries, restait inexpliquée.

Les travaux de chercheurs révèlent aujourd'hui pour la première fois comment les bactéries acquièrent ces propriétés de multirésistances. Ce sont en fait les antibiotiques eux-mêmes qui provoquent la synthèse de l'enzyme bactérienne qui capture les gènes de résistance et permet leur expression dans l'intégrons. Cette enzyme favorise en outre le réagencement, au hasard, des gènes de résistance au sein de l'intégrons. Or, l'ordre de ces gènes dans l'intégrons détermine le degré de priorité pour leur expression : les premiers sont les plus exprimés et confèrent à la bactérie les résistances correspondantes. Les derniers restent silencieux tout en étant néanmoins conservés, en réserve. Lors d'un nouveau réagencement, déclenché par la prise d'un antibiotique par exemple, ils seront susceptibles de se retrouver dans les premières positions, et d'apporter à la bactérie les résistances requises face à ce médicament. Les bactéries qui possèdent alors la bonne combinaison de gènes pourront survivre et assurer le maintien du potentiel de résistances au fil des générations.

Ces travaux démontrent combien les stratégies d'adaptation bactériennes face aux antibiotiques sont efficaces, aussi bien à court qu'à long terme. Ils caractérisent ainsi précisément les contraintes liées à la génétique des bactéries, que devront prendre en compte les mesures de santé publique à venir pour lutter contre le problème de multirésistance. (66)

II.6.1 Les principales bactéries multirésistantes : (67)

- **Staphylococcus aureus résistant à la Méthicilline (SARM) :** *Staphylococcus aureus* est responsable d'IN. Les infections à SARM représentent 32.9% des infections à BMR.

- **Pseudomonas aeruginosa multirésistant (PAR) :** Les infections à PAR représentent 23.3% des infections à BMR. Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* résistantes aux Bêta-lactamines (Ticarcilline, Ceftazidime ou Imipenème), qui ont tendance à être résistantes aussi aux Aminosides et aux Fluoroquinolones.

- **Entérobactéries productrices de Bêta-lactamases à spectre étendu (EBLSE) :** Les infections à *Escherichia coli* et à *Klebsiella pneumoniae* sont les plus fréquentes et elles représentent respectivement 32.3% et 10.8% des infections à BMR. Les souches d'EBLSE sont résistantes à l'ensemble des Bêta-lactamines sauf les (Céphamycines et Imipenème), aux Aminosides et très souvent aux Fluoroquinolones.

▪ **Entérobactéries résistantes aux Bêta-lactamines par hyperproduction de céphalosporinases (EBCASE)** : Chez certaines espèces d'entérobactéries, en particulier *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aérogènes*, *Serratia marcescens* et *Citrobacter freundii*, une proportion importante des souches (10 à 30%) sont résistantes aux Bêta-lactamines par hyperproduction de céphalosporinases. Les traitements ATBs favorisent l'émergence de ces souches dont le potentiel de diffusion clonale est beaucoup plus limité que celui des souches productrices de BLSE. (68)

▪ **Acinétobacter baumannii multirésistant (ABR)** : Les ABR représentent 0.5% des infections à BMR. Elles sont redoutées à l'hôpital car la persistance de ces bactéries dans l'environnement est parfois impressionnante et sont à l'origine d'épidémies.

▪ **Entérocoque résistant à la Vancomycine (ERV)**.

***CHAPITRE III:
METHODES DE DETECTION
DE LA RESISTANCE BACTERIENNE***

III. Chapitre 3 : Méthode de détection de la résistance bactérienne

III.1 Méthodes phénotypiques :

III.1.1 L'antibiogramme :

III.1.1.1 Introduction :

L'antibiogramme consiste à déterminer la sensibilité et la résistance aux antibiotiques d'une bactérie isolée dans un prélèvement, et supposée être à l'origine d'un processus infectieux. Il s'agit d'une aide au choix du traitement d'une infection qui ne doit être réalisé qu'à bon escient, c'est-à-dire lorsqu'il existe une forte probabilité que la bactérie isolée soit impliquée dans le processus infectieux. Sa réalisation pour une bactérie non pathogène engage la responsabilité du biologiste car elle peut inciter le clinicien à un traitement inutile, voire dangereux pour le patient, et s'il est relativement aisé d'identifier les situations où l'antibiogramme est utile, voire obligatoire, il est parfois beaucoup plus délicat d'identifier celles où il est inutile. Enfin, le traitement d'une infection par un antibiotique décrété actif par un antibiogramme ne garantit pas le succès thérapeutique, alors qu'utiliser un antibiotique auquel la bactérie est résistante est synonyme d'échec (69).

Le but de réalisation d'un antibiogramme est de prédire la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques dans une optique essentiellement thérapeutique. Il sert également à la surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne et à l'identification bactérienne par la mise en évidence de résistances naturelles (70).

Sa réalisation est laissée à l'initiative du biologiste, en tenant compte des recommandations des Sociétés Savantes et des molécules disponibles. Il doit être pratiqué en raison de la qualité (la nature), de la densité (le dénombrement) de l'espèce ou des espèces isolées, soit de l'état clinique du patient ou du siège de l'infection sur les espèces susceptibles d'engendrer un processus infectieux.

En pratique, on étudie l'effet des antibiotiques *in vitro* le plus souvent et dans des conditions normalisées de culture. Ainsi, il faut déterminer des corrélations afin de présumer de l'efficacité *in vivo* de l'antibiotique et donc de la réussite (ou de l'échec) du traitement sur la base de données biologiques *in vitro*.

III.1.1.2 L'antibiogramme standard : (69) (71)

L'antibiogramme est un test particulier en biologie clinique car il s'adresse à des êtres vivants infectieux et non au corps humain. Il constitue l'outil de mesure de la résistance bactérienne. Sa pratique et son interprétation font appel à de nombreuses connaissances cliniques, pharmaceutiques, bactériologiques, biochimiques et génétiques.

L'antibiogramme est un test de prédiction, totalement artificiel, complexe, à interprétation obligatoire, à impact variable et dont le résultat intéresse plusieurs destinataires.

L'interprétation se fait aujourd'hui avec des systèmes experts qui suivent les recommandations de comités d'antibiogramme. Le choix des antibiotiques testés a beaucoup évolué en fonction des connaissances. L'impact médical est de plusieurs ordres : impact immédiat (traitement du malade concerné et alerte à la résistance), impact différé (traitements empiriques), collectif (surveillance de la résistance) et impact didactique (74).

Les méthodes de diffusion ou antibiogrammes standards sont les plus utilisées par les laboratoires de diagnostic en raison de leurs avantages techniques et économiques. Cette méthode porte le nom de technique de Kirby et Bauer. Des disques de papier buvard, imprégnés des antibiotiques à tester, sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier. Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture. Lorsque la technique est parfaitement standardisée, les diamètres des zones d'inhibition dépendent uniquement de la sensibilité du germe. Dès l'application des disques, les antibiotiques diffusent de manière uniforme (à 360°) selon les lois de Fick. La relation diamètre d'inhibition et concentration d'antibiotique sont mathématiquement corrélées, si bien qu'il existe une droite dégressive entre les logarithmes de base 2 des concentrations et les diamètres des zones d'inhibition (en mm) [8].

A la limite des zones d'inhibition, il existe dans la gélose des concentrations d'antibiotiques égales aux CMI. Les méthodes de diffusion ne permettent pas de chiffrer directement ces valeurs. Toutefois, si les droites de concordance (ou de régression) entre diamètres d'inhibition et \log_2 CMI (établies par des laboratoires spécialisés travaillant dans des conditions standardisées) sont disponibles, elles permettront de déterminer la CMI de l'antibiotique considéré vis-à-vis de la souche testée (69)

III.1.1.3 Bactériostase et bactéricidie :

III.1.1.3.1 Bactériostase et La concentration minimale inhibitrice :

La Bactériostase correspond à un ralentissement de la croissance d'une population bactérienne, pouvant aller jusqu'à l'arrêt de celle-ci. Cette définition n'a de valeur que lorsque la bactérie était en phase de croissance avant le contact. Dans le cas contraire une absence de développement peut aussi correspondre à une augmentation très prononcée du temps de latence.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est le paramètre le plus souvent utilisé pour évaluer l'effet d'un antibiotique. Elle correspond à la plus petite concentration d'antibiotique qui inhibe la croissance visible du germe en 24H pour les bactéries à multiplication rapide (absence de l'augmentation du nombre de bactéries). La CMI explore donc l'effet bactériostatique seulement, ce qui n'est pas limitatif sachant qu'en bactériologie clinique, le but le plus souvent recherché est l'inhibition de la prolifération bactérienne, dans la mesure où l'organisme, via son système inflammatoire et immunitaire, est capable de se défendre contre les bactéries (La CMI n'est pas justifiée chez un malade immunodéprimé comme paramètre de prédiction d'activité).

Il existe de bonnes corrélations biologico- cliniques de l'emploi de la CMI, qui, après plusieurs dizaines d'années d'expérience s'avère être un bon prédicateur de l'efficacité de la thérapeutique antibiotique : Quand elle excède une certaine valeur, l'échec thérapeutique est habituel : quand elle est inférieure à une valeur seuil, le succès est pratiquement assuré. Entre les deux valeurs précédentes, la prédiction est périlleuse.

Sa détermination fait appel aux méthodes de dilutions successives en milieu liquide ou solide.

III.1.1.3.1.1 Détermination de la CMI en milieu liquide :

L'inoculum bactérien est distribué dans une série de tubes contenant l'antibiotique, après incubation la CMI est indiquée par le tube ou la cupule qui contient la plus faible concentration d'antibiotique et où aucune croissance n'est visible. Cette méthode peut être réalisée en microplaque, donc automatisable (69).

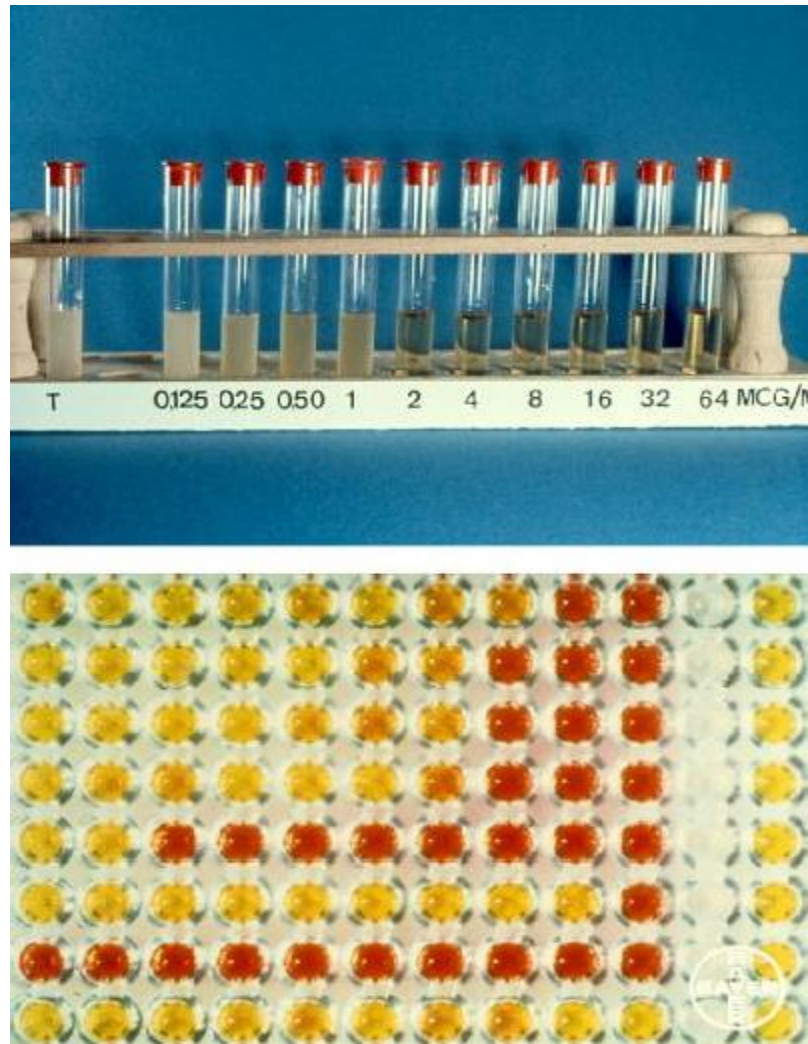


Figure 7 : Images de Détermination de la CMI par dilution en milieu liquide :
(En haut) : macro- méthode en tubes (En bas) : micro- méthode en plaque de
microtitration (jaune : croissance +, rouge : absence de croissance)

III.1.1.3.1.2 Détermination de la CMI en milieu solide :

Des dilutions de l'antibiotique à tester sont incorporées dans un milieu gélosé coulé en boîtes de pétri. La surface de la gélose estensemencée avec un inoculum des souches dont on veut mesurer la CMI. Après incubation, la CMI de chaque souche est déterminée par la concentration d'antibiotique présente dans la première boîte dont la culture est stérile pour la souche donnée.

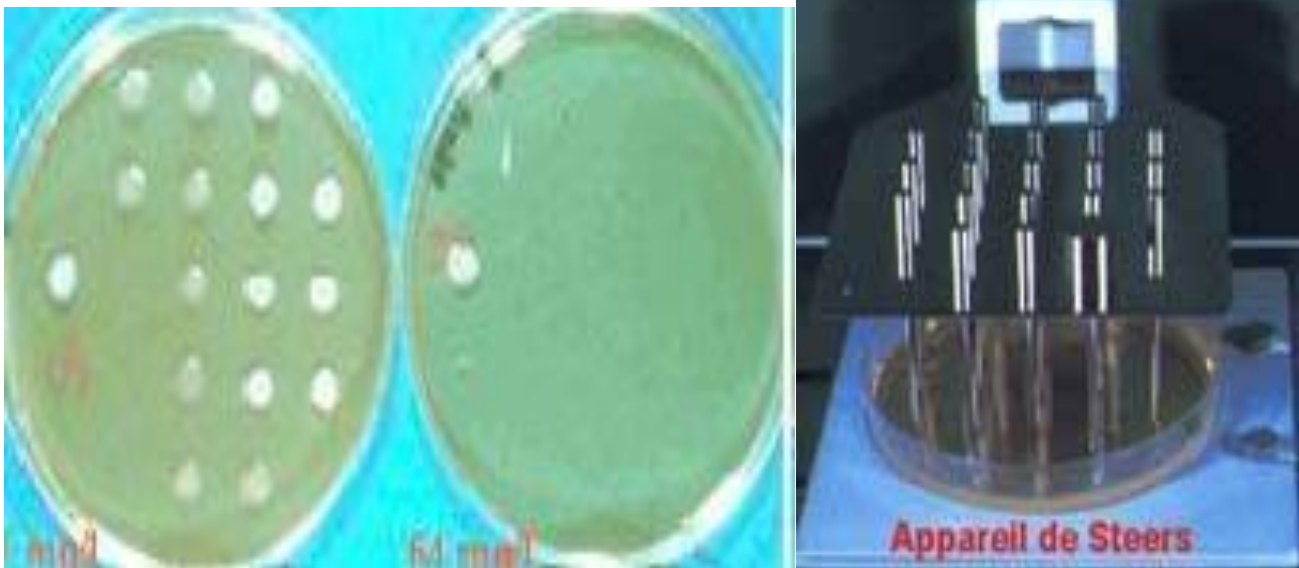


Figure 8 : Détermination de la CMI par dilution en milieu solide :

Dépôt de souches en spot par un inoculateur à peigne type Steers stérilisable à la flamme avec effet Peltier

III.1.1.3.1.3 E- test= l'epsilomètre : (71)

Une technique rapide et simple qui permet de déterminer la CMI, grâce à des bandelettes imprégnées d'un gradient exponentiel continu d'ATB à tester. La bandelette est appliquée sur la surface d'un milieu gélosé (celui recommandé pour les antibiogrammes par diffusion) préalablementensemencé avec inoculum de la souche à étudier. Après 18 heures d'incubation, une ellipse d'inhibition symétrique centrée le long de la bandelette se forme. La CMI correspond alors à la concentration d'ATB lisible au point où l'ellipse croise la bandelette.

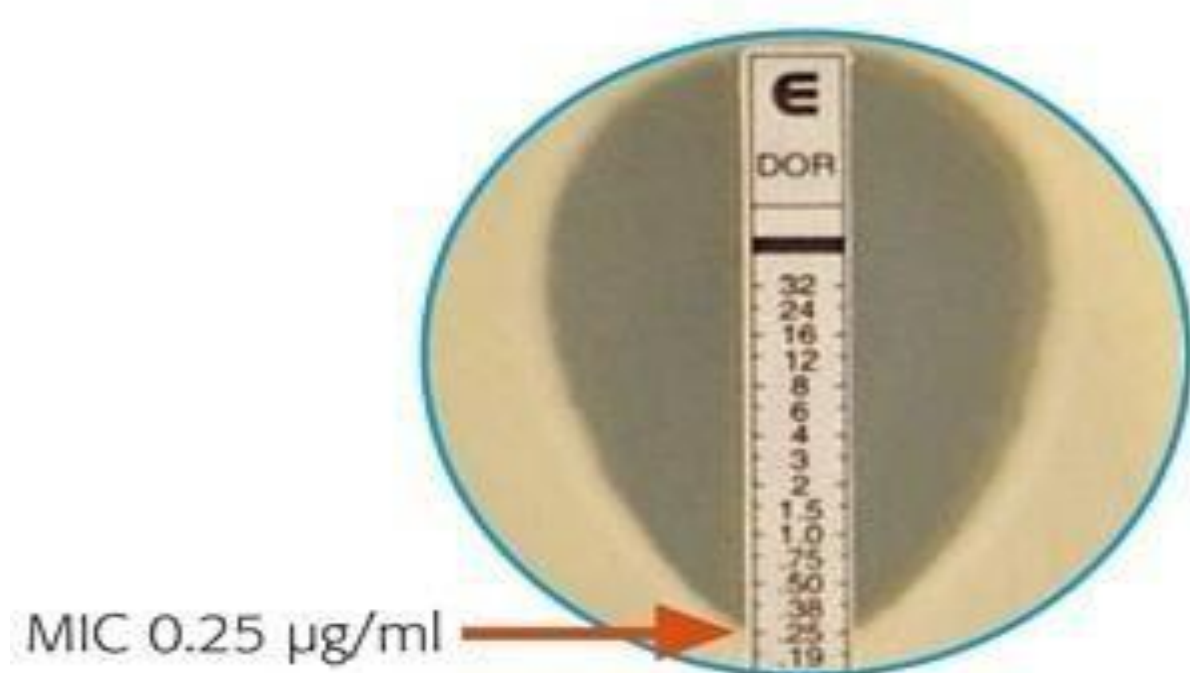


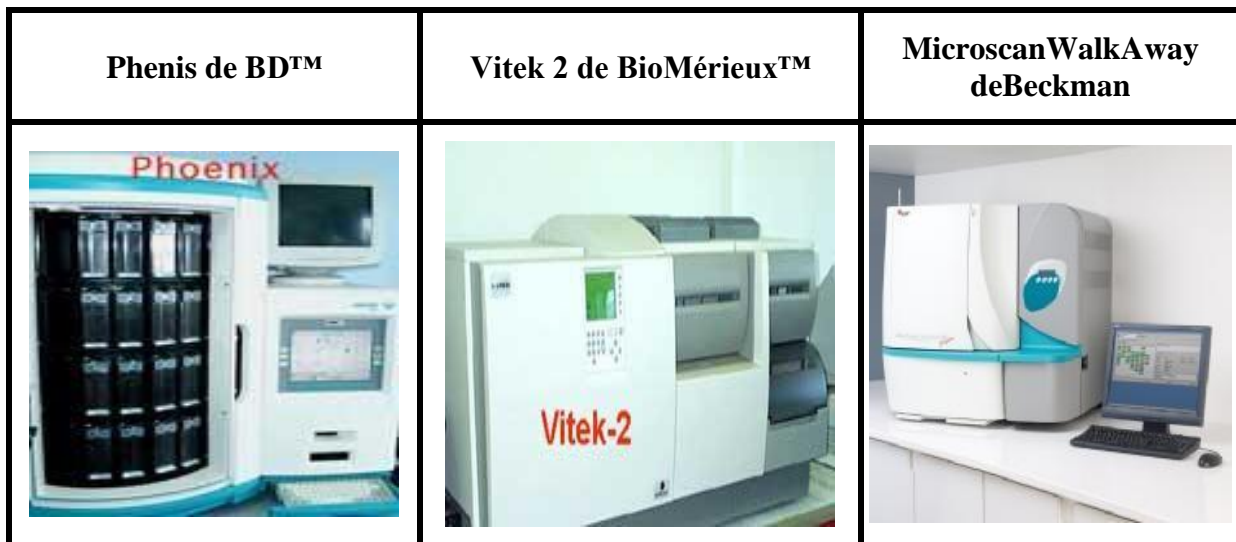
Figure 9 : Détermination de la CMI par epsilon- Test (E- test)

III.1.1.3.1.4 Détermination automatisée de la CMI :

L'automatisation de l'antibiogramme a connu un développement considérable depuis les années 1980. Actuellement, l'automatisation de la méthode par diffusion repose sur des lecteurs automatiques de diamètres de zones d'inhibition comme l'Adagio (BioRad) et la gamme Sirscan (i2a). La méthode par microdilution en bouillon peut être réalisée avec des microplaques contenant des dilutions sériées d'antibiotiques prêtes à l'emploi (Sensititre, Microscan) et des systèmes semi- automatisés incluant un lecteur automatique de CMI (Optiread, Autoscan 4). Des systèmes entièrement automatisés, qui gèrent l'incubation, la décision de lecture et la lecture, elles- mêmes, sont proposées. Ces automates à antibiogramme comprennent des systèmes qui sont une adaptation directe de la méthode de référence, comme le MicroScanWalkAway et l'ARIS 2X. Le Phoenix s'en rapproche (lecture colorimétrique de la croissance bactérienne, incubation d'environ 12 h). Le Vitek 2 est basé sur un principe différent (calcul des CMI à partir d'un algorithme appliqué à la vitesse de croissance en l'absence et en présence d'antibiotique, incubation de 6- 8 h). L'automatisation de l'antibiogramme a considérablement réduit le temps de travail et, pour les systèmes rapides, accéléré la réponse au clinicien. De plus, l'automatisation a significativement amélioré la fiabilité des résultats grâce à la standardisation des réactifs et de la procédure et à

Chapitre 3 : Méthode de détection de la résistance bactérienne

l'informatisation qui évite les erreurs de catégorisation et de transcription. L'exactitude des systèmes (semi)automatisés est satisfaisante pour *Staphylococcus aureus* et les entérobactéries. Des progrès sont nécessaires pour les autres bactéries non exigeantes. La méthode par diffusion reste indispensable pour les espèces à croissance difficile (72).



Ces automates de bactériologie assurent les conditions techniques et informatiques pour l'identification des bactéries et levures d'intérêt médical (73), ainsi que la mesure de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques (antifongiques pour les levures) en donnant le résultat très rapidement (après 4h d'incubation) pour les bactéries les plus courantes. Des panels de tests biochimiques d'identification combinés à des gammes de dilutions de divers antibiotiques encadrant les concentrations critiques permettent de donner les résultats interprétés en S, I ou R assortis des CMI nécessaires à la décision et au choix thérapeutiques. En plus, les galeries permettent : 1) le contrôle de la concordance « galerie- groupe bactérien testé », 2) le contrôle de l'identification par des antibiotiques de résistance naturelle et 3) la détection de phénotypes particuliers de résistance, notamment les BLSE, les carbapénémases, L'informatique gérant ces automates permet la traçabilité, les statistiques, les alertes contre les BMR, le suivi de l'épidémiologie. Des panels spécialement dédiés pour CMI sont également proposés par chaque firme. C'est la technique la plus fréquemment utilisée dans les laboratoires de diagnostic à l'heure actuelle.

III.1.1.3.2 La Bactéricidie et les concentrations minimales bactéricides (CMB) :

La CMB est définie par la plus petite concentration d'antibiotique ne laissant subsister que 0,01% (1/ 10⁴) ou moins de survivants de l'inoculum initial après 18 heures de culture à 37°C. Cette valeur caractérise l'effet bactéricide d'un antibiotique. Elle est toujours supérieure à la CMI.

Selon leur activité, les antibiotiques sont classés en bactériostatiques ou bactéricides :
(72)

➤ Antibiotiques bactériostatiques : CMB éloignée des CMI : le rapport CMB/ CMI étant > 32. Exemple d'antibiotiques bactériostatiques : macrolides, tétracyclines, rifamycines, sulfamides.

➤ Antibiotiques bactéricides : CMB proches des CMI : CMB/ CMI < 32. Les aminosides, les β- lactamines, les quinolones et les glycopeptides sont des antibiotiques bactéricides.

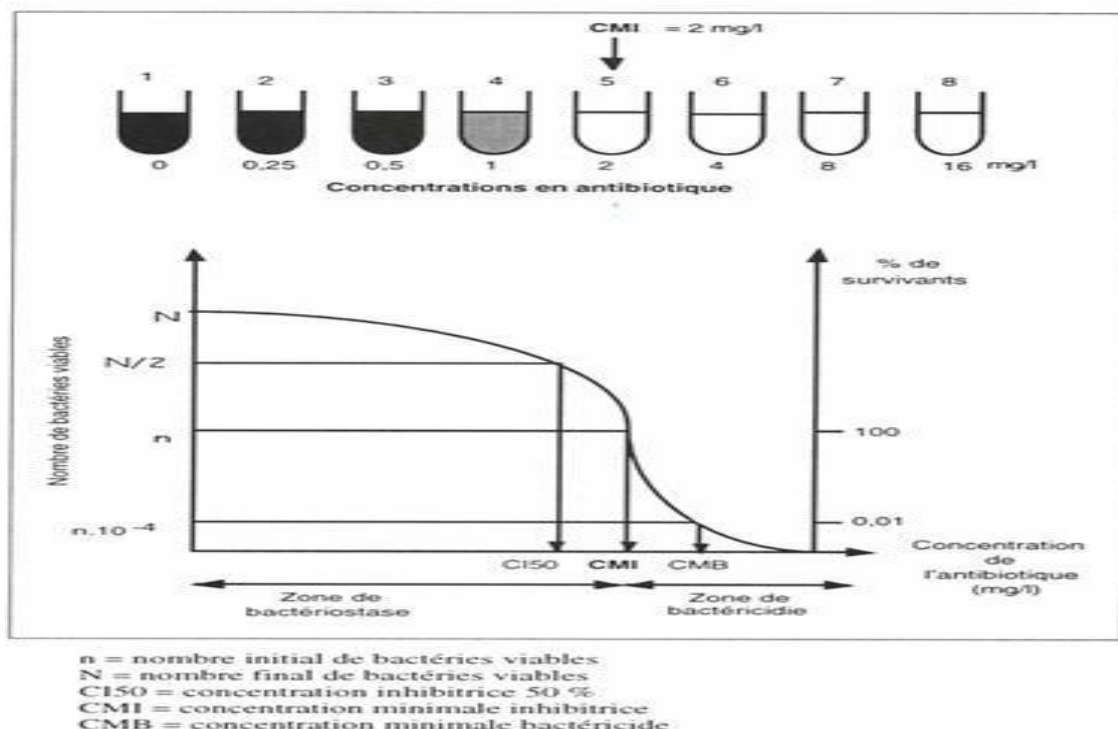


Figure 10 : Courbe représentant CMI et CMB

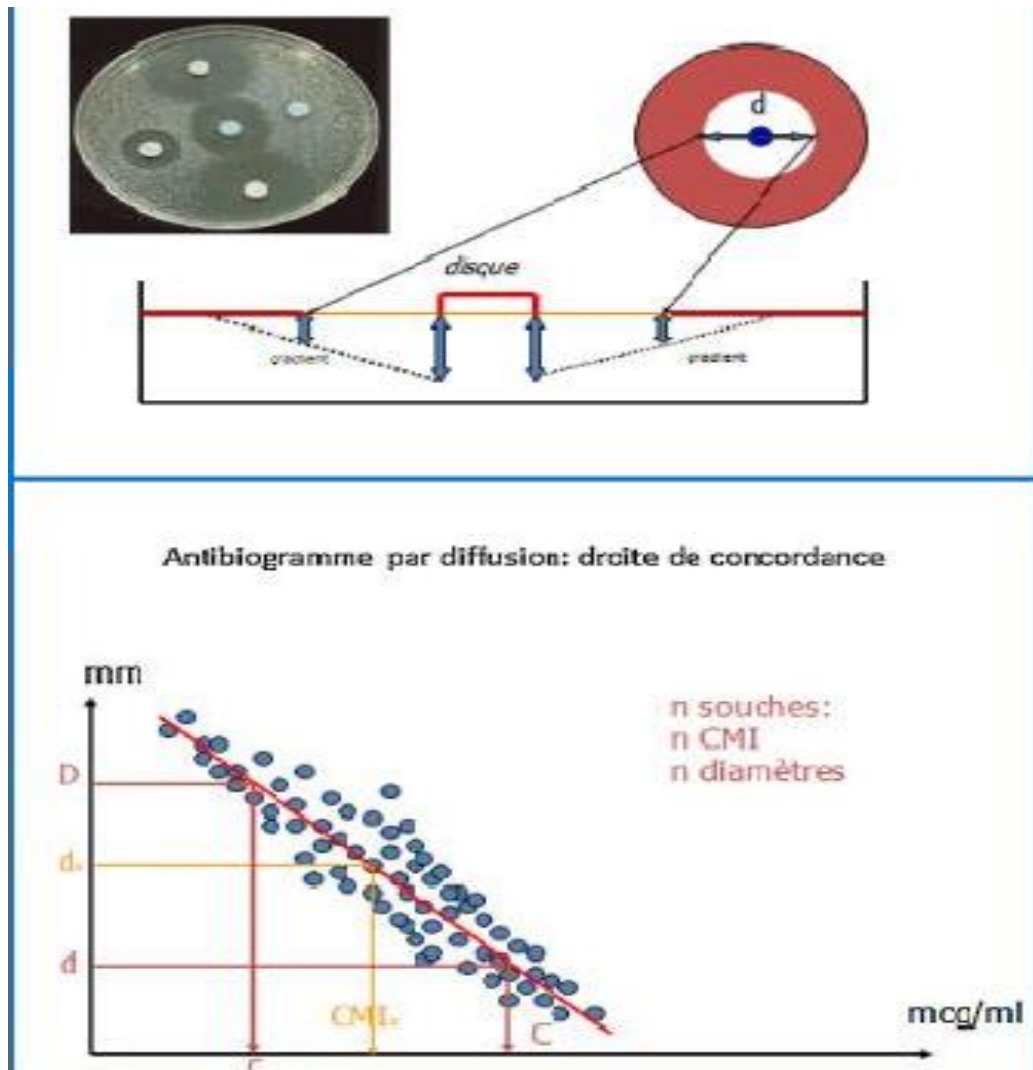


Figure 11 : Concurrence CMI et diamètres d'inhibition

III.1.1.4 Conditions techniques :

Suite aux recommandations du Comité d'Experts de Standardisation biologique de l'OMS (1979), la Société Française de Microbiologie a créé un Comité de l'Antibiogramme (CA- SFM) chargé de déterminer les valeurs critiques qui délimitent les catégories cliniques ; et proposer un guide pour la détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques. Les valeurs critiques définies pour les concentrations et les diamètres des zones d'inhibition,

Chapitre 3 : Méthode de détection de la résistance bactérienne

ainsi que les recommandations spécifiques à certaines espèces ou à certains groupes d'antibiotiques sont publiées dans un communiqué annuel par le CA- SFM.

Aux États- Unis, le CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute) a supplanté le NCCLS dans la standardisation des techniques d'antibiogramme. Chaque pays européen dispose de son comité et son institution de standardisation. Actuellement, le comité européen (EUCAST) tend à supplanter les organismes nationaux (75).

La réalisation de l'antibiogramme se fait par étapes :

- La préparation de l'inoculum bactérien
- Ajustement de la turbidité (densité) de l'inoculum
- Ensemencement et séchage des boîtes
- Disposition des disques ATB
- Incubation
- Lecture et interprétation des antibiogrammes

Microorganismes	Milieu pour antibiogramme	Inoculum microbien
Entérobactéries <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Acinetobacter</i> spp. <i>Staphylococcus</i> spp. <i>Enterococcus</i> spp. <i>Vibrio cholerae</i> - <i>Vibrio</i> spp. <i>Aeromonas</i> spp.- <i>Plesiomonas</i> spp. Autres bactéries non exigeantes	Gélose Mueller-Hinton	0,5 MF en eau physiologique (diluer au 1/10^{ème} pour les charges CA-SFM)
<i>Streptococcus</i> spp.	Gélose Mueller-Hinton + 5% sang de mouton	0,5 MF en eau physiologique
<i>Pasteurella</i> spp.		0,5 MF en eau physiologique à diluer au 1/10 ^{ème}
<i>Campylobacter jejuni/coli</i> (selon SFM)		
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Gélose GC + 1% supplément*	0,5 MF en tampon Phosphate pH 7,2
<i>Neisseria meningitidis</i>	Gélose Mueller-Hinton + 5% sang de mouton	0,5 MF en tampon PBS ou eau physiologique
<i>Haemophilus</i> spp.	Gélose Haemophilus Test Medium*	0,5 MF en eau physiologique (diluer au 1/10^{ème} pour les charges CA-SFM)

Tableau 12 : milieux requis pour antibiogramme de diffusion sur gélose

Chapitre 3 : Méthode de détection de la résistance bactérienne

Aux regards des concentrations et des diamètres critiques sont considérées comme :

➤ **Sensibles (S)**, les souches pour lesquelles la CMI de l'antibiotique testé est inférieure ou égale à la concentration critique basse (c), ce qui équivaut à un **diamètre supérieur ou égal au diamètre critique D**.

➤ **Résistantes (R)**, les souches vis-à-vis desquelles la CMI de l'antibiotique testé est supérieure à la concentration critique haute (C), correspondant à un **diamètre strictement inférieur au diamètre critique d**.

➤ **De sensibilité intermédiaire (I)**, les souches vis-à-vis desquelles la CMI de l'antibiotique testé et le diamètre correspondant sont **compris entre les deux concentrations critiques et les deux diamètres critiques**.

À chaque antibiotique est associée une liste d'espèces bactériennes qui constitue le "spectre d'activité" de la molécule. Le spectre naturel, établi dans les premières études avant tout emploi en thérapeutique, reste stable par définition puisqu'il ne prend pas en compte la proportion de bactéries ayant acquis une résistance à l'antibiotique après son utilisation. Cette proportion augmente au cours du temps parce que l'emploi de l'antibiotique exerce la pression de sélection nécessaire à l'émergence de mutants ou de souches porteuses de facteurs extra-chromosomiques de résistance. Cette notion doit être connue du clinicien car elle explique des situations d'apparence paradoxale. Par exemple, le spectre naturel de la pénicilline G comprend *Staphylococcus aureus* alors que 90% des souches sont actuellement résistantes par production de pénicillinase.

Pour faciliter le choix d'un traitement antibiotique, les espèces bactériennes ont été réparties en 3 classes :

- Espèces habituellement sensibles ;
- Espèces modérément sensibles ;
- Espèces résistantes.

➤ **Les espèces habituellement sensibles** : il s'agit d'espèces répondant à la répartition suivante :

90% ou plus des souches sont caractérisées par des CMI < c. Moins de 10 % des souches sont résistantes ou de sensibilité diminuée. Ex : pénicilline G et streptocoque A.

Chapitre 3 : Méthode de détection de la résistance bactérienne

➤ **Les espèces modérément sensibles** : il s'agit d'espèces dont la sensibilité naturelle n'a pas été modifiée par la résistance mais qui sont habituellement classées résistantes par l'antibiogramme : 90% et plus des souches se situent dans la catégorie I. Le classement ne dépend pas d'un mécanisme de résistance acquis (dont la fréquence peut évoluer), mais d'un caractère propre à l'espèce. Ex : macrolides et *Haemophilus influenzae*.

➤ **Les espèces résistantes** : il s'agit d'espèces pour lesquelles plus de 50% des souches sont résistantes. Cette résistance peut être naturelle ou acquise.

L'antibiogramme ne fait que confirmer la résistance s'il s'agit d'une résistance naturelle et participe ainsi à l'identification de l'espèce bactérienne. Il permet de suivre son évolution s'il s'agit d'un mécanisme acquis. Ex : pénicilline G et *S. aureus* / aminosides et streptocoques.
(76)

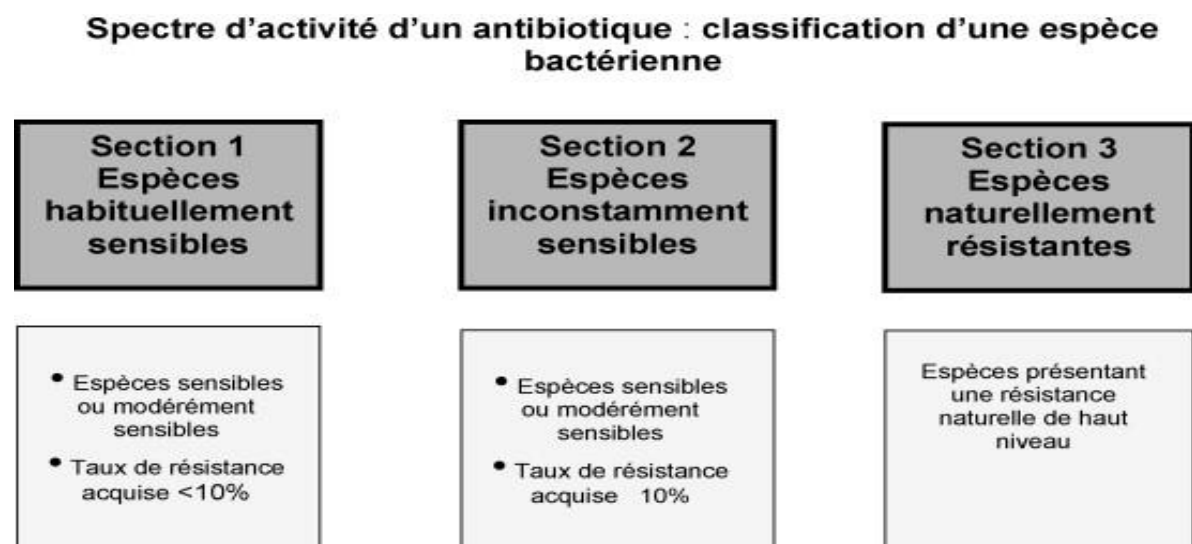


Figure 12 : Catégorisation de spectre d'activité d'un antibiotique

- **Contrôle de qualité** : (77)

Les contrôles de qualité devraient accompagner toutes méthodes d'étude de la sensibilité des bactéries in vitro. L'image ci-dessous dresse la liste de souches de référence recommandées par la CLSI.

Chapitre 3 : Méthode de détection de la résistance bactérienne

Tableau 13 : souches de référence recommandées pour le contrôle qualité de l'antibiogramme

Microorganismes	Souche de référence ATCC
Entérobactéries	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300
<i>Pseudomonas</i> spp. <i>Acinetobacter</i> spp.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
<i>Enterococcus</i> spp.	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212
<i>Vibrio cholerae</i> et <i>Vibrio</i> spp.	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
<i>Haemophilus</i> spp.	<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 49247
<i>Streptococcus</i> spp. Groupe viridans <i>Pasteurella</i> spp. <i>Streptococcus</i> spp. Groupe β -hémolytique	<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC 49226
<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619
<i>Campylobacter</i> spp.	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 35-37°C 16-18h atmosphère ordinaire

•limites de l'antibiogramme : (71)

➤ Limites techniques :

La réalisation d'un antibiogramme est soumise au respect de conditions techniques qui sont parfois incomplètement et insuffisamment respectées.

Un antibiogramme réalisé de manière non standardisée et sur un mélange de germes non identifiés est dépourvu de sens.

Tout laboratoire devrait vérifier la validité de sa technique en testant, au moins une fois par mois, la sensibilité des souches de référence et vérifier que les diamètres des zones d'inhibition obtenues vis-à-vis des divers antibiotiques sont conformes aux valeurs publiées par le Comité de l'Antibiogramme.

Les techniques de l'antibiogramme ont été standardisées uniquement pour les bactéries cultivant rapidement sur milieux usuels. Lorsque la souche isolée ne rentre pas dans ce cadre, l'interprétation est parfois délicate.

➤ Les causes d'erreur :

- Composition du milieu.
- L'inoculum.
- L'épaisseur de gélose et caractère plan des boites plastiques.
- Atmosphère d'incubation
- Temps de croissance des bactéries.
- Stockage et péremption des disques.
- Durée d'incubation

III.1.1.5 Lecture interprétative de l'antibiogramme :

L'interprétation phénotypique est devenue possible puis incontournable grâce aux progrès considérables de la connaissance des mécanismes biochimiques de la résistance des bactéries et des déterminismes génétiques impliqués (78) (79) (80).

À titre d'exemple, la découverte de très nombreuses enzymes d'inactivation, mécanisme principal de la résistance aux antibiotiques. La résolution de leur structure et leur purification a permis d'en établir avec précision leur « spectre de substrat ». Il s'agit du panel d'antibiotiques que ces enzymes sont capables d'hydrolyser in vitro, plus ou moins fortement, selon la sensibilité de la molécule à l'enzyme. Dès lors, leur détection chez une bactérie pathogène se fera grâce à l'utilisation dans l'antibiogramme de la molécule la plus sensible du panel (marqueur de résistance : exemple de l'utilisation de la kanamycine pour tester la sensibilité de *Staphylococcus* sp à l'Amikacine ou bien le Nalidixate chez *Haemophilus* sp pour dépister la résistance aux fluoroquinolones). Leur mode de production, constitutive ou inductible, a permis de mettre au point des tests de facilitation de détection par le placement judicieux des disques d'antibiotiques sur la gélose (inhibiteurs de bêta-lactamases et céphalosporines de 3^e et 4^e génération (C3G ou C4G), érythromycine- clindamycine,...) (78) (81) (82).

L'interprétation phénotypique ou lecture interprétative de l'antibiogramme se fait habituellement en trois étapes.

1. Pour chaque famille d'antibiotiques, on observe le résultat brut in vitro obtenu pour un certain nombre de molécules judicieusement choisies, dont les marqueurs (il n'est bien sûr pas

Chapitre 3 : Méthode de détection de la résistance bactérienne

possible de tester toutes les bêta-lactamines par exemple). On obtient ainsi un phénotype de résistance « observé ».

2. De ce phénotype de résistance, on déduit un mécanisme biochimique de résistance (attention aux associations de mécanismes dont sont capables les bactéries et qui compliquent parfois singulièrement cette étape) ainsi que son déterminisme génétique.

3. Une fois le mécanisme élucidé, on en déduit toutes les résistances croisées pour établir le panel de l'ensemble des molécules concernées par le mécanisme de résistance incriminé.

On mesure là toute l'importance de la lecture interprétative. Elle permet également d'envisager les résistances associées qui peuvent être plus difficiles à détecter (ex : méticillino-résistance et résistance aux fluoroquinolones pour le staphylocoque). Cette interprétation phénotypique suppose, bien sûr, de bien connaître les résistances naturelles (83).

Elle est souvent réalisée par le biologiste lui-même pour les antibiogrammes par diffusion, elle est, dans de nombreux automates de détermination de la sensibilité, le résultat d'un système dit « expert » Ceux-ci mesurent en général des CMI par micro-dilution en milieu liquide et les comparent à la concentration critique de l'antibiotique en question.

Ce contrôle de validation vise à :

- Vérifier la cohérence germe/ antibiogramme
- Détecter les phénotypes de résistance impossibles
- Détecter l'absence d'une résistance associée
- Reconnaître des phénotypes anormaux pouvant correspondre à de nouvelles modalités de résistance.
- Lancer l'alerte de présence de bactéries multirésistantes nosocomiales.

III.1.1.6 Compte rendu ou rapport d'analyse :

En complément du tableau de lecture interprétative, le microbiologiste doit joindre un commentaire qui précise au clinicien les points suivants :

➤ Les résultats obtenus confirment l'identification biochimique, antigénique, ... de la bactérie considérée.

- L'absence de résistance acquise pour la souche isolée dans le cadre des seuls antibiotiques testés (nécessité de se référer au profil de résistance naturelle).
- En cas de résistance acquise, préciser la ou les classe(s) d'antibiotique(s) concerné(s) et si possible la nature du mécanisme de résistance acquis par la souche isolée du patient.
- Proposer le cas échéant : une détermination précise de CMI pour un (des) antibiotique(s) testé(s) ; une recherche complémentaire de caractérisation du mécanisme de résistance acquis.
- Avertir le clinicien sur le caractère multi résistant de la souche afin de prendre les mesures d'hygiène qui s'imposent.

III.1.1.7 Avenir de l'antibiogramme :

L'antibiogramme par diffusion reste incontournable dans la découverte de nouveaux mécanismes de résistance et dans la visualisation des interactions entre antibiotiques indispensables à l'interprétation phénotypique et est suffisant dans l'étude de la sensibilité des phénotypes sauvages. La mesure des CMI dans certaines situations critiques représente un complément décisif d'information à celles obtenues par l'antibiogramme réalisé par diffusion en milieu gélosé. Il importe cependant de connaître les limites et les incertitudes pesant sur chacune de ces deux approches, notamment, chaque fois qu'on est face à des bactéries exigeantes : *Neisseria*, *Haemophilus*, ...

Les CMI permettent d'affiner un choix thérapeutique en choisissant des molécules à plus faible CMI et qui sont tous interprétés « s ». Elles permettent également d'inclure les notions de sélection de résistance dans ce choix si on fait un choix contraire qui risque d'échouer. Elles autorisent en plus un suivi thérapeutique indispensable aux ajustements posologiques (83).

L'extension de la résistance bactérienne entretient un besoin permanent d'antibiogramme et son évolution. La réponse faite au clinicien pourrait évoluer vers une réponse plus globale et plus interprétée avec identification de la résistance qui permet de résumer l'ensemble des résultats en une combinaison de phénotypes facilitant les échanges d'informations dans le but d'améliorer les corrélations in vivo - in vitro sans oublier le souci d'efficacité thérapeutique et d'efficience économique (74).

III.2 Méthodes génotypiques :

III.2.1 Introduction :

En se basant sur les méthodes conventionnelles de culture bactérienne, les renseignements concernant la bactérie responsable et sa sensibilité aux antibiotiques, peuvent mettre plusieurs jours avant d'être disponibles. Dans la majorité des cas, ces tests de sensibilité phénotypiques sont suffisants et leurs performances progressent. À présent, des systèmes automatisés identifient la souche et fournissent un antibiogramme en quelques heures. Dans un proche avenir, des méthodes génétiques d'identification se basant sur l'analyse des séquences d'ADN pourront déterminer l'agent infectieux et ses résistances en moins d'une heure. Ces techniques dites de biologie moléculaire progressent et vont conduire au développement et à l'application de nouvelles stratégies perfectionnées pour l'analyse de la résistance bactérienne aux antibiotiques. En l'état actuel des connaissances, les deux méthodes d'information sur les résistances bactériennes, phénotypiques et génotypiques, sont complémentaires.

La détection des déterminants génétiques devrait permettre de contourner la nécessité d'isolement bactérien et d'éviter la dépendance vis-à-vis des conditions de culture. Par ailleurs, le risque lié à la culture de bactéries hautement virulentes s'en trouvera alors réduit. L'avantage est aussi d'obtenir plus facilement des résultats génotypiques sur des micro-organismes qui sont non cultivables, difficilement cultivables ou à croissance lente (Ex : *Mycobacterium tuberculosis*).

III.2.2 Tests d'Amplification des Acides Nucléiques (TAAN) par Polymerase Chain Reaction (PCR) :

La PCR fut inventée par **K. Mullis** en 1983 et brevetée en 1985. Son principe repose sur l'amplification génique en utilisant de l'ADN polymérase. Il s'agit d'une répllication in vitro de séquences spécifiques d'ADN [21]. Cette méthode permet de générer à des dizaines de milliards d'exemplaires un fragment d'ADN particulier (la séquence d'intérêt ou ADN cible) à partir d'un extrait d'ADN (ADN matriciel). La puissance de la PCR repose sur le fait que l'on peut donc amplifier des séquences nucléotidiques à partir de quantités infinitésimales d'extrait d'ADN. La PCR est donc une technique de purification ou de clonage. A la fin de la réaction terminée, la quantité extrêmement faible d'ADN matriciel contenue dans

Chapitre 3 : Méthode de détection de la résistance bactérienne

l'échantillon n'aura pas varié. En revanche, la quantité de la ou des séquences amplifiées (l'ADN d'intérêt) sera très grande (84)

La PCR a connu un tournant décisif avec la découverte de l'ADN polymérase thermostable chez une bactérie : *thermophilus aquaticus*, elle a permis d'envisager des thermocycleurs ou sont programmables les différentes étapes de toute amplification génique sans perdre l'activité de l'enzyme (85).

Dans la majorité des laboratoires, la technique PCR reste la plus utilisée. La plupart des tests de sensibilité génotypiques ont été développés sur des combinaisons bactérie-antibiotique pour lesquelles les bases génétiques de la résistance se limitent à une seule ou quelques anomalies génétiques bien caractérisées.

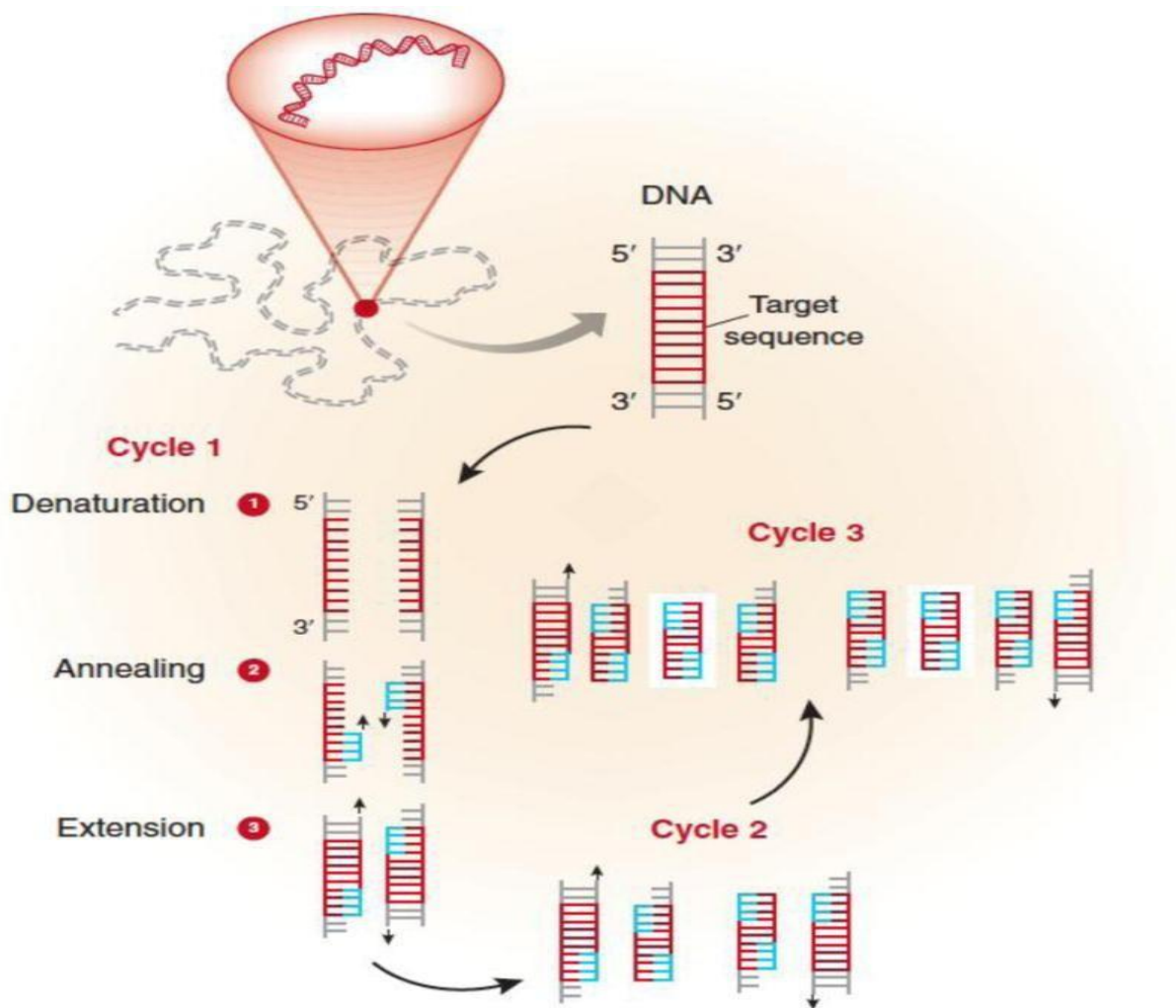


Figure 13 : Différentes étapes et cycles de la technique PCR

➤ **Exemple : Détection génotypique des résistances chez *Staphylococcus aureus* :**

Un exemple d'application de la technique PCR est la détection du gène *mecA* pour les staphylocoques. Une détection rapide et fiable de la résistance à la méthicilline des staphylocoques dorés à partir des tests de sensibilité sur isolat obtenu par culture n'est pas sans poser des problèmes.

L'expression de la méthicillino-résistance peut être hétérogène et dépendante des conditions de réalisation de la culture. Les techniques phénotypiques peuvent alors surestimer ou sous-estimer la fréquence ou le niveau de résistance. Or, toutes les souches de staphylocoques dorés résistants à la méthicilline produisent une protéine liant la pénicilline (PLP2a) dont le gène chromosomique est *mec*. Ce gène n'est pas présent dans les souches sensibles à la méthicilline. Par conséquent, la détection génotypique du gène *mecA* est devenue le test référence pour la détection et la confirmation de la résistance à la méthicilline. (86) (87).

Plusieurs études ont montré une excellente corrélation entre la détection par PCR du gène *mecA* et les résultats obtenus par test de sensibilité en microdilution. La méthode PCR permet aussi de mieux différencier entre *staphylococcus aureus* de haute résistance et de résistance intermédiaire (88). La PCR peut détecter des séquences de gène *mecA* à partir de prélèvements biologiques de pratique courante et directement à partir des flacons d'hémocultures (88) (89). Cependant, cette détection nécessite une interprétation appropriée car elle peut correspondre à un staphylocoque coagulase négatif, de plus que la présence de variantes de gène *mec* peut faussement négativer la réaction. Ces faux négatifs peuvent être le fait de mutations du gène *mecA* ou l'existence de gènes proches, mais différents, conférant la méthicillino-résistance (90).

Ce rapport sur *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (MRSA) codant pour un gène « *mecA* » divergent était hautement significatif. Ce gène homologue, désigné par *mecC*, pose des problèmes diagnostiques avec la possibilité d'être diagnostiqué à tort comme *S. aureus* sensible à la méthicilline, avec des conséquences potentielles importantes pour les patients individuels et pour la surveillance du SARM (91). Inversement, il existe des souches porteuses du gène *mecA* mais phénotypiquement sensibles sur antibiogramme (souches OS-MRSA) (92) (93). La décision dans ces cas est en faveur des tests génétiques.

III.2.3 Hybridation sur puces :

Dans cette étude, nous évaluons pour la première fois le test Sepsis Flow Chip, qui est un nouveau test diagnostique pour la détection rapide simultanée de la grande majorité des pathogènes sanguins, y compris les bactéries Gram- positives et Gram- négatives et les champignons, dans le même dosage, et pour la détection des gènes de résistance aux antibiotiques les plus courants.

Le test SFC est basé sur une amplification PCR multiplex utilisant des amorces biotinylées suivie d'une hybridation inverse automatique dans des membranes contenant des sondes spécifiques pour détecter les pathogènes les plus importants associés aux infections sanguines et les déterminants de résistance génétique les plus importants dans ces microorganismes. Les signaux positifs sont visualisés via une réaction immunoenzymatique colorimétrique dans une membrane à puce par la plateforme d'hybridation HS24. La plateforme d'hybridation HS24 possède une caméra intégrée qui capture l'image de la puce puis est analysée dans la plateforme par le logiciel hybrisoft qui identifie le motif de points qui apparaît sur la membrane. Chaque motif de points est associé à un micro- organisme et les déterminants de la résistance génétique et le logiciel hybrisoft fournit à l'utilisateur un résultat. Le test SFC détecte les principaux déterminants de la résistance génétique impliqués dans la résistance à la méthicilline et à la vancomycine chez les pathogènes à Gram positif et les déterminants liés aux mécanismes de résistance aux β - lactamines tels que les BLSE et la production de carbapénémases chez les bactéries Gram négatif.

Le test est réalisé directement à partir d'une hémoculture positive en utilisant un volume minimum (10 μ l). Cette nouvelle méthode semble très prometteuse en combinant le nombre élevé de pathogènes distincts et de déterminants de la résistance génétique identifiés dans un seul essai.

Des recherches supplémentaires devraient être menées pour évaluer l'utilité de ce test en association avec des groupes cliniques multidisciplinaires (intendance), afin que les résultats soient appliqués de manière appropriée à la gestion des processus infectieux des patients (94).

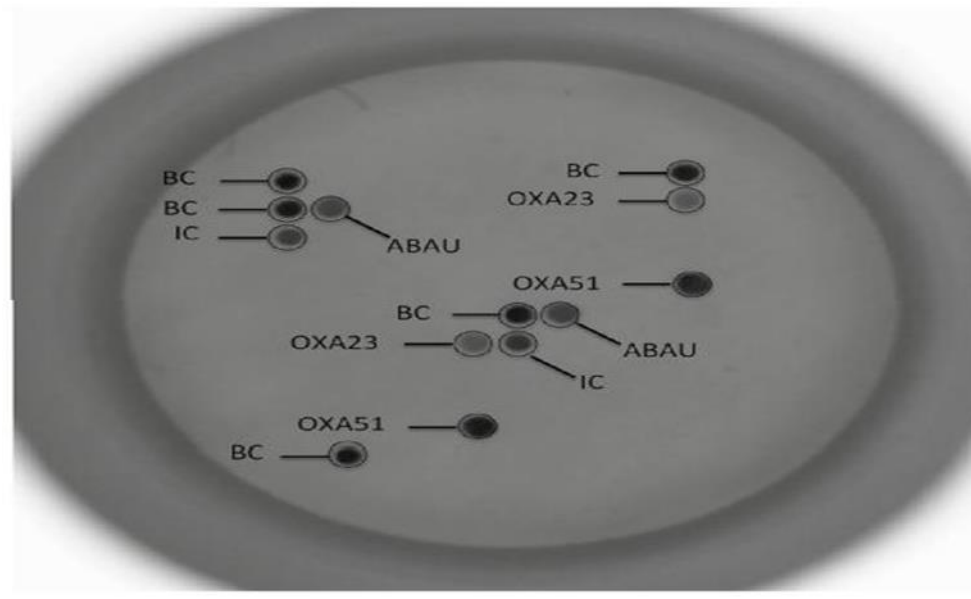


Figure 14 : Souche productrice d'*A. Baumannii* carbapénémase multi- résistante aux médicaments analysés par dosage SFC.

Toutes les sondes cibles sont en double sur la matrice et un résultat est considéré comme positif si les deux signaux sont détectés.

Sondes positives détectées : contrôle de la biotine (BC), contrôle interne (IC), *A. baumannii* (ABAU), blaOXA- 23 (OXA23) et blaOXA- 51 (OXA51).

L'image est agrandie x10 en ce qui concerne la taille réelle de la puce

III.2.4 Le séquençage partiel ou total de gènes :

L'avènement des méthodes de séquençage d'ADN de nouvelle génération a déclenché une nouvelle ère dans la caractérisation moléculaire des écosystèmes environnementaux. Le principal avantage de ces méthodes est qu'elles contournent la PCR et donc, a priori, le besoin de sélectionner des cibles génétiques, telles que des ARGs (Antibiotic Resistance Genes) spécifiques et des éléments génétiques mobiles. Les génomes mélangés dans un échantillon donné (métagénomes) peuvent être séquencés en une seule étape (par exemple, en donnant 10 à 1000 Gb de séquences d'ADN dans une seule voie au séquenceur HiSeq 2500 Illumina™). Les gènes de résistance aux antibiotiques ou autres cibles d'intérêt (Plasmides, transposons, facteurs de virulence, ...) peuvent ensuite être détectés et quantifiés en cherchant dans des

bases de données en ligne à l'aide d'outils publics tels que MG-RAST (Metagenomics Rapid Annotation using Subsystem Technology) (95), la base de données intégrée sur le génome microbien (IMG) (96) ou la base de données complète sur la résistance aux antibiotiques (CARD) (97).

III.3 La confrontation phénotypique et génotypique : une adaptation nécessaire à l'interprétation des résultats :

Les techniques de biologie moléculaire ont démontré leur utilité pour confirmer des résistances bactériennes sur des germes isolés en laboratoire et pour détecter des résistances sur divers prélèvements en contexte clinique (98) (99). Ainsi que dans l'environnement (100) ou chez l'animal (101).

Le premier avantage des tests de sensibilité par analyse génétique est de pouvoir être réalisé directement sur les prélèvements biologiques, en évitant l'isolement préalable du germe en culture.

Cette stratégie opérationnelle est particulièrement importante si on considère le pronostic vital des infections sévères telles que les méningites, les bactériémies ou toute infection nécessitant des traitements antibiotiques prolongés comme les endocardites ou les ostéites ; dans d'autres cas, lorsque les bactéries ont une croissance lente, les génotypes peuvent permettre une identification dans des délais plus courts que les déterminations de phénotype ; et pour certains microbes non cultivables ou difficilement cultivables, seuls les génotypes peuvent être discriminants.

Cependant, dans certaines circonstances, les tests génotypiques sont moins utiles que les tests de sensibilité phénotypique conventionnels. Ils peuvent manquer de sensibilité lorsque plusieurs germes sont présents dans le prélèvement et l'on ne peut chercher que « les cibles » qu'on connaît et dont on dispose de réactifs correspondants. Toute nouveauté chez les bactéries restera mystérieuse, le temps qu'elle pose problème, qu'on la cherche et qu'on l'identifie. Ce n'est qu'après tout ce travail de recherche fondamentale que des réactifs adaptés peuvent être élaborés. Différentes analyses sont nécessaires pour chaque antibiotique testé car les divers antibiotiques peuvent être associés à une multitude de gènes cibles ou à un large panel de mutations. En outre, certains antibiotiques ne disposent pas de tests génétiques de résistance correspondants.

Conclusion

Les ATBs sont cruciaux dans les soins de santé humains. Ils sont utilisés dans le traitement des maladies infectieuses bactériennes et en prophylaxie des interventions chirurgicales. Les ATBs sont également utilisés et extensivement dans les traitements vétérinaires du bétail et des animaux domestiques et comme stimulateurs de croissance en aquaculture. La production et consommation mondiales d'ATBs à usage humain est évaluée à 40 milliards de dollars par an et est en augmentation.

Toutefois, deux problématiques viennent assombrir l'avenir de l'humanité :

1) Le tarissement de la recherche et de la commercialisation de nouveaux ATBs parce que les grandes firmes prétendent n'en pas tirer suffisamment de profits et que les infections sont des maladies des pauvres et la durée des traitements est courte par rapport à d'autres secteurs plus juteux.

2) La résistance bactérienne aux ATBs qui accentue les craintes des firmes pharmaceutiques (quant à l'impact négatif sur le retour d'investissement) et fait planer sur l'humanité la menace de ne plus pouvoir traiter certaines infections, très fréquentes dans les établissements de soins de par le monde.

La communauté mondiale dispose suffisamment d'outils et de connaissances pour gérer efficacement la résistance aux antimicrobiens et ainsi parvenir à un monde plus sûr et plus sain pour tous. Dans cette optique s'inscrit le rôle du laboratoire de bactériologie qui intervient dans ce domaine à différents niveaux :

Niveau 1 : Diagnostic des infections : (Examen direct et/ ou sérologie). Cela permet une prise en charge thérapeutique probablement efficace ; mais cette approche est insuffisante.

Niveau 2 : Diagnostic complet des infections bactériennes (Examen direct, culture, tests de sensibilité ou antibiogramme). Dans ce cas, le traitement probabiliste des 2 ou 3 premiers jours, sera adapté en fonction du profil de résistance de la souche impliquée, sauf dans des situations d'impasse

Niveau 3 : Associer à ces méthodes classiques, les techniques nouvelles dites de biologie moléculaires : Hybridation, Amplification génique (ADN ou ARN), séquençage, ... Leur intérêt est évident : rapidité, spécificité, sensibilité, ... cependant, elles exigent un investissement colossal (matériel, savoir- faire, locaux, réactifs, contrôles de qualité, mises à jour ...) et ne permettent pas de disposer de la souche responsable de l'infection. L'idéal est de disposer des moyens classiques et de certains équipements modernes et s'inscrire dans un cadre national, voire international, de collaboration, de pôles d'excellence et d'assurance qualité.

IV. Bibliographie

1. Aminov RI. A brief history of the antibiotic era: lessons learned and challenges for the future. 2010; 1(134).
2. Martens E, Demain A. The antibiotic resistance crisis, with a focus on the United States. *Journal of Antibiotics*. 2017;(70): p. 520–526.
3. Davies, S C; Fowler, T; Watson, J; Livermore, D M; Walker, D. Annual report of the Chief Medical Officer: infection and the rise of antimicrobial resistance. ; 2013. Report No.: DOI:[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60604-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60604-2).
4. Hoffman SJ, Caleo GM, Daulaire N, Elbe S, Matsoso P, Mossialos E, et al. Strategies for achieving global collective action on antimicrobial resistance. *Bull World Health Organ*. 2015; 93(12): p. 867–876.
5. Levy, S B; Marshall, B. Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *Nature Medicine*. 2004;; p. 122-129.
6. Vuillemin P. Antibiose et symbiose , Association française pour l'avancement des sciences, compte rendu de la 18 e session, seconde partie, Notes et mémoires. LIMOGES. 1890; 11: p. 525-543.
7. Darguere JM. signes et sens. [Online]. [cited 2020 08 22. Available from: <https://presse.signesetsens.com/science/lhistoire-des-antibiotiques.html>].
8. Emmerich R, Löw O. Bakteriolytische Enzyme als Ursache der erworbenen Immunität und die Heilung von Infektionskrankheiten durch dieselben. *Zeitschr. f. Hygiene. ; 31: p. 1–65*.
9. Gelpi, A; Gilbertson, A; Tucker, J D. Magic bullet: Paul Ehrlich, Salvarsan and the birth of venereology. *Sex Transm Infect*. 2016;; p. 68-69.
10. Pouillard J. Une découverte oubliée: la thèse de médecine du docteur Ernest Duchesne (1874-1912). *Hist Sci Med*. 2002;; p. 11-20.
11. Dosani S. In Kevin B. *Penicillin Man: Alexander Fleming and the Antibiotic Revolution*. Londre: BMJ Publishing Group; 2005. p. 320.
12. Evans, R. the Guardian. [Online]. [cited 2020 08 22. Available from: <https://www.theguardian.com/news/2004/jan/08/guardianobituaries.highereducation>].
13. Bentley, R; Bennett, J W. « What is an Antibiotic? Revisited », *Advances in applied microbiology*. 2003; 52: p. 303- 331.
14. MAZLIAK,P. Encyclopædia Universalis. [Online]. [cited 2020 08 20. Available from: <https://www.universalis.fr/encyclopedie/antibiotiques-reperes-chronologiques/>].
15. MOHAMMEDI,D. Sofia.medicalistes.fr. [Online]. [cited 2020 08 22. Available from: https://sofia.medicalistes.fr/spip/IMG/pdf/classification_et_mode_d_action_des_antibiotiques.pdf].
16. Fontaine M, Mollereau H, Porcher C, Nicolas E, Brion A. *Vade mecum du vétérinaire formulaire vétérinaire de pharmacologie, de thérapeutique et d'hygiène*. 15th ed.: Editions Vigot Frères; 1990.
17. Maur N. *Vade-mecum des antibiotiques*. 5th ed.; 1990.
18. Mevius DJ, Rutter JM, Hart CA, Imberechts H, Kempf G, Lafont ea. Antibiotic resistance in the European Union associated with therapeutic use of veterinary medicines. Report and qualitative risk assessment by the committee for veterinary medicinal products. ; 2001.
19. Puyt JD, Guérin-Faubleé V. *Médicaments anti-infectieux en médecine vétérinaire*. Bases de l'antibiothérapie. 2006th ed.

20. Poupert J, van Bambeke F, Prevost M, Colacino E, Tytgat I, Vandevuer S, et al. Antibacterial agents. 2007.
21. Boucher F. ANTIBIOTHERAPIE EN PEDIATRIE, Conseil du médicament. 2011.
22. Petit A. Cours de microbiologie. 2012..
23. Wolff M, Joly-Guillou ML, Pajot O. Les carbapénèmes. Elsevier Masson S. 2009; 18: p. 199-208.
24. INFECTIOLOGIE HAUTS DE FRANCE. [Online]. [cited 2020 08 07. Available from: <http://www.infectio-lille.com/>.
25. Southwick FS. Infectious Diseases: A Clinical Short Course. In.: McGraw-Hill Medical Publishing Division; 2007.
26. Davies J, Mazel D. comment la résistance vient aux bactéries. In.: Biofutur 170; 1997. p. 14-17.
27. El Harim Roudies L, El Malki Tazi A. L'antibiothérapie dans les infections courantes de l'enfant. Bulletin SMSM. 1997; 4(5): p. 2-3.
28. TPE antibiotiques. [Online]. [cited 2020 08 15. Available from: <http://tpe-noordover.e-monsite.com>.
29. Mehdi S. La fréquence des bactéries multirésistante à l'hôpital Hassan II de Settat [THESE]. 2008..
30. Guillot JF. Apparition et évolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques. Annale de recherche vétérinaires. 1989;: p. 3-16.
31. BARBER M. Staphylococcal infection due to penicillin-resistant strains. Br Med J. 1947; 2(4534): p. 863–865.
32. Bush K. Antibacterial drug discovery in the 21st century. Clin Microbiol Infect. 2004;: p. 10-17.
33. Hedges RW, Jacob AE. Transposition of ampicillin resistance from RP4 to other replicons. Molecular Genetics and Genomics. 1974;(132): p. 31-40.
34. Russell AD. The role of plasmids in bacterial resistance to antiseptics, disinfectants and preservatives. Journal of Hospital Infection. 1985; 6: p. 9-19.
35. Archambaud M. Faculté de Medecine de Toulouse. [Online].; 2009 [cited 2020 Avril 15. Available from: <http://www.medecine.ups-tlse.fr/pcem2/bacteriologie/atb%20action%202009.pdf>.
36. Bru JP, Carbon C, Leophonte P. Inactivation enzymatique de l'antibiotique. Médecine et maladies infectieuse. 2004; 34: p. S112-S114.
37. Pistes LG. [Online].; 2002 [cited 2020 avril 12. Available from: www.pistes.fse.uaval.ca/sae/?no_version=2055.
38. Levy SB. From Tragedy the Antibiotic Age is Born. In The Antibiotic Paradox. Boston: Springer; 1992.
39. Levey SB. Antibiotic Resistance: An Ecological Imbalance. In Goode DJCJ. Ciba Foundation Symposium 207 - Antibiotic Resistance: Origins, Evolution, Selection and Spread: Antibiotic Resistance: Origins, Evolution, Selection and Spread: Ciba Foundation Symposium 207. UK: Novartis Foundation; 2007. p. 1-14.
40. Lozniewski A, Rabaud C. Résistance Bactérienne Aux Antibiotiques. 2010 Juillet..
41. Mehdi S. La fréquence des bactéries multi résistante a l'hôpital Hassan II de Settat. 2008..
42. Wright G. Bacterial resistance to antibiotics: enzymatic degradation and modification. Adv Drug Deliv Rev. 2005; 10(57): p. 1451.

43. Calgagno F, Lacroix R. *Pharma-memo Infectiologie* Paris: éditions Vernazobres-Greco; 2011.
44. Griffiths A, Miller J, Suzuki D. *An Introduction to Genetic Analysis*. 7th ed. New York: W. H. Freeman; 2000.
45. Morelière M. Étude de la prescription d'antibiotiques par les médecins généralistes français dans les angines, les bronchites aiguës, les états fébriles et les rhino-pharyngites, de 2000 à 2009. 2014..
46. Poole K. Resistance to β -lactam antibiotics. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*. 2004; 61: p. 2200-2223.
47. Fisher J, Meroueh SO, Mobashery S. Bacterial resistance to beta-lactam antibiotics: Compelling opportunism, compelling opportunity. *Chemical Reviews*. 2005;; p. 395-424.
48. Shahid M. Aminoglycosidic aminocyclitol antibiotics-A wonder, but toxic drugs: Developments and clinical implications, *Anti-infect. Agents Med. Chem*. 2007; 6: p. 107-117.
49. Morar M, Pengelly K, Koteva K, Wright GD. Mechanism and Diversity of the Erythromycin Esterase Family of Enzymes. *Biochemistry*. 2012; 8(51): p. 1740–1751.
50. Bevilacqua S.. Évaluation de l'impact d'une équipe opérationnelle en infectiologie sur la consommation et le coût des antibiotiques au CHU de Nancy. Nancy;; 2011.
51. Fosseppez P. *Antibiothérapie en pratique de ville : Constat et réflexions sur le rôle du. Nancy;; 2013.*
52. Bockdteal K, Aerschot AV. Antimicrobial resistance in bacteria. *Cent.Eur.J.Med*. 2009;; p. 141-155.
53. Kahne D, Leimkuhler C, Lu W, Walsh C. Glycopeptides and lipoglycopeptide. *Chem.Rev*. 2005;; p. 425-448.
54. Eliopoulos GM, Gold HS. Vancomycin-Resistant Enterococci: Mechanisms and Clinical Observations. *Clinical Infectious Diseases*. 2001; 33(2): p. 210-219.
55. Florion P. *Non prescription d'antibiotiques dans les infections respiratoires hautes en. Nancy;; 2015.*
56. Naikaido H. Multidrug resistance in bacteria. *Annual Review of Biochemectery*. 2009;; p. 119-146.
57. Muylaert A, Mainil JG. Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité ». *An.Méd. vét*. 2012;; p. 109-123.
58. Béatrice D, Grare M, Duval R. Généralités sur les antibiotiques par voie systémique et principes d'utilisation. In *Pharmacie clinique et thérapeutique.: ANEPC; 2018. p. 755-788.*
59. Kumazawa J, Yagiswa M. The history of antibiotics: The Japanese story. *Journal of Infection and Chemiotherapy*. 2002; 8(2): p. 125-133.
60. Dortet L, Bonnin R, Jousset A, Gauthier L, Nass T. Émergence de la résistance à la colistine chez les entérobactéries : une brèche dans le dernier rempart contre la pan-résistance. *Journal des anti-onfectieux*. 2016; 18(4): p. 139-159.
61. Tan C, Smith RP, Srimani JK, Riccione KA, Prasada S, Kuehn M, et al. The inoculum effect and band-pass bacterial response to periodic antibiotic treatment. *Molecular Systems Biology*. 2012; 8(1).
62. Boyle K, Heilmann S, Van Ditmarsch D, Xavier J. Exploiting social evolution in biofilms. *Curr Opin Microbiol*. 2013; 16(2): p. 207-212.
63. Böttcher T, Kolodkin-Gal I, Kolter R, Losick R, Clardy J. Synthesis and activity of biomimetic biofilm disruptors. *J Am Chem Soc*. 2013; 8: p. 2927-2930.

64. Vega NM, Gore J. Collective antibiotic resistance: mechanisms and implications. *Current Opinion in Microbiology*. 2014; 21: p. 28-34.
65. Skali Z. Antibiothérapie des bactéries multirésistantes. Rabat;; 2016.
66. Nouri M, Ziadi C. étude bactériologique et résistance aux antibiotique deklebsiella pneumonie.Génétique moléculaire. Constantine;; 2015.
67. Colomb-Cotinat M. morbidité et mortalité des infections à bactéries multi-résistantes aux antibiotiques en France en 2012. In Morbidité et mortalité des infections à BM; 2016; France: Santé Publique France.
68. Janin V. Evaluation de l'antibiothérapie au Centre Hospitalier de Neufchâteau. Nancy;; 2010.
69. Jehl F, Chabaud A , Grillon A. L'antibiogramme : diametres ou CMI ? *Journal des Anti-infectieux*. 2015; 17: p. 125-139.
70. Diene SM. Détermination de la sensibilité et de la résistance des bactéries aux agents antimicrobiens. 2016. Association des Enseignants de Microbiologie et D'Immunologie des Facultés de Pharmacie[www.aemip.fr].
71. Burnichon N, Texier A. L'antibiogramme : la détermination des sensibilités aux antibiotiques. 2003..
72. Quentin-Noury C. Automatisation de l'antibiogramme au laboriore de bactériologie. *Revue francophone des laboratoires*. 2016;(482): p. 49-59.
73. Riegel P, Brielb D, Dauwalderc O. Automatisation de l'identification bactérienne. *Revue Francophone des Laboratoires*. 2016 Mai;(482): p. 39-47.
74. Marcel JP. L'antibiogramme et son impact médical. *Antibiotiques*. Antibiotiques. 2005 février; 7(1): p. 53-58.
75. Jehl F, Coll. Communiqué du CA-SFM/EUCAST. 2014..
76. Sekhsokh Y, Chadli M, El Hamzaoui SA. Fréquence et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées dans les urines. *Médecine et maladie infectieuse*. 2008; 38: p. 324-328.
77. Matuschek E, Brown EF, Kahlmeter G..Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibilitytesting method and its implementation in routine microbiology laboratories. *Clin Microbiol*. 2014.
78. Courvalin P, Leclercq C, Bingen E. *Antibiogramme*. 2nd ed. ESKA , editor.; 2006.
79. Elhani D. Les bêta- lactamases à spectre étendu : le défi s'accroît. *PubMed*. 2012; 2(70).
80. Réseau Algérien de Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques. [Online]. [cited 2020 08 25. Available from: <http://www.sante.dz/aarn>.
81. Jehl F. L'interprétation phénotypique de l'antibiogramme. *Rev Fr*. 2012;; p. 37-39.
82. Leclercq R CRBDea. rules in antimicrobial susceptibility testing. *ClinMicrobiol Infect*. 2013.
83. Jehl F TE. Sensibilité des bactéries aux antibiotiques: les CMI sont complémentaires de l'antibiogramme. 2015 Novembre;(476): p. 47-61.
84. Weier HU GJ. A programmable system to perform the polymerase chain reaction. *Biomedical Engineering*. 1988 juillet; 7(6): p. 441-447.
85. Eom SH WJST. Structure of Taq polymerase with DNA at the polymerase active site. *Nature*. 1996; 382: p. 278-281.
86. Bergeron MG OM. Preventing antibiotic resistance through rapid genotypic identification of bacteria and of their antibiotic resistance genes in the clinical

- microbiology laboratory. *J Clin Microbiol.* 1998 aug; 36(8): p. 2169–2172.
87. Louie L MSELMSA. Evaluation of 3 rapid methods for detection of methicillin-resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol.* 2000; 38: p. 2170-2173.
 88. Tenover FC LMHBSCSSHGea. Characterization of staphylococci with reduced susceptibilities to vancomycin and other glycopeptides. *J Clin. Microbiol.* 1998; 36: p. 1020-1027.
 89. Bignardi GE WNCAJASD. Detection of the *mecA* gene and phenotypic detection of resistance in *Staphylococcus aureus* isolates with borderline or low-level methicillin resistance. *J Antimicrob. Chemother.* 1996; 37: p. 53-63.
 90. Stegger M APKAPBHMEGLFTCea. Rapid detection, differentiation and typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* harbouring either *mecA* or the new *mecA* homologue *mecALGA251*. 2012; 18(4): p. 395-400.
 91. Paterson G. K. HEMeHMA. The emergence of *mecC* methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends. Microbiol.* 2014; 22: p. 42-7.
 92. Hososaka Y HHEHea. Characterization of oxacillin-susceptible *mecA* - positive *Staphylococcus aureus* : a new type of MRSA. *J Infect Chemother.* 2007 may; 13(2): p. 79-86.
 93. Andrade- Figueiredo M LBT. Clonal diversity and epidemiological characteristics of *Staphylococcus aureus*: high prevalence of oxacillin-susceptible *mecA*-positive *Staphylococcus aureus* (OS-MRSA) associated with clinical isolates in Brazil. *BMC Microbiol.* 2016; 16.
 94. Galiana A CJGAGNRFMEea. Evaluation of the Sepsis Flow Chip assay for the diagnosis of blood infections. *PLoS One.* 2017; 12.
 95. MeyerF PDMREMea. The metagenomics RAST server: A public resource for the automatic phylogenetic and functional analysis of metagenomes. *BMC Bioinformatics.* 2008; 9(386).
 96. MarkowitzVM CIPKCKSE. IMG: the integrated microbial genomes database and comparative analysis system. *Nucleic Acids Res.* 2012; 3.
 97. McArthur AG WNNFYAAMBAAea. The comprehensive antibiotic resistance database. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2013; 57: p. 3348-3357.
 98. III FRC. Genetic Methods for Assessing Antimicrobial Resistance Antimicrobial Agents And Chemotherapy. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999; 43(2): p. 199-212.
 99. Chroma M KMG. Methods For Detection Of Antibiotic Resistance: Focus On Extended- Spectrum B- Lactamases. *Biomed Pap Med.* 2010 Dec; 154(4): p. 289-296.
 100. Luby E IAZJPA. Antibiotics in Agroecosystems: Molecular Methods for Assessment of Antibiotic Resistance in Agricultural Ecosystems: Prospects and Challenges. *Journal of Environmental Quality.* 2016 march; 45(2).
 101. Schmidt G V. FSAOJ. Development of Methods for Genetic Assessment of Antibiotic Resistance In Animal Herds. 2014..