

Antibactériens agissant sur la synthèse et la conformation des acides nucléiques

E. Cambau^(1, 2) & T. Guillard^(1, 3, 4)

(1) Université Paris Diderot, EA 3964 (Émergence de la résistance bactérienne), UFR de Médecine, site Xavier Bichat, 16 rue Henri-Huchard, B.P. 419, 75870 Paris Cedex 18, France

(2) AP-HP, Groupe hospitalier Saint Louis-Lariboisière-Fernand Widal, Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, 2, rue Ambroise-Paré, 75475 Paris Cedex 10, France

(3) CHU Reims, Hôpital Robert Debré, Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, avenue du Général Koenig, 51092 Reims Cedex, France

(4) UFR Médecine, Université Reims Champagne-Ardenne, 51 rue Cognacq Jay, 51095 Reims, France

Résumé

Plusieurs antibactériens agissent en inhibant la synthèse des acides nucléiques (rifamycines, sulfamides, diaminopyridines), en modifiant leur conformation (quinolones, coumarines) ou en provoquant des lésions irréversibles (nitro-imidazolés, nitrofuranes). Les mécanismes de résistance sont : la diminution de l'accumulation intra-cytoplasmique, la modification de la cible ou production d'une nouvelle cible de peu d'affinité et, plus rarement, l'inactivation enzymatique. Si les mécanismes touchant les cibles sont spécifiques de chaque famille et peuvent entraîner une résistance de haut niveau, la diminution de la perméabilité membranaire et l'augmentation des efflux ne sont pas spécifiques et entraînent une résistance de bas niveau croisée entre plusieurs familles. Le support génétique est le plus souvent chromosomique pour les rifamycines et les quinolones, bien que des gènes de résistance plasmidiques soient décrits. Au contraire, pour les sulfamides et le triméthoprime, les gènes plasmidiques sont fréquents. La résistance aux nitro-imidazolés et aux nitrofuranes est encore mal connue.

Mots-clés

Diaminopyridines – Imidazoles – Nitrofuranes – Quinolones – Résistance – Rifampicine – Sulfamides.

Introduction

Plusieurs familles d'antibactériens agissent en inhibant la synthèse des acides nucléiques (rifamycines, sulfamides, diaminopyridines), en modifiant leur conformation (quinolones, coumarines) ou en provoquant des lésions irréversibles (nitro-imidazolés, nitrofuranes). Certains sont des antibiotiques au sens strict car produits naturellement et d'autres sont des antibactériens de synthèse.

Ils peuvent être rangés selon les différentes étapes de synthèse des acides nucléiques :

- synthèse des bases puriques et pyrimidiques pour l'acide désoxyribonucléique (ADN) et l'acide ribonucléique (ARN) inhibée par les sulfamides et les diaminopyridines,
- réplication de l'ADN inhibée par les quinolones et les coumarines, et transcription d'ADN en ARN inhibée par les rifamycines.

Enfin, certains antibactériens ont une action directe de destruction des acides nucléiques, comme les nitrofuranes et les nitro-imidazolés. Les principales molécules sont présentées dans la Fig. 1. Les mécanismes de résistance et leur support génétique sont synthétisés dans le Tableau I.

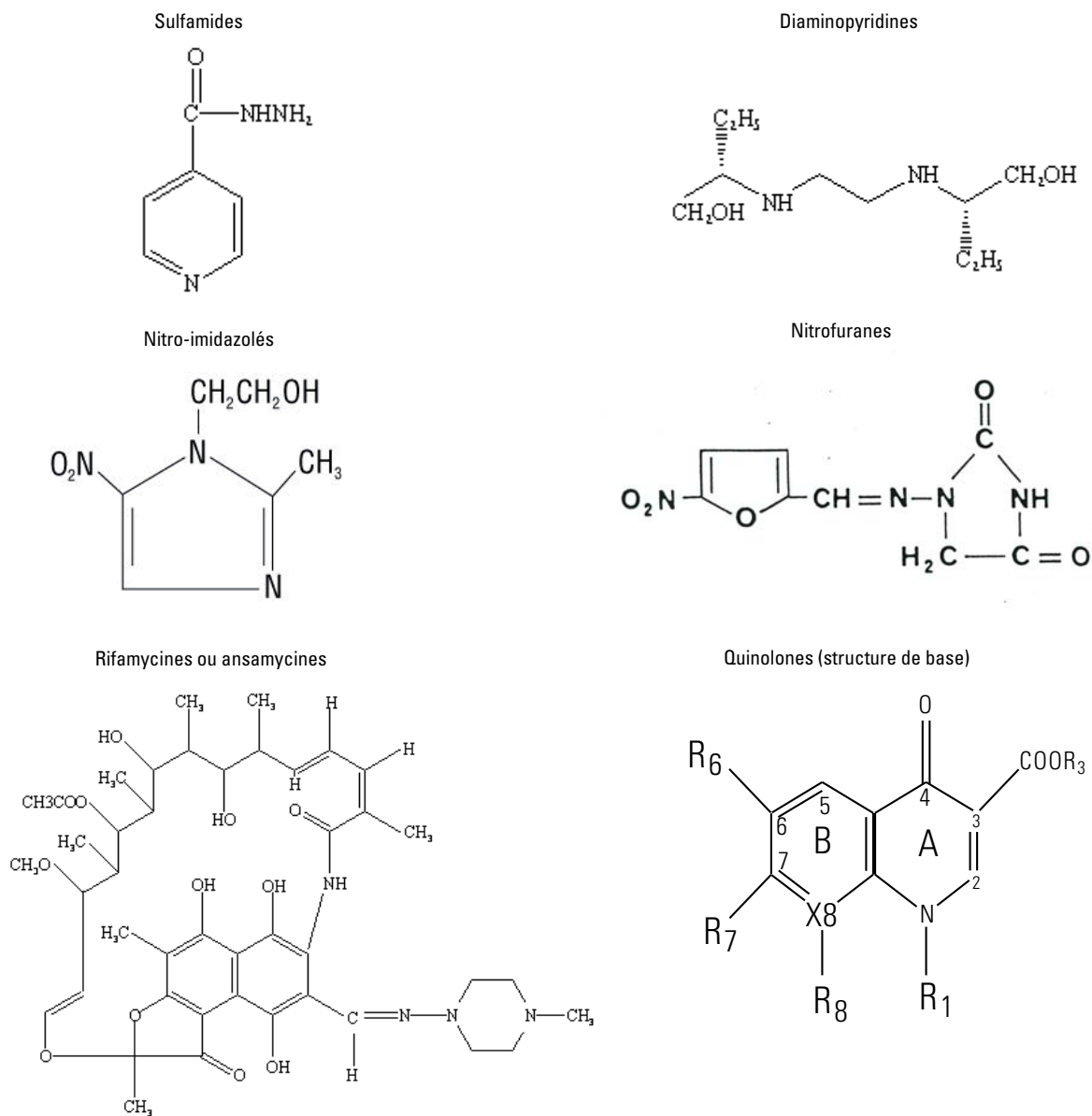


Fig. 1

Structure des principaux antibactériens agissant sur la synthèse ou la conformation des acides nucléiques

Inhibition de la synthèse des bases nucléiques

Deux familles principales inhibent la synthèse des bases puriques et pyrimidiques en inhibant la synthèse de l'acide folique (Fig. 2) : les sulfamides et les diaminopyridines. Ce sont des molécules de synthèse.

Sulfamides

Les sulfamides sont les premiers antibactériens découverts en 1935 par G. Domagk (Prix Nobel, 1939).

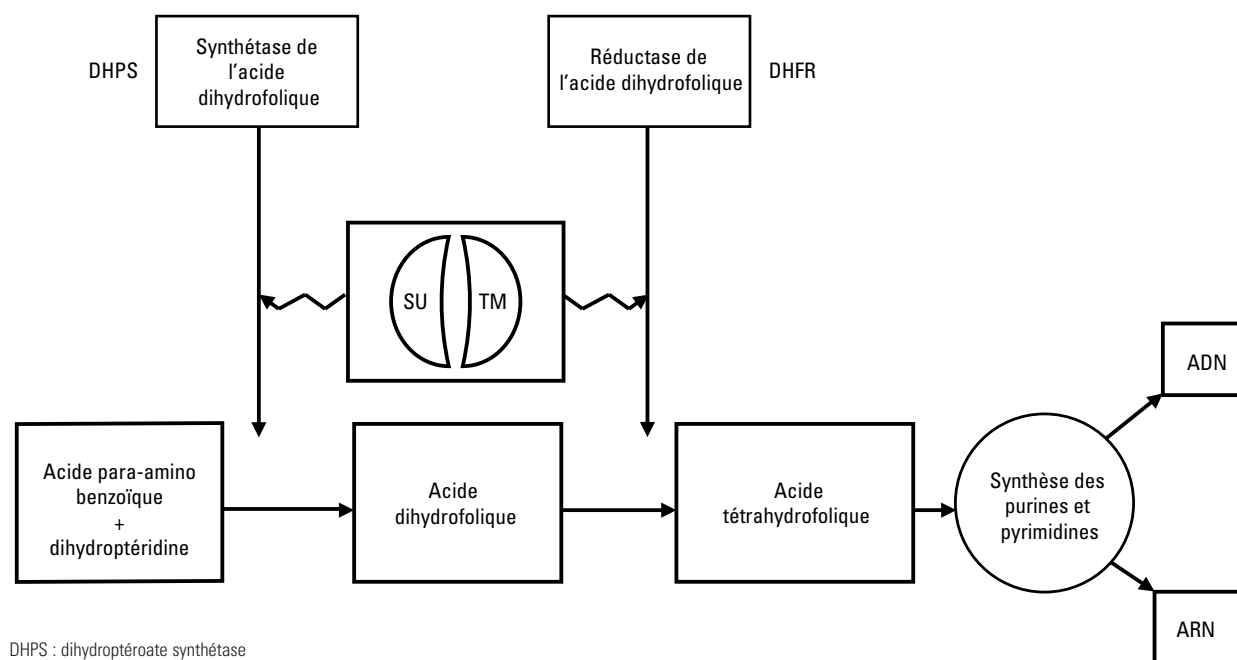
Les sulfamides (sulfaméthoxazole, sulfadiazine, sulfamidine, sulfadoxine, sulfadimérazine, sulfachlorpyridazine, etc.) ainsi que les sulfones (dapsone) inhibent la dihydroptéroate synthétase (DHPS). Cette enzyme permet chez la bactérie de synthétiser l'acide dihydrofolique à partir de l'acide para-aminobenzoïque (PAB) et de la dihydroptéridine. Les sulfamides sont des analogues structuraux du PAB et agissent en entrant en compétition avec le PAB (14, 18) (Fig. 2). Chez les cellules eucaryotes, l'acide folique est directement capté dans le milieu extérieur et donc les sulfamides ne sont pas actifs.

Les sulfamides ont un large spectre antibactérien en étant actifs sur des bactéries à Gram positif (dont les

Tableau I
Support génétique des résistances aux antibactériens actifs sur la synthèse et la conformation des acides nucléiques

Antibiotiques	Résistance de support chromosomique (gène)	Résistance de support plasmidique (gène)
Sulfamides	Diminution de la perméabilité de la paroi des bactéries à Gram négatif (ex : OmpF-) Hyperexpression des pompes d'efflux de type RND (ex : Acr) Modification structurale de la cible DHPS (<i>folP1</i>) Hyperproduction de DHPS	Production d'enzymes DHPS résistantes à l'action des sulfamides (<i>sul1, sul2, sul3</i>)
Diaminopyridines	Diminution de la perméabilité de la paroi des bactéries à Gram négatif (ex : OmpF-) Hyperexpression des pompes d'efflux de type RND (ex : Acr) Modifications structurales de la DHFR Hyperproduction de DHFR	Production d'enzymes DHFR résistantes à l'action du triméthoprime (<i>dhfr1 et dhfr2</i>)
Quinolones	Mutations dans les gènes de structure des topoisomérases de type 2, (<i>gyrA, parC, gyrB ou parE</i>) Diminution de la perméabilité de la paroi des bactéries à Gram négatif (ex : OmpF-) Hyperexpression des pompes d'efflux de type RND (ex : Acr) chez les bactéries à Gram négatif et de type MPS chez les bactéries à Gram positif (ex : NorA, Pmr)	Protection de la cible par les protéines Qnr (<i>qnrA, qnrB, qnrC, qnrD, qnrS</i>) Inactivation enzymatique (<i>aac-6'-Ib-cr</i>) Pompes d'efflux (<i>qepA oqxAB</i>)
Coumarines	Mutations dans la sous-unité B de l'ADN gyrase (<i>gyrB</i>)	
Rifamycines	Modification de la cible par mutations du gène <i>rpoB</i> Hyperreflux ou imperméabilité	Inactivation par ADP ribosylase (<i>arr-3</i>)
5-nitro-imidazolés	Diminution de l'accumulation intrabactérienne par diminution de l'influx ou efflux	Diminution de l'activité nitro-réductase (<i>nimA, nimB</i>)
Nitrofuranes	Diminution de l'accumulation intrabactérienne par diminution de l'influx ou efflux Diminution de l'activité nitro-réductase (mutations de <i>nfsA et nfsB</i>)	

DHPS : dihydroptéroate synthétase
DHFR : dihydrofolate réductase



DHPS : dihydroptéroate synthétase
DHFR : dihydrofolate réductase

Fig. 2
Schéma du mécanisme d'action des sulfamides et des diaminopyridines

streptocoques, staphylocoques, corynébactéries, *Listeria*, *Nocardia* et mycobactéries) et des bactéries à Gram négatif (entérobactéries, *Neisseria*). Les sulfamides sont aussi actifs sur des cellules plus complexes comme des champignons (*Pneumocystis jirovecii*), des parasites (*Iso spor a belli*, toxoplasmes et *Plasmodium*).

Les mécanismes de résistance aux sulfamides sont les suivants (1) :

- diminution de concentration intra-bactérienne de sulfamides : ceci est dû soit à la diminution de la perméabilité de la paroi des bactéries à Gram négatif par diminution quantitative des porines (22), soit à l'hyper-expression des pompes d'efflux de type RND (*Resistance, Nodulation and Cell Division* [résistance/nodulation/division cellulaire]) (23). Ces mécanismes ne sont pas spécifiques des sulfamides car ils concernent aussi l'influx et l'efflux d'autres molécules de petit poids moléculaire, plutôt hydrophiles comme les bêta-lactamines, les aminosides et les quinolones. Des mutations dans les gènes de régulation de la synthèse de OmpF (opéron Mar) ou de l'expression de pompes d'efflux constitutives (opéron Acr) sont classiquement observées chez les entérobactéries (11, 22, 23). Le support de cette résistance est chromosomique ;
- modification structurale de la DHPS : ces modifications sont secondaires à des mutations du gène chromosomique de structure. Par exemple, chez les souches de *Mycobacterium leprae* résistantes à la dapsone (5) sont observées des mutations aux positions 53 (Thr53Ala, Thr53Ile) et 55 (Pro55Leu). Chez *Neisseria meningitidis* (9) ou chez *Streptococcus pneumoniae* (27), des insertions de plusieurs nucléotides sont trouvées dans le gène chromosomique formant une sorte de gène mosaïque, résultat de la recombinaison avec des gènes issus d'autres bactéries ;
- production d'enzymes DHPS résistantes à l'action des sulfamides : ces enzymes sont codées par des gènes (*sul1*, *sul2*, *sul3*) acquis à partir d'autres cellules et transférés via des transposons ou structures génétiques de type intégron (14). Le gène *sul1* caractérise les intégrons de classe 1 au sein de transposons souvent portés par des plasmides de multirésistance aux antibiotiques (10) ;
- hyperproduction de DHPS.

Diaminopyridines

Les diaminopyridines sont dérivés de molécules antiparasitaires. Le triméthoprime est principalement utilisé comme antibactérien alors que le pyriméthamine est utilisé comme antiparasitaire.

Les diaminopyridines agissent en inhibant la dihydrofolate réductase (DHFR). Cette enzyme permet de synthétiser l'acide tétrahydrofolique à partir de l'acide dihydrofolique.

Les diaminopyridines agissent donc en synergie avec les sulfamides mais à une étape ultérieure, en inhibant la synthèse de l'acide folique (Fig. 2) (1).

Le triméthoprime a un large spectre antibactérien en étant actif sur des bactéries à Gram positif (dont streptocoques et entérocoques, staphylocoques, corynébactéries, *Listeria*, *Nocardia*) et des bactéries à Gram négatif (entérobactéries, *Pseudomonas*) ; toutefois certaines espèces à Gram négatif, telles que *Neisseria*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas* ou encore *Campylobacter/Helicobacter*, sont naturellement résistantes au triméthoprime. Le triméthoprime et le pyriméthamine sont actifs sur *Pneumocystis jirovecii* et *Iso spor a belli* mais le pyriméthamine est plus actif sur les toxoplasmes et les *Plasmodium*.

Les mécanismes de résistance aux diaminopyridines sont les suivants :

- diminution de concentration intra-bactérienne chez les bactéries à Gram négatif liée à la diminution de l'influx ou hyper efflux comme pour les sulfamides (11, 22, 23),
- production d'enzymes DHFR résistantes à l'action du triméthoprime. Ces enzymes sont codées par des gènes (17 à 18 gènes *dhfr* décrits) acquis à partir d'autres bactéries et transférés via des transposons présents sur des plasmides de multirésistance, parfois dans des structures génétiques de type intégrons (10),
- modifications structurales de la DHFR, faisant suite à des mutations ponctuelles du gène chromosomique de structure, par exemple la mutation Ile100Leu chez *S. pneumoniae* (27),
- augmentation de la synthèse de la cible (DHFR) (14).

Rappelons que la présence de thymine ou de thymidine dans le milieu de culture peut faire observer une fausse résistance au triméthoprime.

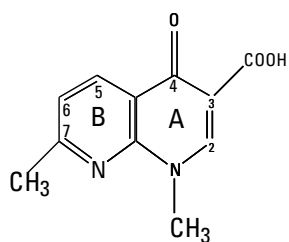
Inhibition de la réplication de l'ADN

Quinolones et fluoroquinolones

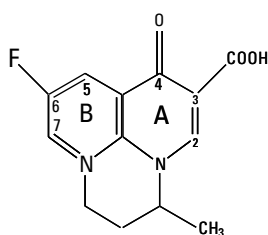
Les fluoroquinolones figurent parmi les antibactériens les plus prescrits aujourd'hui dans le monde. Le recours fréquent à ces antibactériens s'explique par leurs avantages pharmacodynamique (spectre d'activité) et pharmacocinétique (13).

L'acide nalidixique appartient à la famille des pyridone-β-carboxyliques ou 4-quinolones. Cette molécule de synthèse, dérivée des antipaludéens, est la première représentante des quinolones et a été utilisée pour la

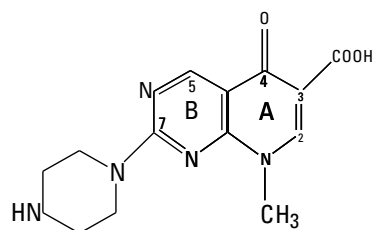
Quinolones « classiques »



Acide nalidixique

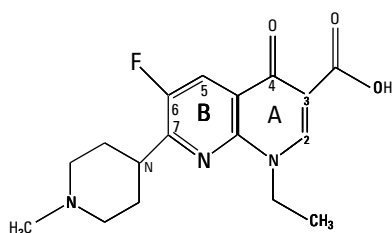


Fluméquine

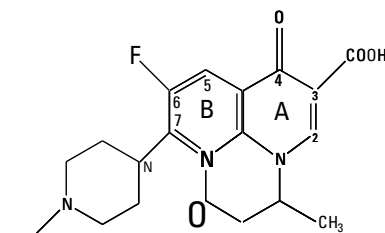


Acide pipémidique

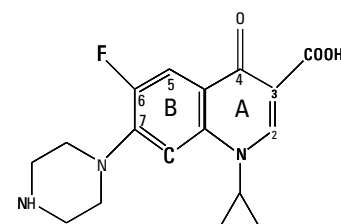
Fluoroquinolones



Péfloxacine (méthylnorfloxacine)

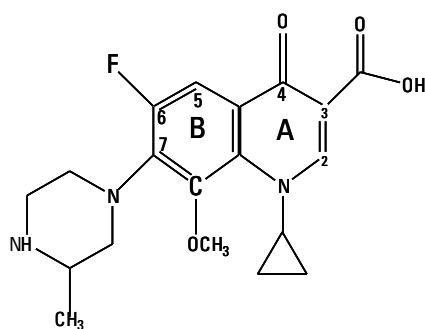


(Lev)-Orfloxacine

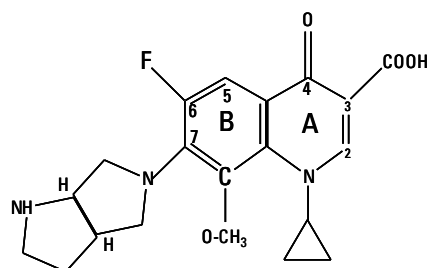


Ciprofloxacine

Nouvelles fluoroquinolones

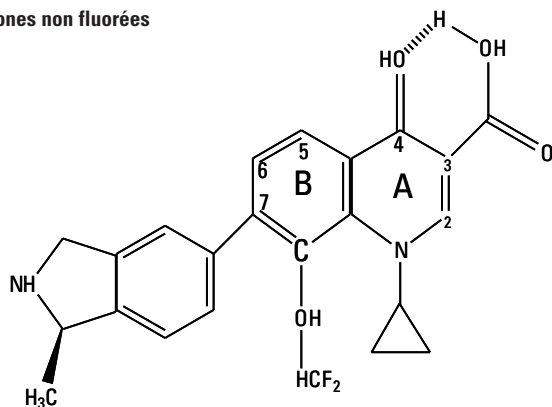


Gatifloxacine



Moxifloxacine

Nouvelles quinolones non fluorées



Garénoxacine

Fig. 3
Classification structurale des quinolones

première fois en 1962. Le succès et le développement de cette famille sont liés à l'addition d'un fluor en C6 du cycle pyridine et d'un cycle pipérazyl en C7, ouvrant dans les années 1980, le groupe des nouvelles quinolones dont les fluoroquinolones.

Activité antibactérienne

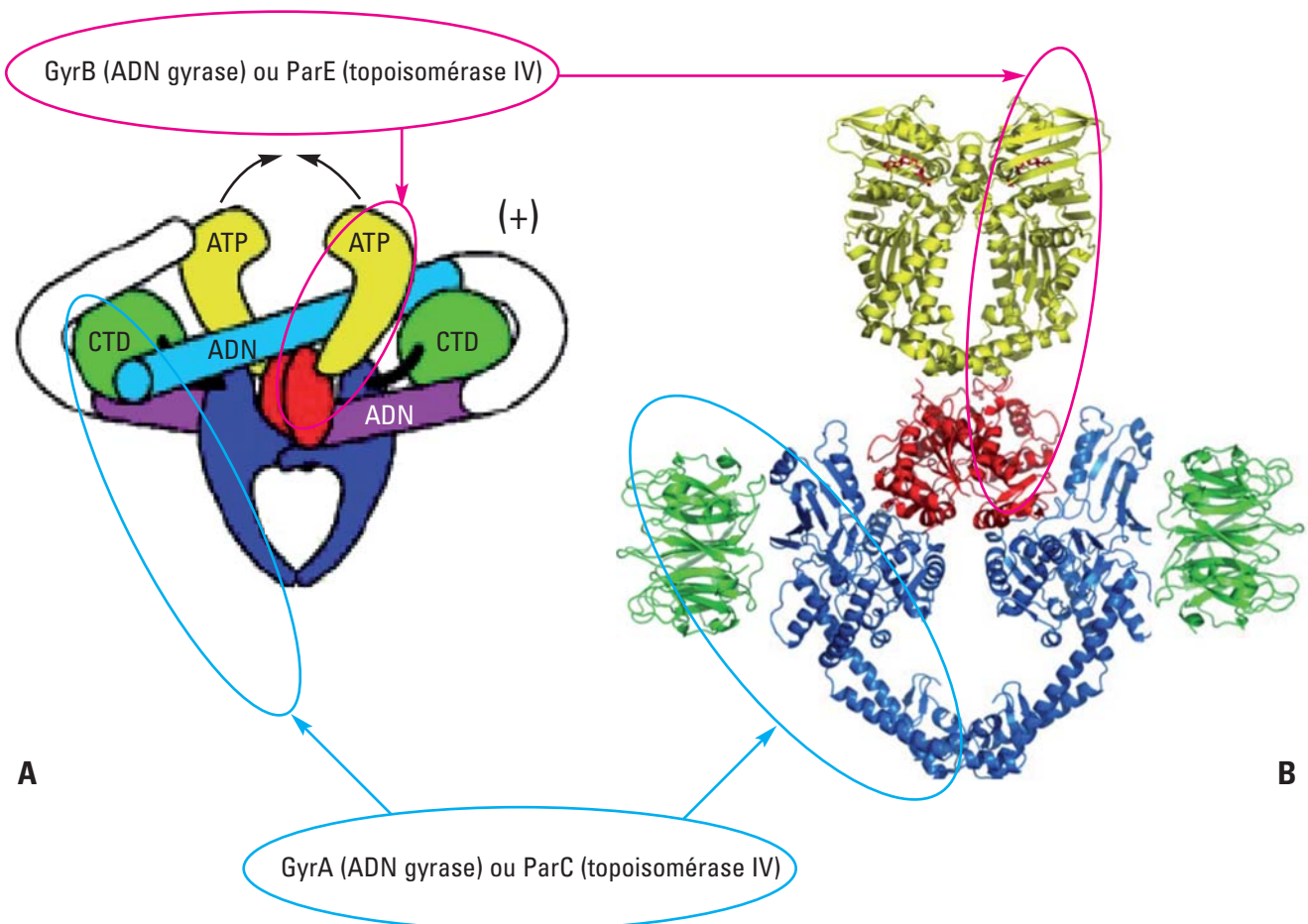
Les quinolones peuvent être classées en quatre groupes selon leur structure (Fig. 3) (toutes des molécules de synthèse chimique) et leur activité antibactérienne (3, 4).

Les quinolones dites classiques (acide nalidixique, acide oxolinique, acide pipémidique, première quinolone avec un radical pipérazine en C7, et fluméquine, première quinolone avec un fluor en C6) sont actives uniquement sur des bactéries à Gram négatif, en particulier les entérobactéries (*Escherichia coli*, *Proteus*, *Klebsiella*, etc.), les *Neisseria*, et *Haemophilus* spp., *Moraxella* spp., *Branhamella* spp.

Les fluoroquinolones (enrofloxacin, marbofloxacin, ciprofloxacin, norfloxacin) ont en commun d'avoir un radical pipérazine en C7 et un fluor en C6 du cycle B, ce

qui fait qu'elles sont au moins 100 fois plus actives que les quinolones classiques. Elles sont alors actives sur d'autres bacilles à Gram négatif comme *Pseudomonas aeruginosa* (bacille pyocyanique) et les légionelles ainsi que sur des bactéries à Gram positif comme les staphylocoques. La lévofloxacin fait aussi partie de ce groupe sur la base de sa structure (isomère lévogyre de l'ofloxacin) et de son activité antibactérienne.

Les nouvelles fluoroquinolones (pradofloxacin, moxifloxacin, gatifloxacin) ont été développées pour élargir le spectre des fluoroquinolones vers les streptocoques, en particulier le pneumocoque. Elles ont une activité diverse selon les molécules vis-à-vis des bactéries anaérobies et des mycobactéries. De très nombreuses molécules de ce groupe ont été développées puis abandonnées en raison de leur tolérance insuffisante (sparfloxacin, trovafloxacin, grepafloxacin). À ce dernier groupe, il faut rapprocher un nouveau groupe, les nouvelles quinolones **non fluorées**, comme la garénofloxacin, qui, bien qu'ayant une structure un peu différente (pas de fluor en C6), ont une activité antibactérienne proche de celle des nouvelles fluoroquinolones, en particulier sur les streptocoques.



A : schéma
B : structure cristallographique

Fig. 4

Les cibles des quinolones ; les topoisomérases de type II bactériennes

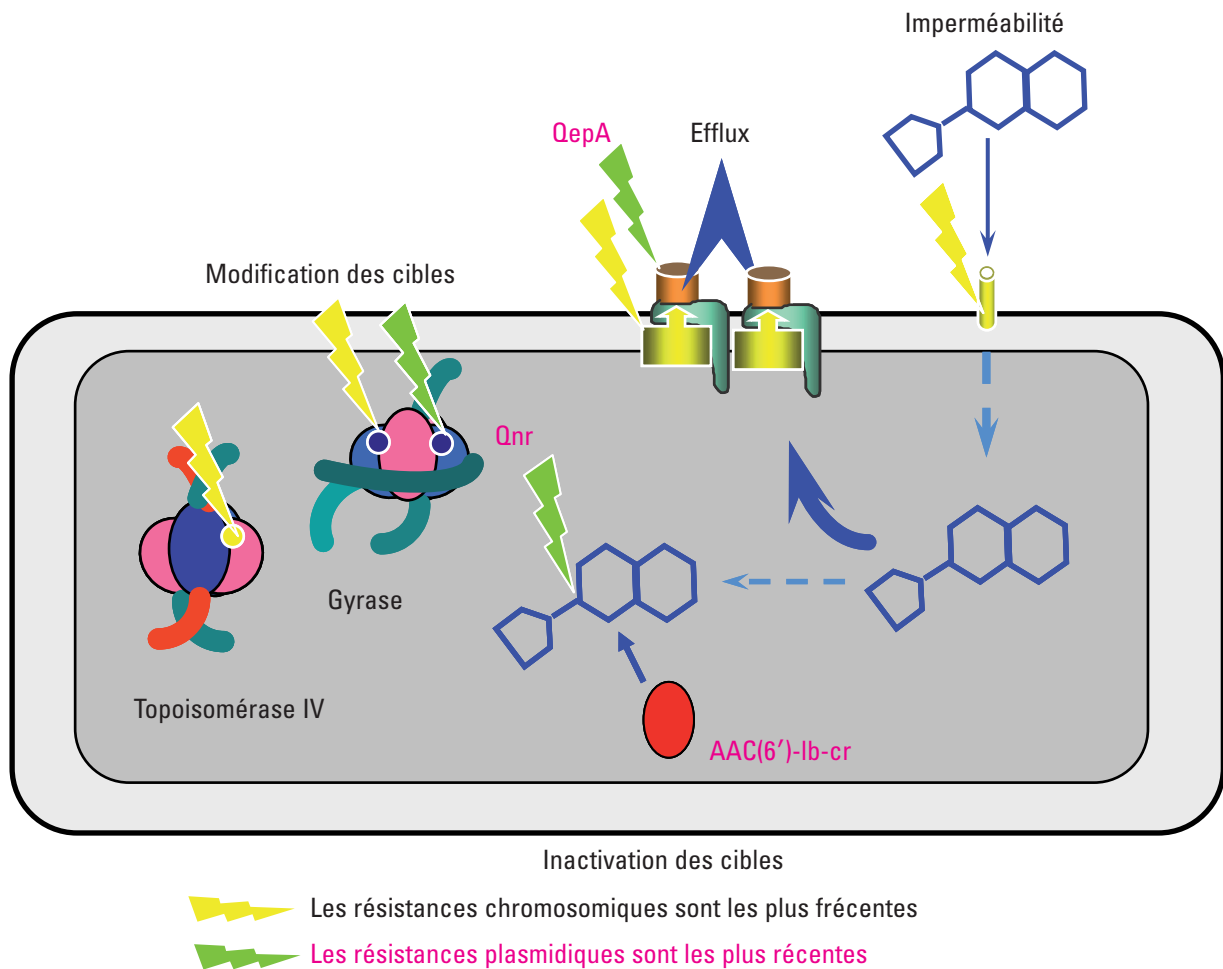


Fig. 5
Schéma des mécanismes de résistance aux quinolones et fluoroquinolones

Mécanisme d'action

Chez les bactéries à Gram négatif, les quinolones pénètrent grâce aux porines, d'autant plus qu'elles sont hydrophiles (norfloxacine et ciprofloxacine) tandis que pour les molécules hydrophobes (par ex : ofloxacine, lévofloxacine, moxifloxacine) la pénétration peut aussi se faire à travers la bi-couche lipidique. La pénétration chez les bactéries à Gram positif est par diffusion passive à travers le peptidoglycane.

Les quinolones inhibent la réplication et la transcription en inhibant le fonctionnement des topoisomérases bactériennes de type 2, l'ADN gyrase (encore appelée topoisomérase II) et la topoisomérase IV. L'ADN gyrase est une holoenzyme tétramérique composée des sous-unités GyrA et GyrB sous la forme GyrA²GyrB² (Fig. 4). La topoisomérase IV présente une structure similaire avec les sous-unités ParC et ParE (13).

Les quinolones se fixent sur le complexe ADN-topoisomérase. Ce complexe devient irréversible, conduisant d'une part à l'immobilisation des enzymes qui entraînent la bactériostase et d'autre part à la libération des cassures double-brin de l'ADN activant le système SOS ou

produisant un effet « poison », responsable de la bactéricidie intense des quinolones. Le détail des étapes cellulaires conduisant à ces effets est encore mal connu. L'effet bactéricide varie en fonction de la molécule et de l'espèce bactérienne considérées.

Mécanismes de résistance

On peut classer les mécanismes de résistance selon leur finalité : diminution de l'accumulation intra-cytoplasmique par diminution de la perméabilité de la paroi ou augmentation de l'efflux, diminution de l'affinité des cibles, inactivation enzymatique ou protection des cibles (Fig. 5). Le support génétique de ces mécanismes est le plus souvent chromosomique, mais des gènes plasmidiques ont été décrits depuis une dizaine d'années (4, 30).

Résistance chromosomique

Le principal mécanisme de résistance est lié à des mutations dans les gènes de structure des topoisomérases de type 2, le plus souvent sur les gènes *gyrA* ou *parC*, plus rarement sur les gènes *gyrB* ou *parE*. Ces mutations sont sélectionnées en présence de quinolone avec une fréquence

d'environ 1/10⁸. Les mutations sont situées dans une région appelée QRDR (*Quinolone Resistance Determining Region*) (12). On observe un phénomène de résistance « par paliers », avec une augmentation de la concentration minimale inhibitrice (CMI) à chaque nouvelle mutation acquise. La première mutation survient généralement au niveau de la topoisomérase pour laquelle la quinolone a la plus grande affinité, ce qui peut varier en fonction de l'espèce bactérienne et en fonction de la quinolone (6, 7). Ainsi la cible primaire de la ciprofloxacine est la sous-unité A de l'ADN gyrase chez les bacilles à Gram négatif tandis que c'est la sous-unité ParC de la topoisomérase IV chez les cocci à Gram positif (6). Les mutations des topoisomérases de type II confèrent de hauts niveaux de résistance. Les mutations les plus fréquemment observées chez *E. coli* sont dans les codons 83 (Ser83Leu) et 87 (Asp87His) de GyrA, correspondant aux codons 80 et 84 de ParC.

Deux mécanismes permettent un défaut d'accumulation des quinolones dans les bactéries. Ces mécanismes sont les mêmes que ceux décrits plus haut pour les sulfamides et le triméthoprime en ajoutant les pompes d'efflux de type MFS (*Major Facilitator Superfamily*) chez les bactéries à Gram positif qui entraînent aussi pour certaines une résistance aux ammoniums quaternaires (22, 23).

Résistance plasmidique

Pendant longtemps, le seul support connu de résistance aux quinolones était de type chromosomique, jusqu'à la découverte du gène *qnrA1* porté par une souche de *Klebsiella pneumoniae* isolée en 1998 aux États-Unis (30). De nombreux autres gènes *qnr* (*quinolone resistance*) ont été décrits depuis : *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *qnrC* et *qnrD* avec pour chacun plusieurs allèles dont la description est consignée sur le site www.lahey.org (15). Les protéines Qnr agissent en protégeant les topoisomérases de l'action des quinolones. Elles appartiennent à la famille des protéines à motifs pentapeptidiques répétés (PRP), protéines constituées de séries de répétition en tandem de cinq acides aminés (33). Des protéines semblables sont la protéine McbG qui inhibe la microcine B17 chez *E. coli* (MccB17) (12) et la protéine MfpA découverte chez les mycobactéries (20, 30). Les autres mécanismes dont le support est plasmidique incluent le gène *qepA* codant une pompe d'efflux appartenant à la famille MFS. Un autre gène *oqxAB* codant une pompe d'efflux de la famille des RND a été décrit chez une souche d'*E. coli* isolée chez un porc (29). *OqxAB* confère une résistance à l'olaquinox, un dérivé quinoléique utilisé en médecine vétérinaire (29).

L'inactivation des quinolones est un mécanisme (Tableau I) qui n'existait pas avant la description du gène *aac(6')-Ib-cr* codant une aminoside 6'-N-acétyltransférase plasmidique bi-fonctionnelle capable d'acétyler à la fois les aminosides et les fluoroquinolones (26). Ce gène est un variant du classique gène *aac(6')-Ib*. Ce gène est un

variant du classique gène *aac(6')-Ib* qui donne une résistance à certains aminosides (amikacine, isépaamicine, tobramycine). L'enzyme AAC(6')-Ib-cr est caractérisée par deux mutations (Trp104Arg et Asp181Tyr) qui entraînent d'une part une diminution de la résistance aux aminosides, mais aussi une résistance à la ciprofloxacine et à la norfloxacine par N-acétylation du groupement amine secondaire du cycle pipérazinyl.

Acquisition de la résistance aux quinolones

La résistance clinique aux quinolones résulte le plus souvent de l'association de plusieurs des mécanismes de résistance décrits ci-dessus, chaque mécanisme étant acquis indépendamment. Par exemple chez *E. coli*, un niveau de résistance au-dessus des concentrations critiques clinique (0,5 mg/l pour la ciprofloxacine par exemple) n'est atteint que par l'association d'au moins deux mécanismes, le plus souvent une mutation *gyrA* S83L et un efflux ou une imperméabilité. Ce n'est que l'association de quatre ou cinq mécanismes (mutations *gyrA* et *parC* + efflux + *qnr* + AAC-(6')-Ib-cr + imperméabilité) qui permet d'atteindre un haut niveau de résistance chez *E. coli* (CMI de la ciprofloxacine de 16 mg/l). Pour *Staphylococcus aureus*, il suffit de deux ou trois mécanismes et chez les streptocoques une seule mutation entraîne souvent une résistance clinique. Néanmoins, la résistance est acquise par étapes successives et il est donc très important de pouvoir détecter les bas niveaux de résistance témoignant de l'acquisition d'un premier mécanisme de résistance exposant à l'acquisition d'une résistance clinique.

Coumarines

Les antibiotiques coumariniques comprennent la coumermycine et la novobiocine, produits naturels issus de *Streptomyces* spp. Ces antibiotiques inhibent aussi les topoisomérases de type 2, l'ADN gyrase et la topoisomérase IV, mais par un mécanisme d'action différent des quinolones. Ils agissent par inhibition compétitive de l'hydrolyse de l'adénosine-5'-triphosphate (ATP) qui a pour site une région N-terminale de la sous-unité GyrB pour l'ADN gyrase et de la sous-unité ParE pour la topoisomérase IV (19). Les sous-unités étant dimériques *in vivo*, on comprend que la coumermycine A, qui est quasiment le double de la novobiocine, permet de bloquer les deux sites d'hydrolyse alors que la novobiocine n'en bloque qu'un.

Ces molécules étant de poids moléculaire assez élevé, leur pénétration à travers la paroi des bactéries à Gram négatif est difficile, entraînant une résistance naturelle de ces dernières. Elles sont particulièrement actives sur les streptocoques et les staphylocoques (CMI de 0,003 à 0,02 mg/l), sauf certaines espèces comme *S. saprophyticus* par exemple.

Les mécanismes de résistance sont liés à des mutations dans la sous-unité B de l'ADN gyrase (codons 136 et 164) (8).

Inhibiteurs de la transcription : les rifamycines

Les rifamycines, encore appelées ansamycines, sont des produits naturels issus de *Streptomyces* spp. Leur découverte a été très importante pour le traitement des infections à mycobactéries, que ce soit la tuberculose, causée par les bacilles tuberculeux (complexe *Mycobacterium tuberculosis*), puis la lèpre, causée par *M. leprae* et *M. lepraemurium*.

Ces antibiotiques ont pour mécanisme d'action d'inhiber la transcription en se fixant sur la sous-unité bêta de l'ARN polymérase, protéine $\beta\beta\alpha 2\omega$ en s'intercalant entre l'ARN et la sous-unité bêta (16). Cette fixation empêche l'initiation de la transcription. Ces molécules sont des antibiotiques bactéricides. Elles font partie des rares antibiotiques actifs sur les bactéries quiescentes, c'est-à-dire non en phase de croissance. C'est pour cela que ce sont les molécules privilégiées dans les infections subaiguës et chroniques.

Activité antibactérienne

La rifampicine a été découverte en 1959 par P. Sensi et M.T. Timbal. Elle est produite par *Streptomyces mediterranei*. Elle est principalement active sur les bactéries à Gram positif comme les streptocoques, les staphylocoques et les mycobactéries (Tableau II). Elle est active aussi sur les cocci à Gram négatif mais la paroi des bacilles à Gram négatif entériques ou aérobies de type *Pseudomonas* leur est souvent imperméable.

La rifabutine, la rifapentine, la rifaximine et la rifamycine SV sont d'autres rifamycines différant de la rifampicine, soit par leurs propriétés pharmacocinétiques, soit par leur activité antibactérienne.

Mécanismes de résistance

Modification de la cible par mutations du gène *rpoB*

Les mutations sont sélectionnées en présence de rifamycine à un taux d'environ $1/10^{-8}$. Plusieurs mutations peuvent être associées pour donner un haut niveau de résistance chez les streptocoques et les staphylocoques (2).

Une région du gène *rpoB* est particulièrement bien connue chez les mycobactéries du complexe tuberculosis (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. caprae*, *M. pinnipedii*, *M. canetti*) car elle comprend toutes les mutations associées à la résistance acquise à la rifampicine. Cette région s'étend du codon 511 au codon 533 (numérotation de *E. coli*) (21). On trouve chez les souches résistantes à la rifampicine

Tableau II
Activité antibactérienne de la rifampicine

Bactéries	CMI (mg/l)
Espèces à Gram positif	
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	0,2
<i>M. kansasii</i>	0,5
<i>M. leprae</i>	S chez la souris
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,005
<i>Streptococcus pyogenes</i> (groupe A)	0,002
Pneumocoque (<i>S. pneumoniae</i>)	0,001
<i>Enterococcus faecalis</i>	0,1
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	0,01
<i>Clostridium perfringens</i>	0,5
Espèces à Gram négatif	
<i>Neisseria meningitidis</i>	0,01
<i>N. gonorrhoeae</i>	0,01
<i>Haemophilus</i> spp.	0,02
<i>Brucella</i> spp.	0,01
<i>Legionella</i> spp.	0,03
<i>Fusobacterium</i>	0,1
<i>Bacteroides</i>	0,1
<i>Escherichia coli</i>	1 à 20
<i>Pseudomonas</i>	1 à 20

CMI : concentration minimale inhibitrice

dans un cas sur deux la mutation Ser531Leu ou Ser83Trp. Ces mutations sont détectables par amplification en chaîne par polymérase (PCR) suivie d'une hybridation ou d'un séquençage ou maintenant par des tests commercialisés : GeneXpert®MTB/RIF (Cepheid, USA), GenoType®MTB-DR plus (Hain Lifescience, Allemagne) ; Inno-LiPA® Rif-TB (Innogenetics, Belgique).

Inactivation des rifamycines

Elle est due à une ADP ribosylase codée par le gène *arr-3*. Ce gène est présent à l'état naturel chez les bactéries productrices (support chromosomique), et a été transféré aux bactéries à Gram négatif où il est le plus souvent sur un support plasmidique au sein d'intégron ou entre des séquences d'insertion.

Autres mécanismes

Un efflux et une aggravation de l'imperméabilité naturelle peuvent aussi être en cause chez les bactéries à Gram négatif.

Action toxique sur l'ADN

5 nitro-imidazolés

Les 5-nitro-imidazolés, comme le métronidazole, l'ornidazole et le tinidazole, sont des antibiotiques actifs

principalement chez les bactéries anaérobies car ils nécessitent une réduction préalable par des ferrédoxines (métabolisme anaérobie du pyruvate, $\text{NO}_2 \Rightarrow \text{NH}_2$) en présence d'ADN.

Ces antibiotiques agissent en inhibant la synthèse des acides nucléiques par fixation sur l'ADN, en particulier au niveau des régions riches en thymidine et adénine. Ils sont bactéricides mais le mécanisme d'action n'est pas très bien connu.

Le spectre antibactérien est étroit avec principalement les bactéries anaérobies, les bactéries à Gram négatif étant plus sensibles que celles à Gram positif. Certaines bactéries à métabolisme microaérophile comme *Helicobacter pylori* sont aussi sensibles.

Les imidazolés ont aussi une activité sur de nombreux parasites : *Trichomonas vaginalis*, *Lambliia* (giardia), et *Entamoeba histolytica* (amibes).

Les mécanismes de résistance sont encore rares chez les bactéries anaérobies. On peut observer :

- une diminution de l'accumulation intrabactérienne par diminution de l'influx ou efflux (22, 24),
- une diminution de l'activité nitro-réductase.

Les gènes *nim* (*nimA* à *nimF*) ont été mis en évidence chez les bactéries anaérobies ayant acquis une résistance (25, 28, 31). Ces gènes codent des réductases ne permettant pas d'activer les imidazolés. Les gènes sont transférables du fait de leur support plasmidique ou sur des transposons, mais certains peuvent être trouvés en situation chromosomique. L'expression des gènes *nim* est souvent soumise à un promoteur apporté en amont du gène par une séquence d'insertion (32).

Chez *H. pylori*, la résistance est fréquente (30 % à 50 %) mais elle est parfois due à une fausse résistance *in vitro* due

à la difficulté de tester le métronidazole chez cette bactérie de croissance fastidieuse. Plusieurs gènes codant des réductases ont été incriminés (*frxA*, *rdxA*) mais c'est plutôt la modification générale des capacités d'oxydo-réduction de la bactérie qui est en cause (17).

Nitrofuranes

Les nitrofuranes ont besoin d'être transformés en composé actif par réduction comme les nitro-imidazolés. Le composé actif provoque des lésions de l'ADN qui sont mal caractérisées.

Contrairement aux 5-nitro-imidazolés, les réductases produites par les bactéries aéro-anaérobies comme les entérobactéries sont actives pour transformer les nitrofuranes. C'est pourquoi ces molécules ont un large spectre antibactérien : bactéries à Gram négatif comme les entérobactéries (sauf les *Proteae*) et les bactéries à Gram positif comme les staphylocoques et les streptocoques.

Les mécanismes de résistance acquise sont mal connus :

- résistance par diminution de l'activité nitro-réductase secondaire aux mutations dans les gènes *nfsA* et *nfsB*,
- diminution de l'accumulation chez les bactéries à Gram négatif.

Compte tenu des connaissances actuelles, ces gènes sont chromosomiques.

Remerciements

Nous remercions l'Université Paris Diderot (EA 3964) et l'Université Reims-Champagne.



Antibacterianos que actúan sobre la síntesis y la conformación de los ácidos nucleicos

E. Cambau & T. Guillard

Resumen

Hay diversos antibacterianos que actúan inhibiendo la síntesis de ácidos nucleicos (rifamicinas, sulfamidas, diaminopiridinas), modificando su conformación (quinolonas, cumarinas) o provocando en ellos lesiones irreversibles (nitro-imidazoles, nitrofuranos). Los mecanismos de resistencia son los siguientes: disminución de la acumulación intracitoplasmática, modificación de la molécula diana o producción de una nueva diana con poca afinidad y también, con menos frecuencia, inactivación enzimática. Los mecanismos que actúan sobre las dianas son específicos de cada familia y pueden inducir resistencias de alto nivel. En cambio, la disminución de la permeabilidad de la membrana y la intensificación del achique (*efflux*) son mecanismos inespecíficos, que determinan una resistencia de bajo nivel cruzada entre varias familias. El soporte genético suele ser cromosómico en el caso de las rifamicinas y las quinolonas, aunque también se han descrito genes de resistencia plasmídicos. Estos últimos son frecuentes, en cambio, en la resistencia a las sulfamidas y al trimetoprim. Aún no se conocen bien los mecanismos de resistencia a los nitro-imidazoles y nitrofuranos.

Palabras clave

Diaminopiridinas – Imidazoles – Nitrofuranos – Quinolonas – Resistencia – Rifampicina – Sulfamidas.



Références

1. Acar J.F. & Goldstein F.W. (1982). – Genetic aspects and epidemiologic implications of resistance to trimethoprim. *Rev. infect. Dis.*, **4** (2), 270-275.
2. Aubry-Damon H., Soussy C.J. & Courvalin P. (1998). – Characterization of mutations in the *rpoB* gene that confer rifampin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **42** (10), 2590-2594.
3. Blondeau J.M. (2004). – Fluoroquinolones: mechanism of action, classification, and development of resistance. *Surv. Ophthalmol.*, **49** (Suppl. 2), S73-78.
4. Cambau E. (1996). – Résistance aux quinolones. *Méd. & Thérapeutique*, **3**, 98-107.
5. Cambau E., Carthagena L., Chauffour A., Ji B. & Jarlier V. (2006). – Dihydropteroate synthase mutations in the *folP1* gene predict dapsone resistance in relapsed cases of leprosy. *Clin. infect. Dis.*, **42** (2), 238-241.
6. Cambau E., Matrat S., Pan X.S., Roth Dit Bettoni R., Corbel C., Aubry A., Lascols C., Driot J.Y. & Fisher L.M. (2009). – Target specificity of the new fluoroquinolone besifloxacin in *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *J. antimicrob. Chemother.*, **63** (3), 443-450.
7. Cattoir V., Lesprit P., Lascols C., Denamur E., Legrand P., Soussy C.-J. & Cambau E. (2006). – *In vivo* selection during ofloxacin therapy of *Escherichia coli* with combined topoisomerase mutations that confer high resistance to ofloxacin but susceptibility to nalidixic acid. *J. antimicrob. Chemother.*, **58** (5), 1054-1057.
8. Contreras A. & Maxwell A. (1992). – *gyrB* mutations which confer coumarin resistance also affect DNA supercoiling and ATP hydrolysis by *Escherichia coli* DNA gyrase. *Molec. Microbiol.*, **6** (12), 1617-1624.

9. Fermer C. & Swedberg G. (1997). – Adaptation to sulfonamide resistance in *Neisseria meningitidis* may have required compensatory changes to retain enzyme function: kinetic analysis of dihydropteroate synthases from *N. meningitidis* expressed in a knockout mutant of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, **179** (3), 831-837.
10. Fluit A.C. & Schmitz F.J. (2004). – Resistance integrons and super-integrons. *Clin. Microbiol. Infect.*, **10** (4), 272-288.
11. Gutmann L., Billot-Klein D., Williamson R., Goldstein F.W., Mounier J., Acar J.F. & Collatz E. (1988). – Mutation of *Salmonella paratyphi* A conferring cross-resistance to several groups of antibiotics by decreased permeability and loss of invasiveness. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **32** (2), 195-201.
12. Heddle J.G., Blance S.J., Zamble D.B., Hollfelder F., Miller D.A., Wentzell L.M., Walsh C.T. & Maxwell A. (2001). – The antibiotic microcin B17 is a DNA gyrase poison: characterisation of the mode of inhibition. *J. molec. Biol.*, **307** (5), 1223-1234.
13. Hooper D.C. (2000). – Mechanisms of action and resistance of older and newer fluoroquinolones. *Clin. infect. Dis.*, **31** (Suppl. 2), S24-28.
14. Huovinen P., Sundström L., Swedberg G. & Sköld O. (1995). – Trimethoprim and sulfonamide resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **39** (2), 279-289.
15. Jacoby G., Cattoir V., Hooper D., Martínez-Martínez L., Nordmann P., Pascual A., Poirel L. & Wang M. (2008). – *qnr* gene nomenclature. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **52** (7), 2297-2299.
16. Jin D.J. & Gross C.A. (1988). – Mapping and sequencing of mutations in the *Escherichia coli* *rpoB* gene that lead to rifampicin resistance. *J. molec. Biol.*, **202** (1), 45-58.
17. Kaakoush N.O., Asencio C., Megraud F. & Mendz G.L. (2009). – A redox basis for metronidazole resistance in *Helicobacter pylori*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **53** (5), 1884-1891.
18. Lawrence M.C., Iliades P., Fernley R.T., Berglez J., Pilling P.A. & Macreadie I.G. (2005). – The three-dimensional structure of the bifunctional 6-hydroxymethyl-7, 8-dihydropterin pyrophosphokinase/dihydropteroate synthase of *Saccharomyces cerevisiae*. *J. molec. Biol.*, **348** (3), 655-670.
19. Maxwell A. (1993). – The interaction between coumarin drugs and DNA gyrase. *Molec. Microbiol.*, **9** (4), 681-686.
20. Merens A., Matrat S., Aubry A., Lascols C., Jarlier V., Soussy C.J., Cavallo J.D. & Cambau E. (2009). – The pentapeptide repeat proteins MfpAMt and QnrB4 exhibit opposite effects on DNA gyrase catalytic reactions and on the ternary gyrase-DNA-quinolone complex. *J. Bacteriol.*, **191** (5), 1587-1594.
21. Musser J.M. (1995). – Antimicrobial agent resistance in mycobacteria: molecular genetic insights. *Clin. Microbiol. Rev.*, **8** (4), 496-514.
22. Nikaido H. (2003). – Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiol. Molec. Biol. Rev.*, **67** (4), 593-656.
23. Poole K. (2007). – Efflux pumps as antimicrobial resistance mechanisms. *Ann. Med.*, **39** (3), 162-176.
24. Pumbwe L., Chang A., Smith R.L. & Wexler H.M. (2007). – BmeRABC5 is a multidrug efflux system that can confer metronidazole resistance in *Bacteroides fragilis*. *Microb. Drug Resist.*, **13** (2), 96-101.
25. Reysset G., Haggoud A. & Sebald M. (1993). – Genetics of resistance of *Bacteroides* species to 5-nitro-imidazole. *Clin. infect. Dis.*, **16** (Suppl. 4), S401-403.
26. Robicsek A., Strahilevitz J., Jacoby G.A., Macielag M., Abbanat D., Park C.H., Bush K. & Hooper D.C. (2006). – Fluoroquinolone-modifying enzyme: a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase. *Nat. Med.*, **12** (1), 83-88.
27. Schmitz F.J., Perdikouli M., Beeck A., Verhoef J. & Fluit A.C. (2001). – Resistance to trimethoprim-sulfamethoxazole and modifications in genes coding for dihydrofolate reductase and dihydropteroate synthase in European *Streptococcus pneumoniae* isolates. *J. antimicrob. Chemother.*, **48** (6), 935-936.
28. Soki J., Gal M., Brazier J.S., Rotimi V.O., Urban E., Nagy E. & Duerden B.I. (2006). – Molecular investigation of genetic elements contributing to metronidazole resistance in *Bacteroides* strains. *J. antimicrob. Chemother.*, **57** (2), 212-220.
29. Sørensen A.H., Hansen L.H., Johannesen E. & Sørensen S.J. (2003). – Conjugative plasmid conferring resistance to olaquinox. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **47** (2), 798-799.
30. Strahilevitz J., Jacoby G.A., Hooper D.C. & Robicsek A. (2009). – Plasmid-mediated quinolone resistance: a multifaceted threat. *Clin. Microbiol. Rev.*, **22** (4), 664-689.
31. Theron M.M., Janse Van Rensburg M.N. & Chalkley L.J. (2004). – Nitro-imidazole resistance genes (*nimB*) in anaerobic Gram-positive cocci (previously *Peptostreptococcus* spp.). *J. antimicrob. Chemother.*, **54** (1), 240-242.
32. Trinh S. & Reysset G. (1996). – Detection by PCR of the *nim* genes encoding 5-nitro-imidazole resistance in *Bacteroides* spp. *J. clin. Microbiol.*, **34** (9), 2078-2084.
33. Vetting M.W., Hegde S.S., Fajardo J.E., Fiser A., Roderick S.L., Takiff H.E. & Blanchard J.S. (2006). – Pentapeptide repeat proteins. *Biochemistry*, **45** (1), 1-10.