

MG2 Bactériologie 2023-2024

Résistance aux aminosides

Véronique Dubois
Laboratoire de Microbiologie, UMR5234,
Equipe ARMYNE
CNRS, Bordeaux

Résistance aux aminosides

I- Structure chimique des aminosides

II- Classification des aminosides

III- Mode d'action des aminosides

IV- Résistance aux aminosides

1-Défaut d'accumulation

2-Détoxification enzymatique

3-Altération de la cible

Les aminosides ou aminoglycosides

I- Structure chimique

- Molécules naturelles, produites par des souches de *Streptomyces* (streptomycine, néomycine, kanamycine, tobramycine) ou de *Micromonospora* (gentamicine, sisomicine).

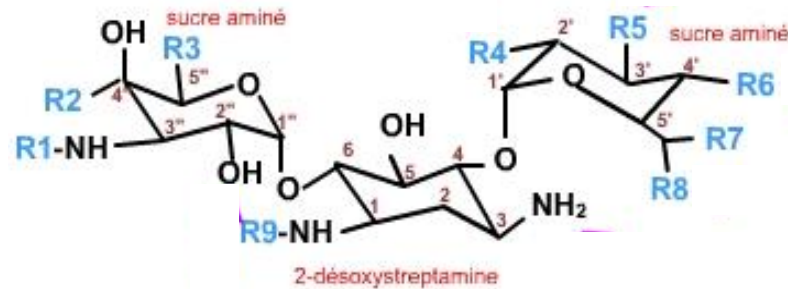
Aminosides

Historique

1943 Streptomycine Waksman <i>et al</i>	<i>Streptomyces griseus</i>
1949 Néomycine	<i>S. fradiae</i>
1957 Kanamycine	<i>S. kanamyceticus</i>
1959 Paromomycine	<i>S. rimosus</i>
1963 (1967) Gentamicine	<i>Micromonospora purpurea</i>
1971 Butirosine	<i>B. circulans</i>
1973 Apramycine	<i>S. tenebrarius</i>
1974 Tobramycine	<i>S. tenebrarius</i>
1976 Amikacine	hémi-synthèse
1982 Nétilmicine	hémi-synthèse
1995 Isépamicine	hémi-synthèse

- Base pour l'élaboration de produits semi-synthétiques (amikacine, isépamicine, nétilmicine):
 - actives sur les bactéries devenues résistantes
 - moins toxiques

Les aminosides ou aminoglycosides

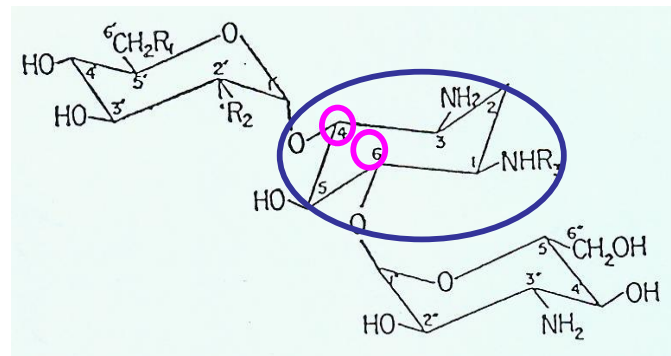
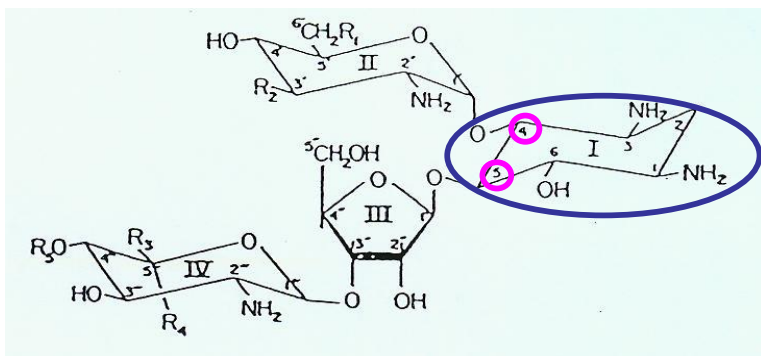
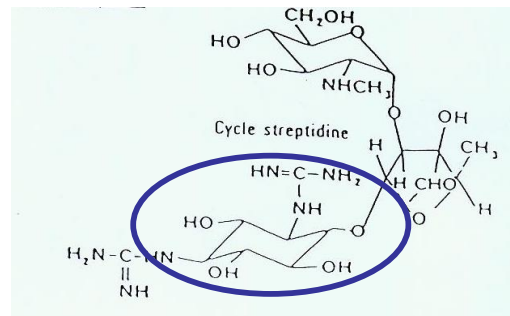


- Un cycle à 6 carbones : l'aminocyclitol (streptidine ou, 2-désoxystreptamine), relié par des ponts osidiques à 1 ou plusieurs sucres dont 1 est aminé
- Propriétés chimiques :
 - Molécules volumineuses polaires et polycationiques, hydrosolubles
 - Sulfates : basiques (pKa # 8), stables à pH neutre
 - Stable à la température ambiante (ciments osseux)
 - Inactivés par pH acide, anaérobiose

Les aminosides ou aminoglycosides

II- Classification

- Cycle streptidine : streptomycine
spectinomycine (1 sucre)
- Cycle desoxystreptamine (2-DOS):
 - Substitués en 4-5 : néomycine (3 sucres) paromomycine
 - Substitués en 4-6 : amikacine, kanamycine, gentamicine, isépamicine, nétilmicine, tobramycine



Les aminosides ou aminoglycosides

III- Mode d'action

- Entrée : 3 phases

1 passive : déplacement des $\text{Ca}^{++}/\text{Mg}^{++}$

2 énergie-dépendantes :

force proton motrice générée par le métabolisme oxydatif

EDP-I : lente => bactériostase

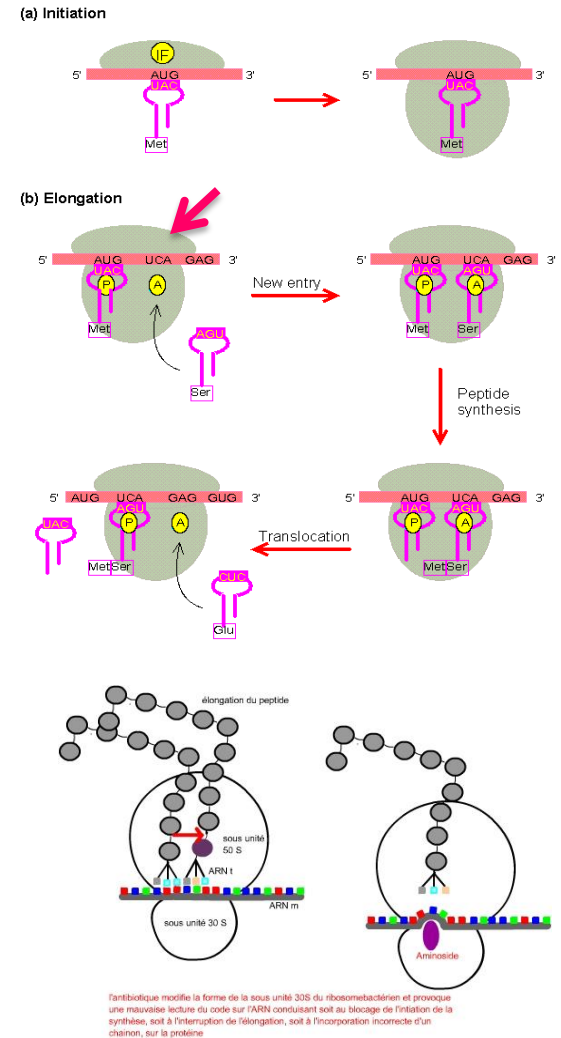
EDP-II : rapide => bactéricidie

Inhibition de la synthèse protéique

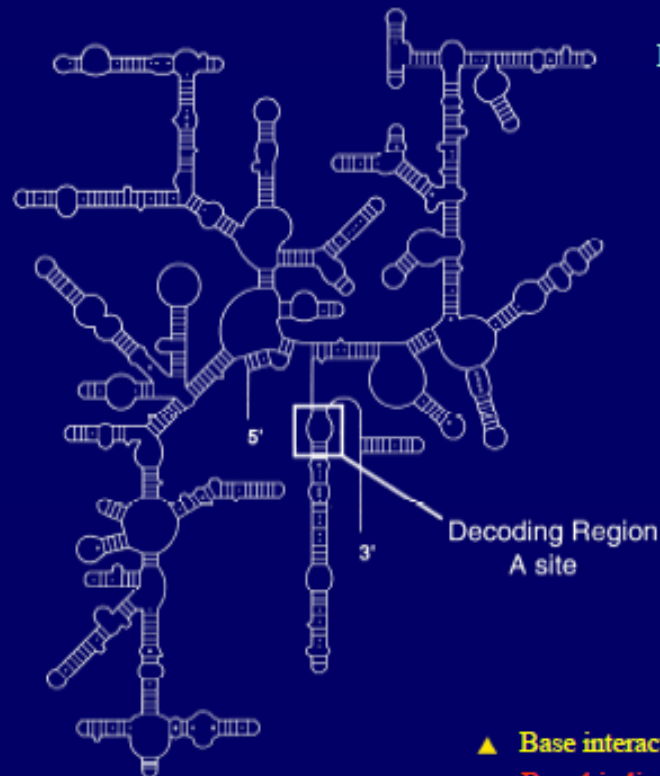
fixation sur la sous unité 30S du ribosome bactérien (1 ou N sites) :

ARNr 16S: site A → erreurs de lecture

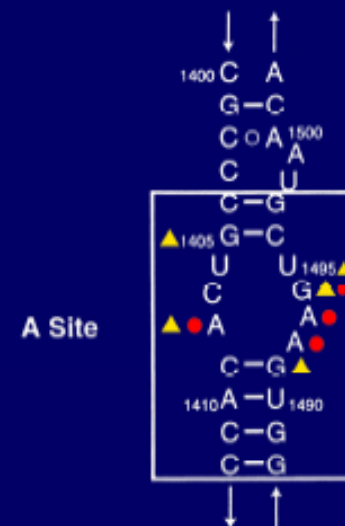
-Inhibition de l'initiation, de l'élongation, de la réplication de l'ADN



Interaction of aminoglycosides with 16S RNA



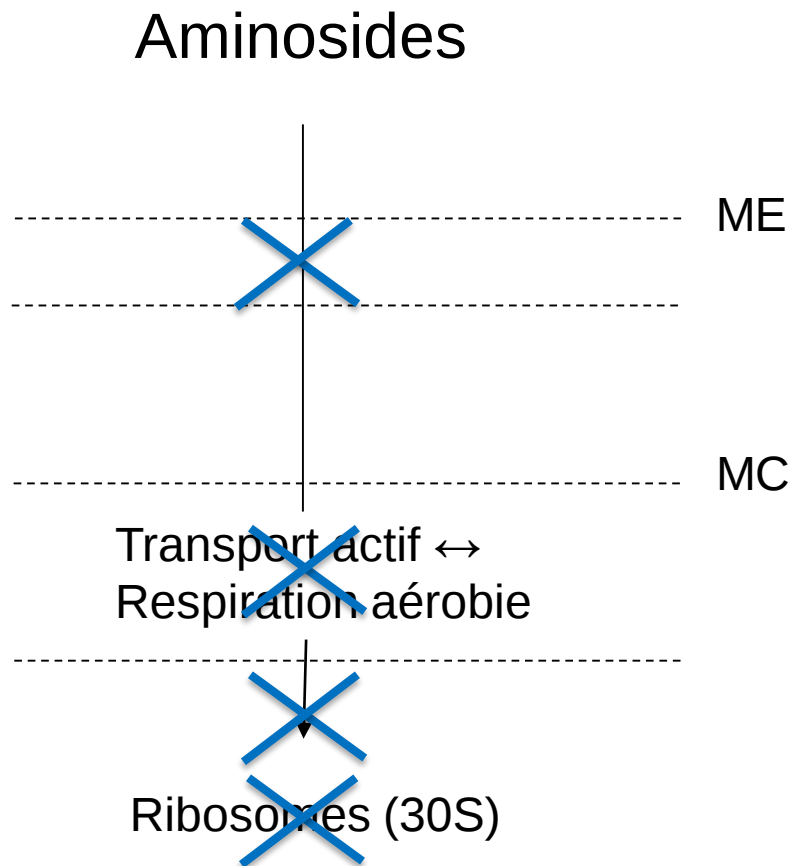
Eukaryotes: G1408 Prokaryotes: A1408



- ▲ Base interacting with tRNA
- Base binding aminoglycosides

Methylation at the A site: G-1405(N7) and A-1408(N1) in actinomycetes; C-1407(N5) in *Escherichia coli*

IV-Résistance aux aminosides : mécanismes biochimiques



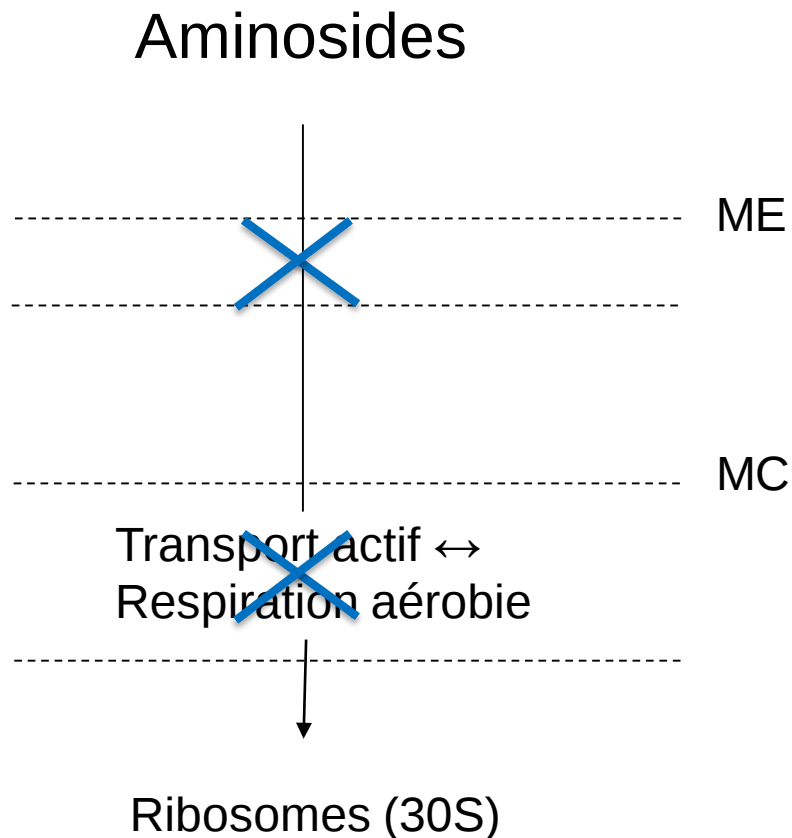
1- Défaut d'accumulation

- *Imperméabilité de la ME
- *Absence de transport actif
- *Efflux

2- Détoxification enzymatique

3- Défaut d'affinité des cibles

IV-Résistance aux aminosides : mécanismes biochimiques



1- Défaut d'accumulation

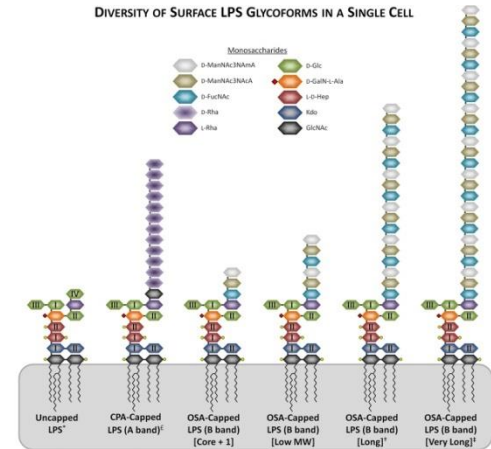
- *Imperméabilité de la ME
- *Absence de transport actif
- *Efflux

2- Détoxification enzymatique

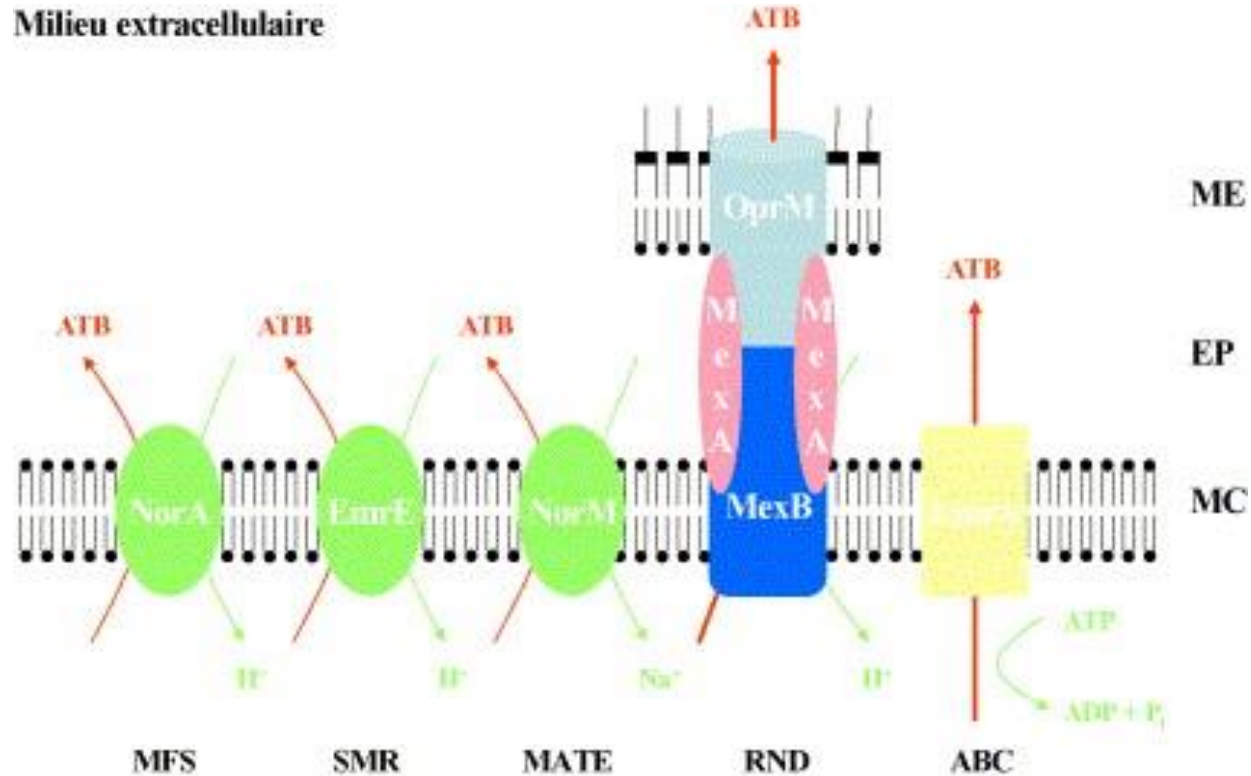
3- Défaut d'affinité des cibles

1-Défaut d'accumulation

- Imperméabilité de la ME :
 - *Serratia marscecens* : mutation porine
 - *Pseudomonas aeruginosa*
 - protéine OprH : charges + et affinité > celle des aminosides pour les phosphates du LPS
 - Modification du LPS, production d'exopolysaccharide
- Absence de transport actif :
 - Anaérobies strictes: résistance naturelle
 - ↘ de la sensibilité aux germes anaérobies facultatifs (entérocoques)
 - Altérations de la chaîne respiratoire => ↓ transport actif au travers de la membrane cytoplasmique : « mutants respiratoires » (*Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*)



5 grandes familles de pompes

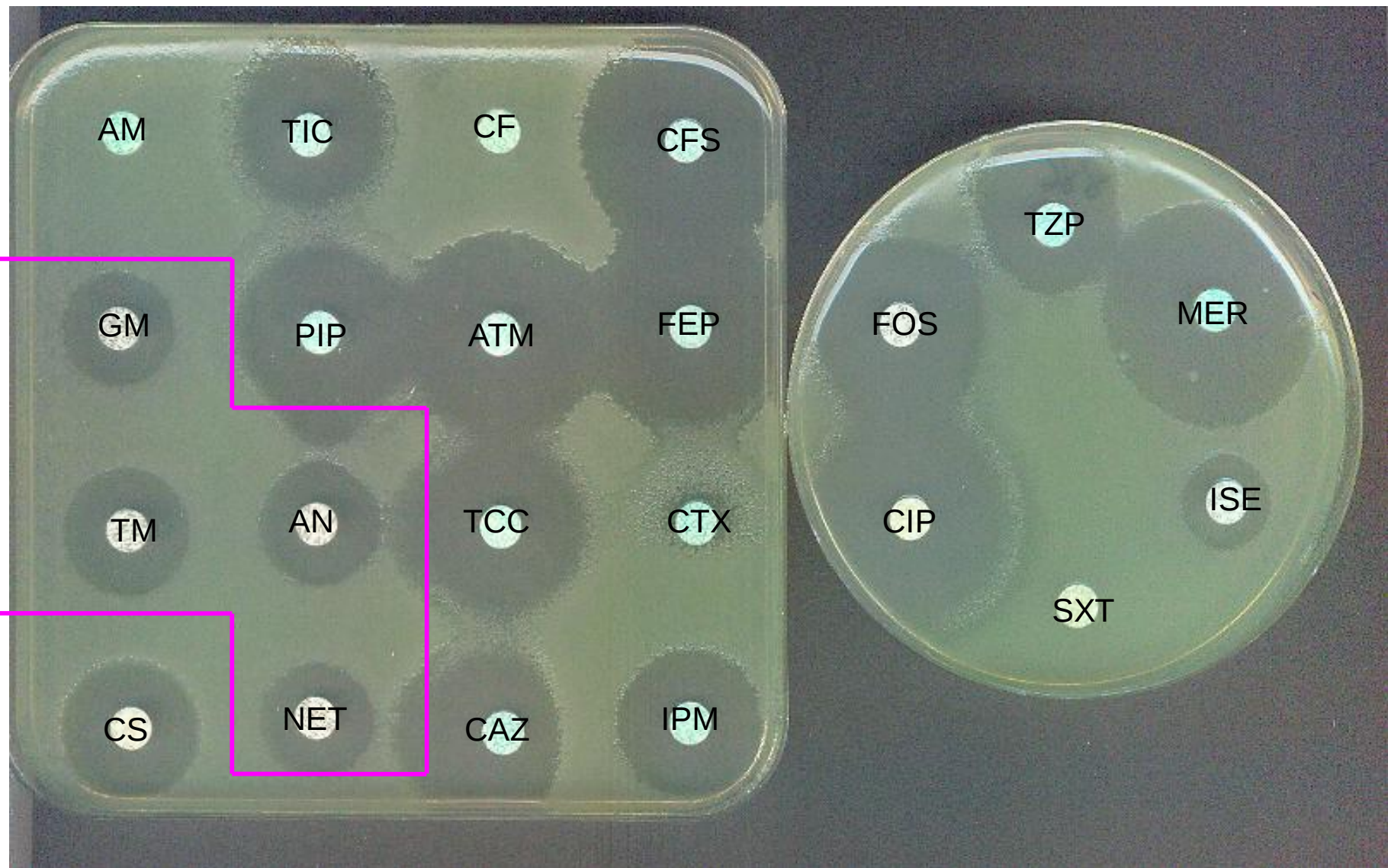


1-Défaut d'accumulation

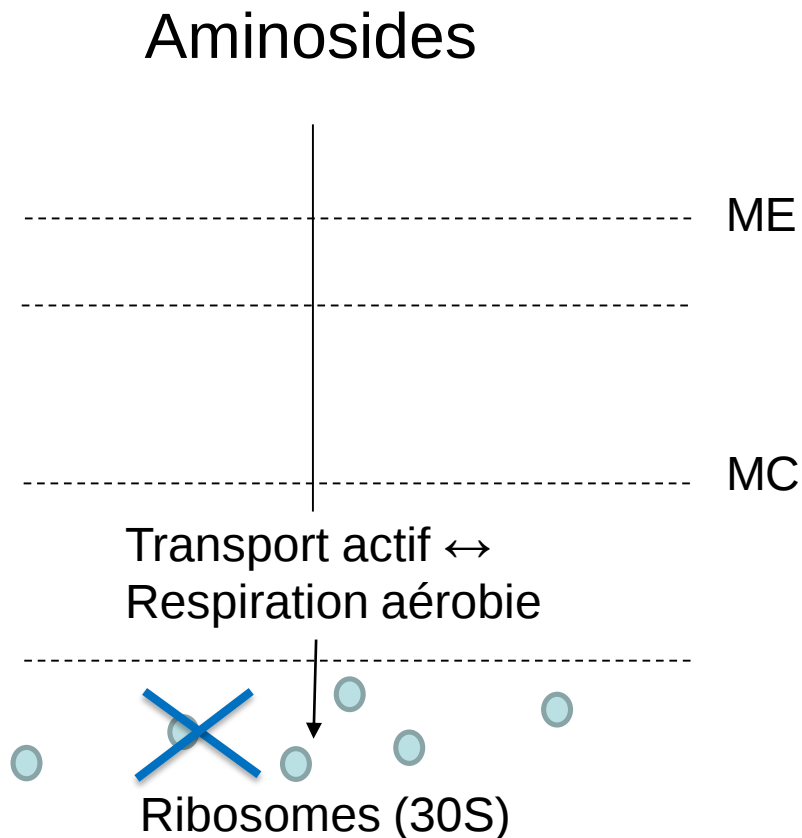
- Systèmes d'efflux :
 - *Stenotrophomonas maltophilia* : SmeABC
 - *P. aeruginosa* : MexXYM
 - *Burkholderia cepacia* : ArmABA, BpeABB
 - *Acinetobacter baumannii* : AdeABC, AbeM
 - *Escherichia coli* : AcrD

=> Résistance croisée entre aminosides ($\pm$ autres antibiotiques),
à niveau variable (BN)

P. aeruginosa : phénotype « imperméabilité » (Pa 886)



IV-Résistance aux aminosides : mécanismes biochimiques



1- Défaut d'accumulation

- *Imperméabilité de la ME
- *Absence de transport actif
- *Efflux

2- Détoxification enzymatique

3- Défaut d'affinité des cibles

2-Détoxification enzymatique

- Enzymes modifiant les aminosides :
 - substituent certaines fonctions OH ou NH₂
=> ↓ affinité des aminosides pour leur cible
 - Constitutives, intracellulaires, cytoplasmiques, non diffusibles
 - Chromosomiques ou transférables (pl/tn/ln)
 - Origine : acquises : microorganismes
environnementaux producteurs d'aminosides
chromosomiques : enzymes à large spectre
(aminosides : substrat fortuit)

2-Détoxification enzymatique

- 3 groupes en fonction de la réaction qu'elles catalysent.

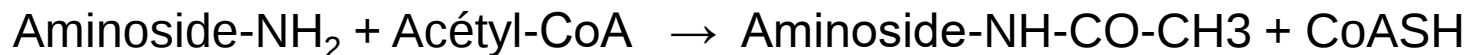
- **Aminosides phosphotransférases APH**



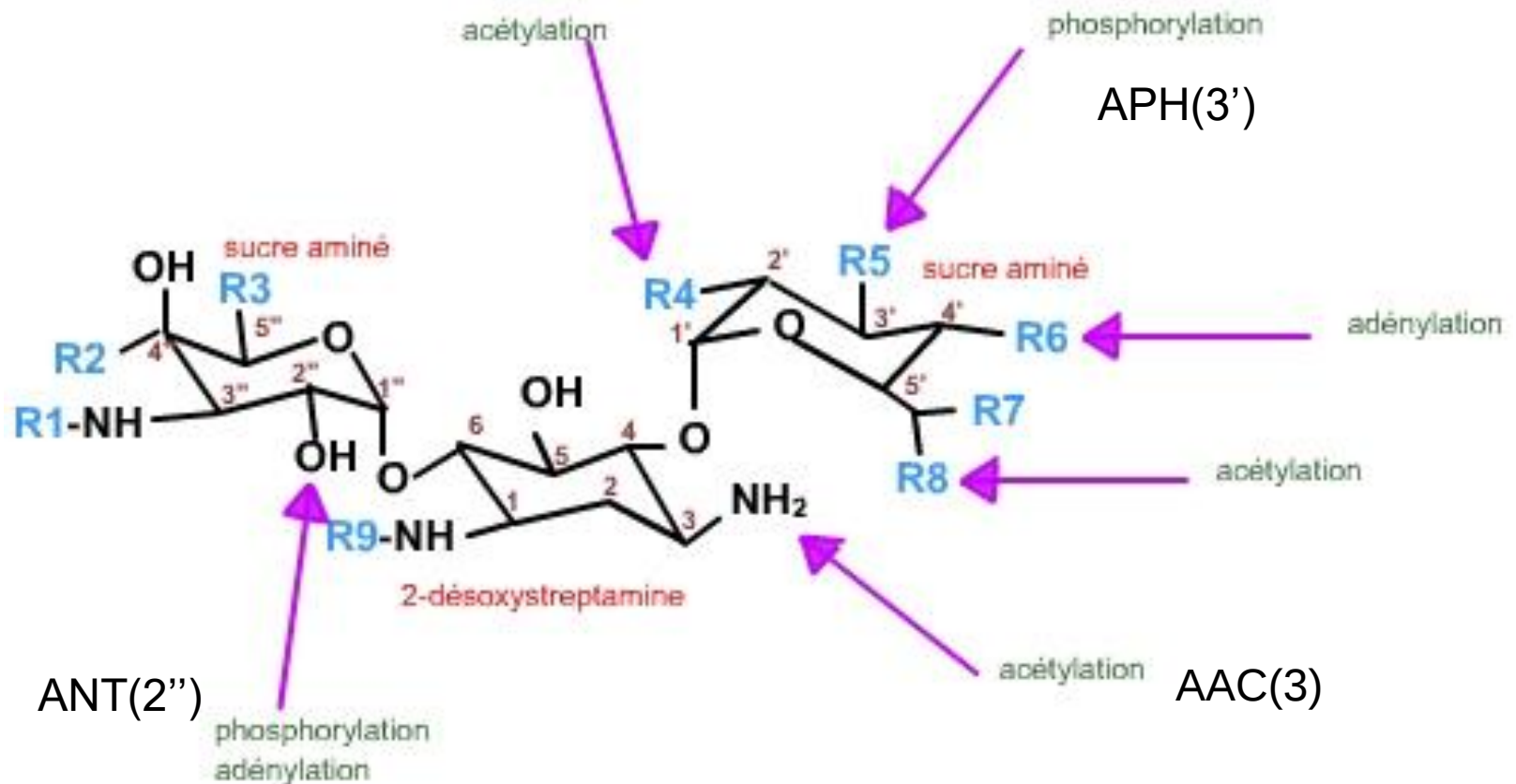
- **Aminosides adénylyltransférases AAD =
Aminosides nucléotidyltransférase ANT**



- **Aminosides acétyltransférases AAC**

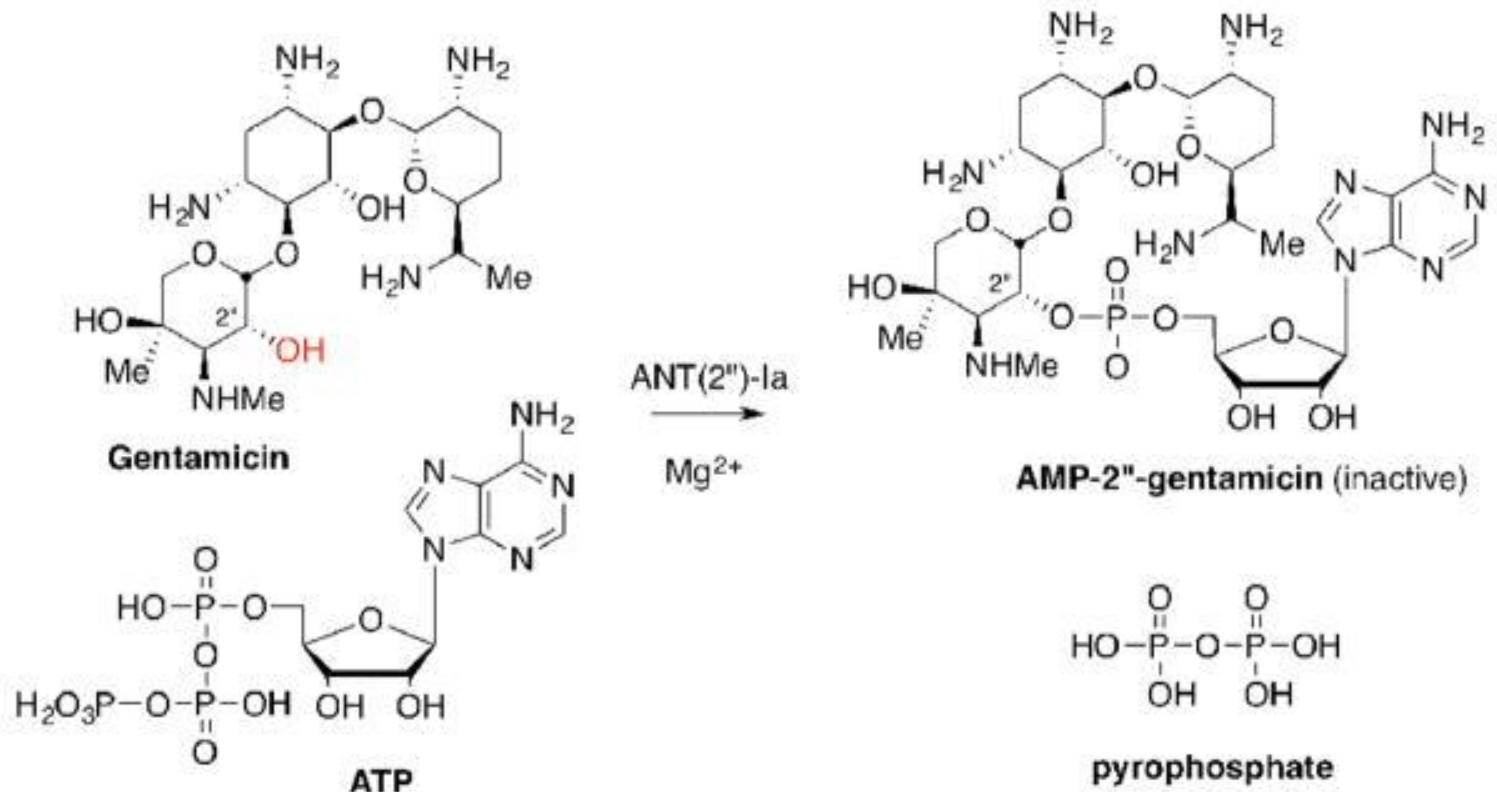


2-Détoxication enzymatique



Dans chaque groupe, il existe des sous-classes, selon le site d'action sur la molécule d'aminoside : carbone porteur de la fonction = chiffre arabe .

2-Détoxication enzymatique



2-Détoxification enzymatique

Pour certaines de ces enzymes, il existe des iso-enzymes : chiffre romain profils de substrat différents → phénotypes de résistance différents

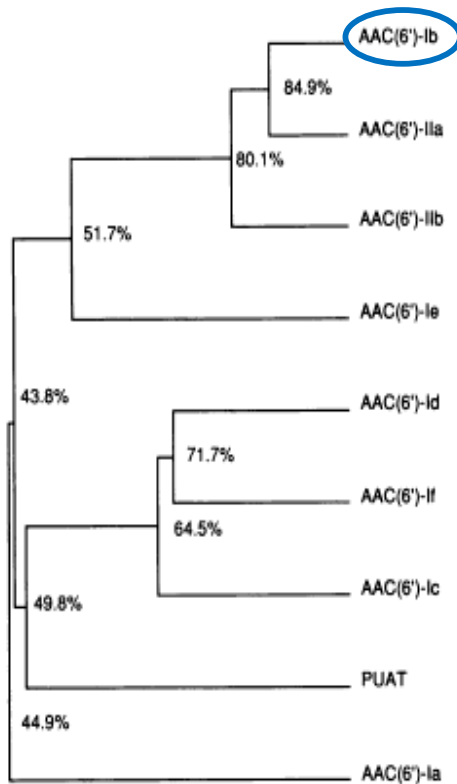
Aminoside	AAC(3)				
	I	II (= V)	III*	IV	VI
Gentamicine	+	+	+	+	+
Tobramycine	-	+	+	+	-
Nétilmicine	-	+	-	+	-
Amikacine	-	-	-	-	-
2'-N-éthylnétilmicine	-	+	-	+	-
6'-N-éthylnétilmicine	-	+	-	+	+
Fortimicine	+	-	-	-	-
Apramycine	-	-	-	+	-
5-épisomicine	-	(+)	+	-	-

(+) : CMI peu ou pas modifiée, activité bactéricide ↓ ou abolie, plus de synergie avec les β -lactamines.

* Spécifique de *P. aeruginosa*

2-Détoxification enzymatique

- Analyse de la séquence nucléotidique : variants (lettre)



Profils différents :

aac(6')-Ib : TNtA (Leu119)

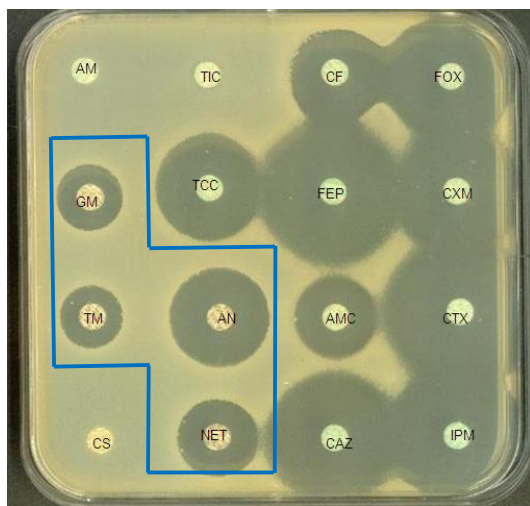
aac(6')-Ib' : GTNt (S119)

aac(6')-Ib-cr : FQ

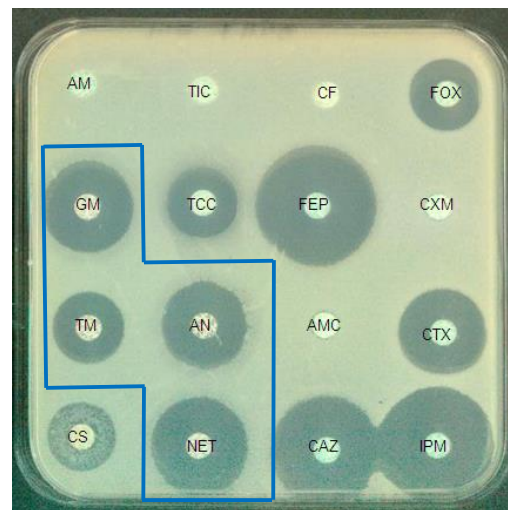
Résistances naturelles

Enzymes chromosomiques, spécifiques d'espèces

Enzyme	Gène	Organisme	Phénotype
AAC(2')	<i>aac(2')-Ia</i>	<i>Providencia</i> spp.	GTNt
AAC(6')-Ic	<i>aac(6')-Ic</i>	<i>Serratia marcescens</i>	TNtA
AAC(6')-Ig	<i>aac(6')-Ig</i>	<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	TNtA
APH(3')-VII	<i>aphA-7</i>	<i>Campylobacter</i> spp.	KN(A)



Providencia stuartii



Serratia marcescens

Résistances acquises : enzymes transférables, hyperproduction d'enzymes chromosomiques

Phénotypes de résistance des bacilles à Gram négatif aux aminosides

Phénotype	Enzyme
G	AAC(3)-I
GT	ANT(2''), AAC(3)-VI
GTNt	AAC(3)-II, AAC(3)-III, AAC(3)-IV, AAC(6')-II
TNtA	AAC(6')-I

G : gentamicine, T : tobramycine, Nt : nétilmicine, A : amikacine (# isépamicine), K : kanamycine

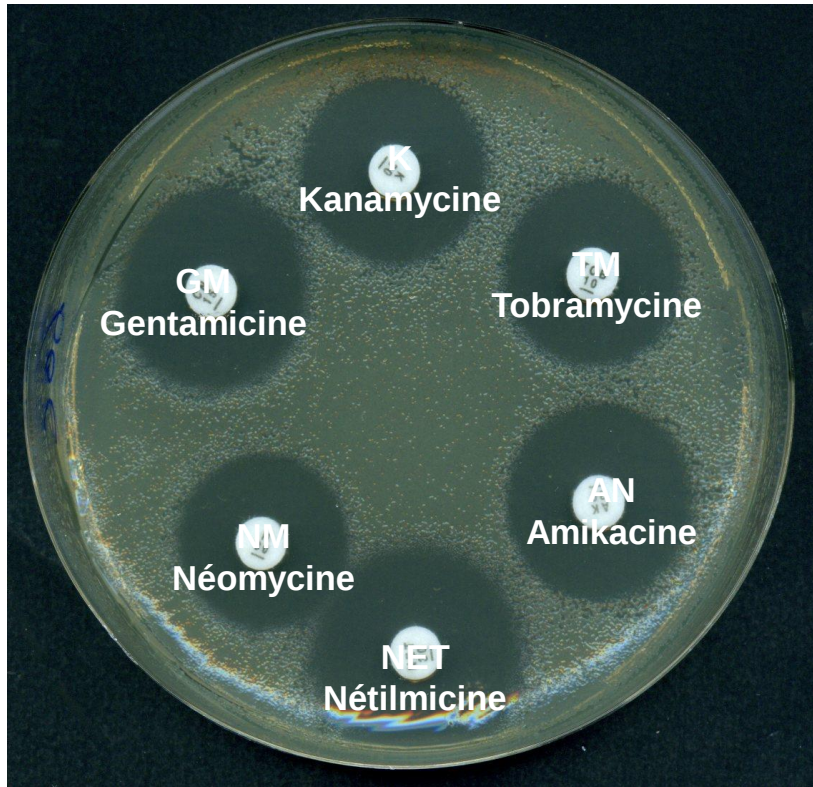
Phénotypes de résistance des cocci à Gram positif aux aminosides

Phénotype	Enzyme
KTA	ANT(4')-I
KGTNtA	AAC(6')-I/APH(2'')-I

Escherichia coli

Ec60C

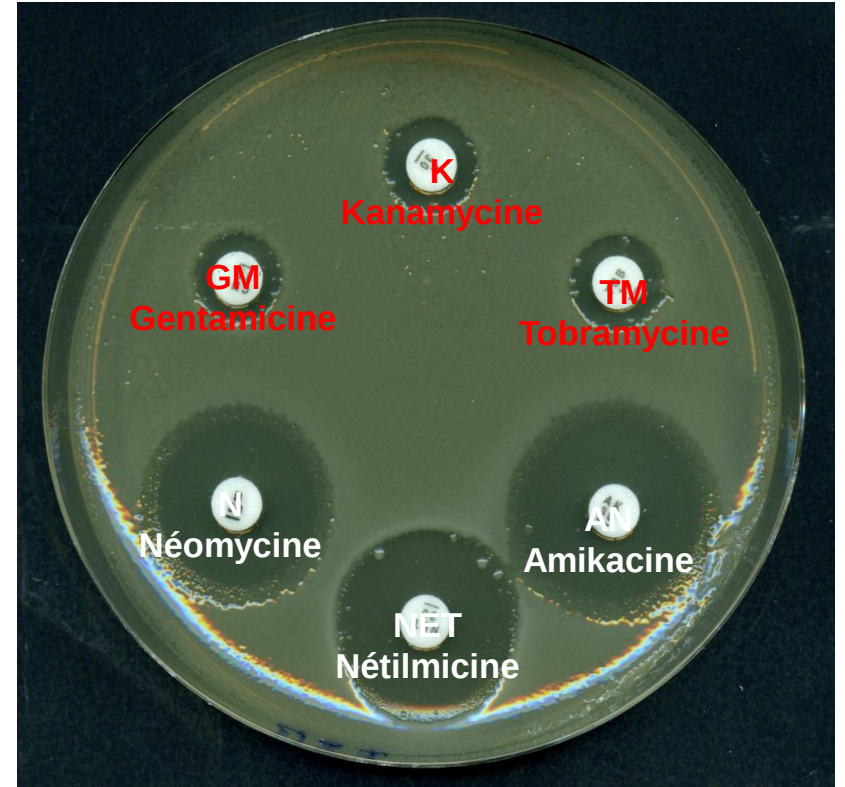
Sauvage



Escherichia coli

Ec407

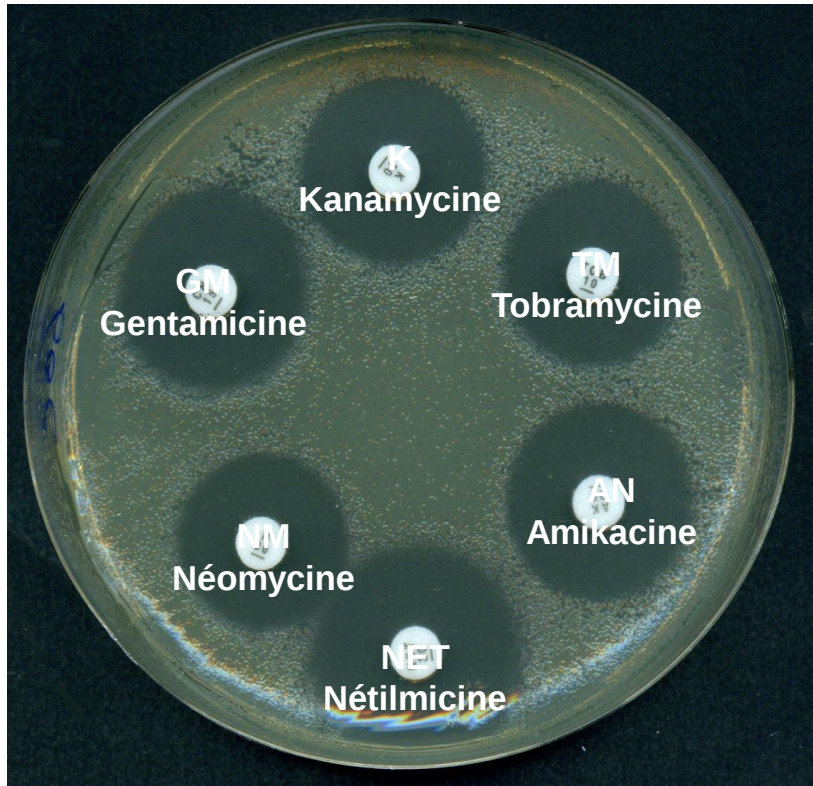
KGT ⇔ ANT(2'')



Escherichia coli

Ec60C

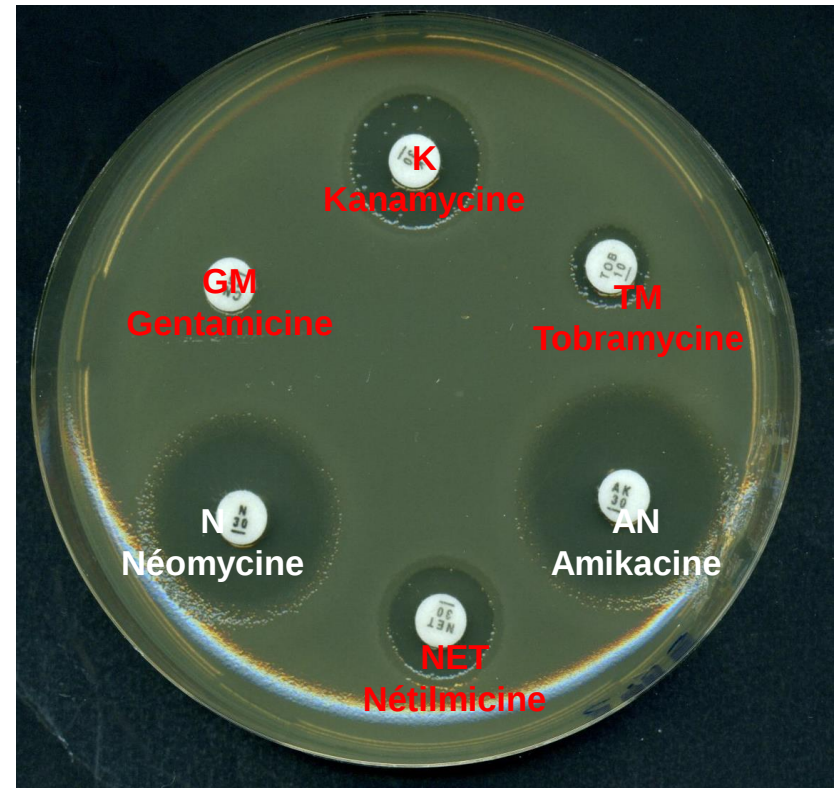
Sauvage



Escherichia coli

Ec2945

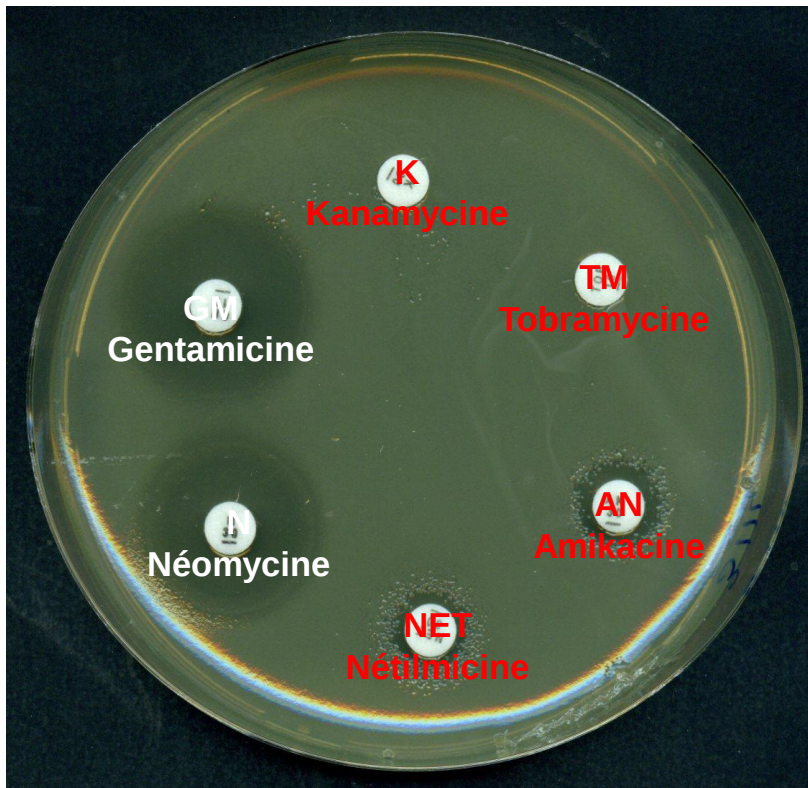
KGTNt ⇌ AAC(3)-II



Escherichia coli

Ec3114

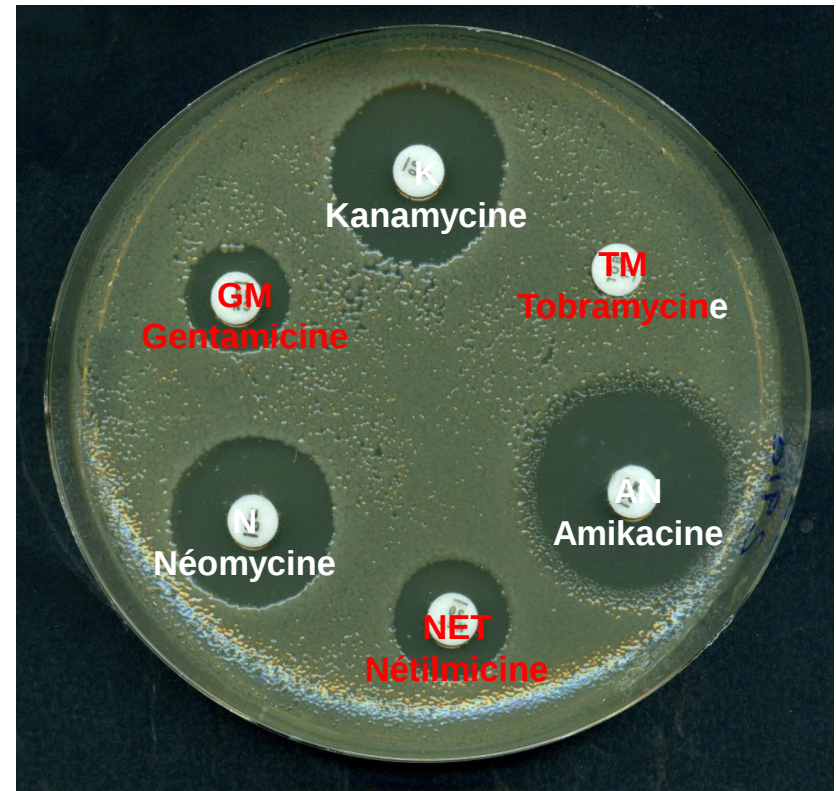
KTNtA (HN) $\Leftrightarrow$ AAC(6')-Ib



Escherichia coli

Ec2910

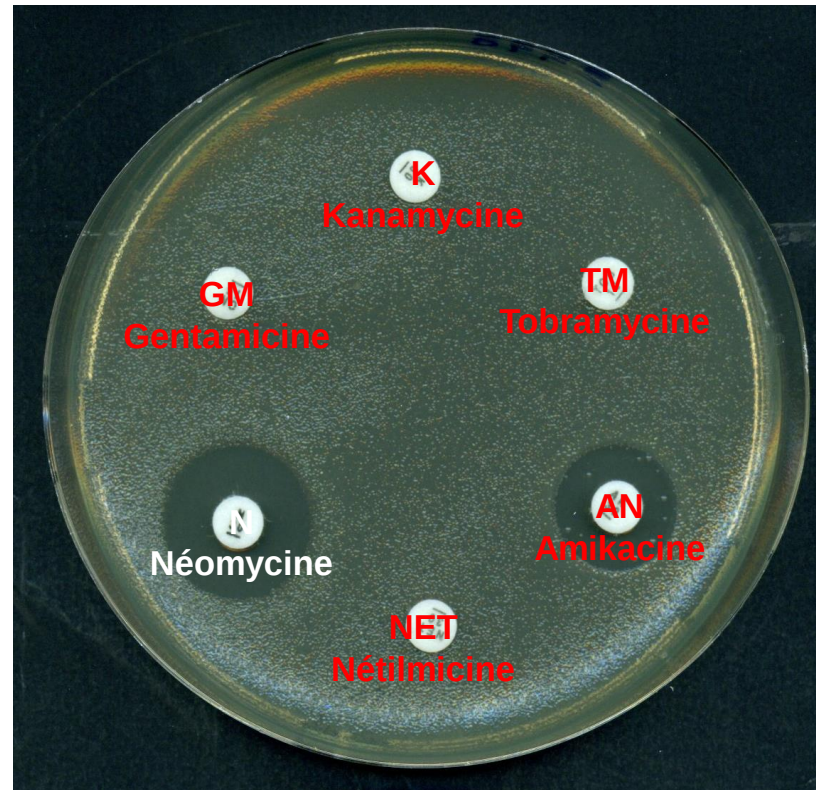
GTNt $\Leftrightarrow$ AAC(6')-Ib' mutée
(Leu119→Ser)



Escherichia coli

Ec2990

KGTNtA $\Leftrightarrow$ AAC(6')-Ib + AAC(3)-II

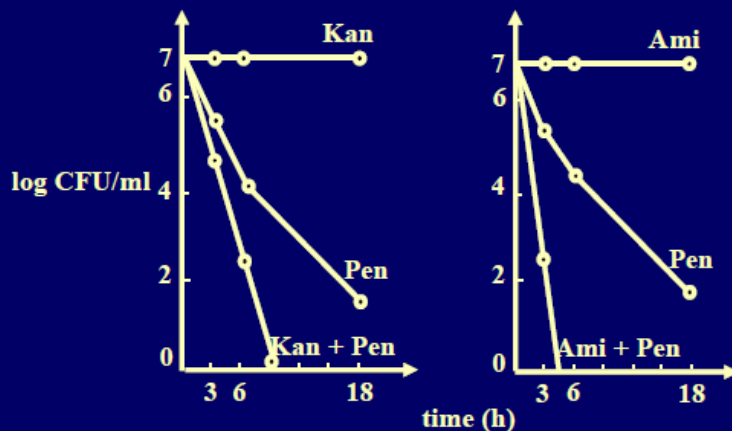


2-Détoxification enzymatique

Niveau de résistance dépend : de l'enzyme (APH)
de l'antibiotique (profil dissocié)
de la bactérie hôte

Présence de l'enzyme : ↓ de la bactéricidie ou perte de la synergie
hyperproduction par mutation

Effect of combinations of penicillin G and aminoglycosides against susceptible *E. faecalis*



Effect of combinations of penicillin G and aminoglycosides against *E. faecalis* [APH (3')]

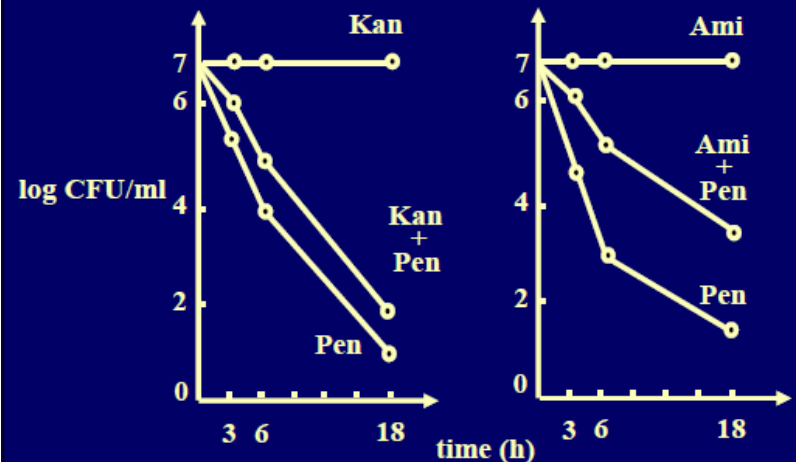


Figure 3.3. *Escherichia coli*. Percentage (%) of Invasive Isolates with resistance to aminoglycosides, by country, EU/EEA countries, 2013

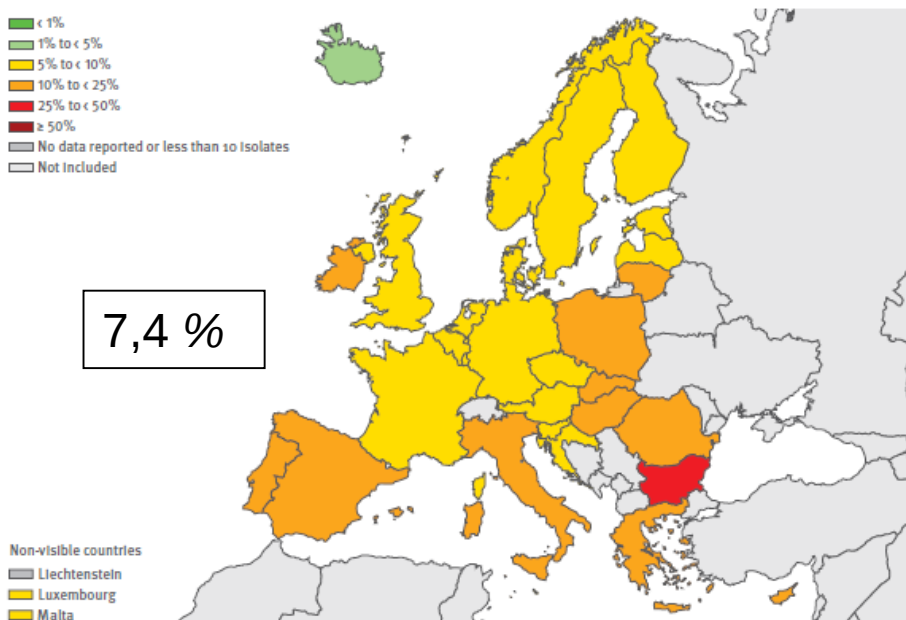
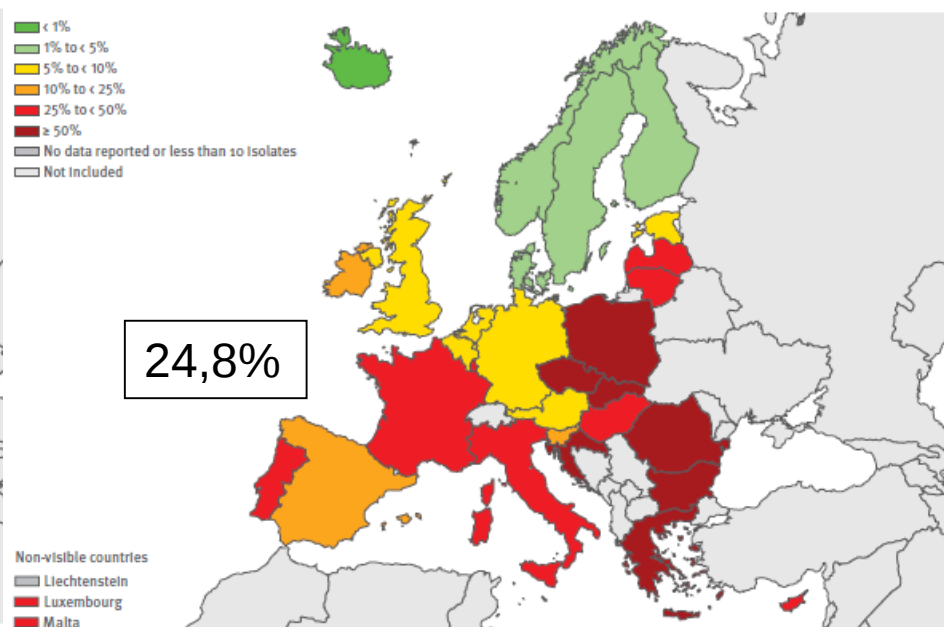


Figure 3.8. *Klebsiella pneumoniae*. Percentage (%) of Invasive Isolates with resistance to aminoglycosides, by country, EU/EEA countries, 2013

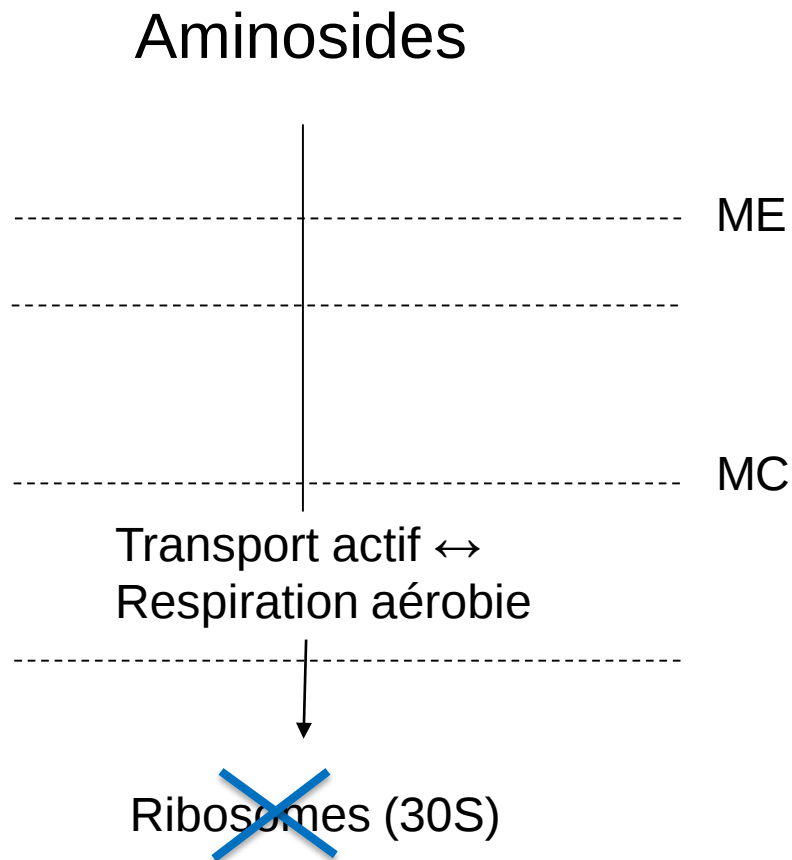


Annual report EARS 2018

Exemple: CHU de Bordeaux (Pellegrin, SA, Pédiatrique) : % I +R

Bactéries	Gentamicine	Tobramycine	Amikacine
<i>S. aureus</i>	1-2%	7-13%	-
Entérobactéries	5-9%	6-15%	1-6%
<i>P. aeruginosa</i>	7-19%	5-8%	5-6%
<i>A. baumannii</i>	8-16%	0-10%	0-4%

IV-Résistance aux aminosides : mécanismes biochimiques



1- Défaut d'accumulation

- *Imperméabilité de la ME
- *Absence de transport actif
- *Efflux

2- Détoxification enzymatique

3- Défaut d'affinité des cibles

3-Altération de la cible

Altération de la cible (I)

Mutations

- Protéine ribosomale

Protéine S12 → Streptomycine

Protéine S5 → Spectinomycine

Protéine L6 → Gentamicine

- ARN ribosomal

A₅₂₃ → C | Streptomycine

C₉₁₂ → U

C₁₁₉₂ → U | Spectinomycine

G₁₀₆₄ → C

A₁₄₀₈ → G → Amikacine + gentamicine + néomycine B
= *Mycobacterium abcessus*, *M. chelonae*

Importance du nombre de copie de l'opéron rRNA

Conséquences: Résistance haut niveau, perte synergie avec β -lactamines

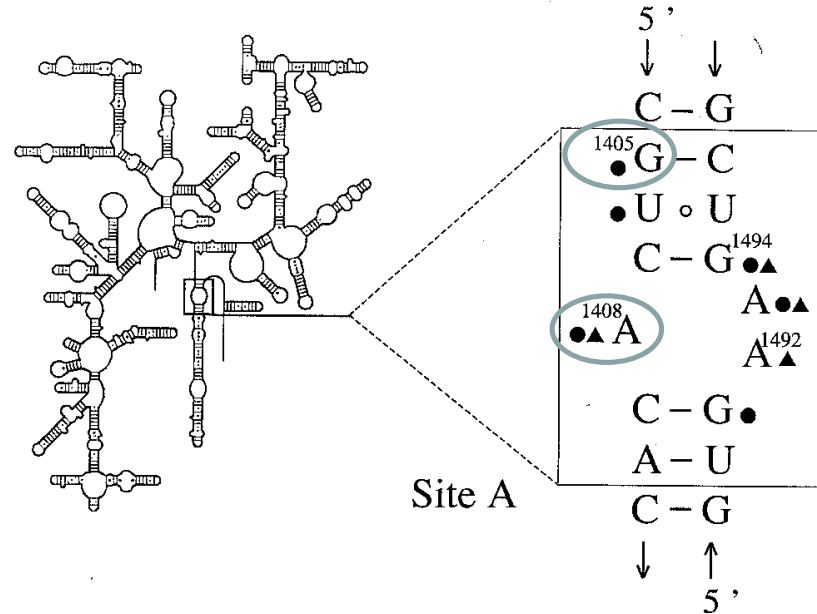
3-Altération de la cible

- Altération enzymatique
méthylases plasmidiques/transposables

=> méthylation G1405 de l'ARNr 16S

(*armA*, *rmtA*, *rmtB*, *rmtC*, *rmtD*, *rmtE*, *rmtF*)

=> résistance à toutes les 2-DOS (KGTNtA), à très haut niveau



=> méthylation A1408 de l'ARNr 16S (*npmA*)

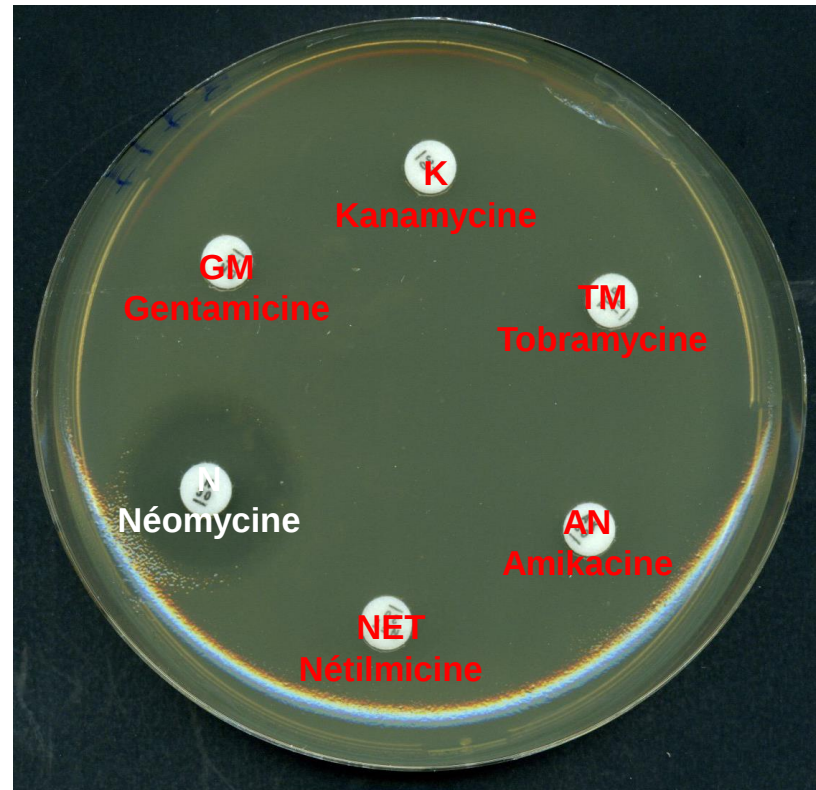
=> résistance à tous les 2-DOS + apramycine
et néomycine à très haut niveau

Prévalence : Europe → *armA*

Escherichia coli

Ec3717

GTNtA $\Leftrightarrow$ ArmA



Conclusion

- Importance des aminosides
- Détoxification enzymatique +++
- Transférable horizontalement
- Association à d'autres résistances

