

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Jijel

Faculté des Sciences de la Nature
et de la Vie

Départements de Microbiologie
Appliquée et Sciences Alimentaire



كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم علم الجراثيم التطبيقية وعلوم التغذية

Mémoire de Fin D'étude pour l'obtention de Diplôme

D'Etudes Supérieures (DES)

Option : Microbiologie

جامعة محمد بن يحيى
كلية علوم الطبيعة و الحياة
المكتبة
رقم الجرد : 1954

Résistance bactérienne aux antibiotiques et aux métaux lourds

Membre du jury :

- ❖ Examinatrice : M^{me} Boussouf L.
- ❖ Encadreur : M^{me} Yousfi K.

Réalisé par :

- ❖ Boufligha Khadidja
- ❖ Kissoum Nadjoua
- ❖ Menina Amina



Année universitaire : 2012/2013

Remerciements

Nous tenons d'abord à remercier dieu de nous avoir donné la force et la patience pour terminer ce travail.

Nous remercions également : M^{me} Boussouf L. pour l'honneur qu'elle a fait en acceptant de juger ce travail.

Nous tenons à exprimer nos remerciements les plus sincères à notre promotrice M^{me} Yousfi K. pour son aide, pour sa dispensabilité et sa grande patience.

Nous tenons aussi à remercier tous les enseignants du Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire de l'université de Fijel.

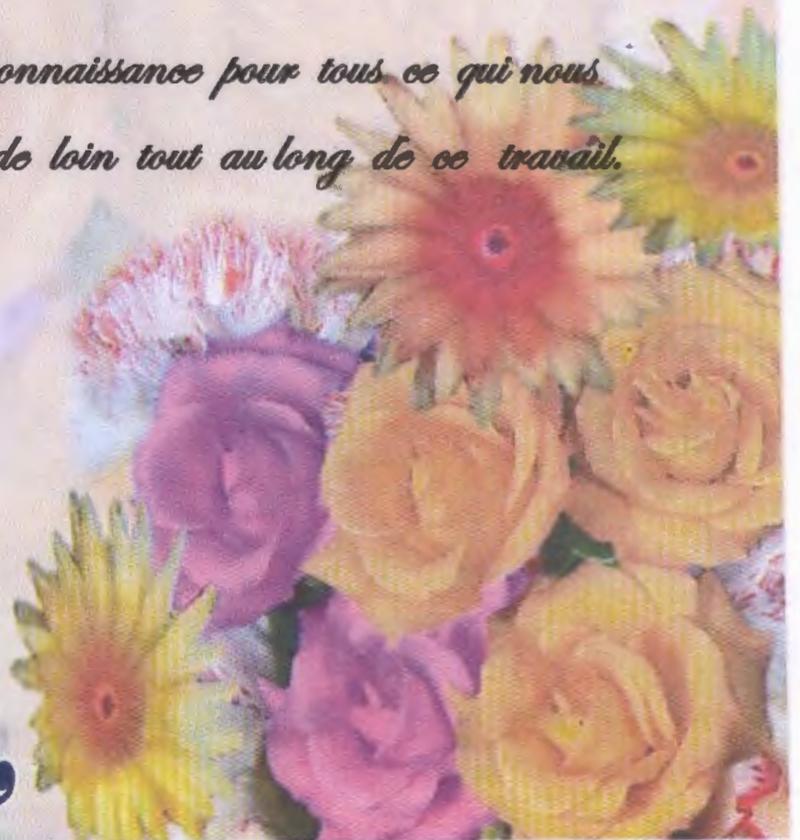
Nous remercions nos très chers parents pour leur amour, leurs sacrifices et leurs encouragements.

En fin, nous exprimons notre reconnaissance pour tous ce qui nous ont aidé et encouragé de près ou de loin tout au long de ce travail.

Amina

Khadidja

Nadjoua



Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction.....	01
Chapitre I : Généralités.....	02
1- Les antibiotiques.....	02
1- Historique.....	02
2- Définition.....	02
3- Origine.....	02
4- Mode d'action.....	02
5- Classification.....	03
5-1- Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne.....	04
5-2- Antibiotiques inhibant la synthèse des protéines.....	06
5-3- Antibiotiques inhibant le fonctionnement de l'ADN.....	08
5-4- Antibiotiques agissant sur la membrane cytoplasmique.....	10
2- Les métaux lourds.....	10
1- Définition.....	11
2- Origine.....	12
3- Classification.....	13
3-1- Eléments traces métalliques essentiels.....	13
3-2- Eléments traces métalliques non essentiels.....	13
4- Propriétés physico-chimiques.....	13
5- Intérêt et utilisation des métaux lourds.....	14
6- Toxicité des métaux lourds sur les microorganismes.....	15
Chapitre II : Résistance bactérienne aux antibiotiques et aux métaux lourds.....	17
1- Résistance bactérienne aux antibiotiques.....	17
1- Définition.....	17

2- Nature des résistances aux antibiotiques.....	17
2-1- Résistance naturelle.....	17
2-2- Résistance acquise.....	18
3- Mécanisme de résistance.....	21
2- Résistance bactérienne aux métaux lourds.....	29
1- Mécanisme de résistance.....	29
1-1- Résistance au mercure.....	31
1-2- Résistance au cuivre.....	32
1-3- Résistance au zinc.....	33
1-4- Résistance au cadmium.....	33
1-5- Résistance au plomb.....	34
3- Relation entre la résistance bactérienne aux antibiotiques et aux métaux lourds.....	34
Chapitre III : Méthodes utilisées pour l'étude de la résistance bactérienne aux antibiotiques et aux métaux lourds.....	36
1- Pour les antibiotiques.....	36
1-1- Antibiogramme.....	36
- Méthode de diffusion en gélose.....	37
- Méthode de dilution en gélose.....	39
- Méthodes automatiques.....	39
1-2- Concentration minimale inhibitrice.....	40
1-3- Amplification par réaction en chaîne de polymérase (PCR).....	40
2- Pour les métaux lourds.....	41
- Détermination de la CMI.....	42
- Amplification par PCR de l'ADN purifiée.....	42
Conclusion.....	43
Références bibliographiques.....	44

Liste des abréviations

AAC : acétyltransférases.

ADN : acide désoxyribonucléique.

ADNc : ADN complémentaire.

Al: aluminium.

ANT : nucléotidyltransférases.

APH : phosphotransférases.

As: arsenic.

Ca: calcium.

Cd: cadmium.

CDF: cation diffusion factor.

CMB : concentration minimale bactéricides.

CMI : concentration minimale inhibitrice.

Co: cobalt.

Cr: chrome.

Cs: césium.

Cu: cuivre.

DHFR : dihydrofolate réductase.

DHFS : dihydrofolate synthase.

ETM: éléments traces métalliques.

Fe : fer.

H: hydrogen.

Hg: mercure.

I : souches intermédiaires.

K: potassium.

LPS : lipopolysaccharides.

Mg: magnesium.

MLS : groupe des macrolides avec les lincosamines et les streptogramines.

Mn: manganese.

Mo: molybdène.

Na: sodium.

Ni: nickel.

O : oxygène.

P: phosphore.

Pb: plomb.

PCR : réaction en chaîne de polymérase.

PCR-RT : réverse-transcription PCR.

PFGE: pulsed-field gel electrophoreses.

PLP : protéines liant les pénicillines.

R : souches résistantes.

S : souches sensibles.

Sb: antimoine.

Se: sélénium.

Si : silicium.

Sr: strontium.

Ti: titanium.

TMP-SMZ : combinaison de triméthoprime et de sulfaméthoxazole.

U: uranium.

V: vanadium.

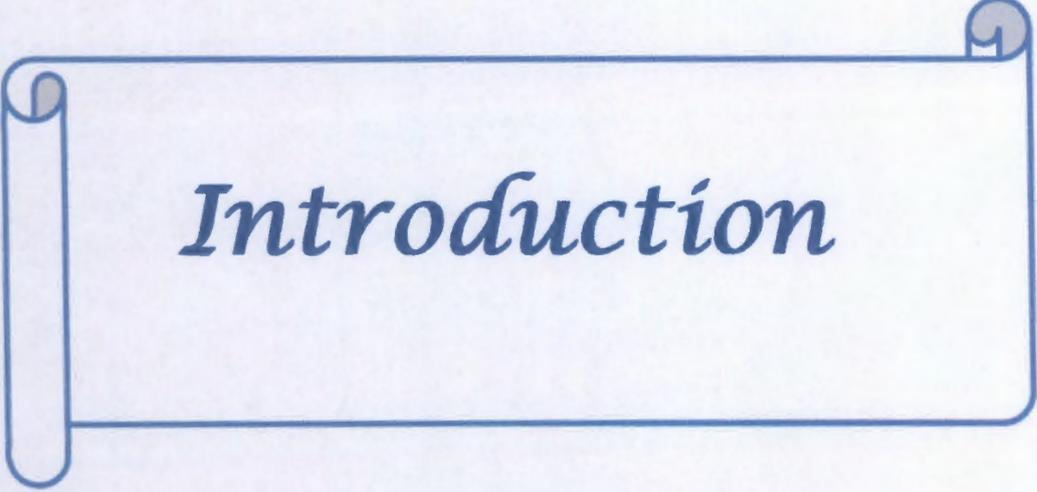
Zn: zinc.

Liste des figures

Figure 01 : Les cibles bactériennes des antibiotiques.....	03
Figure 02 : Structures chimiques des antibiotiques qui agissent sur la paroi bactérienne.....	05
Figure 03 : Structures chimiques des antibiotiques inhibant la synthèse des protéines.....	07
Figure 04 : Antibiotiques inhibant le fonctionnement de l'ADN.....	09
Figure 05 : Table périodique des éléments.....	12
Figure 06 : Acquisition des gènes de résistance par conjugaison, transduction, et transformation	20
Figure 07 : Hydrolyse des pénicillines par les β-lactamases.....	23
Figure 08 : Exemples de quelques mécanismes de résistance bactérienne aux métaux lourds.....	30
Figure 09 : Mécanismes de résistance au mercure.....	32
Figure 10 : Résistance au cuivre chez <i>E. coli</i>.....	33
Figure 11 : Quelques mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques et aux métaux lourds..	35
Figure 12 : Méthode de diffusion sur gélose.....	38
Figure 13 : Cartouche en 3D.....	41

Liste des tableaux

Tableau I. Classification des antibiotiques qui inhibent la synthèse de la paroi bactérienne.....	05
Tableau II. Classification des antibiotiques qui inhibent la synthèse des protéines.....	08
Tableau III. Classification des antibiotiques qui inhibent le fonctionnement de l'acide désoxyribonucléiques.....	10
Tableau IV. Mécanismes de résistance acquise des bactéries aux antibiotiques.....	19
Tableau V. Implication des mécanismes d'efflux dans la résistance bactérienne aux antibiotiques.....	22
Tableau VI. Mécanismes impliqués dans la résistance aux antibiotiques et aux métaux lourds.....	35
Tableau VII. Antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme et son code.....	38



Introduction

Introduction

Dans la nature, les bactéries disposent de nombreux mécanismes de résistance, plus ou moins efficaces contre les molécules toxiques auxquelles elles sont naturellement confrontées dans leur environnement, en particulier certains métaux lourds, ou diverses substances antibiotiques sécrétés par les bactéries ou les champignons pour leur propre défense.

La dissémination de la résistance bactérienne aux antibiotiques et aux métaux lourds, est une préoccupation majeure en santé publique puisqu'elle s'est développée très rapidement atteignant presque toutes les espèces pathogènes. Elle représente ainsi une menace pour la santé et donc un enjeu de sécurité sanitaire. La dissémination des résistances liée à la circulation des gènes entre les bactéries rend compte de la rapidité avec laquelle évolue le phénomène de la résistance au sein du monde bactérien et le développement de bactéries multirésistantes.

Pour évaluer le degré de résistance d'une bactérie, différents tests de sensibilité ont été mis au point, le plus connu étant l'antibiogramme et la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) d'un antibiotique vis-à-vis d'une bactérie, ce qui donne des résultats sous forme qualitative en classant la bactérie comme sensible, résistante ou de sensibilité intermédiaire pour chaque antibiotique testé.

D'abord, c'est quoi un antibiotiques et un métal lourd, et quelle est leur classification ? Quels sont les principaux mécanismes de résistance de ces éléments ? Et-est-ce qu'il existe une relation entre la résistance bactérienne aux antibiotiques et celle aux métaux lourds ? La détection de ces résistances repose sur plusieurs méthodes biochimiques, génétiques, et moléculaires, donc quelles sont les méthodes essentielles pour l'étude de ces deux types de résistance bactérienne ?

L'objectif de cette synthèse bibliographique est de mieux comprendre les mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques et aux métaux lourds, de préciser les différents gènes responsables à ces deux types de résistances, et la détermination de principales méthodes utilisées pour cette étude.

I. Généralités

I.1. Les antibiotiques

I.1.1. Historique

En 1928, Alexander Fleming découvrait que la croissance bactérienne pouvait être inhibée par la présence d'un champignon filamenteux du genre *Penicillium*, mais ce n'est qu'en 1942 que la pénicilline fut utilisée pour la première fois à large échelle. À la fin de la Seconde Guerre mondiale, la pénicilline employée plus largement pour le traitement des infections bactériennes, mais, dès 1945, alors qu'il recevait le prix Nobel de médecine partagé avec son compatriote Ernst B. Chain et l'Australien Howard Florey. La découverte de la pénicilline fut rapidement suivie par d'autres, et le nombre de molécules naturelles, puis semi-synthétiques n'a cessé de croître au fil des ans. Dans les années 1950 et 1960, de nouvelles catégories d'antibiotiques furent développées. Cependant, au cours des deux décennies suivantes, la recherche scientifique ne produisait pas de nouvelles catégories d'antibiotiques, ses résultats se limitant plutôt à des améliorations au sein des catégories existantes (Gaudy et Busceraud, 2005).

I.1.2. Définition

Les antibiotiques sont parmi les plus réussis produits pharmaceutiques destinés à usage humain et vétérinaire en thérapie. Ce sont des molécules possédant une activité antibactérienne qui sont capables d'inhiber et même de détruire les bactéries (action bactériostatique ou bactéricide). Ils n'agissent pas sur les virus (Leyral et al., 1997 ; Bouki et al., 2013).

I.1.3. Origine

Les antibiotiques sont des substances produites naturellement par certaines moisissures et par certaines bactéries ; ce sont leurs propres armes dans la concurrence vitale qui les oppose à d'autres microorganismes.

- Ex : la streptomycine est produite par *Streptomyces griseus* (champignon).
- la bacitracine est produite par *Bacillus licheniformis* (bactérie).

Des milliers d'antibiotiques ont été mis en évidence, mais ils ne présentent pas tous un intérêt médical. Les laboratoires fabriquent les antibiotiques à partir de cultures en masse de microorganismes producteurs. Ils peuvent également être fabriqués par synthèse chimique (Leyral et al., 1997).

I.1.4. Mode d'action

L'action d'un antibiotique est le résultat des interactions organisme-antibiotique d'une part et antibiotique-bactéries d'autre part. un antibiotique pour être actif, il doit pénétrer jusqu'à sa cible bactérienne (figure 1), ne pas être inactivé, et être capable de se lier à sa cible.

L'antibiotique exercera son action qui pourra être **bactériostatique** s'il n'y a qu'une simple inhibition de la croissance bactérienne ou **bactéricide** s'il y a mort de la bactérie.

On distingue quatre catégories de molécules :

- ✓ antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne ;
- ✓ antibiotiques inhibant la synthèse des protéines ;
- ✓ antibiotiques inhibant le fonctionnement de l'acide désoxyribonucléique (ADN) ;
- ✓ antibiotiques entraînant la destruction de la membrane cytoplasmique (**Gaudy et Busceraud, 2005**).

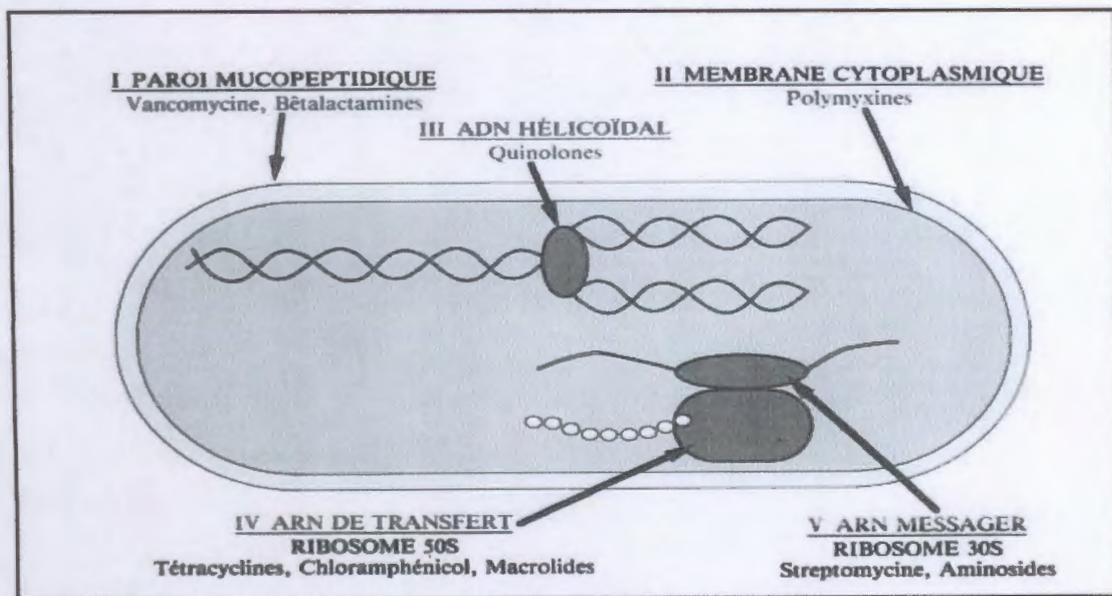


Figure 01. Les cibles bactériennes des antibiotiques (**Bustany et Chaumet-Riffaud, 1993**).

I.1.5. Classification

Il existe plusieurs systèmes de classification des antibiotiques :

- En fonction de leur mode d'action sur les agents infectieux : certains antibiotiques attaquent la paroi ou la membrane cellulaire, d'autres inhibent la synthèse des acides nucléiques et des protéines ;
- En fonction des souches bactériennes qu'ils détruisent (spectre d'activité) : staphylocoques, streptocoques, ou *Escherichia coli*, par exemple ;
- En fonction de leur structure chimique. Les différentes familles sont alors les pénicillines, les céphalosporines, les aminosides, les tétracyclines, les macrolides, et les sulfamides (**Sablonnière, 2006**).

Pour des raisons de simplicité nous adopterons la première classification.

L1.5.1. Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne

La paroi cellulaire bactérienne est composée d'un réseau macromoléculaire appelé peptidoglycane. Le peptidoglycane est un composé propre aux parois cellulaires des bactéries (Tortora et al., 2003).

Les antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi sont bactéricides et agissent seulement sur les germes en phase active de multiplication (phase exponentielle) (Meyer et al., 1999).

Trois classes d'antibiotiques sont concernées : les β -lactamines, les glycopeptides, et les fosfomycines (Gaudy et Busceraud, 2005).

❖ Les β -lactamines

Elles constituent la famille d'antibiotiques la plus importante, aussi bien par le nombre et la diversité des molécules utilisables que par leurs indications en thérapeutique et en prophylaxie des infections bactériennes. Cette famille, qui regroupe les pénicillines, les céphalosporines, les carbapénèmes et les monobactames, est caractérisée par la présence constante du cycle β -lactame associé à des cycles et des chaînes latérales variables qui expliquent les propriétés pharmacocinétiques et le spectre d'activité des différents produits (Cavallo et al., 2004).

Les β -lactamines se fixent sur des protéines de la membrane cytoplasmique : les protéines liant les pénicillines (PLP). Ce sont les cibles des β -lactamines, et elles agissent en bloquant la réticulation des peptidoglycanes, ce qui empêche les dernières étapes de la formation de la paroi cellulaire. La perte de la paroi cellulaire empêche la croissance de la bactérie ; dépourvue de protection, la cellule bactérienne meurt rapidement (Tortora et al., 2003).

❖ Les glycopeptides

Elles sont des molécules qui comprennent une fraction glucidique associée à des acides aminés. Les glycopeptides se fixent sur la partie peptidique du peptidoglycane et se lient au dipeptide terminal D-ala-D-ala. Cette fixation de l'antibiotique, la vancomycine, par exemple empêche le fonctionnement normal des transpeptidases et des transglycosylases, entraînant l'arrêt de la synthèse du peptidoglycane et secondairement la mort de la bactérie (Duval et Soussy, 1990 ; Gaudy et Busceraud, 2005).

❖ Les fosfomycines

La fosfomycine est un antibiotique naturel (dérivé de l'acide phosphorique) dont la structure chimique n'a aucune parenté avec les autres agents antimicrobiens. Il s'agit d'un stade plus précoce en inhibant les premières étapes de la formation de peptidoglycane en se fixant sur une enzyme, la pyruvyltransférase, impliquée dans la formation d'un précurseur du peptidoglycane. Il y a arrêt de la synthèse de la paroi bactérienne et la mort de la bactérie (Gaudy et Busceraud, 2005).

La figure 2, représente quelques structures des antibiotiques agissant sur la paroi bactérienne, et le tableau I, représente leur classification et leur spectre d'activité.

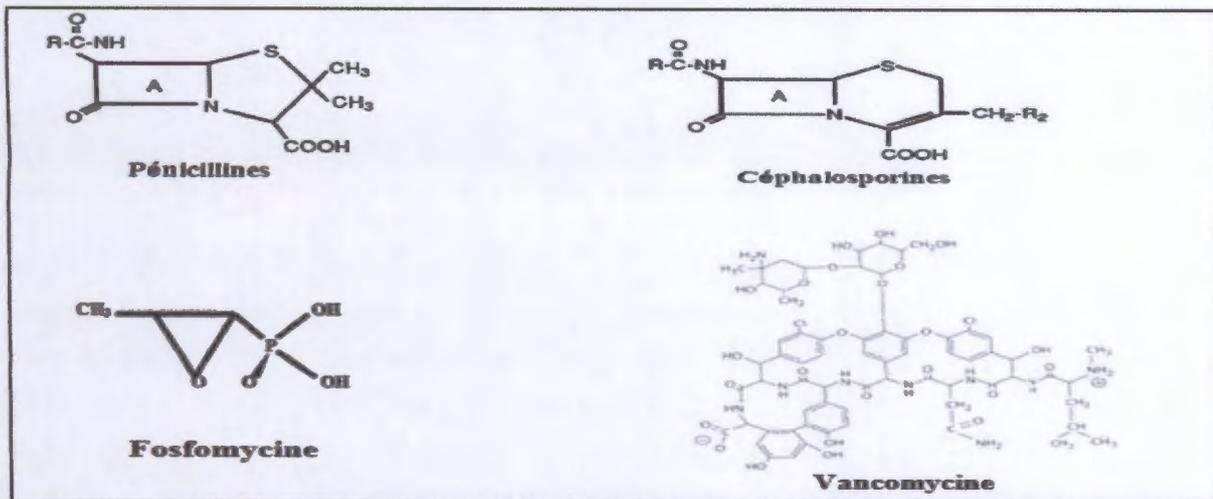


Figure 02. structures chimiques des antibiotiques qui agissent sur la paroi bactérienne (Chaabane et al., 2009 ; Finch et al., 2003).

Tableau I. Classification des antibiotiques qui inhibent la synthèse de la paroi bactérienne.

famille	groupe	spectre d'activité	Référence
Bêta-lactamines	<p>* Pénicillines :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pénicilline G - Pénicilline V - Ampicilline 	<ul style="list-style-type: none"> - les cocci à Gram + (streptocoques, pneumocoque...). - les bacilles à Gram + (<i>Listeria</i>, <i>Bacillus</i>....). 	(Duval et Soussy, 1990 ; Moulin et Coquerel, 1998)
	<p>*Céphalosporines :</p> <p>* 1^e génération :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Céfalotine <p>* 2^e génération :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Céfoxitine <p>* 3^e génération :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Céfotaxime <p>* Céphamycines :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Céfotétan - Latamoxef 	<ul style="list-style-type: none"> - les souches sensibles. - les entérobactéries. - les staphylocoques. -moins actives sur les streptocoques et le pneumocoque. 	
Autres antibiotiques	<p>* Glycopeptides :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Vancomycine - Teicoplanine 	<ul style="list-style-type: none"> - les bactéries Gram +. 	(Moulin et Coquerel, 1998 ; Léone et al., 2000)
	<p>* Fosfomycine</p>	<ul style="list-style-type: none"> - à large spectre -particulièrement actif vis-à-vis des bactéries Gram –. 	(Duval et Soussy, 1990).

I.1.5.2. Antibiotiques inhibant la synthèse des protéines

La synthèse des protéines s'effectue dans le cytoplasme au niveau du ribosome bactérien. Il faut donc, pour toutes ces molécules, traverser le peptidoglycane et les diverses membranes pour arriver dans le cytoplasme et atteindre leur cible : le ribosome.

Les antibiotiques de cette catégorie sont : les aminosides, les macrolides, et les tétracyclines et la rifampicine (Gaudy et Busceraud, 2005).

❖ Les aminosides

C'est une famille d'antibiotiques, dont les molécules sont reliées par des liens glycosuriques. Les aminosides sont bactéricides et inhibent la synthèse protéique, l'effet majeur est la fixation irréversible sur le ribosome entraînant l'inhibition, de l'élongation et de la terminaison, ce qui aboutit à la synthèse de protéines anormales. Ces molécules se fixent sur la sous-unité 30S du ribosome bactérien. Les effets observés sont l'altération de la membrane qui se traduit par une modification de la perméabilité, l'inhibition de la réplication de l'ADN et dégradation des ARN, et l'arrêt de la synthèse protéique ou erreur de lecture. La streptomycine est le représentant de cette familles d'antibiotiques (Eberlin, 1994 ; Tortora et al., 2003).

❖ Les macrolides

Les macrolides forment une classe d'antibiotiques ayant comme structure commune un grand noyau lactone sur lequel peuvent être branchés des sucres aminés ou non. On peut distinguer trois groupes selon le nombre d'atomes formant ce cycle ; les diverses molécules diffèrent en outre par les sucres. Les macrolides à noyau lactone à 14 atomes comme l'érythromycine et l'oléandomycine, à 15 atomes comme l'azithromycine, et à 16 atomes comme spiramycine et josamycine (Canu et Leclercq, 2002).

Dans la plupart des cas on trouve les macrolides associés avec les lincosamides et les streptogramine en formant le groupe MLS_B, ces antibiotiques présentent de nombreux points communs dans leurs propriétés, leur spectre antibactérien et leurs modalités d'action. Ceci, justifie leur rapprochement bien que leur structure chimique soit différente (Duval et Soussy, 1990).

L'érythromycine se lie aux ribosomes des bactéries pour inhiber la synthèse protéique par action sur l'élongation des chaînes peptidiques ; ce sont des inhibiteurs de la peptidyl-transférase, le site d'action se situe au niveau de la sous-unité 50S du ribosome (Eberlin, 1994).

❖ Les tétracyclines

Elles comprennent plusieurs antibiotiques de formules chimiques très voisines. Le noyau de la molécule est constitué par l'accolement de quatre cycles hexagonaux, ce qui explique le nom donné à ces produits. L'Oxytétracycline, la chlorotétracycline et la tétracycline elle-même sont les membres les plus utilisés de cette famille, ils inhibent au niveau du ribosome

l'élongation de la chaîne peptidique. Elles se fixent aux sous-unités 30S et sont considérées comme des inhibiteurs du site A, ces antibiotiques agissent aussi au niveau de la terminaison, une étape de ce stade se déroulant également sur le site A (Duval et Soussy, 1990 ; Leyral et al., 1997).

❖ Les rifamycines

L'antibiotique le plus connu de cette famille est la rifampicine, la structure de ces agents s'apparente à celle des macrolides. Elle se fixe sur une sous-unité de l'ARN polymérase et inhibe la synthèse protéique puisqu'il s'agit d'une inhibition de la transcription de l'ADN en ARNm donc elle est bactéricide (Tortora et al., 2003 ; Gaudy et Busceraud, 2005).

La figure 3, représente quelques structures des antibiotiques inhibant la synthèse des protéines, et le tableau II, représente leur classification et leur spectre d'activité.

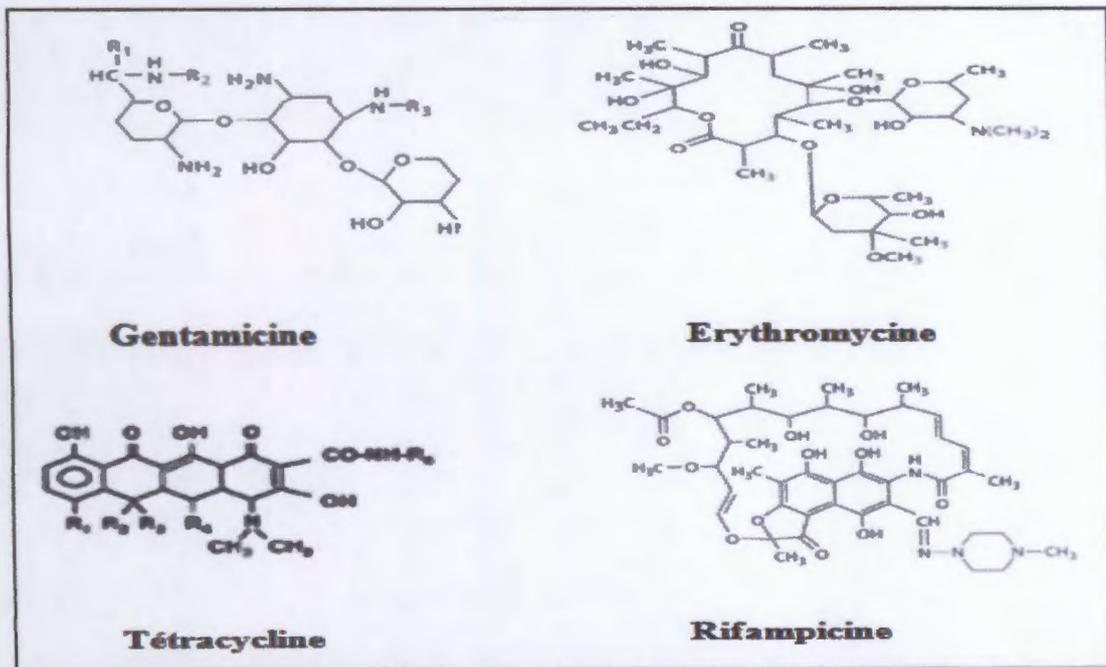


Figure 03. Structures chimiques des antibiotiques inhibant la synthèse des protéines (Baudry et Brezellec, 2006 ; Finch et al., 2003).



Tableau II. Classification des antibiotiques qui inhibent la synthèse des protéines.

famille	groupe	spectre d'activité	Référence
Aminosides	- Streptomycine - Gentamicine - Tobramycine	- les coques à Gram + et Gram – (streptocoques, pneumocoque). - les bacilles à Gram + (<i>Listeria...</i>). - les bacilles à Gram – (entérobactéries...).	(Duval et Soussy, 1990 ; Moulin et Coquerel, 1998)
Macrolides	- Erythromycine - Roxithromycine - Spiramycine - Josamycine	- les coques à Gram + et Gram –. - les bacilles à Gram + (<i>Listeria...</i>). - inactifs sur les bacilles à Gram – anaérobies.	(Duval et Soussy, 1990)
Tétracycline	* Tétracyclines de 1 ^è génération : - Tétracycline - Oxytétracycline * Tétracyclines de 2 ^è génération : - Minocycline	- un grand nombre d'espèces bactériennes, à Gram + et Gram –, y compris les rickettsies, les chlamydiales, les mycoplasmes.	(Duval et Soussy, 1990 ; Moulin et Coquerel, 1998)
Rifamycines	- Rifampicine - Rifabutine	- coques à Gram + et Gram –. - bacilles à Gram –.	(Moulin et Coquerel, 1998)

I.1.5.3. Antibiotiques inhibant le fonctionnement de l'acide désoxyribonucléiques

Un certain nombre d'antibiotiques compromettent le processus de réplication et de transcription de l'ADN des microorganismes. Toutefois, certains des agents procédant par ce mécanisme sont d'une utilité très limitée, parce qu'ils exercent aussi une action sur l'ADN et l'ARN des cellules de mammifères (Tortora et al., 2003).

Les antibiotiques concernés sont : les quinolones, les imidazolés, et l'association sulfamides/triméthoprime.

❖ Les quinolones

Ils sont des antibiotiques synthétiques possédant un noyau 4-quinolone, l'acide nalidixique, est le premier membre de cette famille. Les quinolones agissent en inhibant l'ADN gyrase bactérienne ou topoisomérase II, probablement en se fixant au complexe ADN-gyrase. Cette enzyme provoque des torsions négatives de l'ADN et facilite la séparation des chaînes. L'inhibition de l'ADN gyrase perturbe la réplication et la réparation de l'ADN, la transcription, la séparation du chromosome bactérien durant la division et d'autres processus cellulaires impliquant l'ADN (Tortora et al., 2003 ; Prescott et al., 2003).

On trouve aussi les fluoroquinolones comme la ciprofloxacine, la norfloxacine et l'ofloxacine, ils inhibent aussi la topoisomérase IV, une autre enzyme qui démêle l'ADN pendant la réplication. Il n'est donc pas surprenant que les quinolones soient bactéricides (Prescott et al., 2003).

❖ Les imidazolés

Dans le cytoplasme, les nitro-imidazolés se lient à des protéines réductrices, entraînant la libération de radicaux libres toxiques capables d'oxyder l'ADN bactérien et de le couper (Gaudy et Busceraud, 2005).

❖ L'association sulfamides /triméthoprim

Les premiers antimétabolites utilisés avec succès comme agents chimiothérapeutiques, furent les sulfamides ; ils ont une structure proche de la sulfanilamide, un analogue de l'acide p-aminobenzoïque. Cette dernière substance participe à la synthèse de l'acide folique.

Lorsque la sulfanilamide ou un autre sulfamide pénètre dans une cellule bactérienne, il entre en compétition avec l'acide p-aminobenzoïque pour le site actif d'une des enzymes impliquées dans la synthèse de l'acide folique et la concentration en acide folique décroît. Cette diminution est nuisible à la bactérie parce que l'acide folique est essentiel à la synthèse des purines et pyrimidines, les bases utilisées dans les constituants cellulaires importants.

L'inhibition de la synthèse des purines et des pyrimidines conduit à l'arrêt de la croissance ou à la mort de la bactérie pathogène (Prescott et al., 2003).

Il est probable que le sulfamide le plus couramment utilisé est une combinaison de triméthoprim et de sulfaméthoxazole (TMP-SMZ). Ce mélange constitue un excellent exemple d'un phénomène pharmacologique appelé synergie. Ensemble, ils possèdent aussi un spectre d'action plus étendu et diminuent considérablement l'apparition de souches résistantes (Tortora et al., 2003).

La figure 4, représente quelques structures des antibiotiques agissant sur l'ADN, et le tableau III, représente leur classification et leur spectre d'activité.

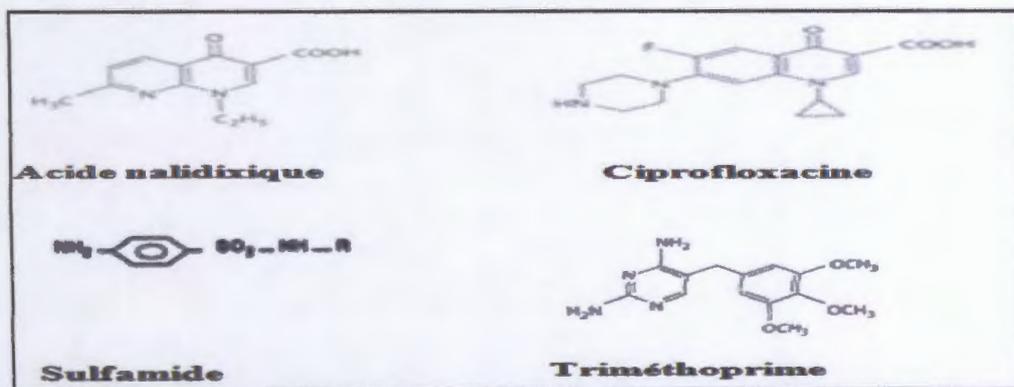


Figure 04. Antibiotiques inhibant le fonctionnement de l'ADN (Baudry et Brezellec, 2006 ; Finch et al., 2003).

Tableau III. Classification des antibiotiques qui inhibent le fonctionnement de l'acide désoxyribonucléiques.

Les familles	Les groupes	spectre d'activité	Références
Quinolones	* 1 ^e génération : - L'acide nalidixique	- à large spectre. - les entérobactéries. - autre bactéries pathogènes Gram -.	(Moulin et Coquerel, 1998 ; Prescott et al., 2003)
	* 2 ^e génération : - Péfloxacin - Ciprofloxacine	- bactéries Gram + (<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i>).	
	* 3 ^e génération : - Sparfloxacine		
Autres antibiotiques	* Imidazolés	- la plupart des bactéries anaérobies (<i>Bacteroides</i> , <i>Clostridium</i>). - les coques à Gram + et Gram -.	(Duval et Soussy, 1990)
	* Sulfamides - Sulfadiazine - Sulfamithoxazol	- la majorité des bactéries à Gram + et Gram -.	(Duval et Soussy, 1990)
	* triméthoprim		

L1.5.4. Antibiotiques agissant sur la membrane cytoplasmique

Certains antibiotiques, en particulier les antibiotiques polypeptidiques, influent sur la perméabilité de la membrane plasmique. Ces modifications engendrent la rupture de la membrane et, par conséquent, la perte d'importants métabolites cellulaires, ce sont des antibiotiques bactéricides (Tortora et al., 2003).

❖ Les polymyxines

Ce sont des substances basiques possédant une structure cyclique et un acide gras à chaîne ramifiée. Elles sont capables de détruire la membrane cytoplasmique après avoir désorganisé la membrane externe des bactéries comme les bacilles Gram négatif anaérobies, les polymyxines les plus utilisées sont la polymyxine B et la polymyxine E (Bustany et Chaumet-Riffaud, 1993 ; Gaudy et Busceraud, 2005).

L2. Les métaux lourds

Pendant de nombreuses décennies, le terme « métaux lourds » a été utilisé dans nombreux domaines, notamment la littérature scientifique et la législation. L'usage scientifique remonte à 1936 lorsque Bjerrum a fourni la première définition chimique du terme en utilisant la densité élémentaire. Aujourd'hui, ce terme se présente comme un terme générique mal défini

pour les différents éléments (principalement des métaux de transition, mais aussi certains des non-métaux) (Hübner et al., 2010).

En outre, pas tous les « métaux lourds » sont des métaux. En premier lieu l'arsenic (As) et l'antimoine (Sb), par exemple, sont généralement classés comme « métaux lourds », indépendamment du fait qu'ils sont des métalloïdes (semi-métal). Autres éléments sont catégorisés apparemment au hasard. L'uranium (U), par exemple, n'est parfois pas inclus du tout, parfois considéré comme un « métal lourd » et parfois inscrit à côté de ce groupe (Hübner et al., 2010).

1.2.1. Définition

Les métaux lourds sont membres d'un sous-ensemble mal défini d'éléments qui présentent des propriétés métalliques. Ils ont des masses atomiques entre 63,5 et 200,6 et une densité supérieure à 5g/cm^3 .

Les métaux lourds appelés, éléments traces métalliques (ETM) (68 éléments), sont les constituants de la croûte terrestre, dont la concentration est inférieure à 0,1%. Ils ne représentent à eux tous que 0,6% du total, alors que les 12 éléments majeurs interviennent pour 99,4% qui sont (par ordre d'abondance décroissante) : oxygène (O), silicium (Si), aluminium (Al), fer (Fe), calcium (Ca), sodium (Na), potassium (K), magnésium (Mg), titane (Ti), hydrogène (H), phosphore (P), manganèse (Mn) (Baize et Tercé Coord, 2002 ; Shanab et al., 2012 ; Singh et al., 2011).

Les métaux lourds non essentiels : le cadmium (Cd), chrome (Cr), mercure (Hg), plomb (Pb), (As) et (Sb) qui sont relativement abondant dans la croûte terrestre et fréquemment utilisé dans l'industrie des processus ou l'agriculture sont toxiques pour les humains. Ceux-ci peuvent faire des modifications importantes aux cycles biochimiques de corps vivants, bien que certains métaux lourds soient les oligoéléments essentiels, tel que : cobalt (Co), cuivre (Cu), manganèse (Mn), molybdène (Mo), vanadium (V), zinc (Zn) et (Fe), la plupart peut être, à des concentrations élevées, toxiques pour toutes les branches de la vie, notamment microbienne, en formant des composés complexes au sein de la cellule (Spain et Alm, 2003 ; Shanab et al., 2012).

Toute espèce de métal (ou métalloïde) peut être considéré comme contaminant s'il se produit lorsqu'il n'est pas souhaitée, ou dans un formulaire ou de la concentration qui provoque un effet nuisibles de l'humain ou environnemental. Métal/métalloïdes comprennent le plomb (Pb), cadmium (Cd), mercure (Hg), arsenic (As), chrome (Cr), cuivre (Cu), sélénium (Se), nickel (Ni), argent (Ag) et zinc (Zn). Autres contaminants métalliques moins communs incluent l'aluminium (Al), césium (Cs), manganèse (Mn), molybdène (Mo), strontium (Sr) et l'uranium (U) (Singh et al., 2011).

La figure 5, représente les métaux lourds dans la table périodique des éléments.

Group	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Period																		
1	H																	He
2	Li	Be											B	C	N	O	F	Ne
3	Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl	Ar
4	K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr
5	Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe
6	Cs	Ba	Lu	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn

Key:

- Major, essential, all life
- Major, cations, all life
- Major, anion, all life
- Essential, trace, all life
- Specialized uses, some life
- Transported, reduced and/or methylated, some microbes
- Inert or unknown biological function
- Major biological transition metals

Figure 05. Table périodique des éléments (Wackett et al., 2004).

I.2.2. Origine

Les métaux lourds sont des composés naturels libérés dans l'environnement par divers procédés. On considère généralement que les métaux lourds proviennent de deux sources principales : les apports naturels (fonds géochimiques) et les apports anthropiques (Chen et al., 2009 ; Monachese et al., 2012).

- **Les apports naturels**

Le fond géochimique qui est par définition "la teneur naturelle ou originelle en éléments traces dans un sol en absence de tout processus d'apport ou d'exportation vers ou hors d'un site considéré". Cette teneur dépend aussi bien de la teneur de la roche originelle constituant le sol que des processus, intervenus lors des périodes géologiques de formation du sol, qui ont pu lessiver ou concentrer l'élément en question : le fond géochimique est défini par une valeur moyenne et une variabilité dépendant de l'échelle spatiale considérée (Burnol et al., 2006).

- **Les apports anthropiques**

Par exemple les métallifères industries et mines, gaz d'échappement, pratiques agronomiques, etc.). L'expansion récente de l'activité industrielle humaine, y compris l'extraction, et fonte de métaux, galvanoplastie, gaz d'échappement, production d'énergie et de carburant, engrais, application des eaux usées et de pesticides, production de déchets municipaux (Yan-de et al., 2007).

I.2.3. Classification

Certains des métaux lourds sont essentiels pour la croissance, le développement et la santé des organismes vivants, tandis que d'autres sont non essentiels comme ils sont indestructibles et la plupart d'entre eux sont classés en tant que des espèces toxiques sur les organismes, néanmoins la toxicité des métaux dépend de leur l'environnement (Zamani et al., 2012).

I.2.3.1. Eléments traces métalliques essentiels

Ce sont des oligoéléments importants impliqués dans différentes fonctions physiologiques de la cellule. Par exemple, Zn, Ni, Cr, Cu, et Co sont des métaux de modérée à forte importance physiologique. Ils sont des micronutriments essentiels nécessaires pour plusieurs fonctions cellulaires et les composants de l'ADN et ARN polymérase (Zn), urease (Ni), cytochrom (Cr) et cytochrom c oxydase (Cu). Pb, Cd, Hg, Ag et l'or (Au) ont réduit la pertinence en tant qu'éléments nutritifs trace et ils ont limité la fonction physiologique. La toxicité des traces métalliques tels que le Zn, Ni, Cu, Co et Cr sont fortement dépendante de leurs concentrations (Seiler et Berendonk, 2012).

I.2.3.2. Eléments traces métalliques non essentiels

Le cadmium (Cd), le mercure (Hg), Ag, Cd, Hg, Pb, Sb et U sont des toxines cellulaires fortes en raison de leur capacité de forme nocive. La toxicité des métaux lourds dans l'environnement dépend fortement des conditions environnementales car ces conditions influencent la valence des ions métalliques et, par conséquent, leur biodisponibilité. Le Cr environnemental, par exemple survient principalement sous deux formes différentes : sous forme d'ions Cr^{3+} , ou comme l'Hexavalent Cr associé à oxygène comme chromate (par exemple CrO_4^{2-}). Les ions Cr^{3+} sont moins toxiques pour les bactéries que le chromate (Seiler et Berendonk, 2012).

I.2. Propriétés physico-chimiques

La solubilité des métaux lourds dépend de l'élément concerné, du chimisme de la phase aqueuse (pH, potentiel redox, concentration en ligands) et des phases solides environnantes, qui interagissent avec la composition de cette phase.

L'hydrosolubilité de nombre de métaux est fortement accrue par l'acidité. Les valeurs de pH inférieures à 6, rares dans les sols naturels, peuvent se rencontrer en présence d'autres contaminants.

Les métaux lourds sont à considérer comme non volatils et qui sont indéfiniment stables. Leur stabilité en solution est la durée nécessaire pour qu'ils rencontrent un piège chimique (phase précipitée) qui les fixe (Lemière et al., 2001).

I.2.5. Intérêt et utilisation des métaux lourds

Les métaux jouent un rôle intégral dans les processus de la vie des micro-organismes. Quelques métaux, tels que Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, et Zn, sont essentiels. La fonction essentielle des métaux est comme des cofacteurs des catalyseurs biochimiques, des stabilisateurs des structures des protéines et des parois bactériennes, et de maintenir l'équilibre osmotique.

Par exemple, Mg et Zn stabilisent diverses enzymes et l'ADN par les forces électrostatiques, le K et Na sont exigés pour le règlement de la pression osmotique intracellulaire. Ces éléments sont toxiques à concentration élevée. D'autres (Ag, Al, Cd, Au, Pb, et Hg) n'ont aucun rôle biologique et sont potentiellement toxiques aux microorganismes (Bruins et al., 2000).

I.2.5.1. Chrome

Il a été employé industriellement pour plus qu'un siècle et peut être détecté dans les concentrations inférieure à $0,1 \text{ g/m}^3$ de dans l'air et à 4 g/kg dans les sols.

Le chrome " naturel " est habituellement présent en tant que Cr(III), et chrome hexavalent dans l'environnement est dérivé des activités humaines. Cr(III) trivalent et Cr(VI) les formes hexavalentes sont les plus importantes pour la santé humaine, bien qu'elles soient mal absorbées par l'intestin (Monachese et al., 2012).

I.2.5.2. Cadmium

Il est largement répandu par industrie pour plaquer, stabilisation des plastiques, protection de corrosion, pesticides, et engrais. Les usines prennent Cd(II) d'avantage que tout autre métal avec des concentrations faisant la moyenne de $10\text{-}150 \text{ }\mu\text{g/kg}$ (Brunis et al., 2000).

I.2.5.3. Arsenic

L'arsenic élémentaire est un métalloïde omniprésent en nature. Des humains sont exposés à l'arsenic à travers des sources médicinales, environnementales, et professionnelles. Tous les deux, l'arsenic organique et inorganique, sont présents dans divers aliments comme les poissons de mer (Alissa et Ferns, 2011).

I.2.5.4. Zinc

Le zinc est impliqué dans une grande variété de processus cellulaires. On l'exige pour maintenir la stabilité structurale des macromolécules et il sert de cofacteur à plus de 300 enzymes (Hynninen, 2010).

I.2.5.5. Mercure

Le mercure a une longue histoire d'utilisation dans des applications humaines, bien que sa présence dans beaucoup de produits soit due à élimination de sa toxicité élevée. Ce produit est généralement détecté dans les poissons, comme les requins et le thon, ce qui peut représenter un risque sur la santé humaine (Monachese et al., 2012).

I.2.5.6. Plomb

Le plomb a été employé dans divers domaines pendant 2500 années. Malgré sa toxicité pour les animaux et l'homme, cet élément est utilisé comme additif de carburant. Le plomb peut agir sur système nerveux central, sur la tension artérielle et sur la reproduction (Nies, 1999).

I.2.6. Toxicité des métaux lourds aux micro-organismes

Les mécanismes de la toxicité des métaux pour les microorganismes ont été largement étudiés, car les métaux vont inhiber la biodégradation des polluants par une population particulière de microorganismes. Les mécanismes précis de la toxicité de nombreux métaux restent floues (Singh et Tripathi, 2007).

Les métaux peuvent former des composés complexes avec des ligands organiques, tels que les protéines, acides nucléiques et composants de la paroi cellulaire des microorganismes. Cette liaison est bénéfique dans le cas de certains métaux tels que, Ca, Mg, Mn, Cu et Zn. Ces métaux servent de cofacteurs enzymatiques. Toutefois, à des concentrations élevées, ces éléments peuvent former des complexes non spécifiques avec des ligands organiques. Cela conduit à la toxicité.

En outre, certains métaux, comme Hg, Cd et Ag, forment des complexes forts avec des ligands organiques, qui sont rarement utilisés dans les réactions enzymatiques (Singh et Tripathi, 2007).

I.2.6.1. L'absorption de métaux lourds

Le métal lié à des protéines essentielles, des acides nucléiques ou des composants de la membrane, doit d'abord être identifié par la cellule par un processus cellulaire complexe, pour différencier les métaux toxiques et les non toxiques. Il a été démontré que les structures de plusieurs métaux, toxiques et non toxiques, sont très similaires (Singh et Tripathi, 2007).

I.2.6.2. Interaction des métaux lourds avec des composants cellulaires

Une fois à l'intérieur, les cations métalliques peuvent interagir avec différents composants cellulaires, y compris les membranes cellulaires, protéines et acides nucléiques. L'interaction des métaux avec ces composants cellulaires ont été liées à la toxicité (Singh et Tripathi, 2007).

La première étape dans l'absorption des métaux est la liaison du métal à la surface de la cellule. La membrane externe des bactéries à Gram négatif lie, efficacement, les différents

métaux tels que le Ca, Fe, Na, Mg, Sr, Ni, Mn, Pb. En effet, la mince couche de peptidoglycane des bactéries à Gram négatif peut lier les métaux, mais pas autant que la couche épaisse de peptidoglycane des bactéries à Gram positif, contenant l'acide téichoïque, un chélateur puissant de métal. L'acide téichoïque est responsable de la charge négative dans les bactéries à Gram positif, ce qui permet une meilleure attraction des cations de métaux toxiques. Cela, rend la cellule plus sensible aux effets toxiques du métal (Singh et Tripathi, 2007).

L'interaction des métaux avec les protéines cellulaires sont plus, fréquemment, impliqués dans l'apparition de toxicité. Les métaux toxiques se lient facilement à des groupes sulfhydryle des protéines ; le cadmium et le plomb, se lient de préférence aux ligands soufrés plus oxygénés. Cette liaison affecte la structure et la fonction de la protéine (Singh et Tripathi, 2007).

I.2.6.3. Substitution de métabolites essentiels

Les cations métalliques peuvent remplacer les cations sur les ligands. Cela peut conduire à la substitution d'un métabolite essentiel par un métal toxique.

La ressemblance de certains métaux lourds nocifs pour les métaux essentiels permet, non seulement d'entrer dans la cellule, mais aussi d'exercer leurs effets toxiques par l'intermédiaire de substitution (Singh et Tripathi, 2007).

Par exemple, le Cd est utilisé comme un cofacteur enzymatique au lieu le Zn ou le Ca, le Ni et le Co remplacent le Fe, et le Zn est souvent dissout avec le Mg. Toutes ces substitutions forment des molécules biologiques instables, inhibées ou non fonctionnelles (Singh et Tripathi, 2007).

I.2.6.4. Métaux lourds induite par le stress oxydatif

La toxicité des métaux lourds sur les bactéries Gram négatif est due, en partie, au stress oxydatif. Des cations métalliques peuvent se lier à deux molécules de glutathion, en formant une molécule de bis-glutathion qui réagit avec l'oxygène diatomique oxydé, pour donner le bis-glutathion, le cation métallique, et le peroxyde d'hydrogène (Singh et Tripathi, 2007).

métaux tels que le Ca, Fe, Na, Mg, Sr, Ni, Mn, Pb. En effet, la mince couche de peptidoglycane des bactéries à Gram négatif peut lier les métaux, mais pas autant que la couche épaisse de peptidoglycane des bactéries à Gram positif, contenant l'acide téichoïque, un chélateur puissant de métal. L'acide téichoïque est responsable de la charge négative dans les bactéries à Gram positif, ce qui permet une meilleure attraction des cations de métaux toxiques. Cela, rend la cellule plus sensible aux effets toxiques du métal (Singh et Tripathi, 2007).

L'interaction des métaux avec les protéines cellulaires sont plus, fréquemment, impliqués dans l'apparition de toxicité. Les métaux toxiques se lient facilement à des groupes sulfhydrile des protéines ; le cadmium et le plomb, se lient de préférence aux ligands soufrés plus oxygénés. Cette liaison affecte la structure et la fonction de la protéine (Singh et Tripathi, 2007).

I.2.6.3. Substitution de métabolites essentiels

Les cations métalliques peuvent remplacer les cations sur les ligands. Cela peut conduire à la substitution d'un métabolite essentiel par un métal toxique.

La ressemblance de certains métaux lourds nocifs pour les métaux essentiels permet, non seulement d'entrer dans la cellule, mais aussi d'exercer leurs effets toxiques par l'intermédiaire de substitution (Singh et Tripathi, 2007).

Par exemple, le Cd est utilisé comme un cofacteur enzymatique au lieu le Zn ou le Ca, le Ni et le Co remplacent le Fe, et le Zn est souvent dissout avec le Mg. Toutes ces substitutions forment des molécules biologiques instables, inhibées ou non fonctionnelles (Singh et Tripathi, 2007).

I.2.6.4. Métaux lourds induite par le stress oxydatif

La toxicité des métaux lourds sur les bactéries Gram négatif est due, en partie, au stress oxydatif. Des cations métalliques peuvent se lier à deux molécules de glutathion, en formant une molécule de bis-glutathion qui réagit avec l'oxygène diatomique oxydé, pour donner le bis-glutathion, le cation métallique, et le peroxyde d'hydrogène (Singh et Tripathi, 2007).

Chapitre II

*Résistance bactérienne aux
antibiotiques et aux métaux lourds*

II. Résistance bactérienne aux antibiotiques et aux métaux lourds

II. 1. Résistance aux antibiotiques

Les phénomènes de résistance se trouvent chez toutes les molécules antimicrobiennes, qu'il s'agisse d'antiparasitaires, d'antibiotiques, d'antifongiques et d'antiviraux. Ces phénomènes de résistance sont un souci constant pour les praticiens puisque chaque résistance sont apparait limite leur marge d'utilisation. De ce fait, il est nécessaire de suivre ces résistances afin de pouvoir adapter en permanence les traitements. Afin de pallier, du moins partiellement, ces résistances bactériennes, la première étape consiste à essayer de comprendre l'origine de ces phénomènes. Bien les comprendre, permet d'adapter les nouveaux antibiotiques, d'éviter l'émergence de nouvelles résistances et de freiner la généralisation des anciennes (Eberlin, 1994).

II.1.1. Définition

Une souche bactérienne est dite résistante à un antibiotique donné quand elle est capable de se développer en présence d'une concentration en antibiotique significativement plus élevée que celle habituellement active sur les souches de cette espèce. En bactériologie médicale: une souche est considérée résistante à un antibiotique quand la concentration minimale inhibitrice (CMI) de celui-ci est supérieure à la concentration sanguine maximale d'antibiotique obtenue lors d'un traitement (Leclerc et al., 1995).

II.1.2. Nature des résistances aux antibiotiques

Depuis l'avènement de l'antibiothérapie, l'utilisation des antibiotiques semble s'accompagner inexorablement de l'émergence de bactéries résistantes. Cette résistance peut être le résultat de mutations spontanées avec activation ou modification de déterminants chromosomiques déjà présents dans le génome bactérien ou la conséquence de l'acquisition de gènes situés sur des éléments génétiques mobiles (Cattoir, 2004).

Donc la résistance aux antibiotiques d'une espèce bactérienne n'est pas un phénomène stable dans le temps. L'évolution des résistances est extrêmement variable selon les antibiotiques ou les germes (Eberlin, 1994).

Les antibiotiques peuvent être naturellement inefficaces contre certaines bactéries (résistance naturelle) ou devenir inefficaces contre des bactéries au préalable sensibles à l'antibiotique (résistance acquise) (Baudry et Brézellec, 2006).

II.1.2.1. Résistance naturelle

Certains antibiotiques sont naturellement inefficaces contre certaines bactéries. Elle est connue et se manifeste chez tous les individus de la population bactérienne considérée car elle est habituellement de support chromosomique qui délimite le spectre des antibiotiques et peut aider à l'identification. La transmission de cette résistance est verticale, de la bactérie vers sa descendance (Moüy et al., 2001 ; Mathieu et Fonteneau, 2008).

II.1.2.2. Résistance acquise

La résistance acquise n'est présente en revanche que chez certaines souches au sein d'une espèce donnée. Cette résistance peut être due à des mutations affectant des gènes présents sur le chromosome ou à l'acquisition de gènes étrangers.

Ces gènes peuvent provenir du chromosome d'espèces différentes ou être véhiculés par des éléments génétiques mobiles pouvant être transférés d'une bactérie à l'autre, on parle de transmission horizontale car cela survient en dehors de tout mécanisme de reproduction. Ce transfert permet une diffusion rapide des gènes de résistance et peut parfois s'opérer entre des bactéries très éloignées sur le plan phylogénique, voire entre des bactéries à Gram négatif et des bactéries à Gram positif. Le transfert horizontal est le principal mécanisme responsable de la dissémination des gènes de résistance au sein du monde bactérien (Ploy et al., 2005).

Cette résistance est souvent instable, ces changements peuvent être de deux types : soit une mutation spontanée, soit l'acquisition de gènes (tableau IV) par un autre micro-organisme (Carle, 2009).

✓ Mutation chromosomique spontanée (évolution verticale)

La mutation chromosomique spontanée constitue un mécanisme de résistance aux antibiotiques chez environ 10 à 20 % des bactéries. Les gènes de résistance se situent alors dans le chromosome de la bactérie. Une mutation n'affecte qu'un caractère, et la résistance ne concerne généralement qu'un antibiotique ou qu'une famille d'antibiotiques ayant le même mécanisme d'action. L'utilisation d'une association de deux ou de plusieurs antibiotiques semble pouvoir prévenir l'émergence de mutants résistants. Par exemple, la résistance à la rifampicine et aux quinolones résulte toujours d'une mutation (Carle, 2009).

✓ Acquisition de gènes de résistance par un autre organisme (évolution horizontale)

La résistance bactérienne par acquisition d'information génétique exogène représente la majorité des cas isolés en clinique et s'observe aussi bien chez les bactéries à Gram positif qu'à Gram négatif. L'acquisition de nouveau matériel génétique peut se faire soit par échange direct de matériel chromosomique, soit par échange d'éléments mobiles. Dans ce dernier cas, les gènes de résistance se trouvent dans un fragment d'ADN bactérien situé à l'extérieur et sur certains éléments mobiles du chromosome, tels les plasmides. Cette forme de résistance est transférable d'une bactérie à l'autre et même à des bactéries d'espèces différentes. Le transfert d'un seul plasmide augmente aussi le risque d'une résistance à plusieurs médicaments. Par exemple, le *Shigella*, responsable de la diarrhée, peut transférer un plasmide avec résistance à quatre ou cinq antibiotiques différents (Carle, 2009).

Le tableau IV, représente les mécanismes de résistance acquise des bactéries aux antibiotiques.

Tableau IV. Mécanismes de résistance acquise des bactéries aux antibiotiques (Leclerc *et al.*, 1995).

Antibiotiques	Mécanisme biochimique	Déterminisme génétique
Aminosides	Phosphorylation, acétylation ou nucléotidylation enzymatique de l'antibiotique Altération d'une protéine ribosomale Altération des porines ou du système de transport de l'antibiotique à travers la membrane interne	Acquisition de gènes Mutation Mutation
Tétracyclines	Excrétion active de l'antibiotique Protection des ribosomes Altération des porines de la membrane externe	Acquisition de gènes Acquisition de gènes Mutation
Macrolides, lincosamides et synergistines	Modification enzymatique de l'antibiotique Altération de l'ARN 23S (diméthylation d'une adénine)	Acquisition de gènes Acquisition de gènes
Quinolones	Altération de la sous-unité A de la gyrase Altération des porines Exécution active de l'antibiotique	Mutation Mutation
Sulfamides	Hyperproduction d'acide <i>p</i> -aminobenzoïque Production d'une déhydroptéroate synthétase : (a) en excès ; (b) anormale ; (c) supplémentaire	Mutation Mutation (a et b) et acquisition de gènes (c)
Rifamycines	Altération de l'ARN polymérase	Mutation
Glycopeptides	Protection du peptide terminal (D-ala-D-ala) du peptidoglycane	Acquisition de gènes
Fosfomycine	Altération de système de transport Inactivation enzymatique de l'antibiotique	Mutation Acquisition de gènes

Les gènes ou les groupes de gènes de résistance peuvent s'acquérir par transformation, transduction ou conjugaison.

- **La transformation** : permet l'acquisition et l'incorporation d'ADN libre dans l'environnement à la suite de la mort de la bactérie mère, par exemple : le gonocoque résistant à la pénicilline.
- **La transduction** : est un mécanisme de transfert de gènes, dont le vecteur est un virus bactérien appelé bactériophage. Ce mécanisme permet le transfert d'information génétique entre bactéries appartenant essentiellement à la même espèce. Les plasmides sont souvent transférés par conjugaison.
- **La conjugaison** : est un processus au cours duquel l'ADN est transféré d'une bactérie donatrice à une bactérie réceptrice par un mécanisme complexe nécessitant un étroit contact cellulaire et responsable en grande partie de l'émergence d'une résistance chez les bactéries pathogènes. Les bactéries ayant reçu cet élément mobile peuvent se rétablir et redevenir sensibles aux antibiotiques si elles ne sont pas exposées à ces derniers (Carle, 2009).

Pour mieux comprendre le mode de transmission des gènes de résistance par transformation, transduction, ou conjugaison, on propose la figure 6, qui représente ces trois mécanismes.

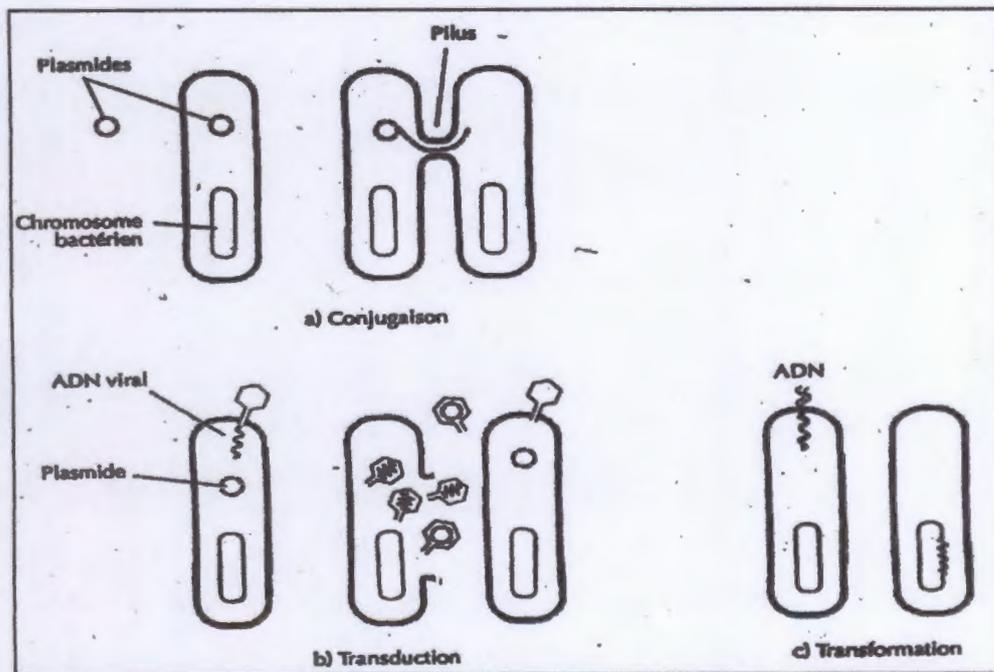


Figure 06. Acquisition des gènes de résistance par conjugaison, transduction, et transformation (Pichard *et al.*, 2002).

II.1.3. Mécanisme de résistance

Quatre principaux mécanismes permettant aux bactéries de résister à un antibiotique sont décrits mais leur répartition est très inégale. La production d'enzymes d'inactivation est la plus fréquente : β -lactamase, méthylase, adénylase, etc. La modification des protéines cibles de l'antibiotique (PLP pour les β -lactamines), les modifications de porines (impermeabilité cellulaire) ne permettant plus la pénétration de l'antibiotique dans la bactérie ou le mécanisme d'efflux permettant le rejet de l'antibiotique ayant pénétré sont moins fréquents (Pichard et al., 2002).

- **La modification de la cible** : se produit lorsqu'un antibiotique donné ne peut plus se lier à la cible sur laquelle il agit habituellement. Par exemple, un pneumocoque devient résistant à la pénicilline ou aux céphalosporines au moment où la capacité de ces antibiotiques de s'attacher à leurs sites de liaison habituels (PLP : protéine de liaison de la pénicilline) est compromise. Ce même agent pathogène devient résistant aux macrolides à partir du moment où il devient impossible pour les macrolides de se lier à leurs cibles habituelles situées sur les ribosomes. Dans cette optique, la bactérie modifie son architecture ribosomale (Weiss, 2002).
- **La production d'enzymes d'inactivation** : le support génétique de ce type de résistance peut être chromosomique mais surtout extra chromosomique. Ainsi, un plasmide de résistance aux antibiotiques pourra coder pour la production d'enzymes qui détruiront un ou plusieurs antibiotiques suivant la nature des enzymes produites. Les β -lactamases produites par les souches d'*Hæmophilus influenzae* illustrent bien ce concept. On peut voir ce mécanisme de défense comme un champ de mines autour de la bactérie empêchant l'antibiotique d'atteindre sa cible (Kezzal, 1993 ; Weiss, 2002).
- **Le mécanisme d'efflux**, où une pompe, agissant comme une porte tournante, expulse l'antibiotique dès son entrée à l'intérieur de la bactérie, l'empêchant ainsi d'atteindre sa cible. La description des mécanismes de résistance peut paraître à première vue rébarbative, mais leur compréhension permet de mieux choisir les antibiotiques à privilégier dans sa pratique, en se fondant sur les données relatives à la résistance bactérienne disponibles dans son milieu immédiat (Weiss, 2002).
- **L'imperméabilité cellulaire**, la membrane externe est constituée d'une bicouche lipidique qui présente sur sa face externe de lipopolysaccharide (LPS). Elles empêchant la pénétration des substances hydrophobes dans la bactérie, cette membrane constitue, en raison de son hydrophobicité, une barrière difficile à franchir par toute molécule hydrophile, catégorie à laquelle appartiennent les β -lactamines (Leclerc et al., 1995).

En fin, on peut résumer tous les mécanismes de résistance aux antibiotiques dans le tableau V.

Tableau V. Implication des mécanismes d'efflux dans la résistance bactérienne aux antibiotiques (Cattoir, 2004).

Antibiotique	Cible bactérienne	Mécanisme de résistance			
		Inactivation enzymatique	Modification de la cible	Imperméabilité cellulaire	Efflux actif
Inhibition de la synthèse de la paroi					
β-lactamines	PLP	+++	++	++	++
Glycopeptides	Précurseurs D-Ala-D-Ala ^a		+++		
Inhibition de la synthèse protéique					
Aminosides	ARNr 30S	+++	++	+	+
MLS	ARNr 30S	+	+++		++
Tétracyclines	ARNr 30S		++		+++
Inhibition du fonctionnement de l'ADN					
Fluoroquinolones	Topoisomérases		+++		++
Rifamycines	ARN polymérase		+++		+
Sulfamides	DHFS ^b		++		+
Triméthoprime	DHFR ^c		++		+

^a Précurseurs pentapeptidiques du peptidoglycane constitué d'un motif D-Ala-Ala.

^b Dihydrofolate synthase.

^c Dihydrofolate réductase.

II.1.3.1. Résistance aux β-lactamines

Les β-lactamines demeurent à l'heure actuelle les molécules les plus utilisées dans le traitement des infections dues aux entérobactéries. Cette large utilisation est principalement liée à leur faible toxicité et à leur pouvoir bactéricide. Cependant, les entérobactéries hébergent naturellement et ont acquis des résistances limitant leur activité. Chez les bactéries à Gram positif, la résistance découle en grande partie par la modification des protéines liant à la pénicilline (PLP) ou la substitution. Cette modification est également importante dans *Haemophilus* et *Neisseria* mais, de façon générale, la résistance chez les bactéries à Gram négatif dépend principalement β-lactamases et efflux, avec leurs effets « adaptés » par imperméabilité, qui pourrait être augmentée par perte de porine (Livermore et Woodford, 2006 ; Robin et al., 2012).

Résistance enzymatique

Les β-lactamases constituent toujours le principal mécanisme de résistance naturelle et acquise aux β-lactamines, en particulier chez les bactéries à Gram négatif. Ils sont des enzymes qui hydrolysent le noyau β-lactame. La réaction générale est la formation d'intermédiaire enzymatique acylé ; l'ouverture du noyau lactame induit l'inactivation de la molécule. La figure 07, représente l'inactivation d'une pénicilline avec formation d'un acide

pénicilloïque qui n'a aucune activité antibactérienne (Eberlin, 1994 ; Philippon et Arlet, 2006).

Selon les données de séquence, les β -lactamases se divisent en quatre classes, chacun y compris les types qui sont habituellement par médiation plasmidiques ou chromosomiques. Toutefois, ces distinctions sont floues parce qu'il n'est plus en plus apprécié que la plupart des types de 'médiation plasmidique' sont en fait évasions génétiques des chromosomes d'autres espèces (Livermore et Woodford, 2006).

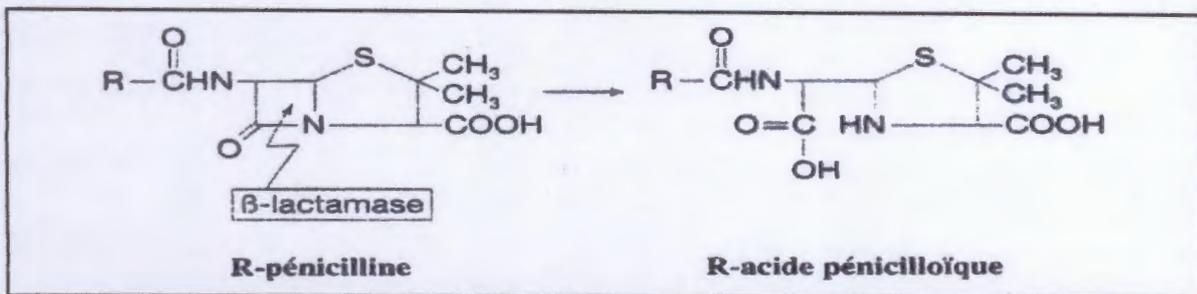


Figure 07. Hydrolyse des pénicillines par les β -lactamases (Eberlin, 1994).

☑ Résistance non enzymatique

✓ Modification de la perméabilité

La pénétration des β -lactamines à travers la membrane externe s'effectue à travers les porines qui sont des canaux protéiques remplis d'eau. L'altération de ces porines par mutation est à l'origine de résistances acquises aux β -lactamines, soit par une modification structurale d'une des porines essentielles, ce qui a été décrit chez *E. coli*, soit par une diminution quantitative des porines, qui est la situation la plus fréquente. Deux porines principales sont présentes chez *E. coli* : OmpF et OmpC. Chez les mutants de *E. coli* déficients en OmpC, la pénétration des β -lactamines est assurée par la porine OmpF, qui est suffisamment large, et il n'y a pas d'augmentation de la résistance. Au contraire, pour les mutants déficients en OmpF, les CMI des différentes β -lactamines sont augmentées pour les molécules les plus volumineuses car la porine OmpC est plus étroite (Cavallo et al., 2004).

✓ Systèmes d'efflux

L'hyperexpression des systèmes d'efflux fait souvent suite à des mutations survenant dans les gènes répresseurs qui régulent la transcription de tous ces systèmes transporteurs, comme par exemple le gène *mexR* pour la pompe MexAB-OprM de *Pseudomonas aeruginosa* ou le gène *mtrR* pour la pompe MtrCDE de *Neisseria gonorrhoeae*.

D'autre part, chez les entérobactéries comme *E. coli*, l'hyperproduction de l'activateur transcriptionnel MarA (*multiple antibiotic resistance*), qui résulte de la mutation du répresseur *marA*, est capable à la fois de diminuer la porine OmpF en diminuant la traduction du gène *OmpF* et de stimuler l'expression de nombreux gènes dont certains codent pour des pompes d'efflux actifs comme le système AcrAB (Cavallo et al., 2004).

✓ **Modification des protéines liant la pénicilline**

C'est un mécanisme de résistance acquis très largement répandu chez les bactéries à Gram positif et que l'on retrouve également chez certaines bactéries à Gram négatif. Ce mécanisme est présent chez les *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline, qui entraîne une résistance à toutes les β -lactamines, est déterminée par la présence d'un gène chromosomique (*mecA*) qui code pour la PLP2a. Cette PLP additionnelle a moins d'affinité pour les β -lactamines et en particulier pour la méticilline. (Cavallo et al., 2004).

La régulation du gène *mecA* est principalement sous la dépendance de deux gènes : *mecI* (répresseur du gène *mecA*) et *mecR* (antirépresseur). La résistance conférée par *mecA* peut être homogène (résistance exprimée par toutes les souches) qui n'est pas corrélée avec la quantité de PLP2a, mais semble être sous la dépendance de quatre gènes *fem A, B, C, D*, ou hétérogène (résistance exprimée seulement par une proportion des colonies filles issues d'une colonie mère exprimant la résistance) (Quincampoix et Mainardi, 2001).

II.1.3 2. Résistance aux aminosides

Trois mécanismes sont impliqués dans la résistance acquise aux aminosides chez les entérocoques : altération de la cible ribosomale, modification du transport de l'antibiotique ou détoxification enzymatique de l'antibiotique. Les deux premiers mécanismes sont, en général, la conséquence de mutations chromosomiques. Le troisième, de support principalement plasmidique, est le plus fréquemment rencontré (Malen et Courvalin, 1994).

Comme chez les autres bacilles à Gram négatif, la résistance aux aminosides est essentiellement liée à la production d'enzymes inactivatrices. Les gènes codant pour ces enzymes sont présents sur des plasmides, des transposons ou des cassettes au sein d'intégrons, facilitant leur dissémination rapide, les trois classes d'enzymes modificatrices des aminosides impliquées sont: les acétyltransférases (AAC), les phosphotransférases (APH) et les nucléotidyltransférases (ANT). (Decré, 2012 ; Nguyen et Lambert, 2012).

◆ **Les phosphotransférases (APH)**

Cette enzyme confère la résistance à la kanamycine et néomycine. Les souches produisant cette enzyme apparaissent sensibles à l'amikacine dont les CMI sont multipliées seulement par trois; mais cet antibiotique perd son activité bactéricide précoce. Cette enzyme est présente chez moins de 10 % des souches méticilline-sensibles (Tankovic et al., 1997).

◆ **Les nucléotidyl-transférases (ANT)**

Cette enzyme confère la résistance à la kanamycine, néomycine et terramycine. Comme avec l'enzyme précédente, l'activité bactéricide précoce de l'amikacine est perdue, alors que les CMI n'augmentent que peu (Tankovic et al., 1997).

◆ **Les acétyltransférases (AAC)**

Une enzyme bifonctionnelle (une seule protéine avec deux fonctions enzymatiques acétyltransférase (AAC)- phosphotransférase (APH)), cette enzyme confère la résistance à kanamycine, gentamicine et terramycine, l'amikacine et la nétilmicine paraissent actives avec des CMI cependant multipliées respectivement par 10 et 15. L'activité bactéricide précoce de ces antibiotiques est supprimée (Tankovic et al., 1997).

Il existe quelques résistances non enzymatiques. L'altération d'une protéine ribosomale de la sous-unité 30S empêchant la fixation de l'antibiotique a été retrouvée.

La mutation d'un acide aminé de la protéine S₁₂ (sou unité 30S) supprime la liaison avec la streptomycine ; la résistance à la streptomycine apparaît, sans pour autant affecter la sensibilité à la kanamycine et à la gentamycine, qui ont pourtant le même site de fixation.

D'autres résistances semblent dues à des modifications des porines et entraînent une pénétration moindre des aminosides (Eberlin, 1994).

II.1.3.3. Résistance aux tétracyclines

Probablement, les tétracyclines pénètrent dans les cellules bactériennes par diffusion passive. Tétracycline agit en les liant à la sous-unité ribosomale 30 S, ayant pour résultat l'inhibition de la synthèse protéique (Fluit et al., 2001).

Un certain nombre de germes sont spontanément résistants (origine chromosomique), mais on a surtout observé l'apparition plus ou moins rapide et diffuse de souches insensibles notamment chez *E. coli*, *Salmonella*, *Klebsiella* ou les cocci à Gram positif. Cette résistance est d'origine plasmidique, plus rarement chromosomique, et n'est pas obligatoirement croisée (Association Française des Enseignants de chimie thérapeutique., 1992).

La plupart des gènes de résistance codent pour l'un des deux mécanismes importants de résistance à la tétracycline, l'efflux ou protection ribosomale. Ces deux mécanismes généralisés de la résistance bactérienne à la tétracycline ne détruisent pas le composé (Fluit et al., 2001)

- Le premier mécanisme (efflux) est lié à une insuffisance de concentration intracellulaire de l'antibiotique (sortie excessive de l'antibiotique à travers la membrane cytoplasmique), sous l'action d'une protéine membranaire TET. Ce mécanisme confère une résistance isolée à la tétracycline chez *Staphylococcus aureus* (Philippon et al., 1995).

- Le deuxième mécanisme (protection ribosomale) serait différent et pourrait impliquer une modification de la structure ribosomale empêchant la fixation des tétracyclines. On a également postulé une séquestration de l'antibiotique par des protéines membranaires lors de leur passage ou une déficience fonctionnelle des porines (**Association Française des Enseignants de chimie thérapeutique., 1992**).

II.3.4. Résistance aux macrolides et apparenté

Les macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS), inhibent la synthèse protéique en stimulant la dissociation du ribosome et du complexe ARN de transfert peptide. Cela entraîne une terminaison réversible de l'élongation protéique (**Quincampoix et Mainardi., 2001**).

A côté de la résistance naturelle des bacilles à Gram négative, due à la faible perméabilité de la membrane externe à ces composés hydrophobes, on observe une résistance acquise :

Il y a trois mécanismes qui sont impliqués : une modification de la cible de l'antibiotique, un mécanisme d'efflux et une modification enzymatique (**Association Française des Enseignants de chimie thérapeutique., 1992 ; Quincampoix et Mainardi, 2001**).

➤ **La modification de la cible de l'antibiotique**

C'est le mécanisme le plus répandu et confère un spectre de résistance croisée entre macrolides, lincosamides et streptogramines B, d'où son nom de MLS_B, car ces antibiotiques ont des sites de fixation communs ; il s'observe chez *Staphylococcus aureus*, les streptocoques et certaines souches de *Clostridium* (**Association Française des Enseignants de chimie thérapeutique., 1992 ; Tankovic et al., 1997 ; Leclercq, 2002**).

Cette résistance résulte de la production d'une enzyme (méthylase) d'origine plasmidique responsable à la méthylation d'une adénine de la sous unité 23s de l'ARN ribosomique, et ce type de résistance résulte de l'acquisition d'un gène *erm* (*erythromycin ribosome methylase*) en règle transposable chez le pneumocoque (**Quincampoix et Mainardi, 2001 ; Canu et Leclercq, 2002 ; Leclercq, 2002**).

L'expression de la résistance de la MLS à staphylocoques peut être constitutive ou inductible, l'expression est constitutive, lorsque la production est permanente, indépendante de l'antibiotique donc les souches sont résistantes à tous les antibiotiques de type MLS_B ; la résistance MLS_B est dite inductible quand la méthylase est produite seulement en présence de macrolide inducteur (**Fluit et al., 2001 ; Leclercq, 2002**).

La production de méthylase inductible n'entraîne de résistance qu'aux antibiotiques inducteurs, qui sont les macrolides à noyau à 14 et 15 atomes (érythromycine, roxithromycine, clarithromycine, dirithromycine, azithromycine) alors que les macrolides à noyau à 16 atomes (josamycine et spiramycine), les lincosamides (clindamycine et lincomycine) et les streptogramines B (pristinamycine I et quinupristine) restent actifs car non inducteurs. L'utilisation de la clindamycine ou d'un macrolide à noyau à 16 atomes est néanmoins déconseillée en raison d'un risque élevé de sélection de mutants constitutifs en présence de ces antibiotiques (**Leclercq, 2002**).

➤ **Le mécanisme d'efflux**

Trois classes de gène de l'efflux différentes ont été décrites pour les cocci à Gram positif : *mef*, *msr* et *vga*. Leur produit forme un transporteur protéique qui diminue l'accumulation de l'antibiotique dans la cellule (Fluit et al., 2001 ; Quincampoix et Mainardi, 2001).

Les gènes de *mef* (macrolide efflux) ont été trouvés dans une variété de genres de bactéries Gram-positives. Le gène *mef* entraîne un phénotype de résistance nommé M, caractérisé par une résistance limitée aux macrolides en C14 et en C15. Il est localisé sur des éléments chromosomiques transférables par conjugaison et n'a jamais été retrouvé sur un plasmide (Fluit et al., 2001 ; Quincampoix et Mainardi, 2001).

Les gènes de *msr* comme *msrA* et *msrB* sont responsables d'un phénotype de résistance de type MS, c'est-à-dire d'une résistance inductible vis-à-vis des macrolides dont le noyau comporte 14 et 15 carbones (C14 et C15) et au composé B des streptogramines, après induction par l'érythromycine (Quincampoix et Mainardi, 2001).

Le gène *vga* confère la résistance aux streptogramines A. Sur la base d'homologie avec les ABC-transporteurs, il est supposé que la protéine Vga effectue l'efflux actif des streptogramines A (Tankovic et al., 1997).

➤ **Résistance par enzymes inactivatrices**

Est due à diverses enzymes spécifiques chacune d'une classe d'antibiotique, Ces enzymes modifient l'antibiotique lui-même, et qui confèrent donc un spectre étroit de résistance (Tankovic et al., 1997 ; Quincampoix et Mainardi, 2001).

Il y a des hydrolases qui hydrolysent le streptogramine B codée par les gènes *vgb* et *vgbB*, des acétyltransférases qui modifient l'antibiotique en ajoutant un groupe d'acétyle au streptogramin A tels que ces gènes : *vat*, *vatB*, *vatC*, *linA*, *satA*, et *satG*... et des phosphotransférases codée par le gène *mphC*. Le support de ces gènes est souvent plasmidique (Tankovic et al., 1997 ; Quincampoix et Mainardi., 2001 ; Fluit et al., 2001).

II.3.5. Résistance aux sulfamides

La résistance est liée soit à une hyperproduction de dihydrothéroate-synthétase (DHFS) par phénomène de mutation chromosomique, soit à la synthèse de DHFS additionnelle ayant peu d'affinité pour ces molécules, soit enfin à la présence de DHFS mutée. Le mécanisme le plus fréquent, est de nature plasmidique par synthèse d'une dihydrofolate-synthétase résistante aux sulfamides (*E. coli*, *Citrobacter*, *Klebsiella pneumoniae*) (Kezzal, 1993 ; Philippon et Rouveau 1995).

II.3.6. Résistance aux quinolones

Les quinolones sont susceptibles d'interagir principalement avec la sous-unité A de l'ADN gyrase, mutations ont également été découverts dans la sous-unité B qui confèrent également la résistance aux quinolones chez certaines espèces comme *E. coli*. La résistance est liée à des mutations des gènes chromosomiques (Pichard et al., 2002).

- * **Modification de la structure de l'enzyme cible** : il s'agit de changement de structure de la sous-unité A de l'ADN gyrase, la rendant insensible à l'action des quinolones. Plusieurs types de mutation ont été décrits, entraînant des niveaux de la résistance plus ou moins élevés.
- * **L'altération du passage trans-pariétal des quinolones** est le second mécanisme de résistance aux quinolones (Pichard et al., 2002).

II.1.3.7. Résistance aux glycopeptides

Les bactéries Gram négatif sont naturellement résistantes aux glycopeptides. Par ailleurs, il existe quelques résistances naturelles non élucidées chez des bactéries Gram positif. La base des résistances est une modification de la présentation du dipeptide D-Ala-D-Ala terminal du pentapeptide, au cours de la synthèse du peptidoglycane, ce qui gêne la fixation de l'antibiotique. (Eberlin, 1994).

Les mécanismes sont sans doute différents selon les souches ; pour les entérocoques une nouvelle ligase produirait un pentapeptide modifié alors que la carboxypeptidase éliminerait le pentapeptide normal restant. Cette nouvelle ligase serait une protéine membranaire de 39 kDa, possédant des homologies de séquences en acides aminés avec la D-Ala-D-Ala-ligase naturelle. Chez les staphylocoques le mécanisme est sans doute différent puisqu'il y a dissociation des résistances selon les différents glycopeptides, ce qui n'est pas le cas chez les entérocoques (Pichard et al., 2002).

II.1.3.8. Résistance à la rifampicine

On a montré chez les staphylocoques que la résistance à la rifampicine est liée à la sélection de mutants très résistants. Leur résistance est liée à des mutations chromosomiques touchant le gène codant pour la synthèse de la sous-unité β de l'ARN polymérase, ce qui induise l'apparition d'une ARN polymérase ayant une très faible affinité pour la rifampicine (Bustany et Chaumet-Riffaud, 1993 ; Eberlin, 1994).

II.1.3.9. Résistance à la fosfomycine

Les résistances acquises sont bien plus fréquentes que la résistance naturelle. Produit de mutations chromosomiques, cette résistance acquise correspond :

- ◆ Soit à une diminution du passage intracytoplasmique de la fosfomycine secondaire à une altération des systèmes de transport, cette mutation est retrouvée chez *Staphylococcus aureus* et nécessite une prescription de la fosfomycine en association avec un autre antibiotique ;

- ◆ Soit à une inactivation de l'antibiotique par modification de l'affinité de la pyruvyltransférase (bacilles Gram négatif) (Bustany et Chaumet-Riffaud, 1993 ; Eberlin, 1994).

II.1.3.10. Résistance au triméthoprim

Le mécanisme principal de la résistance est d'origine plasmidique. Il y a production d'une dihydrofolate réductase résistante au triméthoprim (Kezzal, 1993).

II.2. Résistance bactérienne aux métaux lourds

Une cellule peut développer des systèmes de résistance aux métaux dans le but de protéger les composants cellulaires sensibles. La limitation d'accès métallique ou en modifiant les composants cellulaires diminue leur sensibilité aux métaux. Plusieurs facteurs déterminent la mesure de la résistance dans un micro-organisme : le type et le nombre de mécanismes pour l'absorption des métaux, le rôle de chaque métal joue dans le métabolisme normal et la présence de gènes localisés sur des plasmides, des chromosomes ou des transposons qui contrôlent la résistance aux métaux. La résistance naturelle peut prendre la forme de mutations dans des composants cellulaires qui empêchent l'interaction avec des métaux ou des modifications dans la composition de la membrane cellulaire (Bruins *et al.*, 2000).

La résistance aux métaux lourds peut être probablement due à l'extrusion de l'espèce en métal, de la bioaccumulation, de la transformation, de la production des protéines obligatoires à faible poids moléculaire, etc. La survie des micro-organismes dans l'environnement pollué dépend des propriétés biochimiques, structurales, physiologiques intrinsèques et/ou de l'adaptation génétique comprenant les changements morphologiques des cellules (Tewari *et al.*, 2013).

II.2.1. Mécanisme de résistance

Les bactéries tolérantes aux métaux lourds ont évolué de divers mécanismes de résistance qui sont codées par des gènes situés sur les chromosomes, les plasmides de taille différente, ou les transposons. Les métaux lourds (essentiels ou non essentiels) peuvent endommager les membranes des cellules, changer la fonction des enzymes spécifiques, perturber les fonctions cellulaires, et endommagent la structure d'ADN (Abskharon *et al.*, 2008).

Les mécanismes de résistance aux métaux lourds tels que la biominéralisation, la séquestration, ou la conversion enzymatique diffèrent des véritables résistances aux métaux lourds qui sont eux liés à la présence de gènes portés par des éléments génétiques mobiles tels que les plasmides. Ceux-ci portent des déterminants de résistance qui assurent l'extrusion des métaux (Monchy, 2007).

Il existe une différence entre les systèmes de la résistance métallique chromosomique et plasmidique. Les systèmes de résistance aux métaux lourds essentiels sont généralement axés

sur les chromosomes et sont plus complexes que les systèmes de plasmide. Les mécanismes d'efflux des ions toxiques sont plus susceptibles d'être transmis par le plasmide, car ils peuvent être mobilisés rapidement à d'autres organismes (Bruins *et al.*, 2000).

La figure 08, représente les mécanismes généraux adaptés par des bactéries, eucaryotes et les archées, pour la résistance aux métaux lourds.

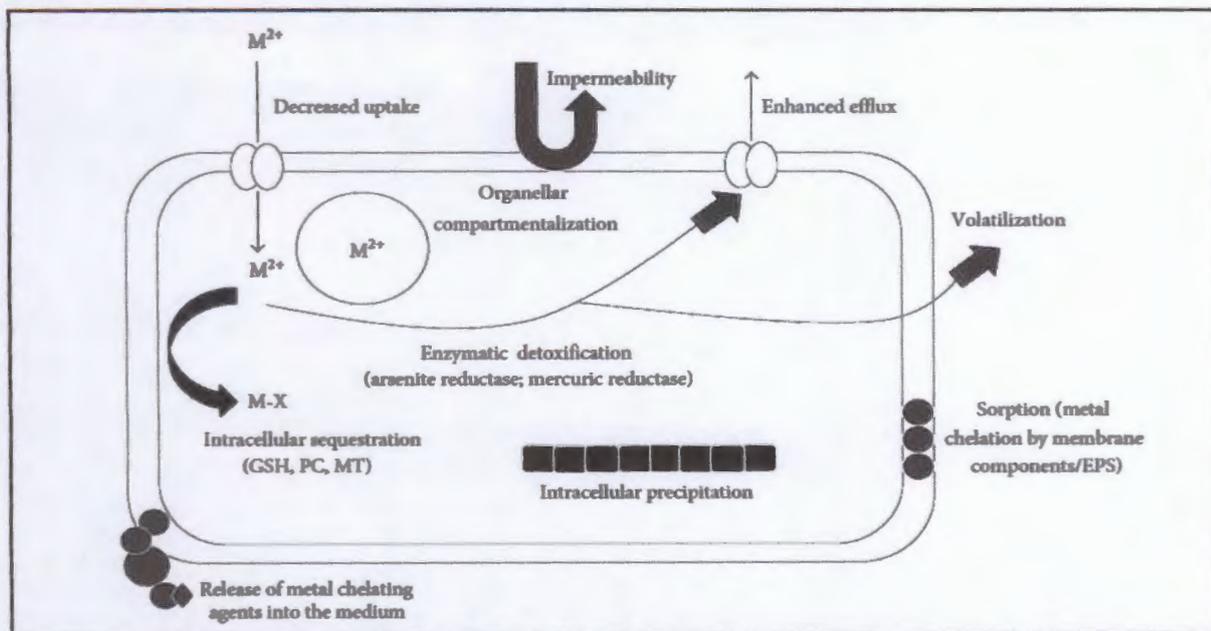


Figure 08. Exemples de quelques mécanismes de résistance bactérienne aux métaux lourds (Srivastava et Kowshik, 2013).

Il n'y a aucun mécanisme général pour la résistance à tous les ions de métaux lourds. Des systèmes de résistance d'ions métalliques ont été trouvés sur des plasmides de chaque groupe eubactérien examiné, d'*Escherichia coli* aux *Streptomyces*. Et pour protéger leurs composants cellulaires sensibles, les bactéries ont développé différentes stratégies de résistance face à des concentrations toxiques de métaux (Silver 1998).

- * **L'exclusion par perméabilité de la membrane :** les bactéries forment naturellement un « revêtement » de polysaccharides extracellulaires, absorbant les ions métalliques et les empêchant d'interagir avec les composés cellulaires vitaux. Il a été montré que *Pseudomonas aeruginosa* peut lier 100% de Cd^{2+} ajouté dans le milieu de culture, à une concentration de $2,5 \text{ mg.L}^{-1}$ (Ferret, 2012).
- * **L'efflux actif :** il s'agit du mécanisme de résistance le plus utilisé par les microorganismes. Ils utilisent les mécanismes de transport actif pour exporter les métaux lourds toxiques depuis leur cytoplasme jusqu'au milieu extracellulaire. Chez *Pseudomonas aeruginosa*, l'ion Cu^{2+} est exporté par un mécanisme impliquant quatre protéines séquestrant le cuivre dans le périplasma (Ferret, 2012).

- * **La séquestration intracellulaire** : elle permet la séquestration des métaux au sein du cytoplasme afin d'éviter l'exposition des composants cellulaires essentiels aux métaux. Cd^{2+} , Cu^{2+} et Zn^{2+} sont les métaux les plus fréquemment séquestrés chez *Pseudomonas putida* pour le Cd^{2+} par la synthèse de trois protéines de faible poids moléculaire, riches en cystéines (Ferret, 2012).
- * **La détoxification enzymatique** : est un processus récurrent dans le monde bactérien pour la résistance aux hautes concentrations en ions métalliques lourds, elle fait appel à des gènes impliqués dans la réduction des composés métalliques (Bruins et al., 2000 ; Monchy, 2007).
- * **La réduction de la sensibilité des cibles cellulaires des métaux** : cette protection se déroule par mutation, diminuant ainsi la sensibilité sans altérer les fonctions de base de la cellule (Ferret, 2012).

II.2.1.1. Résistance au mercure

Les ions mercuriques sont extrêmement toxiques pour les bactéries à cause de leurs interactions avec les groupes thiol (-SH) des protéines. Peut-être le meilleur système étudié de résistance au mercure est codé par des gènes de l'opéron *mer*. Dans ce système, le mercure est transporté dans la cellule par l'intermédiaire de la protéine de transport MerT, et détoxifier par réduction au mercure élémentaire volatil relativement non-toxique par une réductase mercurique intracellulaire (MerA) (Lloyd et Lovley, 2001).

Un mécanisme complexe de résistance, bien conservé chez les bactéries et codé en majorité par des gènes portés par des éléments génétiques mobiles (figure 09) consiste en la captation des ions mercure (Hg(II)) via la protéine périplasmique MerP) et leur transport dans la cellule par la protéine MerT qui forme un canal dans la membrane interne (Monchy, 2007).

L'opéron est sous la commande du régulateur MerR, qui en présence ou en absence de Hg(II) active ou réprime l'expression des gènes de structure *merTPAD* à partir du promoteur divergent *pmerT* et sa propre transcription à partir de son promoteur *pmerR*. Quelques opérons de *mer* portent les gènes *mer* supplémentaires, notamment *merB*, une lyase qui clive des liens de C-Hg(II) des organomercuriques, et le Hg(II) libéré est réduit à Hg(0) volatil par MerA (Monchy, 2007 ; Srivastava et Kowshik, 2012).

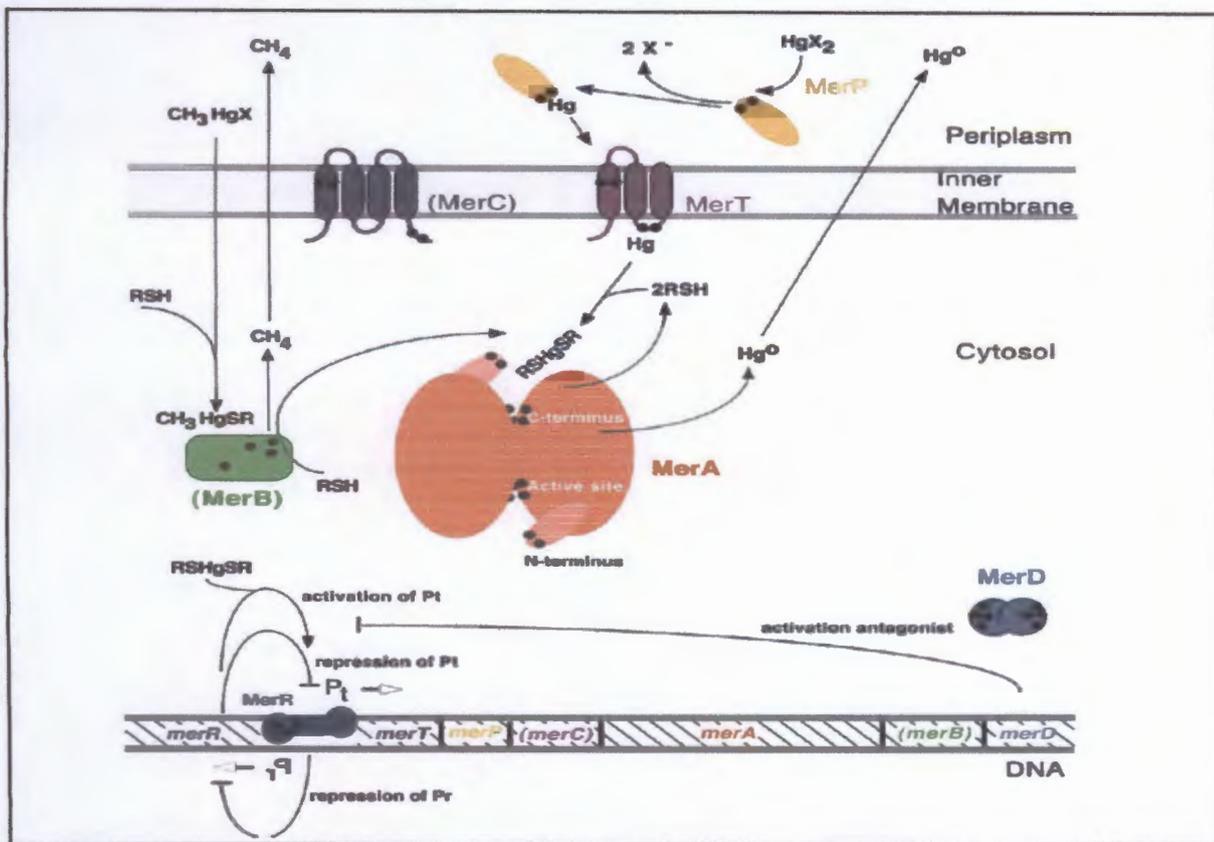


Figure 09. Mécanismes de résistance au mercure (Barkay et al., 2003).

II.2.1.2. Résistance au cuivre

Le cuivre est employé par des cellules en petite quantité en enzymes cellulaires (par exemple, oxydase de cytochrome c) et parce que il est tellement largement répandu dans les mines, l'industrie, et l'agriculture, les niveaux élevés du cuivre peuvent exister dans quelques environnements. Pour cela, les bactéries ont évoluées plusieurs types de mécanismes pour résister à la toxicité due aux concentrations de cuivre élevées (Spain et Alm, 2003).

Les quatre protéines structurales déterminant la résistance de cuivre chez *Pseudomonas* ont été caractérisées et sont la protéine intérieure CopD de membrane, la protéine externe CopB de membrane, et deux protéines de cuivre bleues périplasmique CopA et CopC (Silver, 1998).

Chez *E. coli* la résistance au cuivre est basée sur un mécanisme d'efflux par lequel le cuivre est enlevé de la cellule. Les protéines d'efflux sont exprimées par les gènes *pco* (figure 10) de plasmide, qui sont à leur tour de l'expression des gènes chromosomiques de coupe *cutC* et *cutF* qui codent pour une protéine de liaison au cuivre et une lipoprotéine externe de membrane (Spain et Alm, 2003).

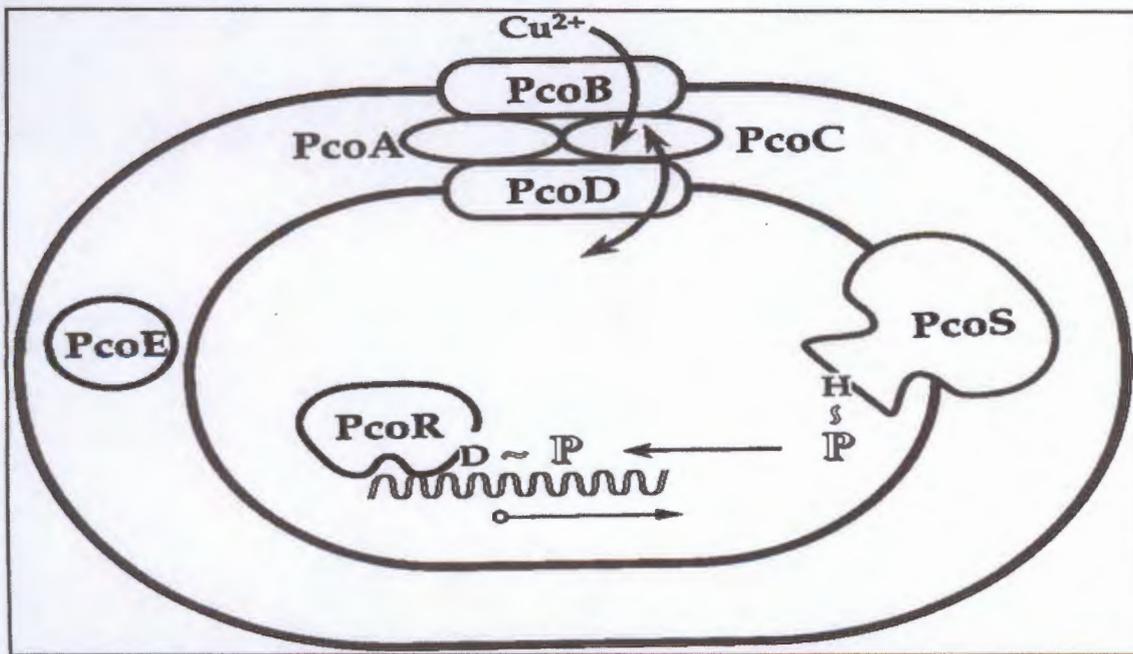


Figure 10. Résistance au cuivre chez *E. coli* (Silver, 1998).

II.2.1.3. Résistance au zinc

Les cellules bactériennes accumulent le zinc par un mécanisme rapide et non spécifique de prise et on le trouve normalement dans des concentrations plus élevées (mais est moins toxique) que d'autres métaux lourds. La prise des ions de zinc est généralement couplée à celle du magnésium, et les deux ions peuvent être transportés par les mécanismes semblables dans les bactéries (Spain et Alm, 2003).

Deux mécanismes généraux d'efflux sont responsables de la résistance bactérienne au zinc. On est un efflux du type ATPase qui transporte les ions de zinc à travers la membrane cytoplasmique par énergie de l'hydrolyse d'ATP. Un gène chromosomique, *zntA* a été isolé dans *E. coli* K-12 et s'est avéré responsable de l'ATPase qui transporte le zinc et d'autres cations à travers des membranes des cellules (Nies, 1999).

L'autre mécanisme impliqué dans l'efflux de zinc est un système de RND transporteur qui transporte le zinc à travers la paroi des cellules (pas simplement la membrane) des bactéries Gram négatives et est actionné par un gradient de protons et pas un ATP (Spain et Alm, 2003).

II.2.1.4. Résistance au cadmium

Le cadmium est un métal non-essentiel pouvant être toxique, et ceci même à faible concentrations. Ce métal entre dans la bactérie à travers des systèmes de transport d'ion divalents, tels que les transporteurs du Mn^{2+} et du Mg^{2+} . L'efflux du Cd^{2+} est effectué par des ATPases chez les bactéries à Gram positif et par une pompe à efflux ou un transporteur CDF (Cation Diffusion Facilitator) chez les bactéries à Gram négatif, telles que *Pseudomonas* (Ferret, 2012).

II.2.1.5. Résistance au plomb

Le mécanisme de résistance nécessite l'importation, l'extrusion et la séquestration du métal. L'importation du Pb(II) dans la cellule avant la phase de détoxification est un processus récurrent dans le monde bactérien pour la résistance aux hautes concentrations en ions métalliques lourds. PbrT est impliquée dans l'importation du plomb et PbrD dans la séquestration cytoplasmique du Pb(II), l'ATPase PbrA de type P similaire à CadA assure l'extrusion du cation. PbrB est une lipoprotéine de membrane externe et PbrC une lipoprotéine *signal peptidase spécialisée* dans la maturation de PbrB, Le régulateur PbrR appartenant à la famille MerR (Monchy, 2007).

II.3. Relation entre la résistance aux antibiotiques et celle aux métaux lourds

Il a été démontré qu'une corrélation existe entre la tolérance aux métaux lourds et la résistance aux antibiotiques chez les bactéries en raison de la probabilité que des gènes de résistance à la fois aux antibiotiques et aux métaux lourds, peuvent être étroitement situés sur le même plasmide. La présence des organismes possédant des mécanismes spécifiques de résistance aux métaux lourds augmente la destruction ou la transformation de substances toxiques dans l'environnement naturel (Mgbemena et al., 2012).

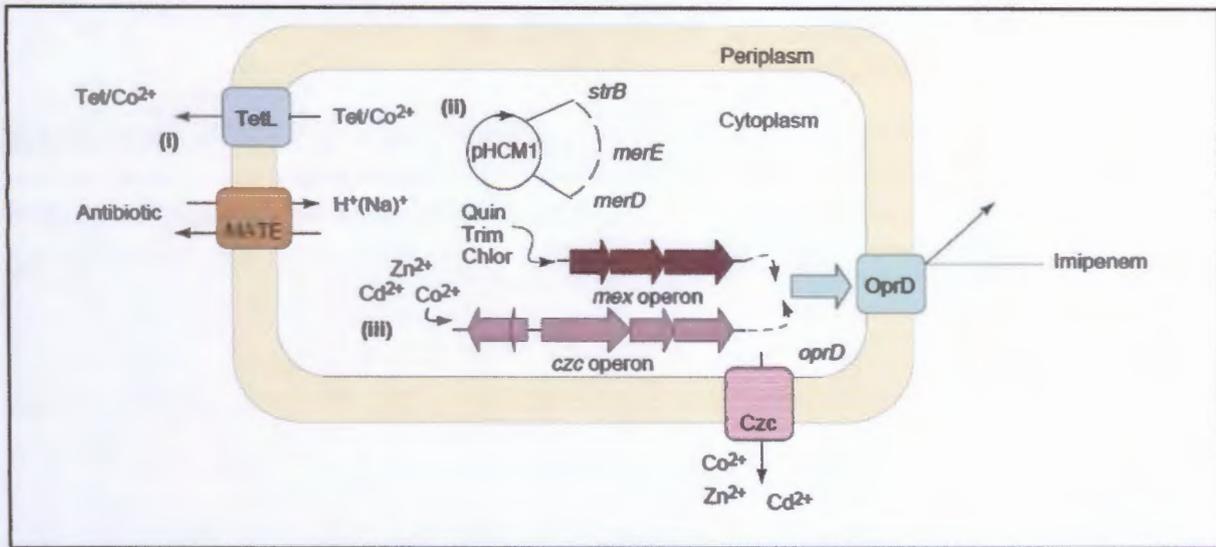
Cette résistance est acquise par un changement du matériel génétique d'une bactérie, qui peut se produire par une mutation génétique ou par le transfert des gènes résistants à partir des bactéries dans l'environnement (Wnorowski, 1993 ; Tewari et al., 2013).

La co-résistance est définie en tant que deux gènes de résistance ou plus liés génétiquement, et signifiant que des gènes responsables de deux résistances ou plus sont situés à côté l'un de l'autre sur un élément génétique mobile, exemple, *E coli* et *Pseudomonas aeruginosa* qui hébergent un plasmide codant pour les gènes de résistance aux antibiotiques et aux métaux, comme le Cr et la Co, ont été isolées (Seiler et Berendonk, 2012).

La figure 11, représente un exemple des mécanismes moléculaires qui sont à la base de la résistance croisée aux métaux et aux antibiotiques, sachant que :

- (i): résistance croisée, par lequel un système biochimique puisse conférer résistance aux antibiotiques et aux métaux. Dans cet exemple, la protéine de TetL peut transporter la tétracycline et le cobalt.
- (ii) : la co-résistance est le lien physique des causes déterminantes de résistance, par lequel la résistance à une cause déterminante ait comme conséquence la résistance à d'autres toxiques. Cet exemple, montre la corrélation de la résistance à la streptomycine avec des gènes de résistance de mercure sur le plasmide pHCM1.
- (iii) : la résistance par co-régulation, par lequel de divers systèmes de régulation soient transcriptionnellement liés, ainsi, l'exposition à un toxique peut mener à la résistance à une autre par une voie inconnue. Dans cet exemple, la corrélation des opérons de *mex* et de *czc*

mène à l'expression du flux en métal et de la résistance à l'imipénèmes (Baker-Austin et al., 2006).



Chlor : chloramphénicol ; **MATE** : multidrug and toxic compound extrusion ; **merD** : gène codant la protéine de régulation de l'opéron mer ; **merE** : gène codant la protéine d'efflux du mercure ; **pHCM1** : plasmide de résistance de *Salmonella typhi* CT18 ; **Quin** : quinolone ; **strB** : gène codant l'enzyme qui assure la modification de la streptomycine ; **Tet** : tétracycline ; **TetL** : protéine de flux de la tétracycline ; **Trim** : triméthoprime.

Figure 11. Quelques mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques et aux métaux lourds (Baker-Austin et al., 2006).

Et pour mieux comprendre ces mécanismes, on représente le tableau VI.

Tableau VI. Mécanismes impliqués dans la résistance aux antibiotiques et aux métaux lourds (Baker-Austin et al., 2006).

Mécanisme de résistance	Les ions métalliques	Les antibiotiques
Réduction de la perméabilité	As, Cu, Zn, Mo, Co, Ag	Ciprofloxacine, Tétracycline, Chloramphénicol, β -lactames
Altération du métal et de l'antibiotique	As, Hg	β -lactames, Chloramphénicol
Système d'efflux	Cu, Co, Zn, Cd, Ni, As	Tétracycline, Chloramphénicol, β -lactames
Altération (inactivation et modification) de la cible cellulaire	Hg, Zn, Cu	Ciprofloxacine, β -lactames, Triméthoprime, Rifamapicine
Séquestration	Zn, Cd, Cu	Coumermycine A

Chapitre III

*Méthodes utilisées pour l'étude de
la résistance bactérienne aux
antibiotiques et aux métaux*

III. Méthodes utilisées pour l'étude de la résistance bactérienne aux antibiotiques et aux métaux lourds

III.1. Pour les antibiotiques

La détection de la résistance aux antibiotiques est importante pour optimiser le choix de l'antibiothérapie. Afin de prévenir ou de ralentir la diffusion de la résistance bactérienne, les cliniciens doivent disposer précocement des principales informations concernant la bactérie responsable et sa sensibilité aux antibiotiques. Dans la majorité des cas, ces tests de sensibilité phénotypique telle que l'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé sont suffisants et leurs performances progressent, mais les techniques fondées sur l'ADN vont conduire au développement et à l'application de nouvelles stratégies. Donc, les deux méthodes d'informations sur les résistances bactériennes, phénotypiques et génotypiques, sont complémentaires (Billy, 2003 ; Aïssa et al., 2004).

Plusieurs méthodes moléculaires ont émergées dans le typage des souches *P. aeruginosa* isolées des patients atteints de mucoviscidose (PM). Ces méthodes sont basées sur l'analyse de l'ADN génomique, peuvent être divisées en deux groupes majeurs : le premier groupe est basé sur la technologie d'amplification de l'acide nucléique par polymérase chain reaction (PCR), et le second groupe est basé sur le non amplification de l'acide nucléique : la méthode de l'électrophorèse sur gel de palpitier-champ (pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)) (Hafiane et Ravaoarino, 2008).

Les tests rapides de diagnostics utilisant des techniques immunologiques, biochimiques et de biologie moléculaire ont été introduits dans les laboratoires de microbiologie et permettant la détection de mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques. Des tests rapides pour la recherche de β -lactamase et la détection de la méticillino-résistance chez les staphylocoques sont utilisables en routine par les laboratoires. Le développement de nouvelles techniques moléculaires d'identification bactérienne pouvant être couplées à la détection de gènes de résistance devrait permettre d'étendre considérablement le nombre des mécanismes de résistance recherchés (Leclercq 2004).

III.1.1. Antibiogramme

En bactériologie, la culture des microbes demeure la technique de référence à partir de laquelle il est possible d'identifier une bactérie, de réaliser un antibiogramme pour définir sa sensibilité ou sa résistance aux antibiotiques et éventuellement de déterminer son origine par typage précis. Ces informations fournissent une aide au diagnostic et au pronostic et permettent la recherche d'un antibiotique adapté (Billy, 2003).

L'antibiogramme s'est développé à partir des années 1950 en raison de l'apparition et de la diffusion de la résistance bactérienne. C'est un test routinier mais néanmoins complexe pour assurer un résultat de qualité fiable. Son but est de prédire le résultat des traitements

Méthodes utilisées pour l'étude de la résistance bactérienne aux antibiotiques et aux métaux lourds

antibiotiques. Son principe consiste en un test de toxicité qui doit être réalisé rapidement sur un panel d'antibiotiques (Billy, 2003).

L'antibiogramme est un examen bactériologique qui permet de trouver l'ensemble des antibiotiques capables d'agir sur une bactérie déterminée. Sa pratique et son interprétation font appel à de nombreuses connaissances cliniques, pharmaceutiques, bactériologie, biochimique et génétiques. Les antibiotiques à tester sur le germe identifié sont en fonction du type de prélèvement et des efficacités connues de certains antibiotiques dans le domaine de la pathologie recherchée (Marcel, 2005 ; Stora, 2010).

Les souches ont été catégorisées comme sensible (S), intermédiaires (I) ou résistance (R) selon les diamètres critiques fournis par le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) ou autres (Weber *et al.*, 1995).

Il existe deux méthodes d'antibiogrammes : la méthode de dilution en gélose et la méthode de diffusion en gélose ; reviennent fondamentalement à classer un germe en fonction d'une concentration minimale inhibitrice (CMI) estimée et des concentrations critiques (Flandrois, 1997).

➤ La méthode de diffusion en gélose (antibiogramme standard)

La méthode de diffusion en milieu gélosé ou la méthode des disques est une méthode artisanale à l'origine, a bénéficié de notables progrès qui comportent une standardisation des milieux, elle a été réalisée dans chaque centre à l'aide de milieux de Mueller-Hinton précoulés et de disques d'antibiotiques d'un même lot de fabrication (Weber *et al.*, 1995 ; Eyquem *et al.*, 2000).

Cette méthode réalisée en utilisant la relation entre la CMI et diamètre d'inhibition autour d'une source d'antibiotique (un disque de papier filtre, une coupe poreuse ou un cylindre sans fond, imprégné d'une quantité connue d'antibiotique) (Flandrois, 1997).

Lorsqu'un disque imprégné d'antibiotique est placé sur une gélose préalablement inoculée avec la bactérie testée, il s'humidifie et l'antibiotique diffuse radialement dans la gélose, en formant ainsi un gradient de concentrations. L'antibiotique est présent en fortes concentrations à proximité du disque et affecte des microorganismes même faiblement sensibles. Plus on s'écarte du disque, plus la concentration en antibiotique diminue et seules les bactéries pathogènes les plus sensibles sont affectées (Wiley *et al.*, 2010).

L'interprétation se fait en fonction des diamètres d'inhibition observés autour des disques d'antibiotiques correspondant à des concentrations critiques, donc cette méthode reste cependant essentiellement qualitative : elle permet la catégorisation des souches en sensibles, intermédiaires ou résistante. L'antibiogramme standard par la méthode des disques reste la technique la plus utilisée (Eyquem *et al.*, 2000 ; Vaubourdolle, 2007).

Méthodes utilisées pour l'étude de la résistance bactérienne aux antibiotiques et aux métaux lourds

Le principe de cette méthode consiste à déverser quelques millilitres de l'*inoculum* de façon à recouvrir entièrement la surface gélosée. L'aspiration du liquide en excès se fait par inclinaison de la boîte à l'aide d'une pipette stérile. La boîte ainsiensemencée est mise à sécher 15 min à 37°C. Les disques d'antibiotiques sont ensuite déposés à l'aide d'un distributeur automatique préalablement désinfecté. Après une prédiffusion des antibiotiques de 30 min à température ambiante, la boîte est ensuite mise à incuber à l'étuve à 37°C pendant 18h (Garrabé et al., 1998).

La figure 12, représente la méthode de diffusion testé sur les isolats d' d'*Escherichia coli* d'une culture d'urine.

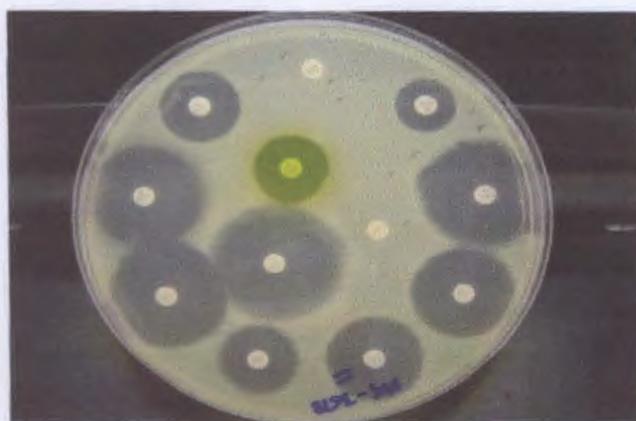


Figure 12. Méthode de diffusion sur gélose (Reller et al., 2009).

Les antibiotiques utilisés en routine en milieu hospitalier sont : Pénicilline, Amoxicilline, Oxacilline, Céfoxitine, Streptomycine, Néomycine, Sulfamides et Tétracycline. Les principaux disques d'antibiotiques utilisés pour réaliser l'antibiogramme en phase solide sur gélose portent des abréviations, et le tableau VII représente quelques antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme (Ben Saïd et al., 2007).

Tableau VII. Antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme et son code (Ben Saïd et al., 2007).

Famille	Antibiotique utilisé	Code
β-lactamines	Pénicilline	P
	Amoxicilline	AMX
	Oxacilline	OX
	Céfoxitine	FOX
Aminosides	Streptomycine	S
	Néomycine	N
Tétracyclines	Tétracycline	TE
Sulfamides	Cotrimoxazole	SXT

➤ La méthode de dilution en gélose

Grâce aux méthodes de dilution, on peut déterminer les valeurs de la CMI et la concentration minimale bactéricide (CMB). Ces méthodes peuvent être appliquées en gélose et en bouillon (Meyer *et al.*, 2004 ; Wiley *et al.*, 2010).

Dans la méthode de dilution en bouillon, on prépare une série de tubes de bouillon (habituellement du milieu Mueller-Hinton) contenant 10 ou 11 concentrations testées d'antibiotique variant de 0,1 à 128 µg/ml, ou par dilution simplifiée (2 concentrations testées), et en l'inocule avec une population standard de l'organisme testé. La concentration la plus faible de l'antibiotique inhibant la croissance après 16 à 20 heures d'incubation est la CMI (Flandrois, 1997 ; Wiley *et al.*, 2010).

On détermine la CMB en transférant un échantillon des tubes ne présentant pas de croissance dans un milieu frais dépourvu d'antibiotique. La concentration d'antibiotique la plus faible à laquelle les microorganismes ne se développent pas dans ce nouveau milieu est la CMB. La méthode de dilution en gélose est très semblable à la méthode de dilution en bouillon. Les boîtes de Pétri contenant de la gélose Mueller-Hinton et des quantités d'antibiotique sont inoculées et examinées pour vérifier la croissance. On a développé plusieurs systèmes automatiques d'estimation de la sensibilité et de la CMI avec des cultures en bouillon ou en gélose (Wiley *et al.*, 2010).

➤ Méthodes automatique

L'utilisation de l'instrumentation peut normaliser la lecture des points finals et souvent produire des résultats d'essai de susceptibilité dans une période plus courte que les lectures manuelles parce que les systèmes optiques sensibles de détection permettent la détection des changements subtils de la croissance bactérienne (Reller *et al.*, 2009).

Les méthodes automatiques ont comme buts d'automatiser l'analyse bien entendu, de simplifier jusqu'au strict minimum les opérations effectuées par l'opérateur, et d'obtenir les résultats très rapidement, en trois à six heures si possible (Eberlin, 1993).

Le système le plus utilisé est le système VITEK (Biomérieux) qui est fortement automatisé et emploie les cartes en plastique très compactes de réactif (taille de carte de crédit) qui contiennent des quantités de microlitre d'antibiotiques, ce système est original car les milieux sont contenus dans une carte de la taille d'une carte de crédit. La compartimentation permet de tester 12 antibiotiques par carte. La machine lit ensuite cette carte et donne automatiquement les résultats (sensible, intermédiaire, résistant) (Reller *et al.*, 2009 ; Eberlin, 1993).

III.1.2. Concentrations minimales inhibitrices

La méthode de référence pour les antibiogrammes est la détermination des concentrations minimales inhibitrices par la méthode de dilution en milieu gélosé. Les systèmes automatisés d'antibiogramme doivent être évalués sous la responsabilité des fabricants en terme de concordance, discordances mineures, majeures ou très majeures par rapport à cette méthode de référence. Cette évaluation doit être faite par antibiotique ou groupe d'antibiotiques et validée par espèce ou groupe d'espèces (Moïty et al., 2001).

Le résultat peut également être rendu sous une forme quantitative par la CMI correspondant à la plus faible concentration antibiotique qui inhibe la croissance bactérienne *in vitro*. Ces tests conventionnels requièrent en priorité l'obtention d'une culture bactérienne et un délai minimum de 48-72 h. Leur fiabilité peut être irrégulière, car dépendante de la qualité du prélèvement, de la taille de l'inoculum initial (10^7 mg/ml) et de la variation des conditions de culture qui peuvent modifier l'expression phénotypique de la résistance (Billy, 2003).

III. 1.3. Amplification par réaction en chaîne de Polymérase

La PCR est basée sur l'utilisation d'une enzyme thermorésistante, l'ADN polymérase (la plus connue étant la Taq ADN polymérase) qui recopie en de nombreux exemplaires l'ADN cible à l'aide de deux amorces complémentaires respectivement des brins sens et antisens. Dans la méthode de PCR, une amplification spécifique d'une ADN définie de cible est réalisée près cycles successifs de trois étapes (Naum et Lampel, 2002 ; Lamoril et al., 2007).

- 1) dénaturation de l'ADN pour obtenir les ADN simples brins ;
- 2) hybridation des amorces courtes et spécifiques à l'ADN cible ;
- 3) polymérisation de l'ADN à partir des amorces au moyen d'une polymérase thermostable d'ADN.

La détection de la réaction positive peut être confirmée en démontrant le fragment correct d'ADN par l'électrophorèse de gel d'agarose (Naum et Lampel, 2002).

La PCR a été déclinée de différentes manières, nous donnerons quelques exemples :

- La PCR classique : il s'agit de la PCR telle qu'elle a été initialement décrite. Après amplification, la cible est détectée sur un gel d'agarose après addition d'un agent intercalant (cf. BET, bromure d'éthidium) et exposition aux UV (Lamoril et al., 2007).
- La RT-PCR (reverse-transcription PCR) : après extraction d'un ARN, celui-ci est transformé en ADN complémentaire (ADNc) par transcription inverse. Dans un second temps, l'ADNc est amplifié par PCR (Lamoril et al., 2007).

Méthodes utilisées pour l'étude de la résistance bactérienne aux antibiotiques et aux métaux lourds

- La nested-PCR : il s'agit d'une PCR avec deux couples d'amorces, un couple d'amorces (couple externe) effectuant une première PCR suivie d'une seconde PCR à l'aide d'un second couple d'amorces (couple interne) s'hybridant à l'intérieur du premier couple. Deux PCR successives sont donc réalisées. Cette PCR permet d'augmenter la sensibilité du système mais augmente, également, considérablement le risque de contamination (Lamoril et *al.*, 2007).
- PCR temps réel TaqMan : il s'agit d'utilisation de cartouches à usage unique en système clos (figure 13), comprenant l'ensemble des réactifs sous forme de billes lyophilisées. Chacune est composée de 11 chambres permettant l'extraction par ultrasonication, l'amplification et la détection. Pour chaque cartouche est effectué un contrôle de sondes (vérification de la réhydratation des réactifs, du remplissage des tubes de PCR dans la cartouche, de l'intégrité de la sonde et de la stabilité du fluorochrome) ainsi qu'un contrôle de traitement de l'échantillon (Dekeyser et *al.*, 2011).

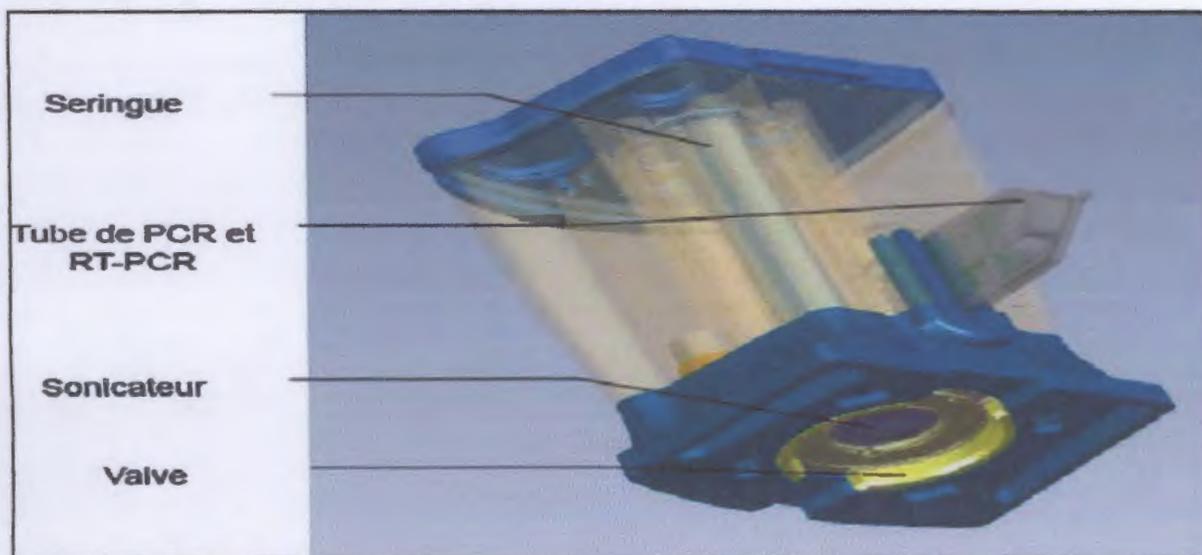


Figure 13. Cartouche en 3D (Dekeyser et *al.*, 2011).

Les techniques moléculaires présentent un risque de résultats faussement positifs, par diffusion de l'ADN et contamination entre plusieurs prélèvements. Il peut s'agir de la dissémination de l'ADN cible recherché ou d'ADN issu d'un test précédent, amplifié au cours d'une PCR. Ce problème existe tout particulièrement lorsque les techniques d'amplification d'acide nucléotidique par PCR sont utilisées (Billy, 2003).

III.2. Pour les métaux lourds

La résistance aux métaux lourds peut être déterminée par la méthode de dilution en milieu gélosé en utilisant des solutions de métaux à différentes concentrations (Ahmad et *al.*, 2001). Les huit métaux lourds considérés sont le chrome, le cobalt, le fer, le nickel, le cadmium, le zinc, le Cuivre et le plomb. Pour évaluer qualitativement leur effet, on utilise une méthode de

Méthodes utilisées pour l'étude de la résistance bactérienne aux antibiotiques et aux métaux lourds

diffusion en gélose à partir de puits (de 1 cm de diamètre et 4mm de profondeur) remplis de la solution aqueuse métallique [CoCl₂, NiCl₂, CdCl₂, CrCl₃, FeCl₃, ZnCl₂, CuCl₂, Pb(NO₃)₂] à une concentration finale de 200 mM. Les boîtes ont été incubées en aérobiose à 30 °C pendant 48 à 72 h (Ben Saïd et al., 2007).

❖ Détermination de la CMI

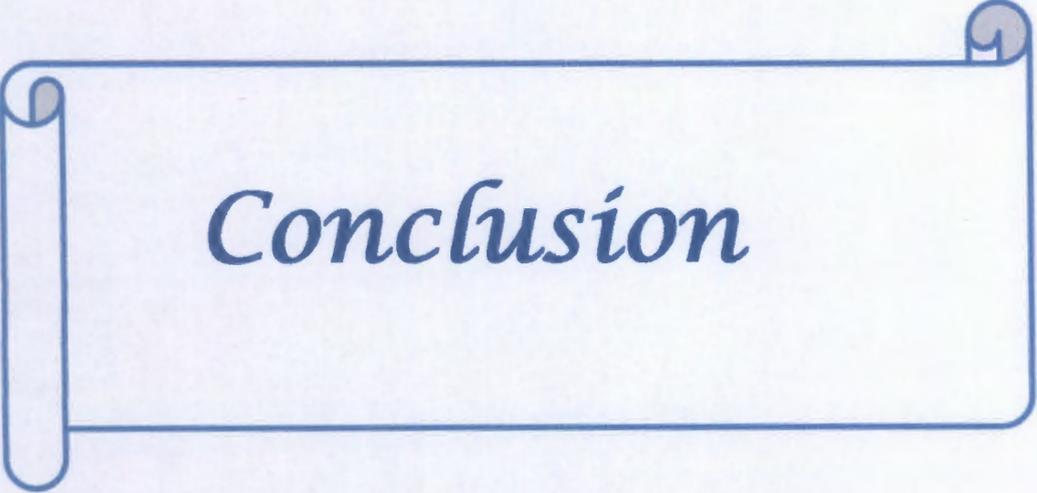
La CMI est la concentration la plus faible du métal lourd exigé pour empêcher la croissance des micro-organismes. Ainsi, les valeurs de CMI les plus bas indiquent que des métaux plus toxiques et les valeurs les plus haut indiquent moins de toxicité (Mgbemena et al., 2012).

Pour déterminer les CMI des métaux lourds, la plupart des études ont employées le meilleur milieu qui supporte la croissance du micro-organisme ou d'un groupe de micro-organismes. Fréquemment, des milieux ont été modifiés avec de diverses quantités de sels de métal lourd, inoculées avec le micro-organisme approprié, et la croissance microbienne est mesurée pour déterminer la concentration inhibitrice minimale (Hassen et al., 1998).

Les CMI des bactéries résistantes aux métaux lourds sont déterminées par l'augmentation graduelle de la concentration des métaux lourds de 0.25 mg/l, dans un milieu gélosé ordinaire, jusqu'à la concentration permettant l'inhibition de la croissance. Donc, la CMI représente la concentration à laquelle les isolats ne se développent pas sur le milieu gélosé après l'incubation (Mgbemena et al., 2012).

❖ Amplification de l'ADN purifiée par PCR

L'amplification de l'ADN cible par PCR est effectué dans un cycleur employant les tubes du PCR et un volume du mélange de la réaction. Le mélange réactionnel préparé, contient la Taq polymérase, les amorces de PCR et l'ADN génomique. Ensuite, le produit de PCR est analysé en utilisant électrophorèse à gel d'agarose. Le bromure d'éthidium est intercalaire utilisé pour déterminer la taille de produit visualisée sous la lumière UV (Kamika et Momba, 2013).



Conclusion

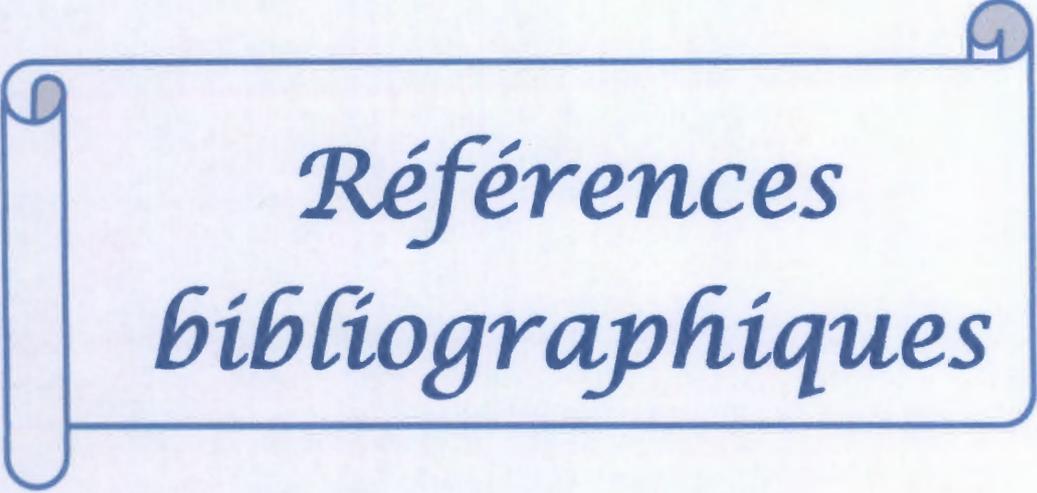
Conclusion

Les caractéristiques et la variété des mécanismes de résistance aux antibiotiques et aux métaux lourds rendent compte des différentes modalités d'adaptation des bactéries à ces molécules et la capacité de résister soit à l'effet inhibiteur des antibiotiques soit à l'effet toxique des métaux lourds.

Les mécanismes génétiques et biochimiques, responsables de la résistance des bactéries aux antibiotiques, permettent de mieux comprendre l'épidémiologie de la résistance (apparition et diffusion des gènes de résistance et des souches résistantes) et de mieux appréhender les facteurs responsables de la sélection des souches résistantes.

Il existe une corrélation entre la tolérance aux métaux lourds et la résistance aux antibiotiques chez les bactéries en raison de la probabilité que des gènes de résistance à la fois (antibiotiques et métaux lourds) peuvent être étroitement situés sur le même plasmide. En effet, la présence des organismes qui possèdent des mécanismes spécifiques de résistance aux métaux lourds augmente la capacité de la destruction ou de la transformation de substances toxiques dans l'environnement naturel.

Malgré le développement des méthodes utilisées pour lutter la résistance bactérienne aux antibiotiques et aux métaux lourds, ce phénomène reste bénéfique pour la vie bactérienne mais au même temps cause un grand problème pour la santé publique.



*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

A

- **Abskharon R.N.N., Hassan S.H.A., Gad El-Rab S.M.F. et Shoreit A.A.M. (2008).** Heavy Metal Resistant of *E. coli* Isolated from Wastewater Sites in Assiut City, Egypt. *Bull Environ Contam Toxicol.* 81. 309-315.
- **Ahmad I., Hayat S., Ahmad A., Inam A. et Samiullah. (2001).** Metal and antibiotic resistance traits in *Bradyrhizobium* sp. (cajanus) isolated from soil receiving oil refinery wastewater. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, Vol 17, 379-384.
- **Aïssa N., Stolar D. et Legrand P. (2004).** Performance de quatre méthodes d'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé et de l'automate Vitek 2™ pour la détection de la méticillino résistance chez les staphylocoques à coagulase négative. *Pathologie Biologie*, vol 52, 26-32.
- **Alissa E.M. et Ferns G.A. (2011).** Heavy Metal Poisoning and Cardiovascular Disease. *Journal of Toxicology*, Vol 2011, 1-21.
- **Association Française des Enseignants de chimie thérapeutique. (1992).** Traité de chimie thérapeutique : Médicaments Antibiotiques. Edition Tec & Doc, Lavoisier, 403-375.

B

- **Baize D. et Tercé Coord M. (2002).** les éléments traces métalliques dans les sols. Edition l'INRA, Paris, 252-253.
- **Baker-Austin C., Wright M.S., Stepanauskas R. et McArthur J.V. (2006).** Co-selection of antibiotic and metal Resistance. *TRENDS in Microbiology*, Vol 14, 176-182.
- **Barkay T., Miller S.M. et Summers A.O. (2003).** Bacterial mercury resistance from atoms to ecosystems. *FEMS Microbiology Reviews*, Vol 27, 355-384.
- **Baudry C. et Brezellec H. (2006).** Microbiologie-Immunologie : Exercices d'application. 2^e édition, Wolters Kluwer France, 53-56.

- **Ben Saïd O., El Bour M., Goñi M.S., Dalleli M., Duran R. et Aissa P. (2007).** Caractérisation préliminaire à partir de la lagune de Bizerte (Tunisie) des bactéries tolérantes aux hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPS). *Bull. Inst. Natn. Scien. Tech. Mer de Salammbô*, Vol 34, 129-134.
- **Billy C. (2003).**Détection génotypique des résistances bactériennes : de la phénotypie à la génotypie, deux méthodes complémentaires. *Réanimation*, vol 12, 192-197.
- **Bruins M.R., Kapil S. et Oehme F.W. (2000).** Microbial Resistance to Metals in the Environment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol 45, 198-207.
- **Bouki C., Venieri D. et Diamadopoulos E. (2013).** Detection and fate of antibiotic resistant bacteria in wastewater treatment plants: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol 91 1-9.
- **Burnol A., Durol L. et Grive M. (2006).** Eléments traces métalliques: guide méthodologique. INERIS. 54.
- **Bustany P. et Chaumet-Riffaud P-D. (1993).** Pharmacologie : Tom 17. Edition Beauchesne, France, 75-113.

C

- **Canu A. et Leclercq R. (2002).** Les macrolides : une diversité de mécanismes de résistance. *Méd Mal Infect*, Vol 32 : 1, 32-44.
- **Carle S. (2009).** La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important !. *Pharmactuel*, Vol. 42,6-21.
- **Cattoir V. (2004).** Pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries. *Pathologie Biologie*, Vol 52, 607-616.
- **Cavallo J.-D., Fabre R., Jehl F., Rapp C. et Garrabé E. (2004).** Bêtalactamines. *EMC-Maladies Infectieuses*, vol 1, 129-202.
- **Chaabane A., Aouam K., Boughattas N.A. et Chakroun M. (2009).** Allergie aux bêtalactamines : mythe et réalités. *Médecine et maladies infectieuses*, Vol 39, 279.
- **Chen T., Liu X., Li X., Zhao K., Zhang J., Xu J., Shi J. et Dahlgren R.A. (2009).** Heavy metal sources identification and sampling uncertainty analysis in a field-scale vegetable soil of Hangzhou, China. *Environmental Pollution*. Vol 157. 1003-1010.

D

- **Decré D. (2012).** *Acinetobacter baumannii* et résistances aux antibiotiques : un modèle d'adaptation. *Revue francophone des laboratoires*, 43-52.
- **Dekeyser S., Beclin E. et Descamps D. (2011).** Intérêt de la mise en place de la recherche des gènes vanA et vanB par technique PCR en système clos (Xpert vanA/vanB Cepheid) dans un laboratoire de microbiologie dans le cadre de la gestion d'une épidémie à *Enterococcus faecium* résistant aux glycopeptides (EfrG). *Pathologie Biologie*, Vol 59, 73-78.
- **Duval J. et Soussy C.J. (1990).** Antibiothérapie. 4^e édition Masson, Paris, 151-220.

E

- **Eberlin T. (1994).** Les antibiotiques : classification, mode d'action, utilisation thérapeutique. Edition Nathan, Paris, 44-96.
- **Eyquem A., Alouf J. et Montagnier L. (2000).** Traité de microbiologie clinique deuxièmes mises à jour et compléments. Padoue, Italie, 71-80.

F

- **Ferret C. (2012).** Rôle des *Pseudomonas* fluorescents dans la biodisponibilité des métaux contaminant les minéraux du sol : application à la phytoremediation. Thèse de Doctorat. Université de Strasbourg. 60-62.
- **Finch R.G., Greenwood D., Norrby S.R. et Whitley R.J. (2003).** Antibiotics and chemotherapy: anti-infective agents and their use in therapy. 8^{ème} édition Churchill Livingstone, 162-376.
- **Fluit AD.C., Visser M.R. et Schmitz F-J. (2001).** Molecular Detection of Antimicrobial Resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, Vol 14, 853-858.
- **Flandrois J-P. (1997).** Bactériologie médicale. Edition Masson. Lyon, 89.

G

- **Garrabé É., Cavallo J-D., Fabre R. et Hernandez E. (1998).** Antibiogramme par diffusion en gélose : essai de standardisation de l'inoculum par la méthode « Presto ABG ». *Revue française des laboratoires*, Vol 307, 65-69.

- **Gaudy C. et Busceraud J. (2005).** Antibiotiques : pharmacologie et thérapeutique. Edition Elsevier, Paris, 9-15.

H

- **Hafiane A. et Ravaoarino M. (2008).** Différentes méthodes de typage des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées des patients atteints de mucoviscidose. *Médecine et maladies infectieuses*, Vol 38, 238-247.
- **Hassen A., Saidi N., Cherif M. et Boudabous A. (1998).** Resistance of environmental bacteria to heavy metals. *Bioresource Technology*, Vol 64, 7-15.
- **Hübner R., Astin K.B. et Herbert R.J.H. (2010).** 'Heavy metal'-time to move on from semantics to pragmatics. *Journal of Environmental Monitoring*. Vol 12. 1511-1514.
- **Hynninen A. (2010).** Zinc, cadmium and lead resistance mechanisms in bacteria and their contribution to biosensing. Université Helsinki, Finlande, 6.

K

- **Kamika L. et Momba M. (2013).** Assessing the resistance and bioremediation ability of selected bacterial and protozoan species to heavy metals in metal-rich industrial wastewater. *BMC Microbiology*, Vol 13:28, 1-14.
- **Kezzal K. (1993).** Les antibiotiques : classification, mode d'action, résistance *in vitro*. Edition office des publications universitaire, 40-52.

L

- **Lamoril J., Bogard M., Ameziane N., Deybach J-C. et Bouizegarène P. (2007).** Biologie moléculaire et microbiologie clinique en 2007. *Immuno-analyse et biologie spécialisée*, Vol 22, 5-18.
- **Leclerc H., Gaillard J-L. et Simonet M. (1995).** Microbiologie générale : la bactérie et le monde bactérien. Edition Doin, Paris, 507-518.
- **Leclercq R. (2002).** Résistance des staphylocoques aux antibiotiques. *Ann Fr Anesth Réanim*, Vol 21. 375-383.
- **Leclercq R. (2004).** Le diagnostic rapide des mécanismes de résistance aux antibiotiques. *Antibiotiques*. Vol 6, issue 3, 180-184.

- **Lemière B., Seguin J.J., Le Cuern C., Guyonnet D. et Baranger P. (2001).** Guide sur le comportement des polluants dans les sols et les nappes. BRGM/RP-50662-FR, 25.
- **Léone M. (2000).** Les glycopeptides. *Ann Fr Anesth Réanim*, Vol 19, 177-187.
- **Leyral G., Figarella J. et Terret M. (1997).** Microbiologie, Tome 1. Edition Jacques Lanore, 184-185.
- **Livermore D.M. et Woodford N. (2006).** The β -lactamase threat in *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* and *Acinetobacter*. *TRENDS in Microbiology*. Vol.14. 413-420.
- **Lloyd J.R. et Lovley D.R. (2001).** Microbial detoxification of metals and radionuclides. *Current Opinion in Biotechnology*, vol 12, 248-253.

M

- **Malen S.D. et Courvalin P. (1994).** Résistance aux glycopeptides et aux aminosides chez les entérocoques. *Méd Mal Infect*, vol 24.158-164.
- **Marcel J.P. (2005).** L'antibiogramme et son impact médical. *Antibiotiques*, Vol 7, 53-58.
- **Mathieu M-J. et Fonteneau J-M. (2008).** Le manuel porphyre du préparateur en pharmacie: préparation du BP. Edition Amazon, France, 529.
- **Meyer A., Deiana J. et Bernard A. (2004).** Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés. 2^e Edition Doin, 224-252.
- **Mgbemena L.C., Nnokwe J.C., Adjeroh L.A. et Onyemekara N.N. (2012).** Resistance of Bacteria Isolated from Otamiri River to Heavy Metals and Some Selected Antibiotics. *Current Research Journal of Biological Sciences*, Vol 4(5), 551-556.
- **Monachese M., Burton J.P. et Reida G. (2012).** Bioremediation and Tolerance of Humans to Heavy Metals through Microbial Processes: a Potential Role for Probiotics?. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol 78, 6397-6404.
- **Monchy S. (2007).** Organisation et expression des gènes de résistance aux métaux lourds chez *Cupriavidus metallidurans* CH34. Thèse de Doctorat. Université libre de Bruxelles. 15-23.
- **Moulin M. et Coquerel A. (1998).** Pharmacologie. 2^e Edition Masson, Paris, 163-246.
- **Mouïy D., Cavallo J-D., Weber P. et Fabre R. (2001).** Détection et surveillance épidémiologique des résistances bactériennes aux antibiotiques en milieu communautaire. *Revue Française des Laboratoire*, Vol 335, 31-36.

N

- Naum M. et Lampel K.A. (2002). DNA-Based Assays. *Food and Drug Administration*, Vol 1, 221-225.
- Nguyen J-C. et Lambert T. (2012). Interprétation phénotypique de l'antibiogramme vis-à-vis des aminosides. *Revue francophone des laboratoires*, 75-77.
- Nies D.H. (1999). Microbial heavy-metal resistance. *Appl Microbiol Biotechnol*, vol 51,730-750.

P

- Philippon A., Rouveau M. et Arlet G. (1995). Antibiogramme des bactéries à Gram positif. *Revue française des laboratoires*, Vol 277, 19-28.
- Philippon A. et Arlet G. (2006). β -Lactamases de bacilles à Gram négatif : le mouvement perpétuel !. *Ann Biol Clin*, vol. 64, 44-48.
- Pichard E., Beytout J. et Bouvete E. (2002). Malintrop Afrique : manuel de maladies infectieuses pour l'Afrique. Edition Amazon, France, 73-82.
- Ploy M-C., Gassama A., Chainier D. et Denis F. (2005). Les intégrons en tant que support génétique de résistance aux antibiotiques. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée*. Vol 20, 343-352.
- Prescott L., Harley J. et Klein D. (2003). Microbiologie. 2^e édition française, Paris, 813.

Q

- Quincampoix J.C. et Mainardi J.L. (2001). Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif. *Réanimation*, Vol 10, 269-273.

R

- Reller L.B., Weinstein M., Jorgensen J.H. et Ferraro M.J. (2009). Antimicrobial Susceptibility Testing: A Review of General Principles and Contemporary Practices. *Clinical Infectious Diseases*, Vol 49. 1749-1755.

- **Robin F., Gibold L. et Richard Bonnet R. (2012).** Résistances naturelles et acquises aux β -lactamines chez les entérobactéries : comment les identifier en pratique quotidienne ? *Revue francophone des laboratoires*, 47-58.

S

- **Sablonnière B. (2006).** Biologie-Microbiologie. Edition Ellipses, Paris, 274.
- **Seiler C. et Berendonk T.U. (2012).** Heavy metal driven co-selection of antibiotic resistance in soil and water bodies impacted by agriculture and aquaculture. *Frontiers in microbiology*, vol 3. 1-10.
- **Shanab S., Essa A. et Shalaby E. (2012).** Bioremoval capacity of three heavy metals by some microalgae species (Egyptian Isolates). *Plant Signaling & Behavior*. Vol 7 : 3. 1-8.
- **Silver S. (1998).** Genes for all metals. *Industrial Microbiology & Biotechnology*, vol 20, 1-12.
- **Singh R., Gautam N., Mishra A. et Gupta R. (2011).** Heavy metals and living systems: An overview. *Indian J Pharmacol*, Vol 43(3), 246-253.
- **Singh S.N. et Tripathi R.D. (2007).** Environmental Bioremediation Technologies. Springer édition, New York, 2-4.
- **Spain A. et Alm E. (2003).** Implications of Microbial Heavy Metal Tolerance in the Environment. *Reviews in Undergraduate Research*, Vol. 2, 1-6.
- **Srivastava P. et Kowshik M. (2013).** Mechanisms of Metal Resistance and Homeostasis in Haloarchaea. *Hindawi Publishing Corporation*, 1-16.
- **Stora D. (2010).** Pharmacologie B.P. 4^e édition, Wolters Kluwer, France, 45.

T

- **Tankovic J., Damon H.A. et Leclercq R. (1997).** Résistance aux antibiotiques autres que les bêta-lactamines chez *Staphylococcus aureus*. *Méd Mal Infect*, vol 27, 208-210.
- **Tewari S., Ramteke P.W., Tripathi M., Kumar S. et Garg S.K. (2013).** Plasmid mediated transfer of antibiotic resistance and heavy metal tolerance in thermotolerant water borne coliforms. *African Journal of Microbiology Research*. Vol. 7(2), 130-136.

- **Tortora G.J., Funke B.R. et Case C.L. (2003).** Introduction à la microbiologie. Edition Renouveau Pédagogique, Canada, 605-624.

V

- **Vaubourdolle M. (2007).** Infectiologie. 3^e édition, Wolters Kluwer, France, 383.

W

- **Wackett L.P., Dodge A.G. et Ellis L.B.M. (2004).** Microbial Genomics and the Periodic Table. *Applied and Environmental Microbiology*, vol 70, 647-655.
- **Weber P., Scottom M., Plaisance J.-J., Mancy C., Chouteau J., Chef E. et Labia R. (1995).** Activités *in vitro* de l' amoxicilline et de l'association amoxicilline-acide clavulanique vis-à-vis d'*Escherichia coli* en médecine de ville. *Méd Mal Infect*, Vol 25, 593- 598.
- **Weiss K. (2002).** La résistance bactérienne : la nouvelle guerre froide. *Le Médecin du Québec*, vol 37. 42.
- **Wiley J.M., Sherwood L.M. et Woolverton C.J. (2010).** Microbiologie. 3^e édition, Boek Université, Paris, 840.
- **Wnorowski A.U. (1993).** Resistance to antibiotics of heavy metal-tolerant and heavy metal-sensitive bacterial strains. *Journal of Environmental Science and Health*, Vol 28(1), 203-215.

Y

- **Yan-de G., Zhen-li H. et Xiao-e Y. (2007).** Role of soil rhizobacteria in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *Journal of Zhejiang University Science B*. Vol 3, 192-207.

Z

- **Zamani A.A., Yaftian M R. et Parizanganeh A. (2012).** Multivariate statistical assessment of heavy metal pollution sources of groundwater around a lead and zinc plant. *Iranian Journal of Environmental Health Sciences & Engineering*, Vol 9, 1-10.

réalisé par : Boufligha Khadidja Kissoum Nadjoua Menina Amina	Date de soutenance : 10/06/2013
	Encadreur : Yousfi Khadidja

Thème : Résistance bactérienne aux antibiotiques et aux métaux lourds.

Résumé

Malgré l'effet inhibiteur des antibiotiques et la toxicité des métaux lourds, il existe des bactéries capables de les contrecarrer par différents mécanismes de résistance. L'apparition de ces mécanismes est associée aux déterminants génétiques de la résistance bactérienne. Les caractéristiques et les propriétés des mutations chromosomiques, des plasmides, des transposons des différents mécanismes de résistance sont décrits. Il est également, évident que les bactéries possèdent un éventail mécanisme de tolérance aux métaux lourds ; La plupart dispose d'une sorte de désintoxication. Un bon nombre de ces mécanismes, sont produits largement dans le monde bactérien et ne sont pas spécifiques aux bactéries qui poussent dans les environnements contaminés par les métaux lourds. Il existe une relation entre la tolérance aux métaux lourds et la résistance aux antibiotiques chez les bactéries. Des gènes de résistance aux antibiotiques et aux métaux lourds, peuvent être situés sur le même plasmide bactérien.

Mots clés : antibiotiques, métaux lourds, résistance bactérienne, mécanismes de résistance, plasmides.

Abstract :

Although the inhibitory effect of antibiotics and the toxicity of heavy metals, there are bacteria able to counteract them by different mechanisms of resistance. The appearance of these mechanisms is associated with genetic determinants of bacterial resistance. The characteristics and properties of the chromosomal mutations, plasmids, and transposons of different resistance mechanisms are described. It is also clear that bacteria have a range mechanism of tolerance to heavy metals. Most have a kind of detoxification. A good number of these mechanisms are produced largely in the bacterial world and are not specific to bacteria that grow in environments contaminated by heavy metals. There is a relationship between tolerance to heavy metals and resistance to antibiotics in bacteria. Genes for resistance to antibiotics and heavy metals can be located on the same bacterial plasmid.

Key words: antibiotics, heavy metals, bacterial resistance, mechanisms of resistance, plasmids.

المخلص:

على الرغم من التأثير المثبط للمضادات الحيوية وسمية المعادن الثقيلة، توجد بكتيريا قادرة على مقاومتها معا. حيث ان هذه المقاومة يمكن ان تكون كروموزومية او على مستوى البلاسميدات. و من الواضح ايضا ان البكتيريا لديها مجموعة من الاليات اقلها يتمثل في الية ازالة السموم التي تحدث على نطاق واسع في العالم البكتيري و ليست متعلقة بالبكتيريا التي تنمو في البيئات الملوثة بالمعادن الثقيلة. هناك علاقة بين مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية من جهة و مقاومتها للمعادن الثقيلة من جهة اخرى. يمكن وجود الجينات الخاصة بالمضادات الحيوية و المعادن الثقيلة معا على نفس البلاسميد الخاص بالبكتيريا.

الكلمات المفتاحية : المضادات الحيوية ، المعادن الثقيلة، المقاومة البكتيرية، اليات المقاومة، البلاسميدات

