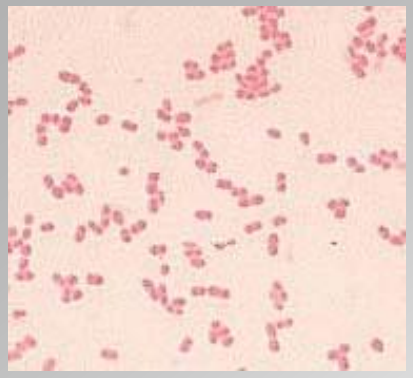
UER MG2 Microbiologie Générale : Bactériologie

Cours	Intervenant(s)	Date	Lieu
Mécanismes de résistance aux antibiotiques° : Généralités° : exemple des β-lactamines (2h)	*V. Dubois*	08/10 14-16h	Bat1 · Pharmacie · 4ième étage
Initiation à l'analyse et à la présentation d'articles (2h)	*C. Arpin*	08/10 16-18h	Bat1 · Pharmacie · 4ième étage
Microbiote° : méthodes d'étude et exemples d'implication en pathologies humaines (2h)	*O. Martin*	15/10 16-18h	Bat1 · Pharmacie · 4ième étage
Mobilité des gènes de résistance aux antibiotiques (2h)	*L. Bientz*	22/10 14-16h	Bat1 · Pharmacie · 4ième étage
Diversité et domestication d'une bactérie° : cas de l'espèce° *Oenococcus oeni* (2h)	*P. Lucas*	29/10 14-16h	Espace · Professeur
Adaptation de la bactérie à son environnement (2h)	*B. Robin*	5/11 14-16h	S 439
Cellules souches et cancer - le modèle *Helicobacter* (2h)	*C. Varon*	5/11 16-18h	S 439
	L. Beven	12/11 14-16h	Bat1 · Pharmacie · 4ième étage
Infections sur prothèses (2h)	*FA. Dauchy*	12/11 16-18h	Bat1 · Pharmacie · 4ième étage
Apport de la génomique dans les infections à Campylobacter et Helicobacter (2h)	*P. Lehours*	19/11 14-16h	Espace · Professeur
Pouvoir pathogène des biofilms bactériens : exemple du biofilm dentaire (2h)	*J. Samot*	19/11 16-18h	Espace · Professeur
Nature et chaîne épidémiologique des infections nosocomiales (2h)	*S. Romano - Bertrand*	3/12 14-16h	Bat1 · Pharmacie · 4ième étage
Présentation d'articles par groupe d'étudiants	*V. Dubois*	3/12 16-18h	Bat1 · Pharmacie · 4ième étage
Examen de 14h à 16h			

Bat1 Pharmacie 4ième étage° : salle de réunion du labo d'immuno, microbio
S 439-BâtTP-4ième étage
Espace professeur° : Espace communication et santé



UE Recherche

Microbiologie Générale 2 - Bactériologie

2026-2027



Mécanismes de résistance aux antibiotiques : Généralités et exemple des β-lactamines

Pr V. Dubois

Laboratoire de bactériologie

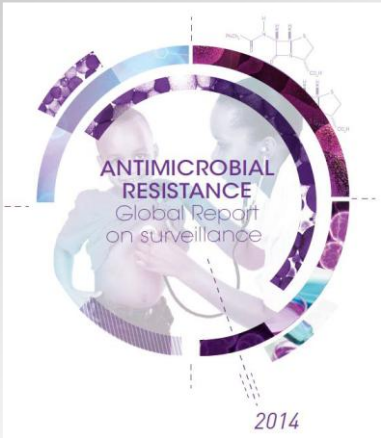
UMR CNRS 5234

Microbiologie Fondamentale et Pathogénicité

Available online at www.sciencedirect.com
ScienceDirect
Current Opinion in Microbiology
ELSEVIER

Alarming β-lactamase-mediated resistance in multidrug-resistant *Enterobacteriaceae*

Karen Bush



Le Monde.fr ÉDITION ABONNÉS

Bactéries résistantes : "Les rapatriés sanitaires seront bientôt testés"

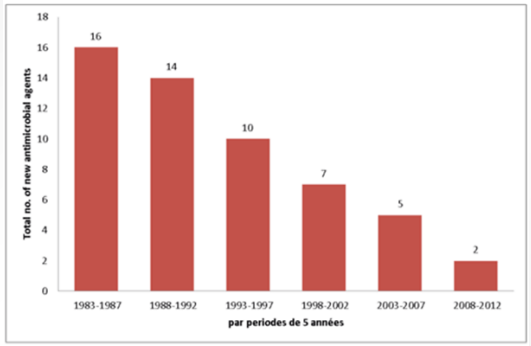
World Health Organization

• Très forts taux de résistance → infections courantes acquises dans les établissements de soins, dans la **communauté**, dans toutes les parties du **monde**.

Résistance à des traitements de 1ère ligne

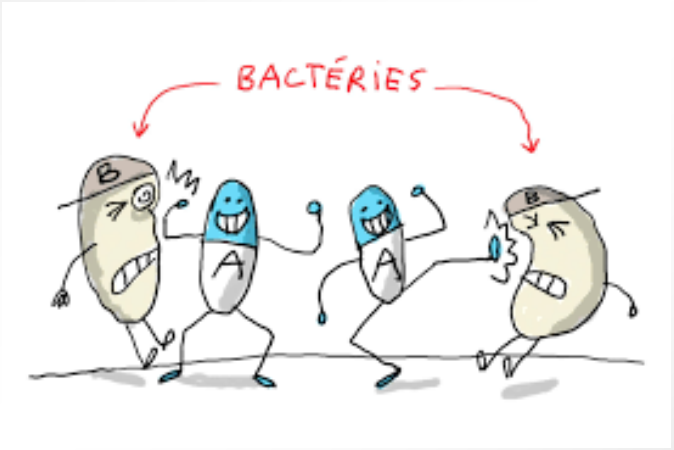
Résistances à des antibiotiques utilisés en dernière ligne

Infographie : NOUVEAUX ANTIBIOTIQUES
Infectious Diseases Society of America (IDSA): Combating Antimicrobial Resistance: Policy Recommendations to Save Lives. Clin Infect Dis, 2011, 52: S5,S397.



Spellberg B et al Clinical infectious diseases, 52 S 5: p. S397-428. (2011)

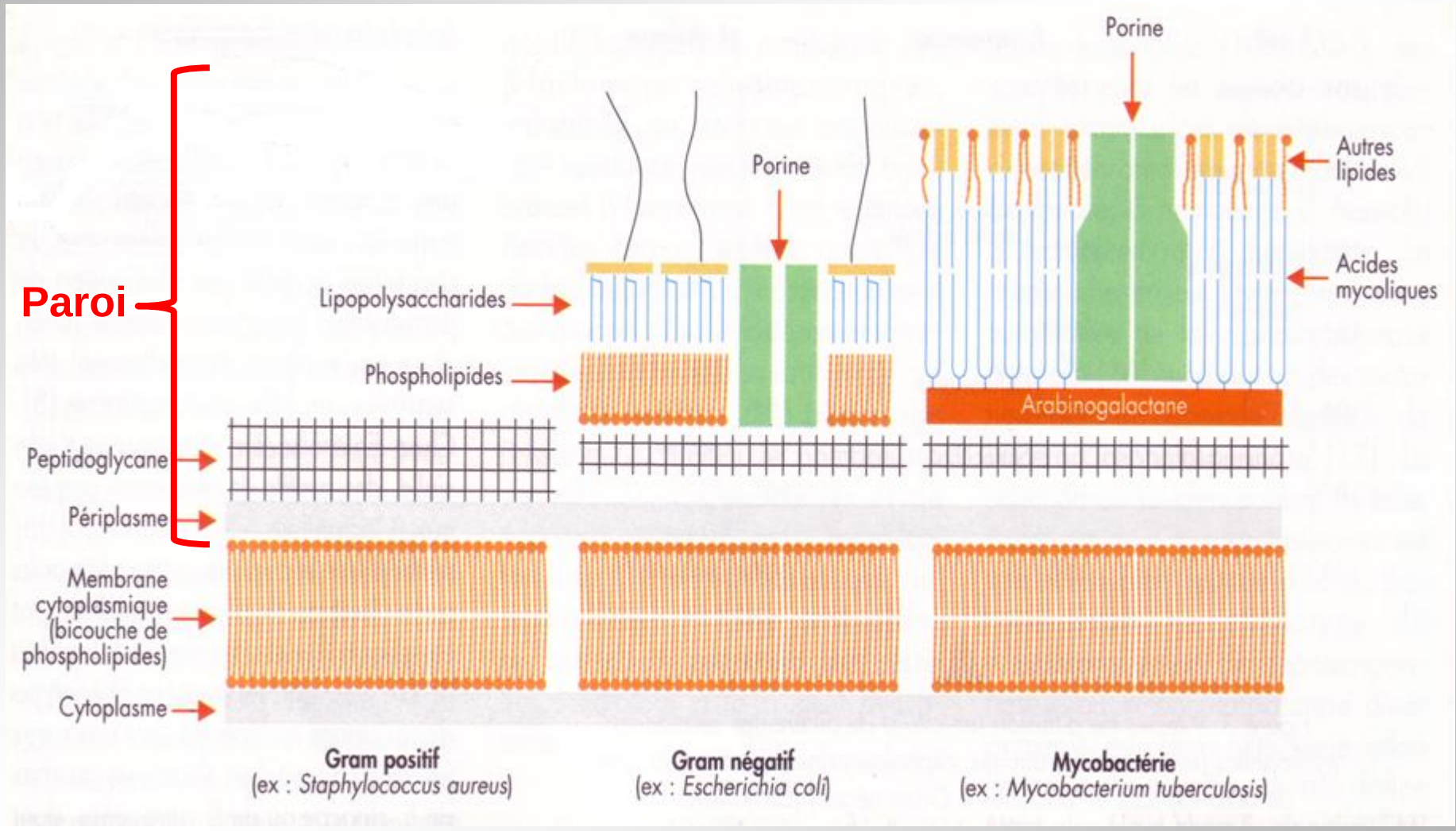
PLAN



1 – LES ANTIBIOTIQUES : RAPPEL MA

2 – LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

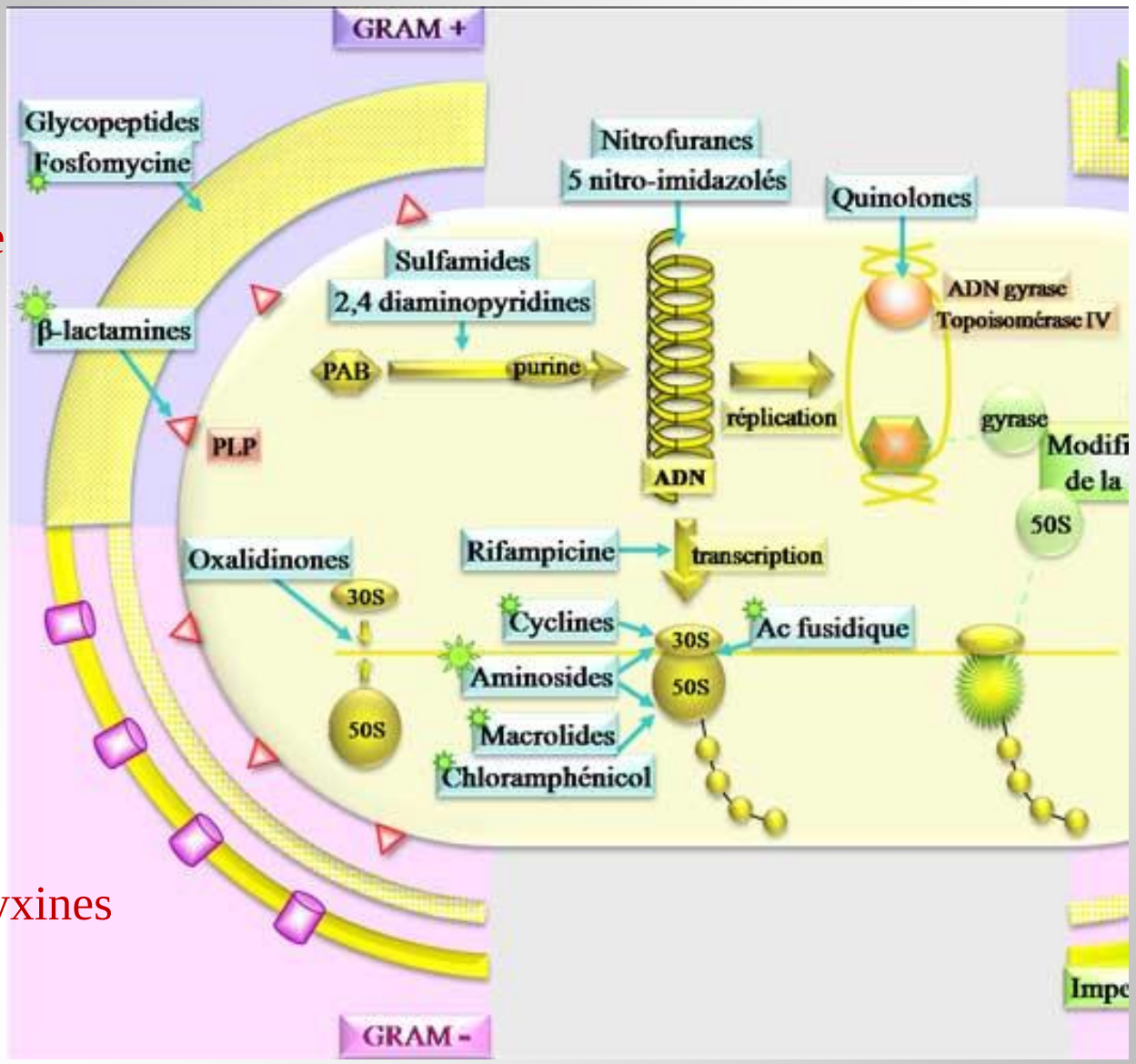
- Résistances naturelles
- Résistances acquises
  - – Mécanismes génétiques
    - * Mutations chromosomiques
    - * Acquisition de gènes
  - – Mécanismes biochimiques
    - * Mécanismes
      - Défaut d’accumulation
      - Détoxification enzymatique
      - Altération de la cible



(Jarlier, Médecine Thérapeutique, 1997, 3, hors série janvier, 46-60)

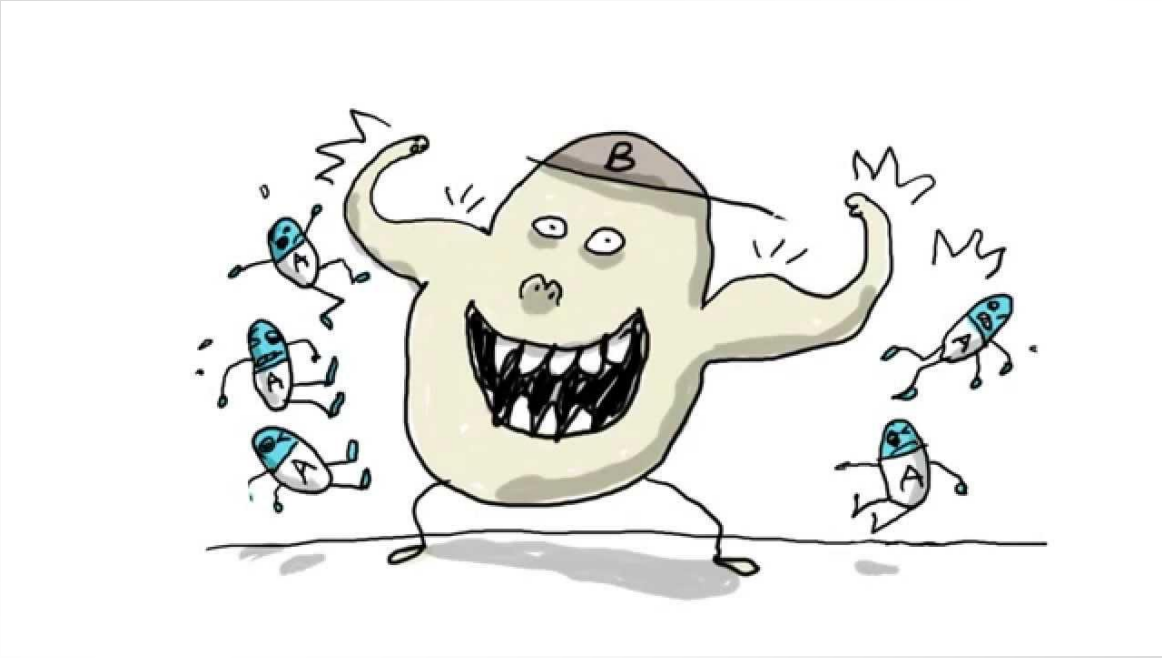
1 – LES ANTIBIOTIQUES : RAPPEL MODE D'ACTION

Daptomycine



Polymyxines

2- RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES



- Résistance connue
  - pour toutes les familles d'ATB
  - pour toutes les espèces bactériennes

Résistances naturelles

✓ Résistance naturelle : intrinsèque, innée
= affecte d'emblée toutes les souches d'une même espèce

Support chromosomique
Constante

Phénotype sauvage, sensible

✓ Définit le spectre d'un ATB

Société Française de Microbiologie
Association reconnue d'Utilité Publique, Décret du 17 Mai 1993 (J.O. n° 119)

2. 1. Bacilles à Gram négatif non exigeants

Pénicilline G, oxacilline, macrolides, kétolides, lincosamides, streptogramines, acide fusidique, glycopeptides, oxazolidinones, lipopeptides.

2.1.1. *Entérobactéries*

(cf. site du CASFM : http://www.sfm.asso.fr/)

Tableau IV – Résistance naturelle chez les entérobactéries.

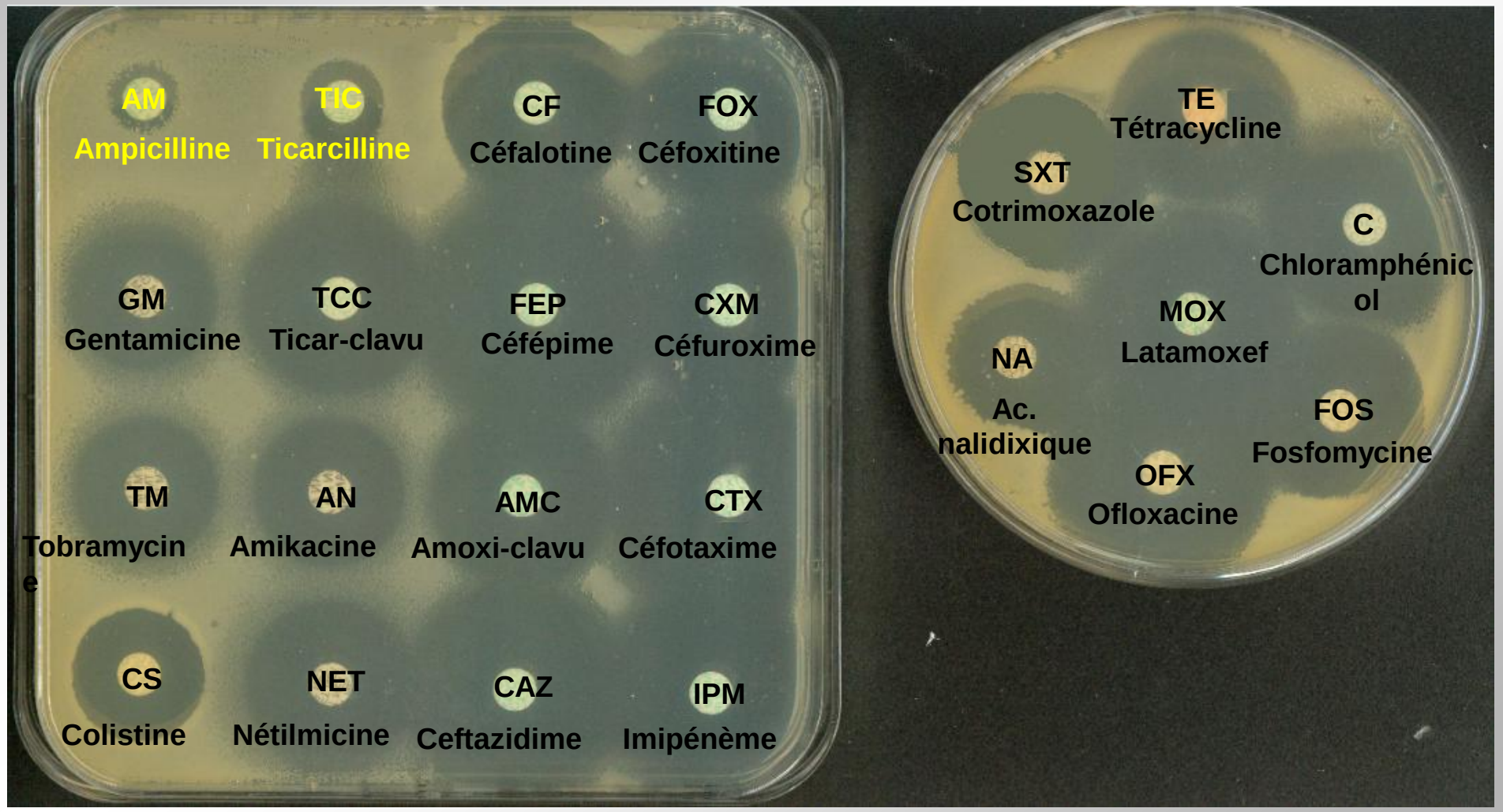
Espèces	AM	AMC	TIC/ PIP	C1G	FOX	MA	CXM	GM	TOB	TET	COL	FT
Klebsiella spp.	R		R									
E. hermanii	R		R									
C. koseri	R		R									
C. freundii	R	R		R	R							
E. cloacae	R	R		R	R							
E. aerogenes	R	R		R	R							
H. alvei	R	R		R								
S. marcescens	R	R		R		R	R		R		R	
P. mirabilis										R	R	R
P. vulgaris, P. penneri	R			R		R	R			R	R	R
M. morganii	R	R		R			R			R	R	R
P. stuartii	R	R		R				R		R	R	R
P. rettgeri	R	R		R						R	R	R
Y. enterocolitica	R	R	R	R	R	R	R					

R : résistance naturelle
AM : aminopénicillines ; AMC : amoxicilline + acide clavulanique ; TIC : ticarcilline ; PIP : pipéracilline
C1G : céphalosporines de 1ère génération ; FOX : céfoxitine ; MA : céfamandole ; CXM : céfuroxime ;
GM : gentamicine ; TOB : tobramycine ; TET : tétracyclines y compris la tigécycline ; COL : colistine, polymyxine B ;
FT : nitrofuranes.

Exemple : *Klebsiella pneumoniae*

Kp226C

Souche sauvage (résistances naturelles)



Résistances acquises

✓ Résistance acquise :
= affecte une fraction des souches d'espèces naturellement sensibles suite à des évènements génétiques :

mutations
acquisition de gènes

Support chromosomique ou extrachromosomique

Phénotype de résistance

Surveillance nécessaire :

adaptation de l'antibiothérapie probabiliste
détection d'épidémie

RÉSISTANCE BACTÉRIENNE

- Emergence rapide après introduction des ATB

Antibiotic class; example	Year of discovery	Year of introduction	Year resistance observed
Sulfadrugs; prontosil	1932	1936	1942
β-lactams; penicillin	1928	1938	1945
Aminoglycosides; streptomycin	1943	1946	1946
Chloramphenicols; chloramphenicol	1946	1948	1950
Macrolides; erythromycin	1948	1951	1955
Tetracyclines; chlortetracycline	1944	1952	1950
Rifamycins; rifampicin	1957	1958	1962
Glycopeptides; vancomycin	1953	1958	1960
Quinolones; ciprofloxacin	1961	1968	1968

Lewis. Platforms for drug discovery. Nat Rev Drug Disc. 2013

- Fréquence variable selon l'ATB
- Résistance transférable (gènes mobiles sur plasmides, transposons, intégrons, transformation)

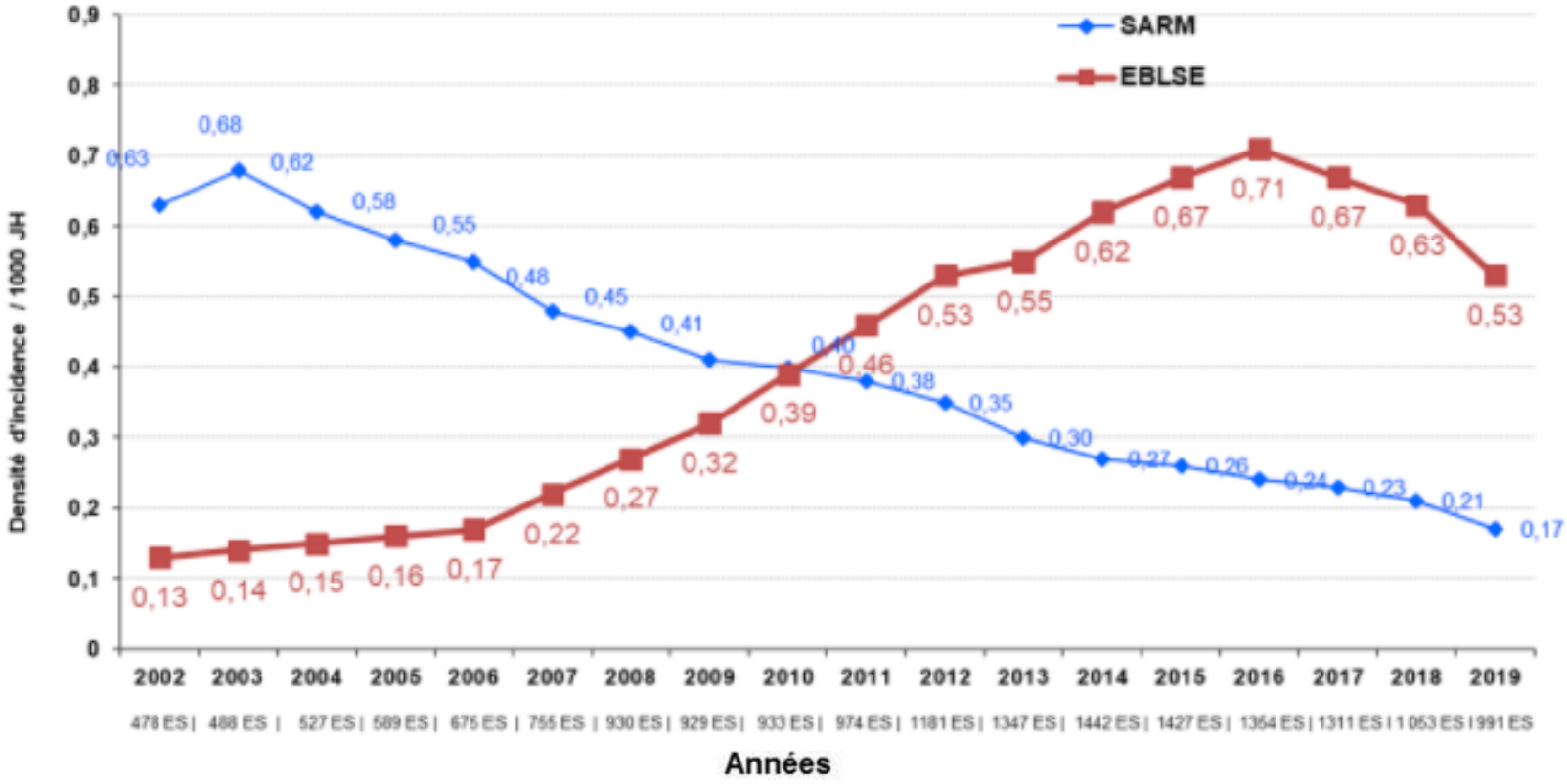
- Diffusion épidémique
- Bactéries multi-résistantes

« BMR » « BHRe »

Evolution de l'incidence SARM et EBLSE dans les établissements de santé français, Réseau BMR-Raisin

EUROPEAN ANTIBIOTIC AWARENESS DAY
A European Health Initiative

Densités d'incidence des SARM et des EBLSE pour 1 000 JH (densité d'incidence globale par année) entre 2002 et 2019



RAISIN

InVS
INSTITUT DE VEILLE SANITAIRE

Source : Rapport BMR-Raisin : Surveillance nationale des bactéries multirésistantes dans les établissements de santé : réseau BMR-Raisin.

Disponible sous : *http://www.invs.sante.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Infections-associees-aux-soins/Surveillance-des-infections-associees-aux-soins-IAS/Surveillance-en-incidence*

Antibiogramme

- Définition : mesure de la sensibilité bactérienne à un ou plusieurs antibiotiques
- Objectif : dépistage des résistances acquises + intérêt épidémiologique (suivi de l'évolution des résistances)
- Techniques multiples :





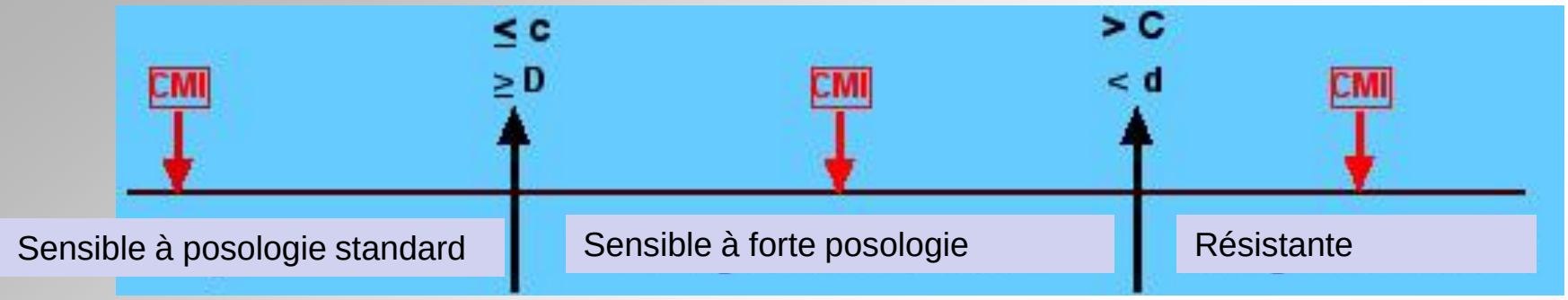


Automatisée : VITEK2, Phoenix, Microscan…





Manuelle : diffusion en milieu gélosé ; microdilution



Catégories définies par le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) délimitées par deux concentrations critiques (c, C) et à deux diamètres critiques (D, d) et choisies par un compromis : données bactériologiques, cinétique, résultats clinique

Spectre clinique des antibiotiques : SCA

3. DÉFINITION DES CATÉGORIES CLINIQUES

Les concentrations et les diamètres critiques cliniques utilisés pour l'interprétation des tests de sensibilité *in vitro* permettent de classer les antibiotiques testés en 3 catégories cliniques distinctes : « sensible à posologie standard » (S), « sensible à forte posologie » (SFP ou F), et « résistant » (R) [voir aussi Annexe 3 et Annexe 7].

1. « **Sensible à posologie standard** » : la probabilité de succès thérapeutique est élevée dans le cas d'un traitement basé sur la posologie standard de l'antibiotique.

2. « **Sensible à forte posologie** » * : la probabilité de succès thérapeutique est élevée dès lors que l'antibiotique est utilisé à forte posologie ou si l'antibiotique est fortement concentré au site de l'infection.

3. **Souches « résistantes »** : la probabilité d'échec thérapeutique est élevée, même lorsque l'antibiotique est utilisé à forte posologie et quel que soit le mode d'administration utilisé.

CA-SFM 2023

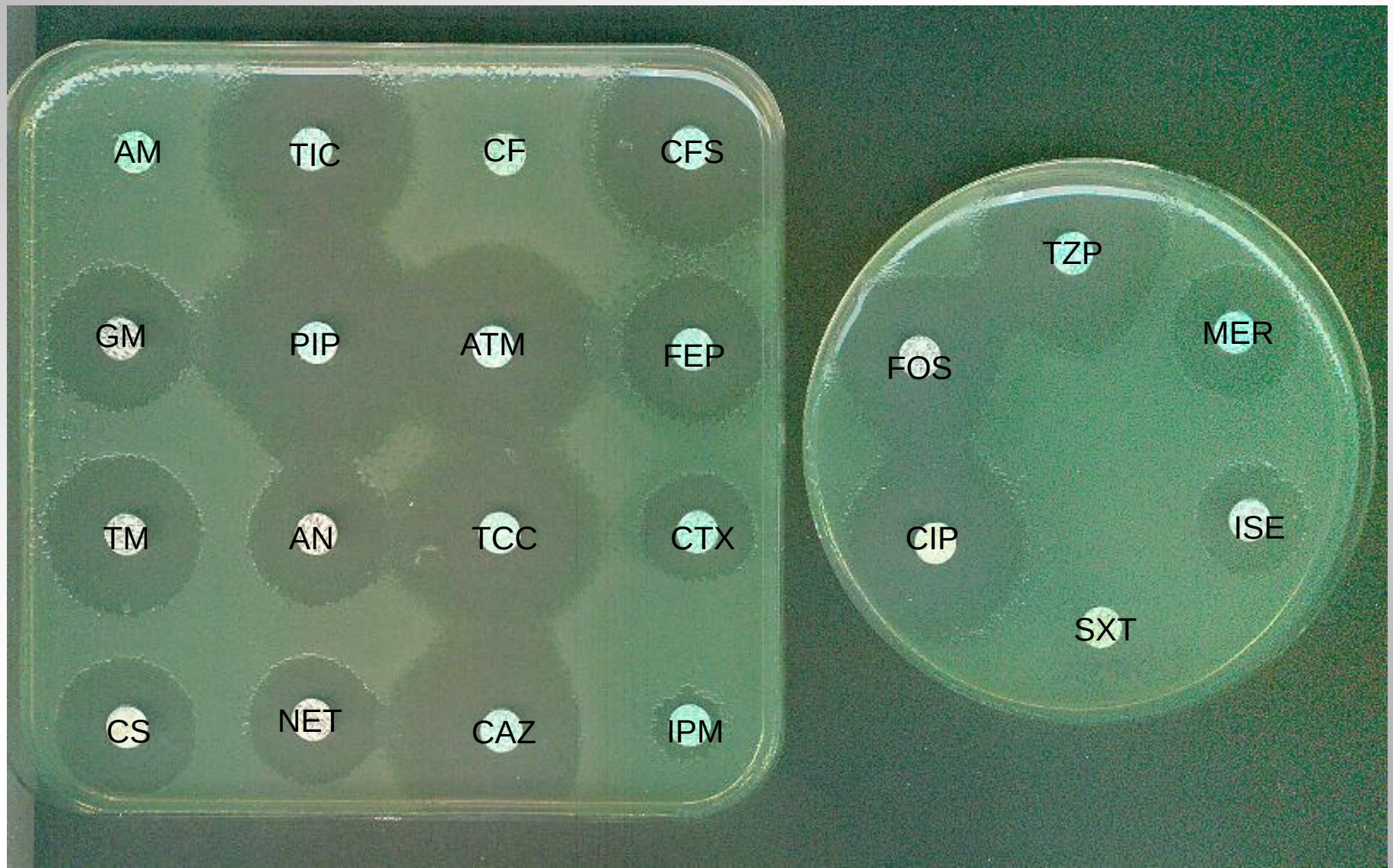
MECANISMES GENETIQUES

✓ <u>Mutations chromosomiques</u>
Modification ou perte de la fonction

- ❖ Spontanées mais sélectionnées par l'antibiotique
- ❖ Rares 10^{-6} à 10^{-10} (sauf FOS, FA, RA, Quinolones, S)
- ❖ HN en une étape (association obligatoire)
- ❖ Un antibiotique ou une famille d'antibiotiques
- ❖ Stables héréditairement
- ❖ Non transférables en dehors de la descendance

❖ 20% des résistances acquises en clinique

Mutation d'une porine (imperméabilité)
Porine D2 chez *P. aeruginosa*



MECANISMES GENETIQUES

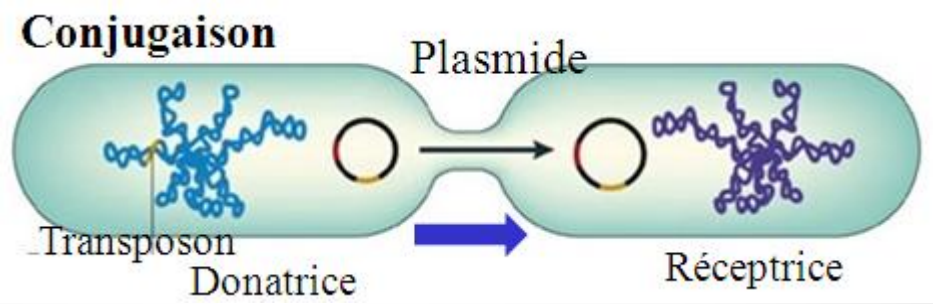
- ✓ <u>Acquisition de gènes</u> (plasmides, transposons, intégrons)
  - ❖ *Shigella* multi-R au Japon dans les années 55-60
  - ❖ Facteur de transfert de résistance R
    Transfert à partir d'une autre espèce (*E. coli)*
  - ❖ Plusieurs antibiotiques ou familles d'antibiotiques
  - ❖ Relativement instables héréditairement
  - ❖ Transférables en dehors de la descendance
  - ❖ 80% des résistances acquises en clinique
- ✓ Mécanisme retrouvé pour ≈ tous les antibiotiques
  et ≈ toutes les bactéries

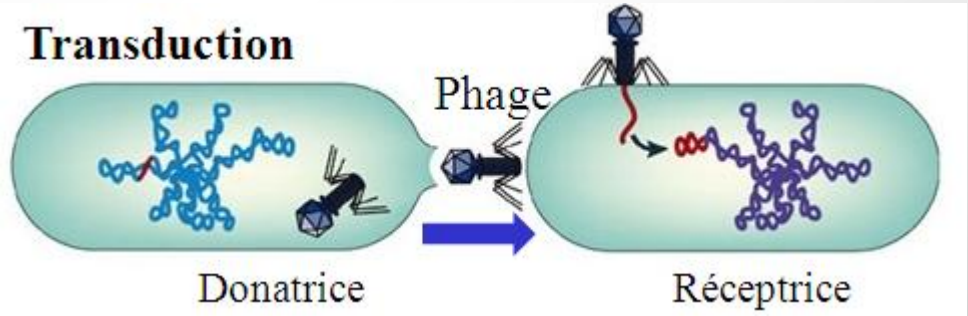
MECANISMES GENETIQUES

➔ **Entre bactéries**

- Conjugaison
- Transduction
- Transformation

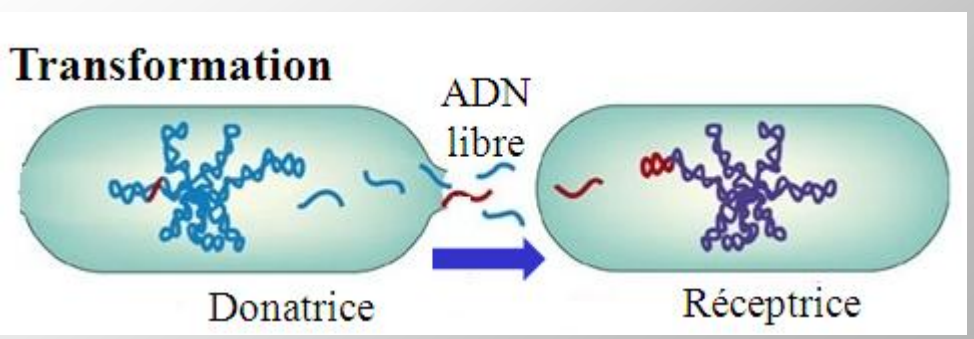
Unidirectionnels :
donatrice → réceptrice

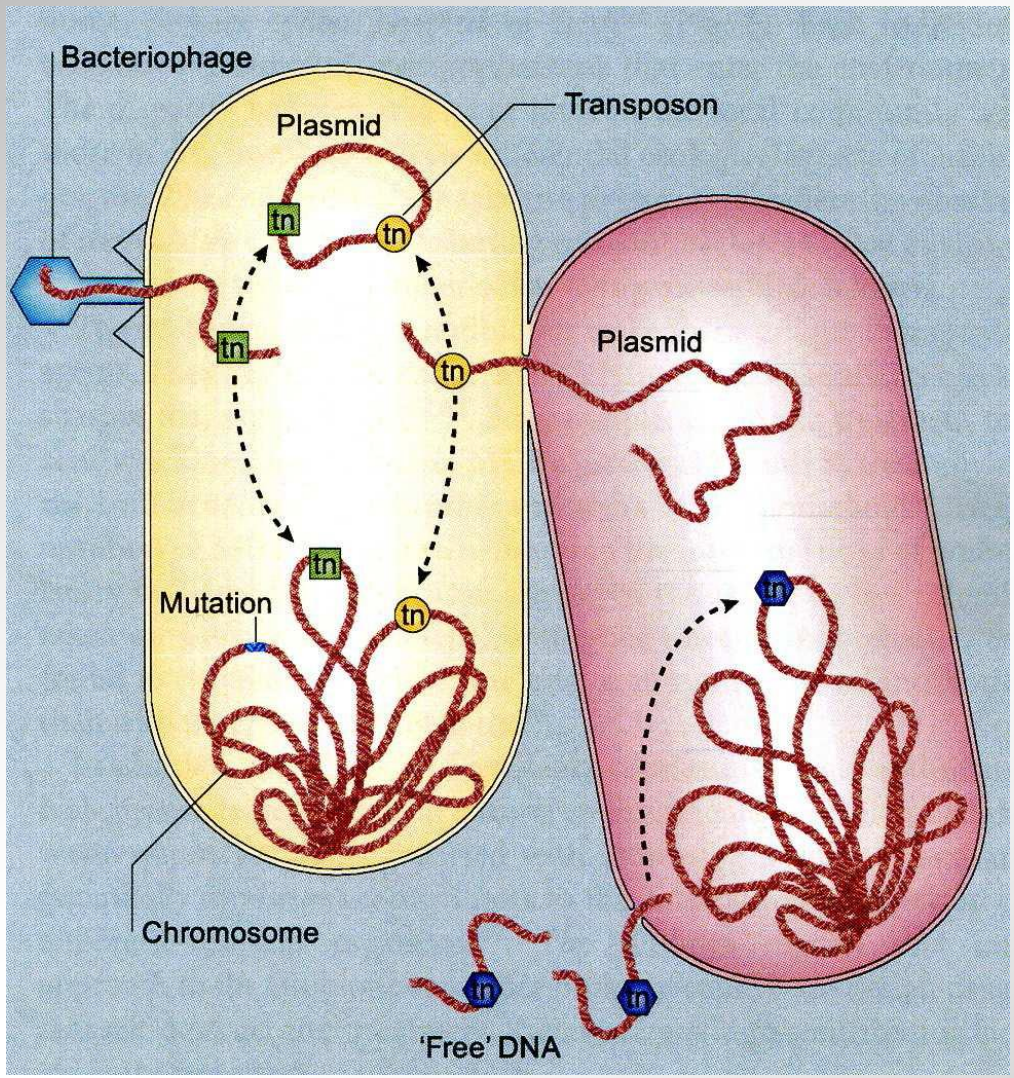




➔ **Entre réplicons**

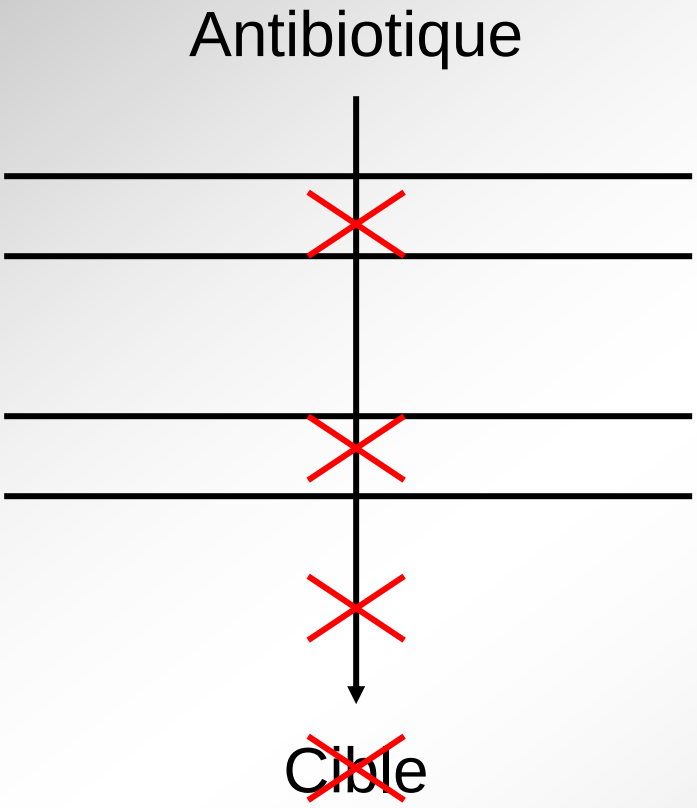
- Transposition





Dissémination des gènes de résistance (plasmides, phages, ADN nu, Tn)

MECANISMES BIOCHIMIQUES DE LA RESISTANCE



1) Défaut d'accumulation

Mb externe :

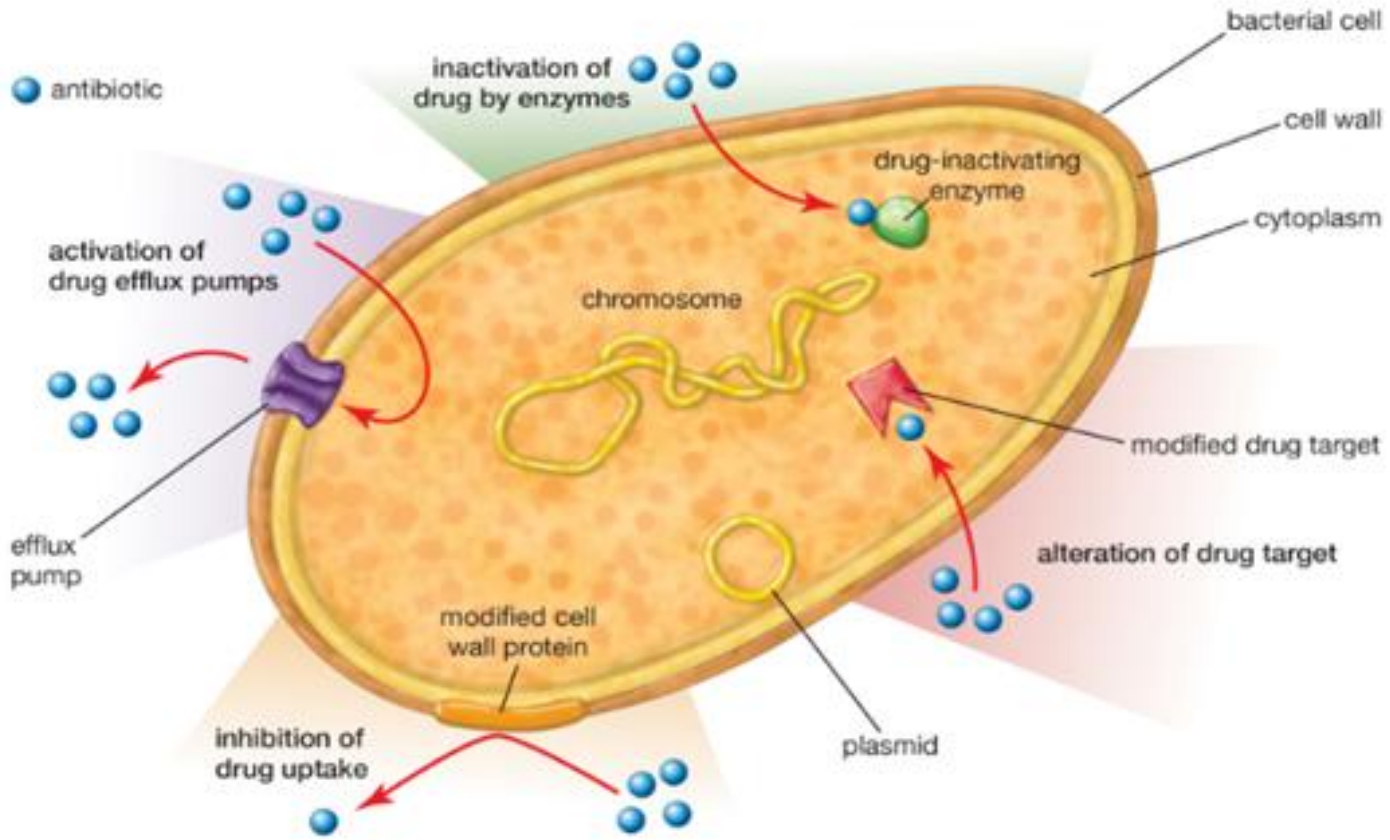
* Imperméabilité

Mb cytoplasmique :

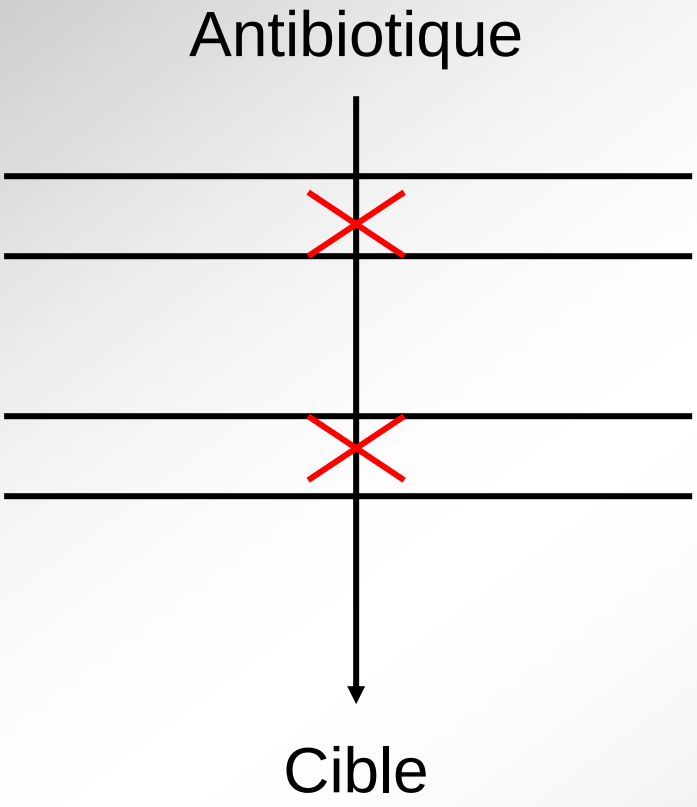
* ↓ entrée : transport actif
* ↑ sortie : efflux actif

2) Détoxification enzymatique

3) Défaut de (affinité) cible


antibiotic
inactivation of drug by enzymes
bacterial cell
cell wall
drug-inactivating enzyme
cytoplasm
activation of drug efflux pumps
chromosome
modified drug target
efflux pump
alteration of drug target
modified cell wall protein
plasmid
inhibition of drug uptake

MECANISMES BIOCHIMIQUES DE LA RESISTANCE



1) Défaut d'accumulation

Mb externe :

* Imperméabilité

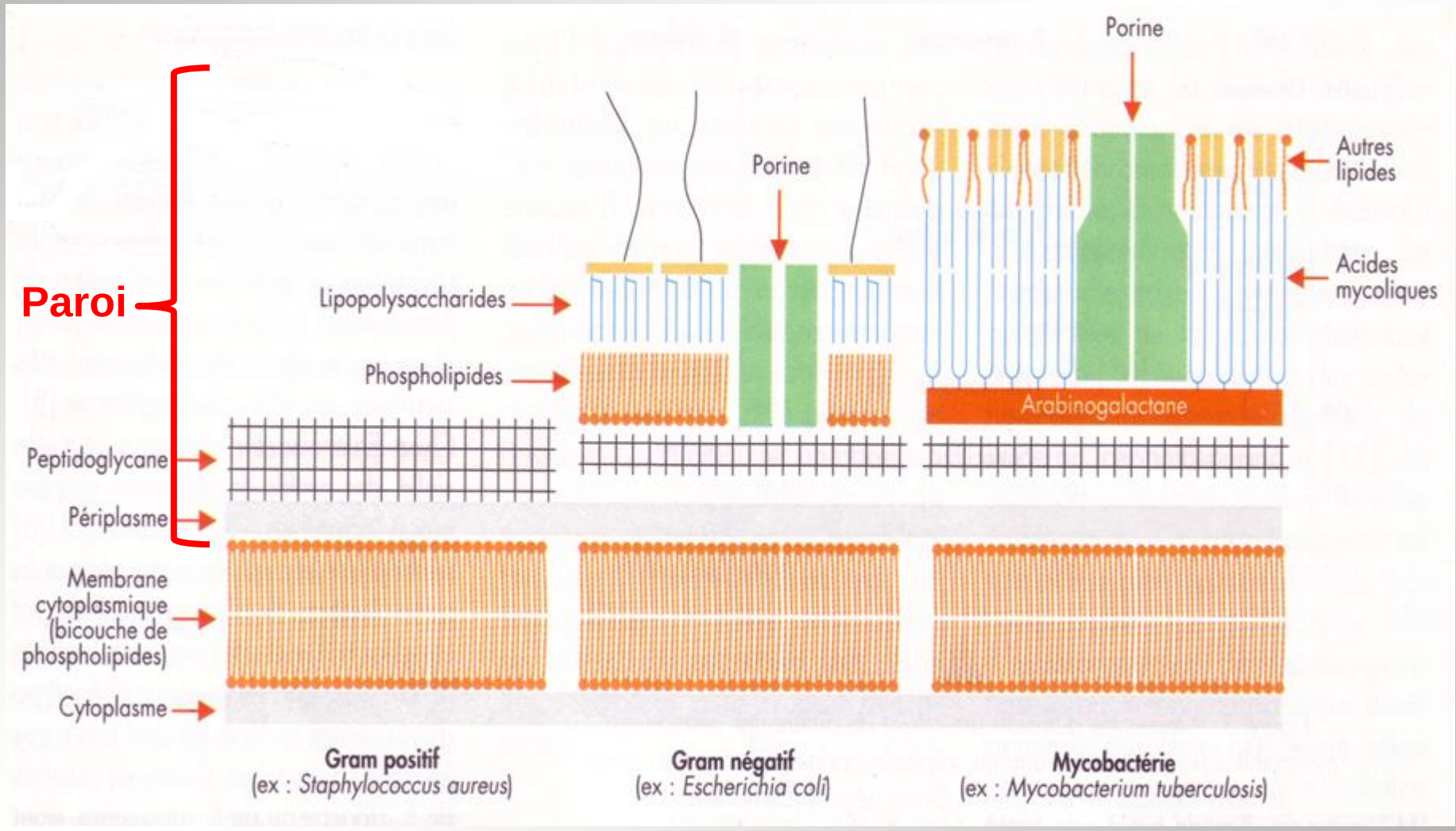
Mb cytoplasmique :

* ↓ entrée : transport actif
* ↑ sortie : efflux actif

2) Détoxification enzymatique

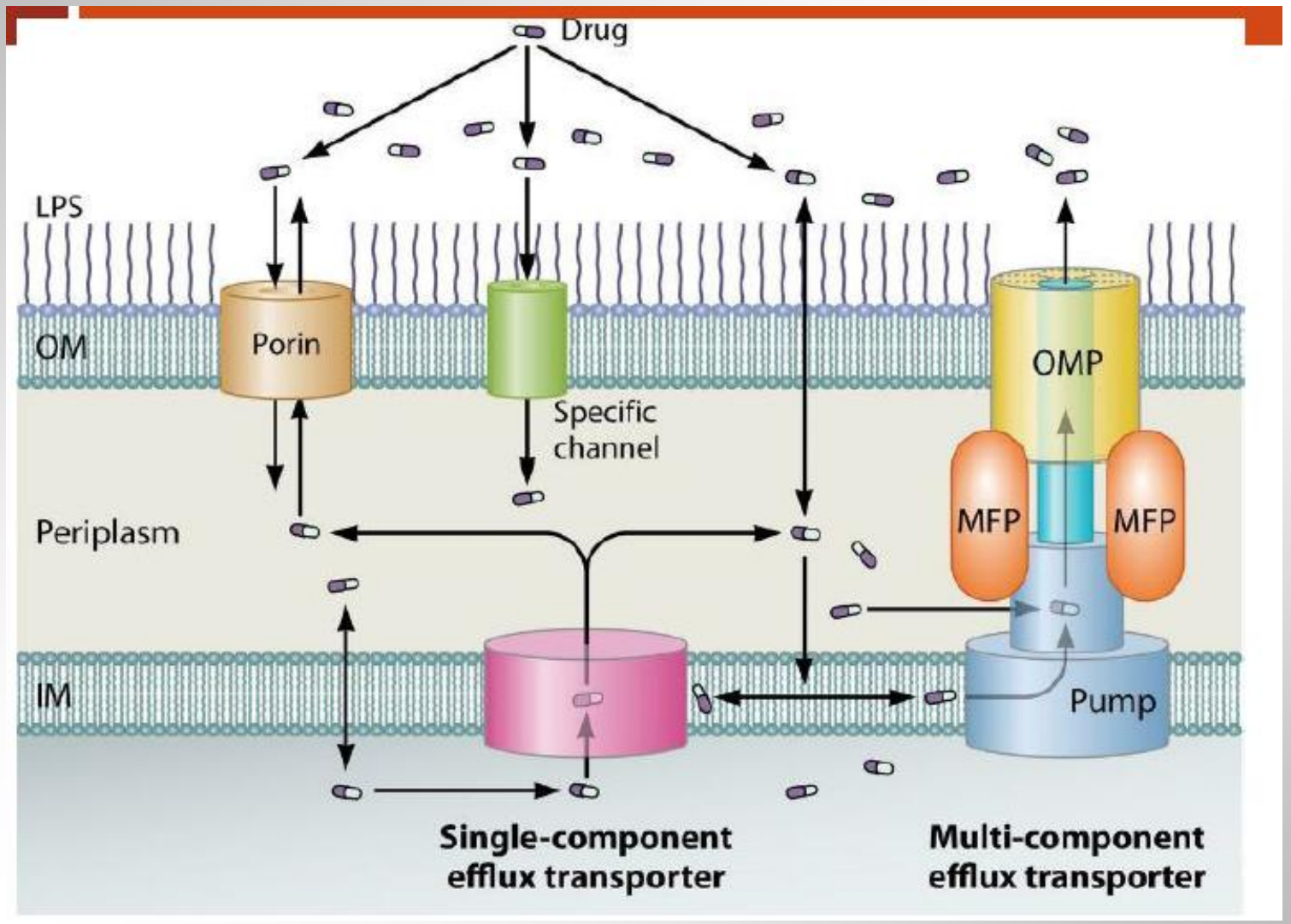
3) Défaut de (affinité) cible

1) Résistance par défaut d'accumulation

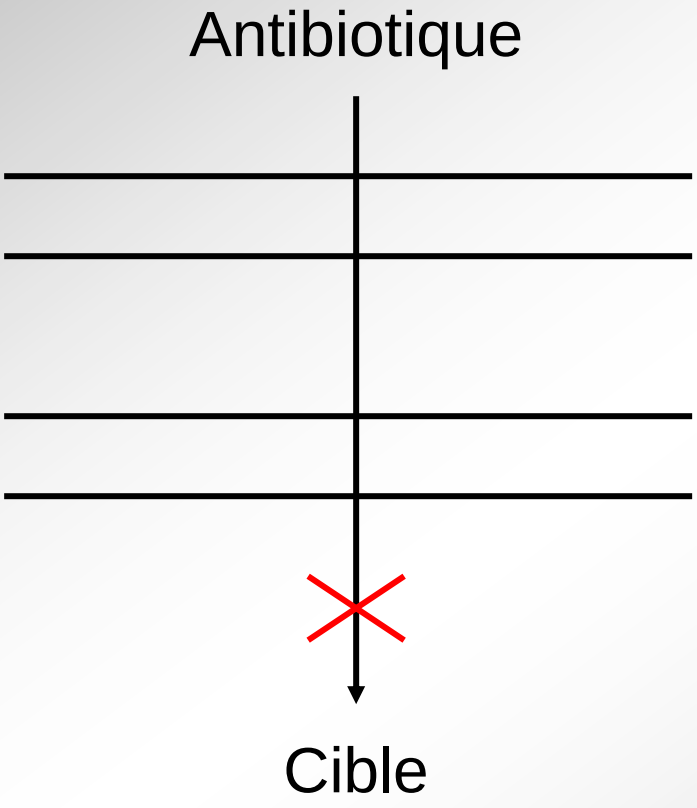


(Jarlier, Médecine Thérapeutique, 1997, 3, hors série janvier, 46-60)

➔ Système d'efflux actif



MECANISMES BIOCHIMIQUES DE LA RESISTANCE



1) Défaut d'accumulation

Mb externe :

* Imperméabilité

Mb cytoplasmique :

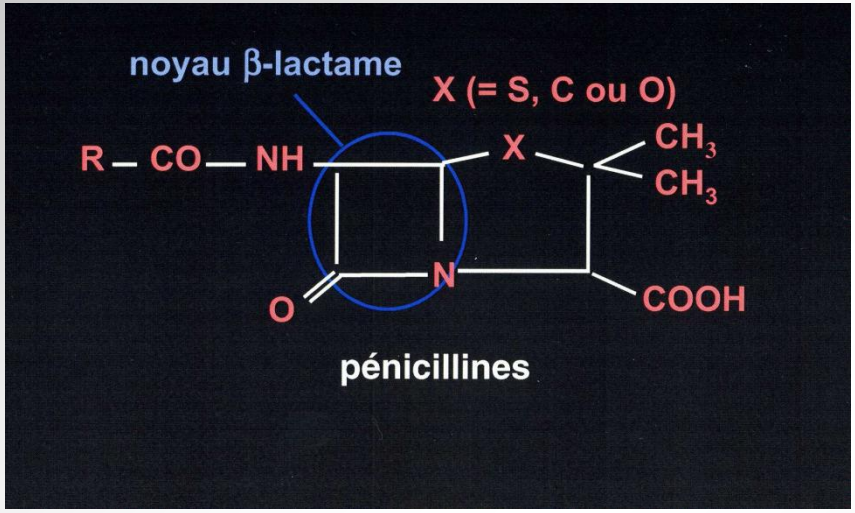
* ↓ entrée : transport actif
* ↑ sortie : efflux actif

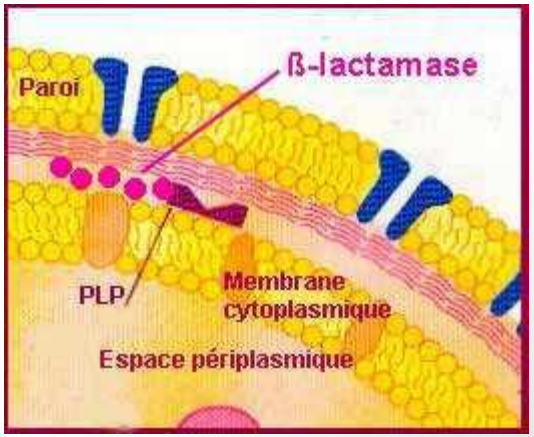
2) Détoxification enzymatique

3) Défaut de (affinité) cible

2) Résistance par détoxification (inactivation) enzymatique

Hydrolyse des β-lactamines par les β-lactamases

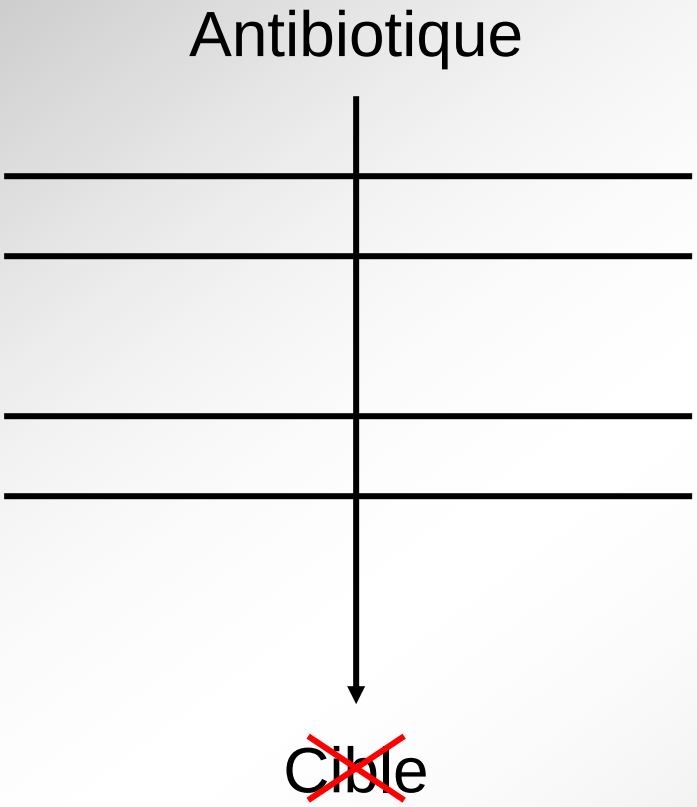




Enzymes bactériennes => hydrolyse du pont β-lactame

→ Inactivation totale et définitive des β-lactamines

MECANISMES BIOCHIMIQUES DE LA RESISTANCE



1) Défaut d'accumulation

Mb externe :

* Imperméabilité

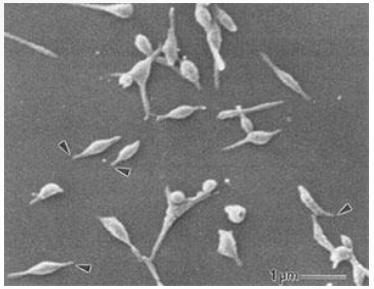
Mb cytoplasmique :

* ↓ entrée : transport actif
* ↑ sortie : efflux actif

2) Détoxification enzymatique

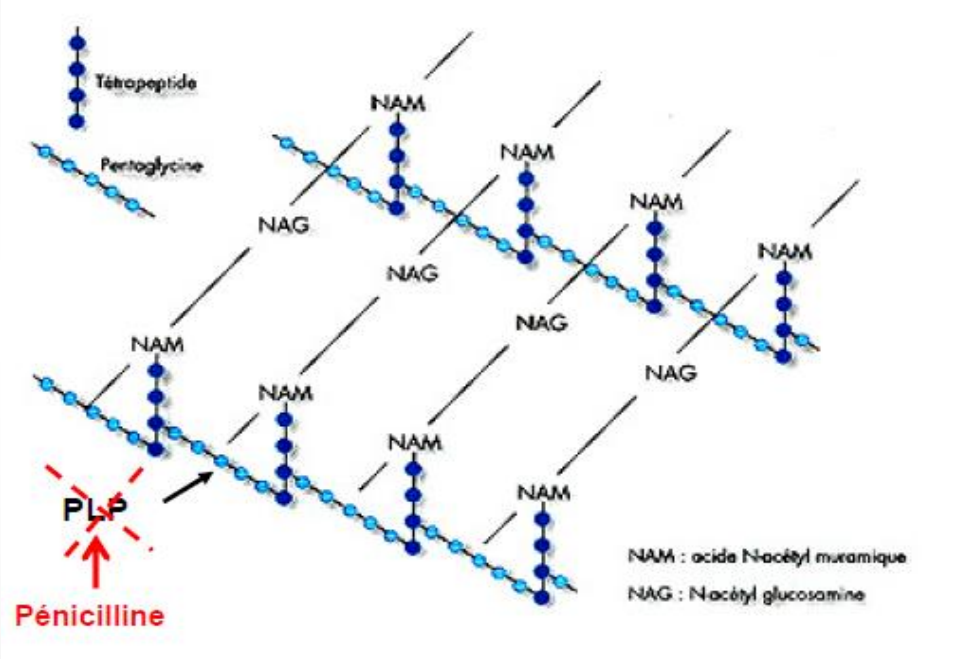
3) Défaut de (affinité) cible

3) Défaut de (affinité) cible



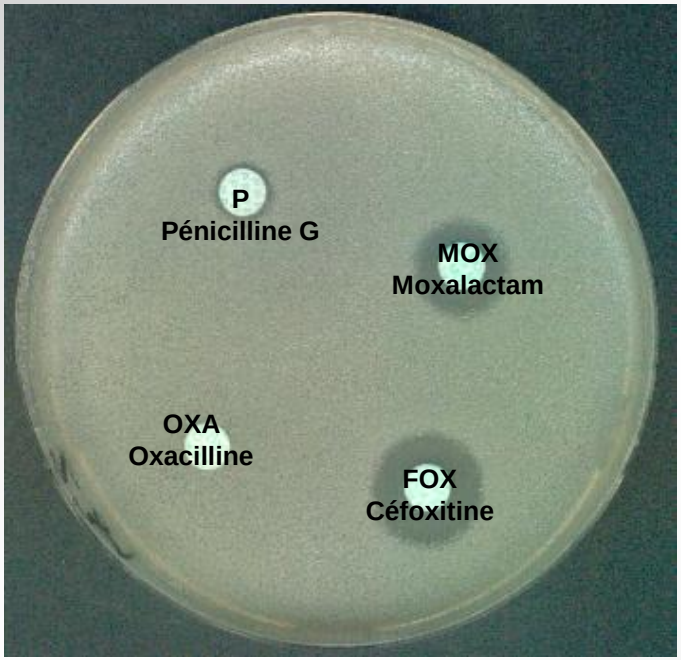
Absence de cible : mycoplasmes, bactérie dépourvues de paroi
⇒ absence de PLP, cible des β-lactamines

Modification de la cible de l'ATB : exemple β-lactamines
Altération des PLP rendant la bactérie insensible à l'ATB

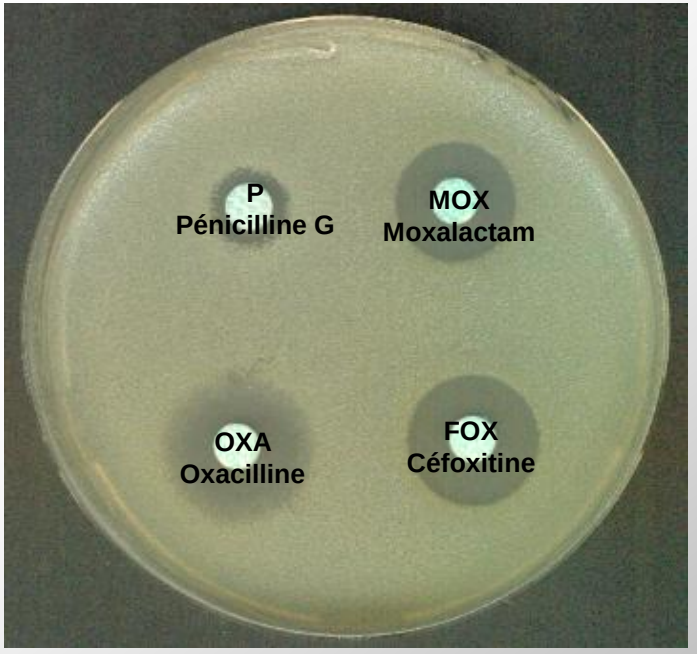


S. aureus résistants à la méticilline (SARM)

Acquisition d'une PLP additionnelle : PLP2a ou PLP 2', de très faible affinité pour la méticilline et toutes les autres β-lactamines.



***S. aureus* Sa231 Méti-R homogène**



***S. aureus* Sa242 Méti-R hétérogène**

Points importants

- Résistance en augmentation et peu de nouveaux antibiotiques
- Diffusion importante par mécanisme génétiques variés
- Nécessité de surveillance
- Utilisation rationnelle des antibiotiques



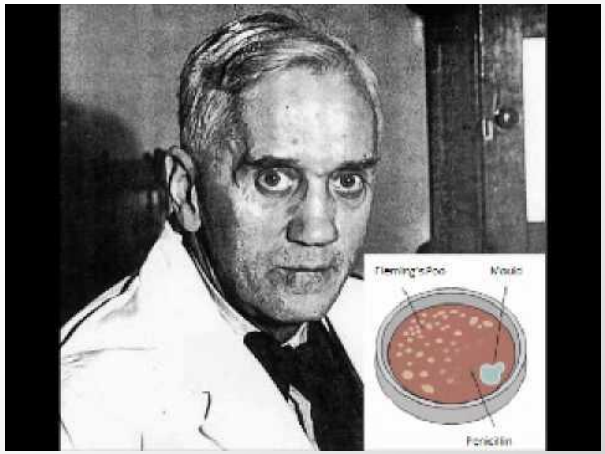


Exemple des β-Lactamines

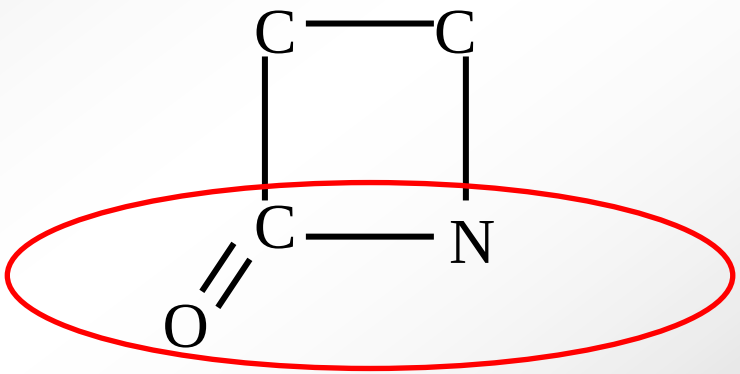
Vaste famille d'antibiotique : cycle β-lactame

Antibiotique bactéricide

Spectre étroit → large spectre



1928 A. Fleming



Pont β-lactame

Classification : structure chimique

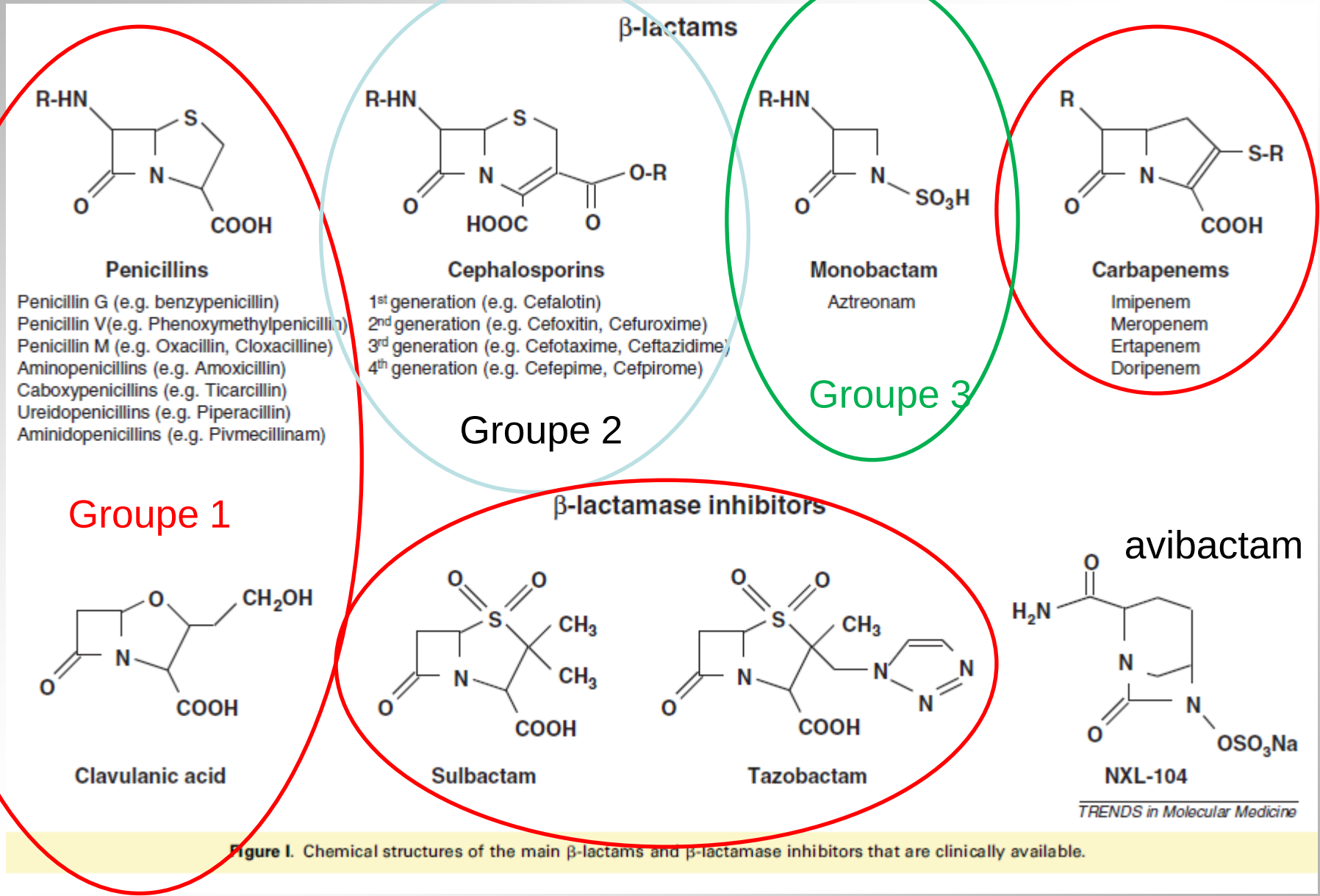


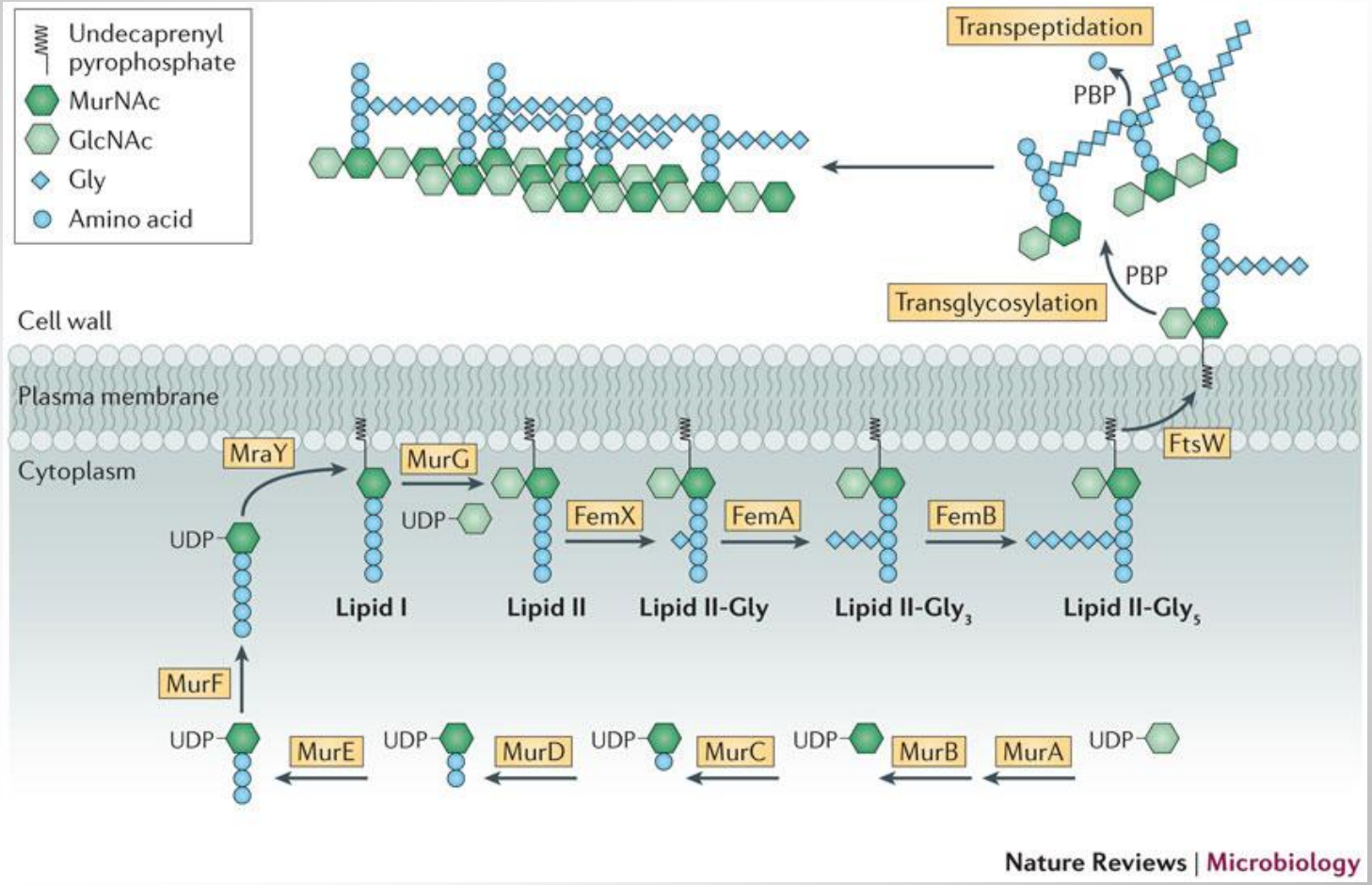
Figure I. Chemical structures of the main β-lactams and β-lactamase inhibitors that are clinically available.

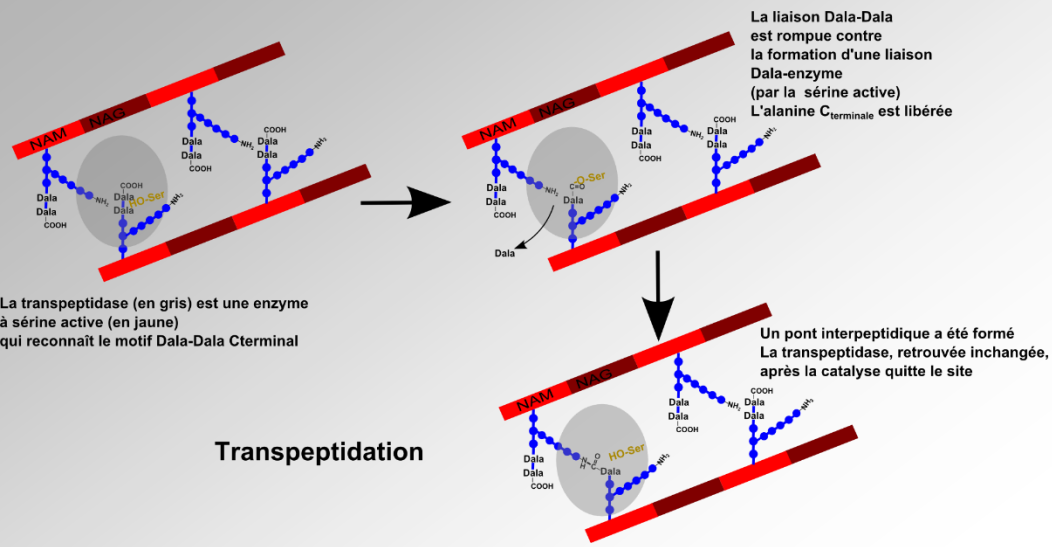
NAM : acide N-acetylmuramique

NAG : N-Acétyl glucosamine

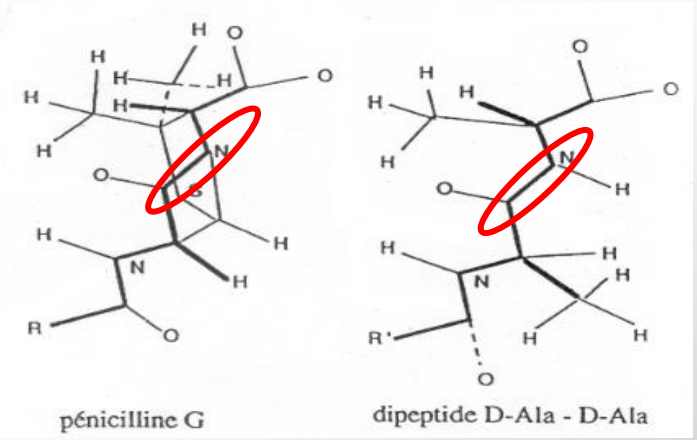
Mode d'action

- Molécules actives sur la paroi bactérienne
- Inhibition de la synthèse du peptidoglycane





- Analogie structurale entre le pont β-lactame et la liaison D-Ala-D-Ala



NAM : acide N-acetylmuramique

NAG : N-Acétyl glucosamine

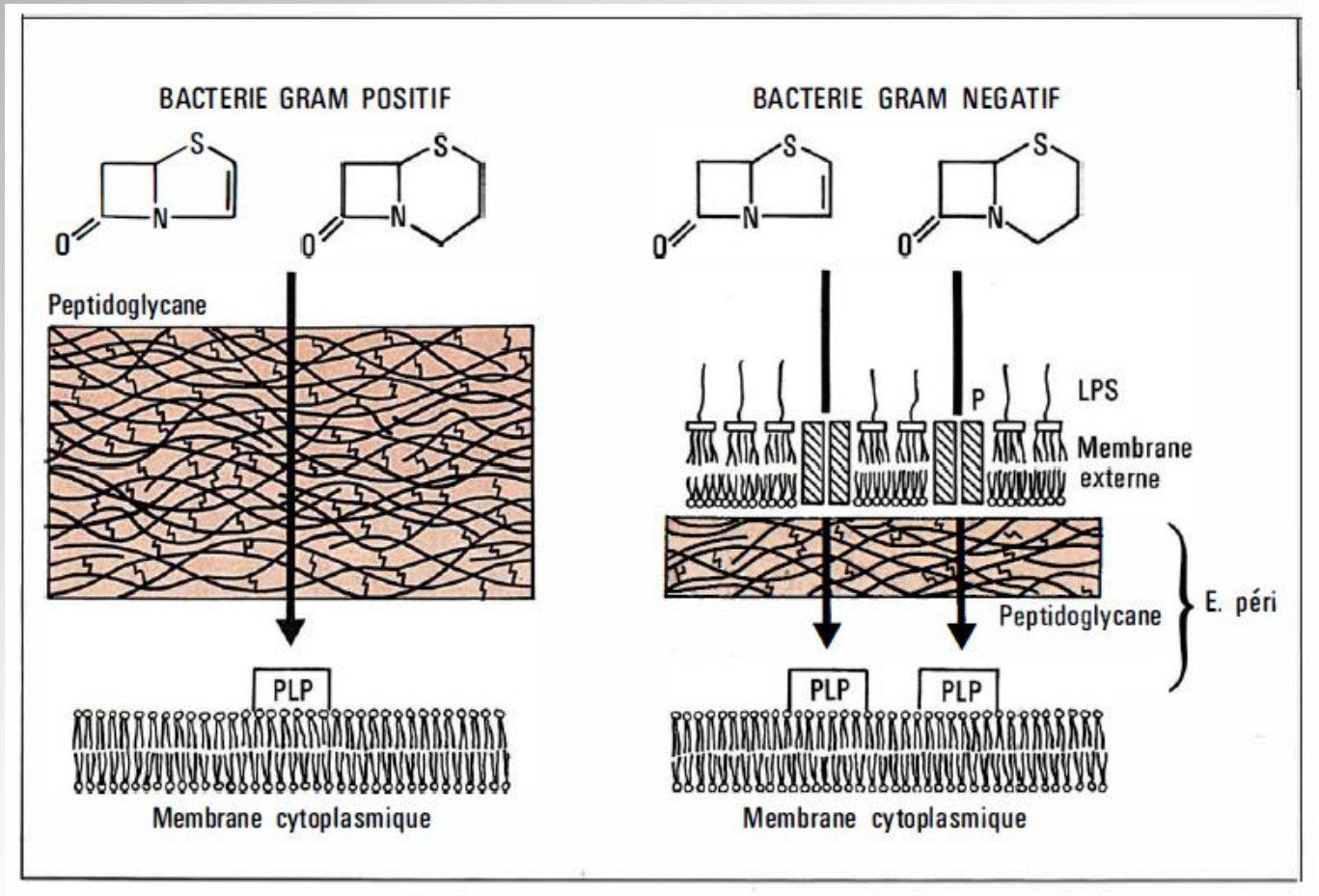
Dala-Dala-transpetidases

Dala-Dala-carboxypeptidase

substrats-suicide

inhibition des DD-transpeptidases et DD-carboxy-peptidases = Protéines Liant la Pénicilline = PLPs (PBP) : **bactériostase**

Activation des autolysines : **bactéricidie**



Gutman et al. MS 1987

Entrée : pores

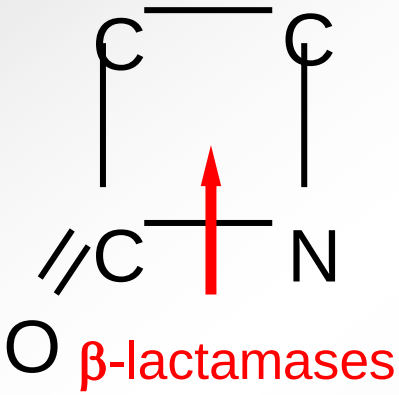
action dans l'espace périplasmique

Mécanismes des résistances acquises aux β-lactamines

Mécanisme	Gram +	Gram -
Défaut d'accumulation : - ↓ Perméabilité de la ME - ↑ Efflux naturels MDR	-	++
Production de β-lactamase	+	+++
Modifications des PLPs	+++	+

Résistance acquise par détoxification enzymatique

Cycle β-lactame



β-lactamase : hydrolyse du pont β-lactame

$\Rightarrow$ inactivation totale et irréversible des β-lactamines

Propriétés des β-lactamases

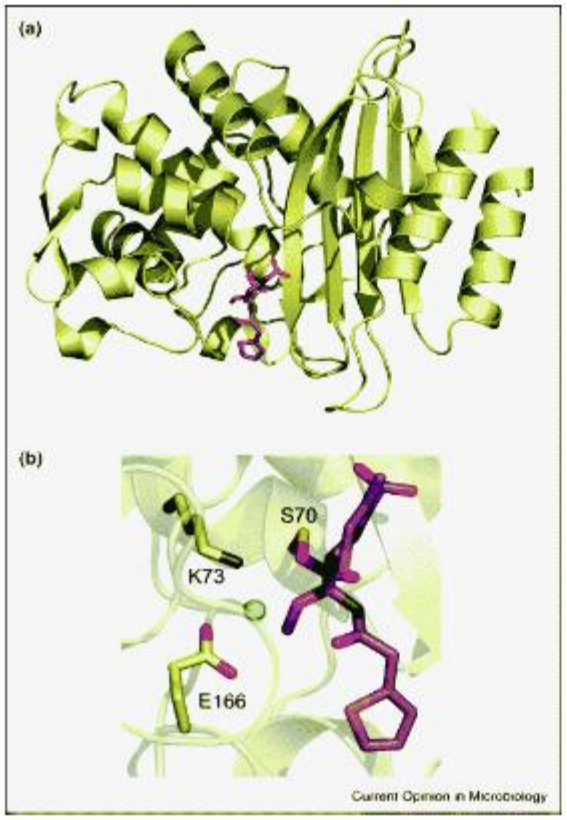
- ✓ Extracellulaires, diffusibles (Gram +), intracellulaires, périplasmiques (Gram -)
- ✓ Gène chromosomique (spécifique d'espèce : résistance naturelle), sur des éléments génétiques mobiles (pl/tn/In : résistance acquise)
- ✓ Inductible ou constitutive
- ✓ Profil de substrat (pénicillines, céphalosporines …) et d'inhibition caractéristique (ac clavulanique, EDTA …)

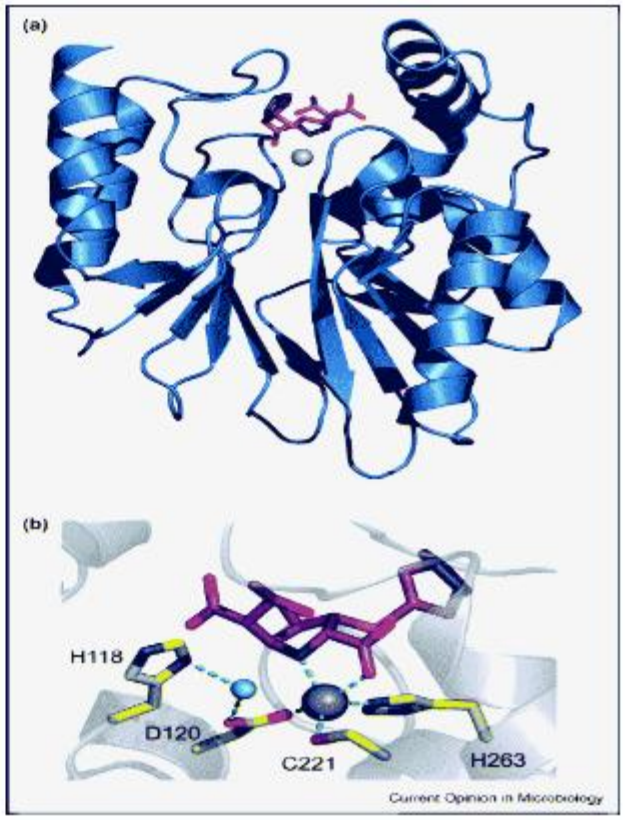
⟹ 12987 (07/10/2026) : **Classification**

http://bldb.eu/

Structure des β-lactamases

Enzyme monomérique ~ 200 à 300 AA





Sérine β-Lactamases (ex: CTX-M-9)
Classe A (TEM, SHV, CTX-M, GES)
Classe C (AmpC)
Classe D (OXA)

Métalloenzymes (ex: CphA-1, Zn++)
Classe B (VIM, IMP, NDM)

Wilke et al., Curr. Opin. Microbiol., 2005, 8:525-533

Classification des β-lactamases

Bush AAC 1995;
Bush & Jacoby, AAC 2010

Bush	Ambler	Substrats préférentiels	Profil d'inhibition		Enzymes représentatives
			AC	EDTA	
1	C	Céphalosporines	-	-	Céphalosporinases chromosomiques des BGN non exigeants
1e	C	Céphalosporines à large spectre	-	-	Céphalosporinases à spectre élargi
2a	A	Pénicillines	+	-	Pénicillinases des G+ (staphylocoques)
2b	A	Pénicillines, céphalosporines	+	-	BLS : TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	A	+ céphalosporines à large spectre et monobactames	+	-	BLSE: TEM, SHV, CTX-M, GES, VEB, PER...
2br	A	Pénicillines	-	-	Enzymes résistantes aux inhibiteurs
2bre	A	+ céphalosporines à large spectre et monobactames	-	-	BLSE résistantes aux inhibiteurs
2c	A	Carboxypénicillines	±	-	PSE-1
2ce	A	+ C4G	±	-	CARB-10
2d	D	Cloxacilline	±	-	Enzymes de type OXA
2de	D	+ céphalosporines à large spectre	±	-	BLSE de type OXA (*P. aeruginosa*)
2df	D	+ carbapénémes	±	-	Carbapénémases (*A. baumannii*) OXA-48
2e	A	Céfuroxime	+	-	Céphalosporinase de *P. vulgaris*
2f	A	Pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes	±	-	Carbapénémases NMC-A d'*E. cloacae*, Sme-1 de *S. marcescens*, KPC
3	B	Toutes les ß-lactamines sauf les monobactames		+	Metallo-β-lactamases (MBL) carbapénémases VIM, IMP, NDM-1 L1 de *S. maltophilia*, CfiA de *B. fragilis*

Résistance naturelle par production de β-lactamase

Groupe 0 : pas de gène de résistance aux β-lactamines : Salmonelles, *P. mirabilis*
Groupe 1 : céphalosporinase réprimée à l'état sauvage : *E. coli*, Shigelles

Tableau IV – Résistance naturelle chez les entérobactéries.

Espèces	AM	AMC	TIC/ PIP	C1G	FOX	MA	CXM	GM	TOB	TET	COL	FT
Klebsiella spp.	R		R									
E. hermanii	R		R									
C. koseri	R		R									
C. freundii	R	R		R	R							
E. cloacae	R	R		R	R							
E. aerogenes	R	R		R	R							
H. alvei	R	R		R								
S. marcescens	R	R		R		R	R		R		R	
P. mirabilis										R	R	R
P. vulgaris, P. penneri	R			R		R	R			R	R	R
M. morganii	R	R		R			R			R	R	R
P. stuartii	R	R		R				R		R	R	R
P. rettgeri	R	R		R						R	R	R
Y. enterocolitica	R	R	R	R	R	R	R					

Groupe 2 : Pénicillinase

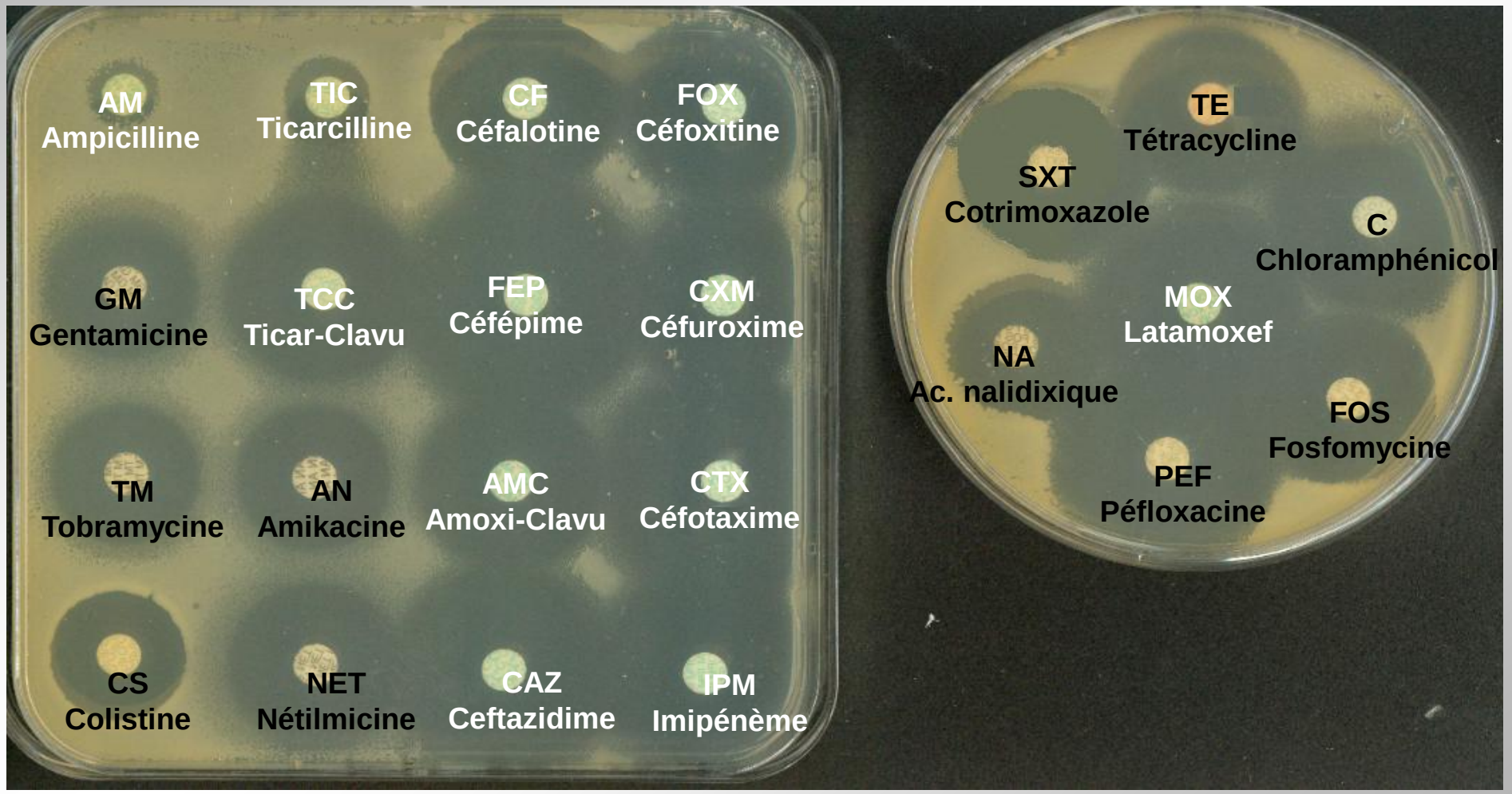
Groupe 3 : céphalosporinase

Groupe 5 : cefuroximase

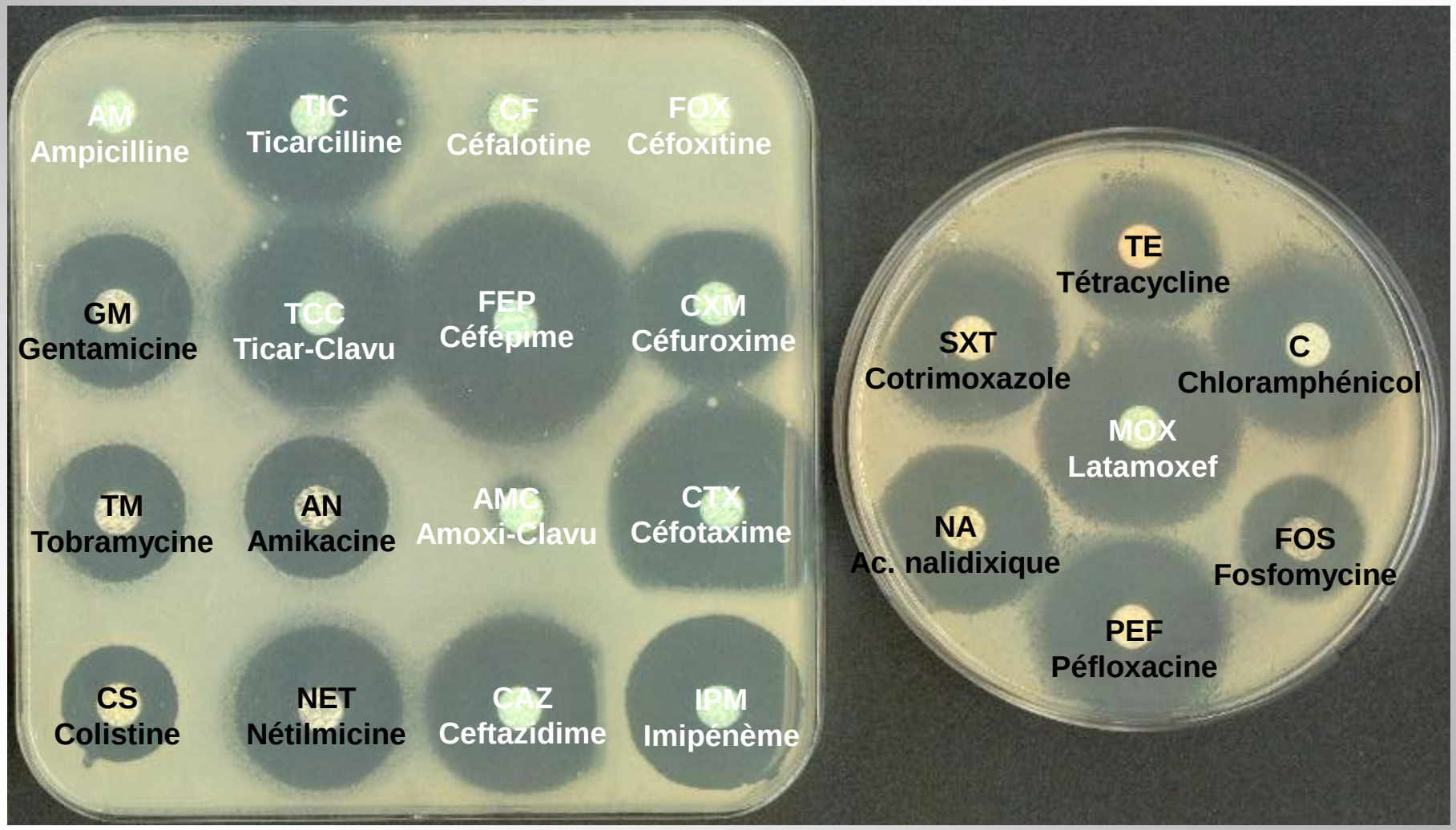
Groupe 4 : pénicillinase + céphalosporinase

R : résistance naturelle
AM : aminopénicillines ; AMC : amoxicilline + acide clavulanique ; TIC : ticarcilline ; PIP : pipéracilline
C1G : céphalosporines de 1ère génération ; FOX : céfoxitine ; MA : céfamandole ; CXM : céfuroxime ;
GM : gentamicine ; TOB : tobramycine ; TET : tétracyclines y compris la tigécycline ; COL : colistine, polymyxine B ;
FT : nitrofuranes.

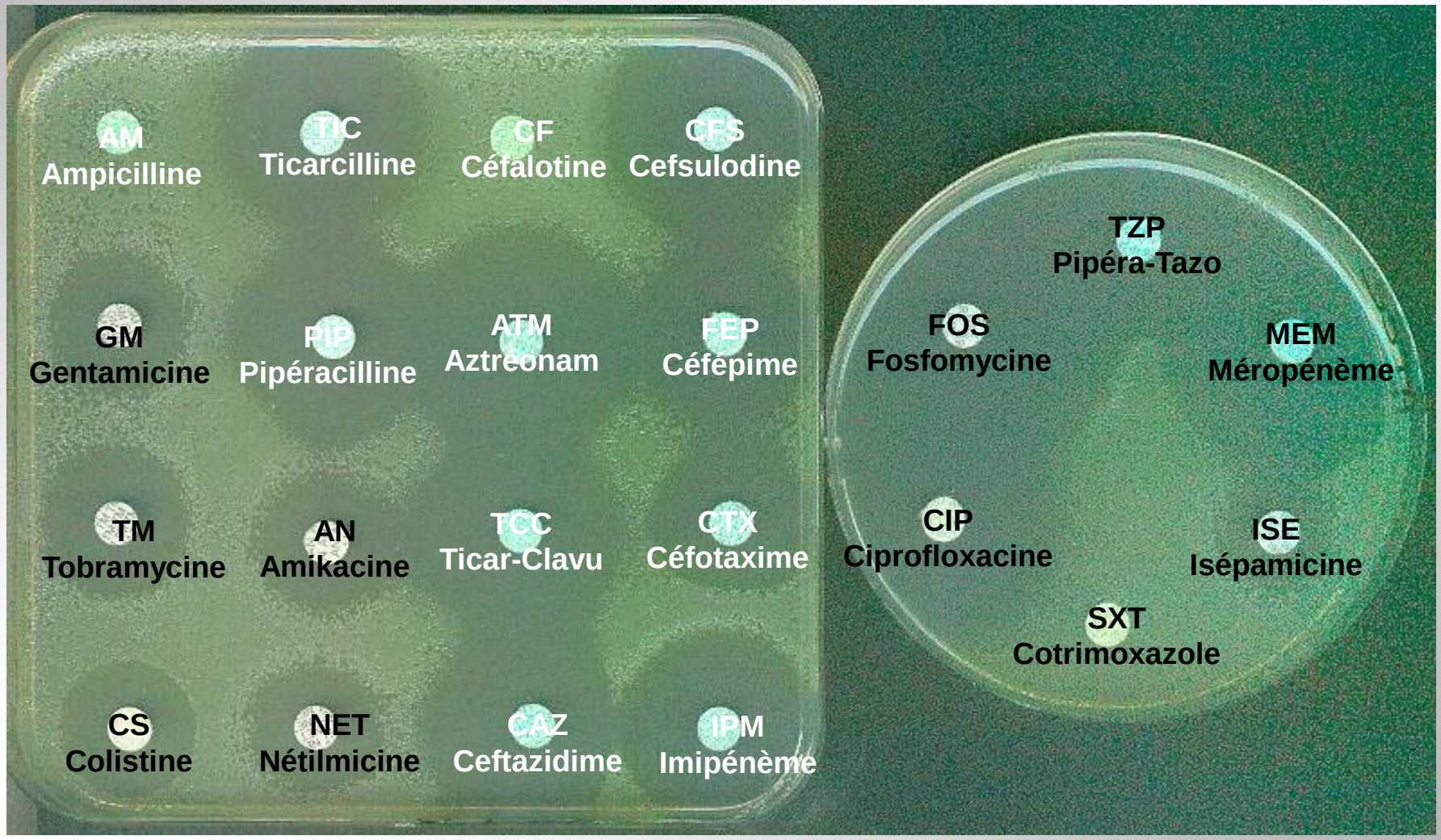
Klebsiella pneumoniae (Groupe 2)
Sauvage



Enterobacter aerogenes (Groupe 3)
Sauvage

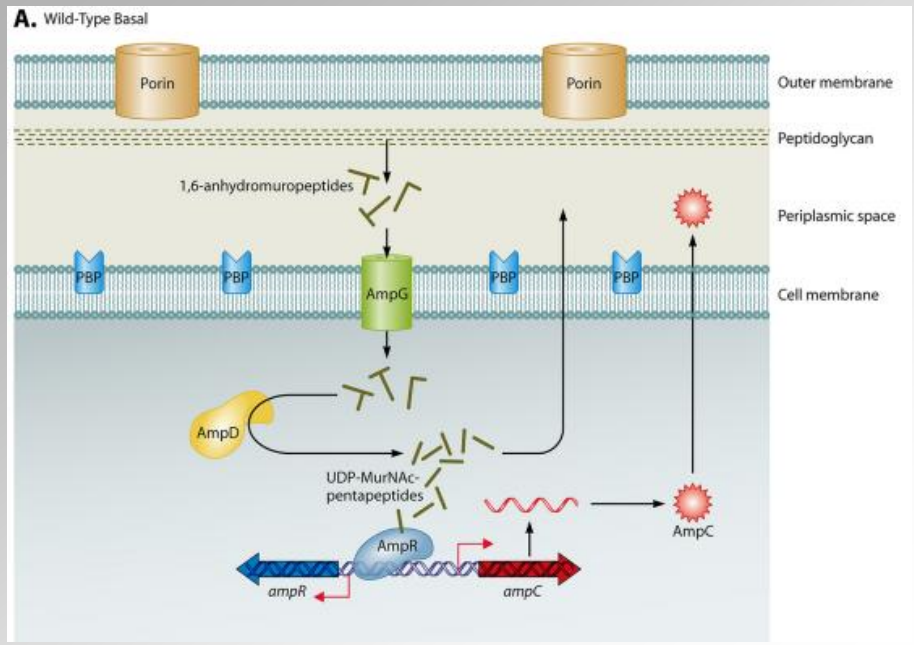


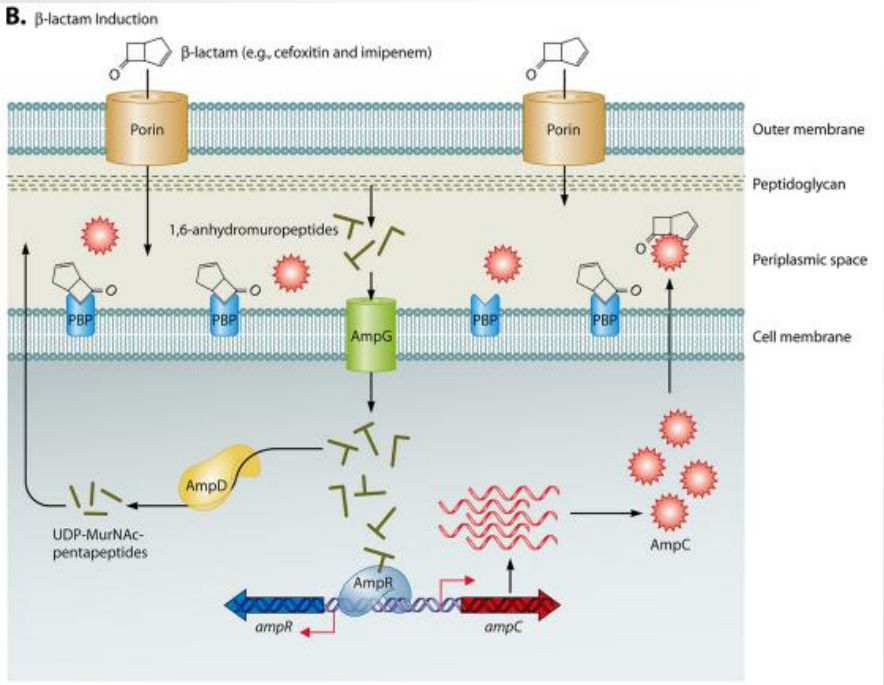
Pseudomonas aeruginosa
Sauvage

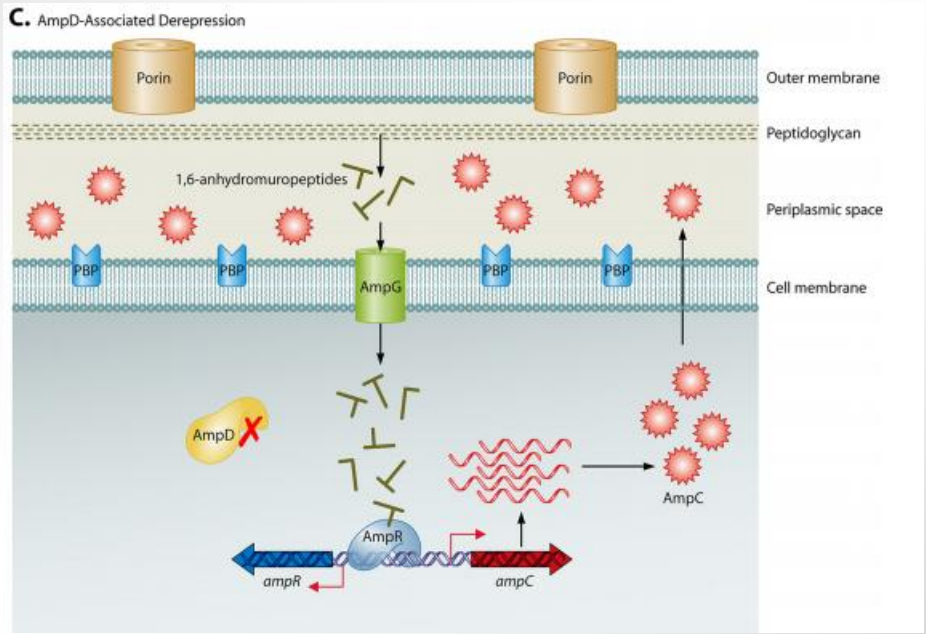


Résistances acquises par production de β-lactamases

- ✓ Hyperproduction des β-lactamases chromosomiques
  - ✓ Céphalosporinases inductibles :
    Mutations dans les gènes de régulation → dérépression
    Enterobacterales du groupe 3, *P. aeruginosa*



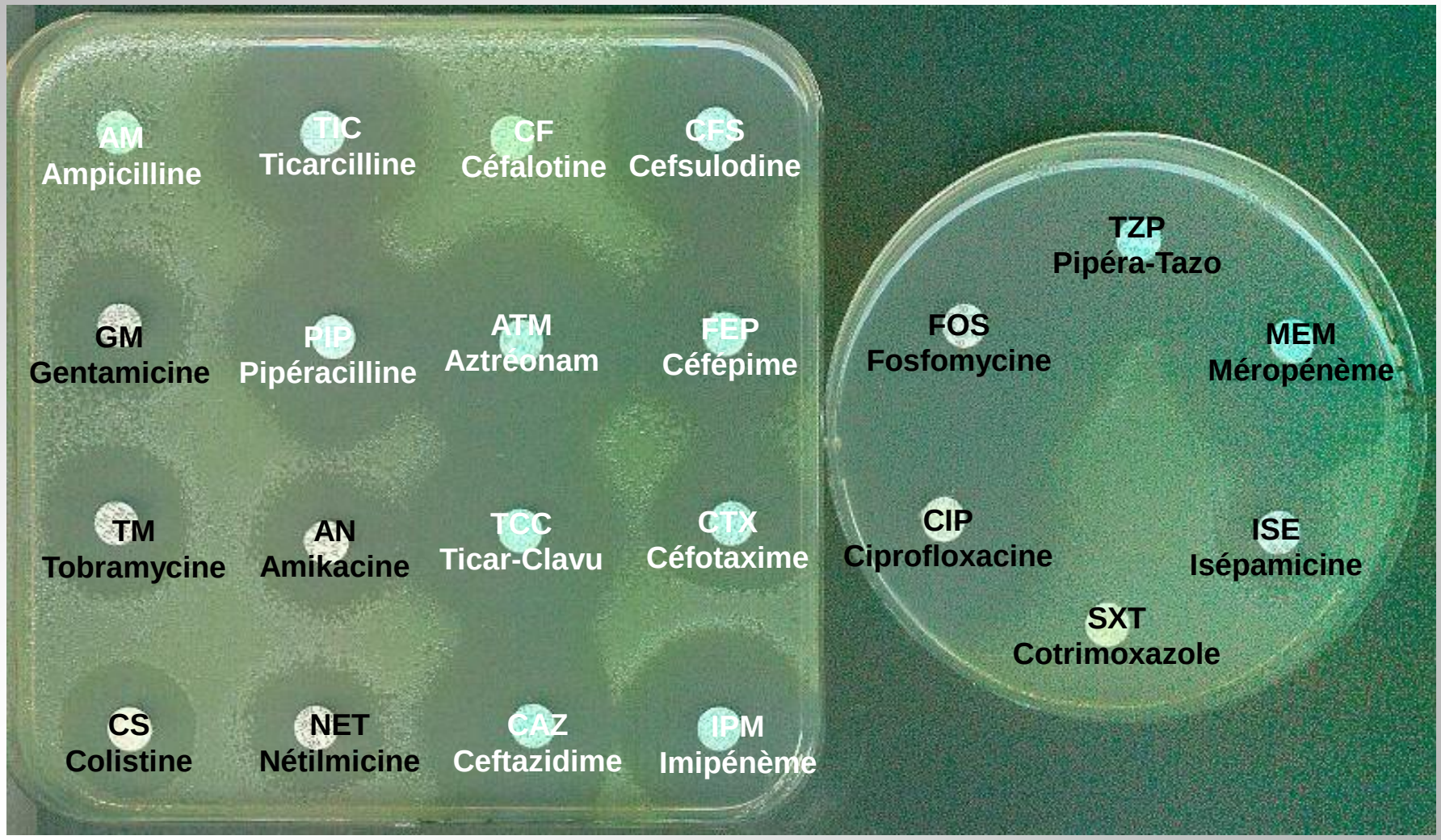




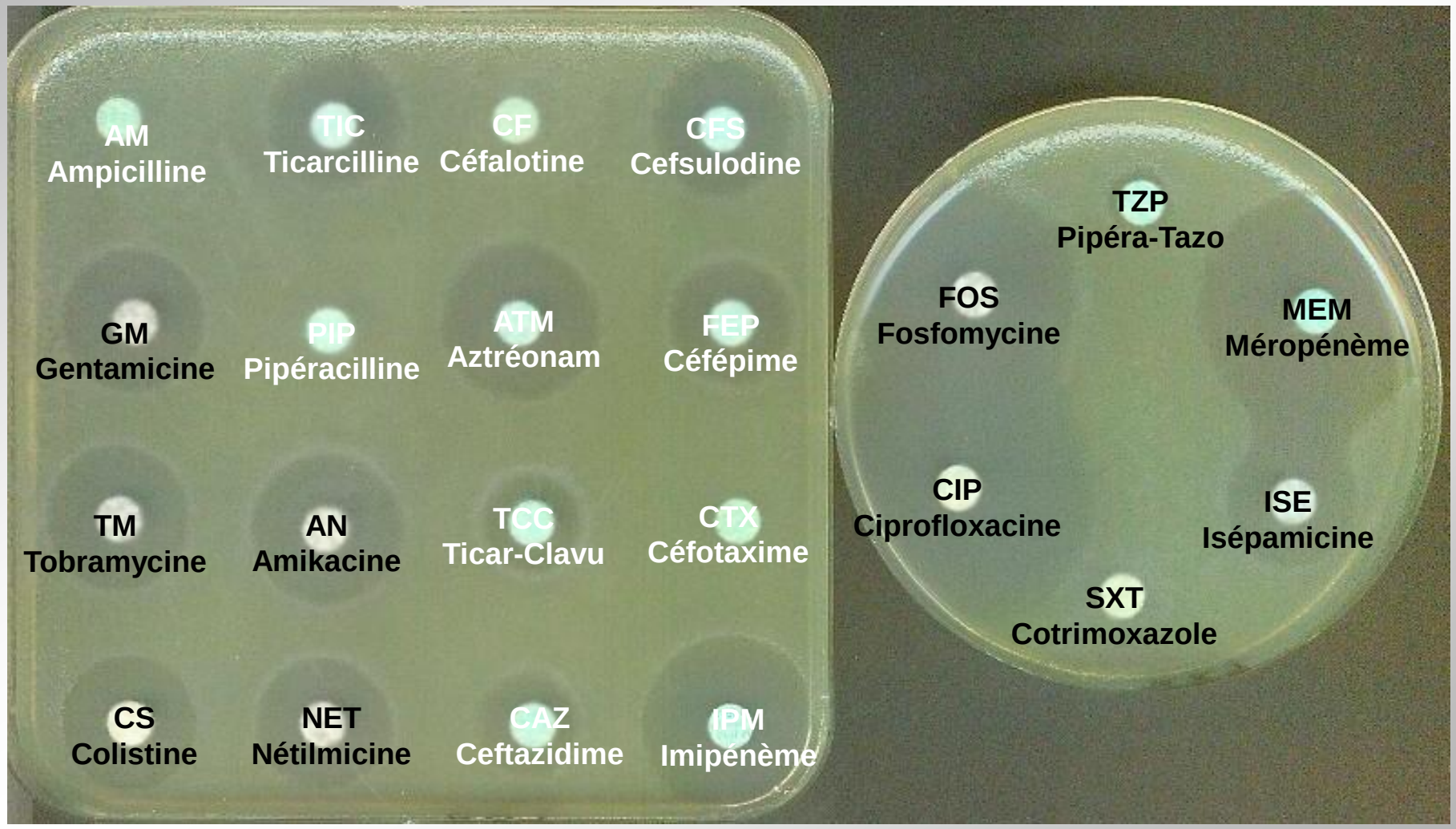
Céphalosporinases inductibles

Lister et al. CMR 2009

Pseudomonas aeruginosa
Sauvage



Pseudomonas aeruginosa
Céphalosporinase chromosomique hyperproduite

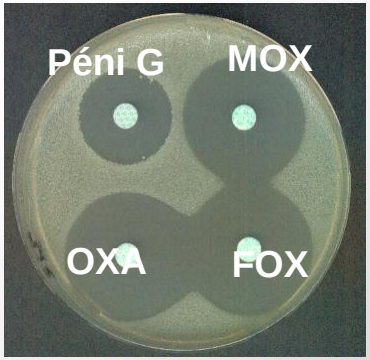


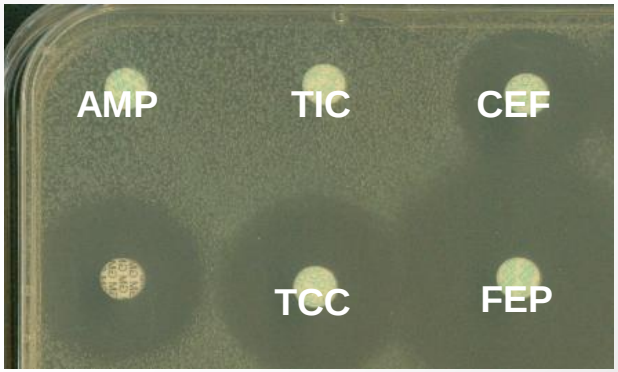
Résistances acquises par production de β-lactamases

- ✓ Hyperproduction des β-lactamases **chromosomiques**
  - ✓ Céphalosporinases inductibles :
    Mutations dans les gènes de régulation → dérépression
    Enterobacterales du groupe 3, *P. aeruginosa*
  - ✓ Céphalosporinases/Pénicillinase constitutives :
    Mutation dans le promoteur ↑ production
    E. coli, Klebsiella oxytoca
    IS apportant un promoteur : *A. baumannii*
- ✓ Elargissement du spectre des β-lactamases **chromosomiques** : *E. coli*, *K. oxytoca*

Résistances acquises par production de β-lactamases

- ✓ Acquisition de β-lactamases via des **EGM** (Pl/Tn/In)
  - ✓ Gram + : Pénicillinase Staphylocoques
    80 à 90% des souches,
  - ✓ Gram - : Pénicillinases, TRI, BLSE,
    Céphalosporinases plasmidiques
    Carbapénémases





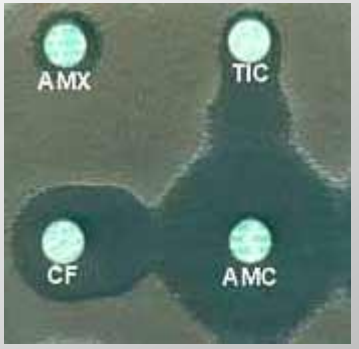


Image de synergie

Conclusions

- ✓ Mécanismes variés et spécifiques des groupes bactériens
- ✓ Emergence rapide et adaptation efficace
- ✓ Diffusion mondiale
- ✓ Risque d’impasse thérapeutique
  Peu de nouvelles molécules