

28/11/2011  
MINVIELLE Marie DCEM1  
Bactériologie  
Pr. I PAGNIER  
pages

## Les antibiotiques

### Plan

#### **A. Généralités**

*I. Définition*

*II. But*

*III. Classification*

#### **B. Mode d'action des antibiotiques**

*I. Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne*

*II. Action au niveau de la membrane*

*III. Inhibition de la synthèse protéique*

*IV. Action sur la synthèse des acides nucléiques*

*V. Autres mécanismes*

#### **C. Antibiogramme : test de la sensibilité aux antibiotiques**

#### **D. Mécanismes de résistance aux antibiotiques**

#### **A. Généralités**

*I. Définition*

Les antibiotiques sont des agents antibactériens naturels d'origine biologique et/ou synthétiques et/ou semi-synthétiques.

*II. But*

Leur rôle est d'empêcher la multiplication des bactéries (**bacteriostase**) ou d'entraîner leur destruction (**bactéricidie**) par une action au niveau d'une ou plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie.

*III. Classification des antibiotiques*

La classification se fait en fonction de la cible qui peut être :

- la paroi
- la membrane
- la synthèse protéique
- l'ADN
- autres...

Voir diaporama sur l'ENT avec les exemples que la prof a passé très rapidement

#### **B. Mode d'action des antibiotiques ++**

Il existe deux grands lieux d'action : **la paroi** et **le cytoplasme**.

Il existe 5 modes d'actions principaux :

1. Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne
2. Inhibition de la synthèse de la membrane cytoplasmique
3. Inhibition de la synthèse protéique
4. Inhibition de la synthèse de l'ADN
5. Autres mécanismes...

### *I. Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne*

On distingue deux grands types de paroi bactérienne :

→ Sans membrane externe: La paroi est constituée d'une couche épaisse de peptidoglycane. Ce sont les bactéries **Gram+**

→ Avec une membrane externe : La couche de peptidoglycane est plus fine et recouverte par une membrane de lipopolysaccharides riche en porines. Ce sont les bactéries **Gram -**  
(Voir diapo 8 ENT)

L'inhibition de la synthèse de la paroi peut se faire à différents niveaux :

- inhibition de la synthèse des précurseurs de la paroi : **Fosfomycine**
- inhibition de l'insertion des unités glycaniques, précurseurs de la paroi, et de la transpeptidation : beta-lactamines, Glycopeptides.

#### 1. La fosfomycine

Son mode d'action est une pénétration intra-cytoplasmique par transport actif, elle inhibe l'enzyme pyruvyl-transférase qui permet la constitution des précurseurs de peptidoglycane.

Son effet est **bactéricide**.

#### 2. Les Beta-lactamines ++

Ce sont les pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes, monobactam.  
Leur caractéristique commune est leur noyau Beta-lactame

Leur mode d'action ++ :

1. Pénétration jusqu'à la membrane plasmique
2. Fixation aux transpeptidases
3. Inhibition de la transpeptidation : **Effet bactériostatique**
4. Activation des autolysines par élimination ou inactivation d'un inhibiteur de ces enzymes : **Effet bactéricide sur bactéries en phase de multiplication**
5. Mort bactérienne, accompagnée souvent de lyse cellulaire

Les Beta-lactamines utilisent les porines pour pénétrer les bactéries Gram -. Ce passage est régulé par la taille et l'hydrophilie des molécules. Ainsi les pénicillines G, V et M ne passent pas, elles n'ont pas d'activités sur les Gram -, alors que les céphalosporines ont elles un passage très rapide.

#### 3. Glycopeptides++ : Vancomycine, Teicoplanine

Ils inhibent la synthèse du peptidoglycane par fixation sur le motif dipeptique D-Alanine/ D-Alanine, entraînant une inhibition par encombrement stérique des transglycosylases et des transpeptidases. Leur effet est lentement bactéricide. Ce sont des molécules de grandes tailles qui ne peuvent donc passer à travers les porines des Gram-.

*II. Antibiotiques agissant au niveau des membranes externe et cytoplasmique*

Ce sont les **polypeptides : polymyxines B et E (Colistine++)**

Ils s'insèrent parmi les phospholipides de la paroi et désorganisent les membranes externe et cytoplasmique. Ils ont un effet bactéricide rapide. Ils sont actifs sur les bactéries à **Gram négatif (+++)** mais pas sur les bactéries à Gram positif.

*III. Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse protéique*

Ils créent une interférence avec la synthèse protéique bactérienne, cette interférence se fait au niveau de l'une des trois étapes principales de la traduction (**l'initiation, l'élongation et la terminaison**)

Rappel : Les ribosomes procaryotes présentes deux sous unités :

- une lourde avec un coefficient de sédimentation 50S (inhibée par les **macrolides** et le **chloramphénicol**)
- une légère avec un coefficient de sédimentation 30S (inhibée par les **aminosides** et les **cyclines**)

1. Macrolides, apparentés aux macrolides et streptogramines

Ils se lient de façon réversible à la sous unités 50S des ribosomes, bloquant **l'élongation** protéique.

Ils ont un effet **bactériostatique**.

Ils sont incapables de passer la membrane externe à cause de leur **hydrophobicité**.

2. Phénicolés = Chloramphénicol

Ils se lient à la sous unités 50S des ribosomes, ils empêchent alors l'attachement des amino-acyl-ARNt au ribosomes, inhibant **l'élongation**.

Ils ont un effet **bactériostatique**.

3. Aminosides ++

Ils passent la membrane cytoplasmique par un **transporteur**. Ils se fixent à la sous unité 30S des ribosomes et inhibent **l'élongation** protéique en bloquant le complexe d'initiation (distorsion de la structure du ribosome). Il y a ainsi blocage de la **traduction** et/ou synthèse de protéines de membrane anormales.

Ils ont un effet **bactéricide** rapide.

4. Cyclines ++

Elles se fixent de façon irréversible à la sous unités 30S des ribosomes empêchant l'attachement des amino-acyl-ARNt au ribosome. Elles inhibent la phase **l'élongation**.

Elles ont un effet **bactériostatique**.

5. Acide fusidique +

Il inhibe la synthèse protéique en se fixant au facteur EF-G d'élongation de la traduction empêchant la fixation des amino-acyl-ARNt.

Il a un effet **bactériostatique** à faible dose et **bactéricide** à des doses plus élevées.

C'est un antibiotique hydrophobe, il traverse mal la membrane externe des bactéries Gram -. Leur activité se fait sur les bactéries à Gram +.

*IV. Action sur la synthèse des acides nucléiques*

1. Rifampicine ++

Elle inhibe la transcription de l'ADN par fixation sur l'ARN polymérase-ADN dépendante. Elle se fixe sur la sous unité bêta de l'ARN polymérase.

Elle a un effet **bactériostatique** puis **bactéricide** (même sur les bactéries au repos).

C'est un antibiotique très hydrophobe qui traverse mal la membrane externe des bactéries à Gram -

2. Quinolones / Fluoroquinolones ++

Elles inhibent la réplication de l'ADN par inhibition des ADN-topoisomérases II et IV en se fixant sur leurs sous unités. Ce sont des enzymes contrôlant le surenroulement de l'ADN nécessaire à la réplication de l'acide nucléique.

Elles ont un effet **bactéricide**.

*V. Autres mécanismes*

1. Sulfamides et Diaminopyridines

Ce sont des inhibiteurs de la synthèse des folates.

2. Nitro-imidazolés

Ils sont actifs uniquement sur les bactéries anaérobies et certaines bactéries microaérophiles. Ils inhibent la réplication par oxydation de l'ADN. Ils ont un effet **bactéricide**.

3. Nitrofuranes

Ils ont le même mécanisme d'action que les nitro-imidazolés, mais agissent aussi sur les bactéries aérobies.

***C. Antibiogramme : méthode de test de la sensibilité aux antibiotiques***

*I. Action bactériostatique des antibiotiques : bactériostase*

L'antibiotique réduit la croissance bactérienne. L'antibiotique est efficace quand il n'y a plus de croissance et quand l'inoculum bactérien reste stable.

On introduit le concept de Concentration minimale inhibitrice (CMI) : c'est la plus faible concentration d'antibiotique pour laquelle il n'existe pas de croissance bactérienne visible après 18h de culture à 37°C.

*II. Action bactéricide des antibiotiques : bactériocidie*

L'antibiotique tue les bactéries. L'antibiotique est efficace quand il y a diminution de l'inoculum.

La concentration minimale bactéricide (CMB) est la plus faible concentration d'antibiotiques pour laquelle l'inoculum bactérien est inférieur ou égal à 0,01% de l'inoculum de départ après 18h de culture à 37°C.

*III. Antibiogramme*

C'est une évaluation de la sensibilité d'une bactérie à plusieurs antibiotiques : on détermine la concentration minimale inhibitrice (CMI) de chaque molécule antibiotique.

Les résultats sont rendus en Sensible, Intermédiaire ou Résistant :

→ Sensible : concentrations sanguines obtenues avec des doses standards d'antibiotique > CMI

→ Intermédiaire : concentrations obtenues dans le sang < CMI mais > CMI dans certains liquides

biologiques ou si on augmente la dose d'antibiotiques

→ Résistant : concentrations obtenues < CMI

#### *IV. Méthode de détermination de la CMI, en milieu liquide*

La CMI est déterminée par le protocole suivant :

1. Réalisation d'une gamme de dilution d'antibiotique en milieu de culture
2. Inoculation des bactéries dans tous les tubes de la gamme
3. Incubation 18 h à 37°C et détection de croissance

#### *V. Méthode de diffusion en milieu gélosé*

C'est une technique simple réalisée en routine dans tous les laboratoires de biologie. Elle consiste à ensemencer la surface d'une gélose par inondation avec la souche à tester, puis à déposer des disques de papier buvard imprégnés d'un antibiotique à une certaine concentration.

Plus la zone d'inhibition est grande, plus grande est la sensibilité de la souche bactérienne testée vis-à-vis de l'antibiotique étudié

#### *VI. Courbe de concordance*

La courbe de concordance représente les variations de la concentration (mg/L) en fonction de la distance par rapport au disque (mm). Diapo 41

#### *VII. E-Test*

Il s'agit d'une bandelette imprégnée avec un gradient croissant d'antibiotique, permettant une détermination plus fine de la CMI.

#### *VIII. Antibiogramme automatisé*

C'est une technique rapide (à partir de 4 heures), réalisée en milieu liquide en micro méthode dans les gros laboratoires de microbiologie.

### ***D. Mécanismes de résistance aux antibiotiques***

Une souche bactérienne est dite résistante à un antibiotique quand elle est capable de se développer en présence d'une concentration élevée d'antibiotique.

#### *I. Caractéristiques des résistances*

On distingue :

→ Résistances naturelles :

Certaines espèces bactériennes sont naturellement résistantes à certains antibiotiques. Ces résistances sont programmées sur le génome bactérien. Elles sont fixes et constantes au sein de l'espèce et constituent donc des critères d'identification.

*Exemples:*

Cible absente: Mycoplasmes et  $\beta$ -lactamines

Cible peu accessible: Bactéries à Gram négatif et macrolides

→ Résistances acquises :

Ce sont des résistances apparaissant chez des bactéries jusqu'alors sensibles aux antibiotiques, elles sont consécutives à des modifications de l'équipement génétique. Elles ne concernent que quelques souches d'une même espèce mais peuvent s'étendre.

## *II. Support génétique de la résistance*

→ Résistances naturelles :

Le support génétique de ces résistances est représenté par les chromosomes.

→ Résistances acquises :

Le support génétique est multiple :

- Chromosomique, secondaire à une mutation portant sur le chromosome
- Extra-chromosomique par acquisition de gènes :
  - Eléments mobiles (plasmides, transposons)
  - Possibilité d'acquisition simultanée de résistances

## *III. Mécanismes génétique de la résistance*

Les bactéries se défendent contre l'action des antibiotiques :

- En se rendant imperméables à leur pénétration (ou excrétion)
- En produisant des enzymes capables de les inactiver
- En modifiant la structure de leurs cibles (défaut d'affinité pour la cible)

### 1. Défaut de pénétration / excrétion

→ Interférence au niveau de la pénétration :

- Les bactéries Gram – sont résistantes aux antibiotiques hydrophobes et grosses molécules.
- Les bactéries anaérobies résistent aux aminosides (pas de transporteur)
- Un dysfonctionnement ou une perte des porines des bactéries Gram – peuvent entraîner une imperméabilité aux antibiotiques.

→ Interférence au niveau de l'excrétion : mécanisme de transport de type efflux

C'est une extrusion de l'antibiotique de la bactérie (Gram + ou Gram -), assurant une résistance aux cyclines et aux quinolones.

### 2. Inactivation enzymatique de l'antibiotique

C'est un mécanisme de résistance très fréquent, très important, très varié. Il s'agit d'une sécrétion d'enzymes par les bactéries, qui inactive l'antibiotique.

Ce mécanisme assure une résistance aux beta-lactamines (beta-lactamase) ainsi qu'une résistance enzymatique aux aminosides.

### 3. Modification d'affinité de la cible

Il peut s'agir d'une diminution de l'affinité ou d'une modification de la cible. Ce mécanisme permet une résistance aux pénicillines.