

Les souches microbiennes deviennent de plus en plus insensibles aux antibiotiques. La résistance des germes vis-à-vis des agents destinés à les combattre pose de graves problèmes, surtout dans le domaine médical. Il s'agit d'une situation thérapeutique de plus en plus fréquente dans le milieu hospitalier (émergence de bactéries multi résistance BMR), c'est un problème de santé publique extrêmement sérieux.

Une espèce est définie comme résistante si elle l'est naturellement (*E. coli* à la pénicilline G) ou si au sein d'une espèce naturellement sensible, la majorité des souches a acquis une résistance (*S. aureus* à la pénicilline G).

1. Evaluation de l'activité *in vitro* d'un antibiotique

Des dilutions croissantes d'antibiotiques dans un milieu de culture liquide sont ensemencées avec le germe à étudier. On détermine la concentration en antibiotiques inhibant la croissance (CMI : concentration minimale inhibitrice et CMB : concentration minimale bactéricide). On peut aussi utiliser un milieu solide. Des disques imprégnés de l'antibiotique à tester sont déposés sur la surface d'une gélose préalablement ensemencée par étalement. Après culture, on mesure le diamètre de la zone d'inhibition de la croissance autour des disques ce qui permet de déterminer la CMI.

2. L'antibiogramme

Le Réseau Algérien de la Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques applique les techniques de standardisation de l'antibiogramme préconisées par le CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) recommandées par l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) et agréées par de nombreux pays.

Le but de la réalisation d'un antibiogramme est de déterminer *in vitro* la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques dans une optique essentiellement thérapeutique (guider le clinicien dans le choix d'un antibiotique pour traiter une infection bactérienne), de surveiller l'épidémiologie de la résistance bactérienne et d'identifier les bactéries par la mise en évidence de résistances naturelles.

Le but de la standardisation est de dépister rapidement et correctement les souches bactériennes résistantes aux antibiotiques, surveiller l'évolution de la résistance dans un pays et d'échanger les données avec les autres pays, ainsi que de réduire le coût de l'antibiogramme.

La méthode appliquée est celle de diffusion en milieu gélosé de Mueller Hinton (4 millimètre d'épaisseur). L'inoculum standard doit être calibré à une opacité définie et les disques imprégnés d'une quantité déterminée d'antibiotique. Après incubation, une mesure précise des diamètres d'inhibition autour du disque à l'aide d'un pied à coulisse métallique (figure 1), suivie d'une comparaison des résultats aux valeurs critiques figurant dans des tableaux de lecture (tableau 1).

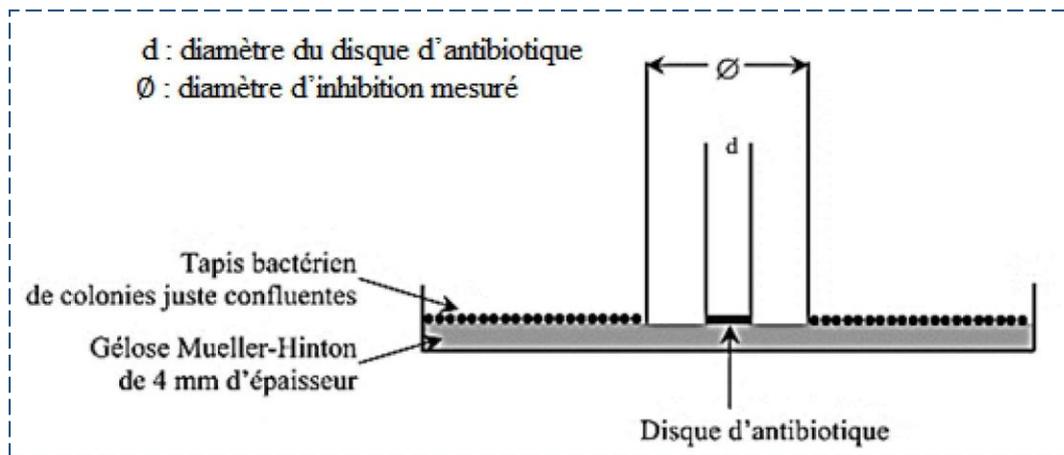


Figure 1 : Schéma en coupe d'une gélose Mueller-Hinton utilisée pour un antibiogramme standard

Tableau 1 : Exemple de tableau de lecture.

Antibiotique	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)	
		CCI	CCS	CCI	CCS
Gentamicine	15µg	<2	>4	>18	<16
Pristinamycine	15µg	<1	>2	>22	<19
Acide Nalixidique	30µg	<8	>16	>20	<15
Acide Pipemidique	20µg	<8	>16	>19	<14

3. Interprétation des résultats

Il existe trois interprétations différentes :

- ▶ La bactérie est **sensible** à l'antibiotique : il suffit d'une faible concentration (**c**) de l'antibiotique pour tuer les bactéries et la dose nécessaire est administrable chez l'homme.
- ▶ La bactérie est **résistante** à l'antibiotique : la dose nécessaire pour tuer les bactéries est beaucoup trop élevée (**C**) pour être supportée chez l'homme sans effets secondaires majeurs. Un tel antibiotique ne peut donc être utilisé pour traiter l'infection.

► La bactérie est **intermédiaire** à l'antibiotique : la dose nécessaire pour tuer les bactéries est tantôt administrable chez l'homme, tantôt dangereuse. Il faut donc considérer que la bactérie est résistante *in vivo*, c'est-à-dire dans l'organisme.

Le tableau suivant représente l'interprétation de la sensibilité et de la résistance d'une souche à un antibiotique

Tableau 2 : Interprétation de la sensibilité et de la résistance d'une souche à un Antibiotique

Résultats	CMI (mg/L)	Diamètre (\emptyset) (mm)
Souche sensible (S)	$CMI \leq c$	$\emptyset \geq D$
Souche résistante (R)	$CMI > C$	$\emptyset < d$
Souche intermédiaire (I)	$c < CMI \leq C$	$d \leq \emptyset < D$

Remarque : la concentration critique haute (C) définit la résistance et la concentration critique basse (c) définit la sensibilité.

4. Mécanismes de la résistance aux antibiotiques

Pour qu'un antibiotique soit actif sur une bactérie, un certain nombre de conditions doivent être remplies ; il doit, en premier lieu, pénétrer dans la cellule ; il doit ensuite rencontrer le récepteur ou la cible moléculaire de son action pour la modifier ou la perturber ; enfin, au cours de son contact avec la cellule, il ne doit subir aucune transformation susceptible de l'inactiver.

Pour échapper à l'action létale des antibiotiques, les bactéries ont développé de très nombreux mécanismes biochimiques de résistance, associés à une grande ingéniosité génétique pour les acquérir et les diffuser.

4-1. Absence de pénétration

Certains antibiotiques (la streptomycine) ne pénètrent dans la cellule que grâce à une perméase spécifique, l'absence ou le non fonctionnement de celle-ci mettra la cellule à l'abri des effets de l'antibiotique. Ce phénomène peut être naturel ou acquis.

L'imperméabilisation concerne la membrane externe (pour les bactéries à Gram négatif) ou la membrane cytoplasmique (pour toutes les bactéries). C'est le mécanisme le plus souvent responsable de la résistance naturelle.

4-2. Excrétion de l'antibiotique

Une seconde stratégie de résistance est de rejeter hors de la cellule la substance qui vient d'y entrer. Certains agents pathogènes ont dans la membrane cytoplasmique des translocase, appelées pompes effluentes. Ces protéines de transport sont relativement non spécifiques et agissent sur de nombreuses substances (résistance à plusieurs familles d'antibiotiques et d'antiseptiques), on les trouve chez *E. coli*, *P. aeruginosa* et *S. aureus* et autres.

4-3. Modification de la cible

C'est un mécanisme dont l'origine génétique est souvent mutationnelle. La cible est légèrement modifiée par la substitution d'un acide aminé dans la protéine (s'il s'agit d'une enzyme ou d'une protéine ribosomale) ou la substitution d'un nucléotide (s'il s'agit de l'ARN ribosomal). Il peut concerner les β -lactamines, les aminosides, les macrolides, les quinolones... On peut rencontrer ce mécanisme dans la résistance plasmidique : dans le cas des macrolides, une méthylase modifie deux nucléotides du ribosome qui perd son affinité pour l'antibiotique. Dans le cas des sulfamides ou du triméthoprime, le plasmide code pour des isoenzymes qui ne fixent pas ces molécules.

4-4. L'inactivation ou la modification de l'antibiotique

Les antibiotiques sont susceptibles d'être dégradés ou chimiquement inactivés par voie enzymatique. C'est un mécanisme dont l'origine génétique est souvent plasmidiques. La première découverte était au cours de l'utilisation de la pénicilline : la pénicillinase, qui agit par ouverture du cycle β -lactame (b β -lactamases : pénicillinases, céphalosporinases) (Figure 2). Depuis un grand nombre d'enzymes dénaturant les antibiotiques ont été découverts :

- transférases qui phosphorylent ou acétylent certains sites des aminosides,
- transférases qui acétyle les molécules phénicolés.

Ces enzymes sont secrétés au dehors dans le cas des Gram positif, mais maintenus dans l'espace périplasmique dans le cas des Gram négatif.

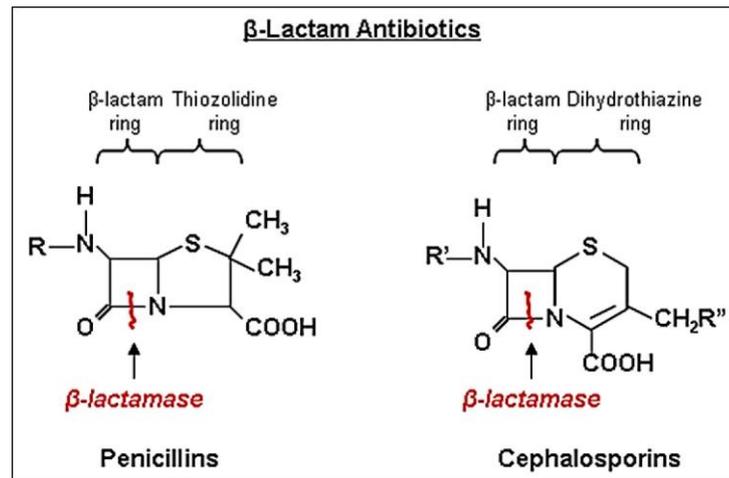


Figure 2 : Action des β-lactamase sur le cycle β-lactame.

4-5. Changement de voie métabolique

Certains antibiotiques agissent en bloquant des voies métaboliques ; ainsi, la gramicidine inhibe les phosphorylations oxydatives. La cellule peut éventuellement mettre en œuvre une autre voie métabolique qui permet de contourner la voie bloquée et la rend alors résistante à l'antibiotique.

5. Les caractères de la résistance aux antibiotiques

La résistance peut être naturelle ou acquise.

Un microorganisme peut présenter une résistance naturelle vis-à-vis de certains antibiotiques. Il s'agit d'un caractère chromosomique qui correspond à une propriété de l'espèce et qui peut être retenu comme critère d'identification.

L'apparition de germes mutants témoigne une résistance acquise qui a pour support génétique les plasmides ou des éléments génétique transférables (transposons, intégrons, etc.).

6. Pourquoi la résistance aux antimicrobiens est-elle une préoccupation mondiale ?

De nouveaux mécanismes de résistance apparaissent et se propagent à l'échelle mondiale. La résistance aux antimicrobiens tue. Elle compromet l'efficacité du traitement; les patients restent contagieux plus longtemps. Elle accroît le coût des soins de santé.

Faute d'antimicrobiens efficaces pour le traitement et la prévention des infections, les taux de succès des traitements tels que les greffes d'organes, la chimiothérapie

anticancéreuse et les interventions chirurgicales majeures pourraient être en danger.

7. La lutte contre l'acquisition des résistances

Il faut éviter l'émergence de mutants par contrôle de la prescription des antibiotiques. Il faut également éviter les transferts de gènes de résistance par respect des règles d'hygiène et d'isolement des cas multi résistant.

