

## Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité »

MUYLAERT A., MAINIL J.G.

Service de Bactériologie, Département des Maladies infectieuses et parasitaires, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège, 20 Boulevard de Colonster, bâtiment 43a, 4000 Liège.

**Correspondance** : docteur Adeline Muylaert Email : amuylaert@ulg.ac.be.

**RÉSUMÉ** : Au terme de six décennies d'utilisation des antimicrobiens, les bactéries pathogènes humaines et animales ont atteint des niveaux alarmants de résistance vis-à-vis de nombreux antibiotiques. Cette revue de la littérature présentera une description des principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques rapportés à ce jour. Ainsi, les mécanismes de résistance les plus fréquents tels que l'inactivation enzymatique de l'antibiotique, la modification ou le remplacement de la cible de celui-ci, l'efflux actif ou la réduction de la perméabilité à l'agent antimicrobien, seront abordés. Nous exposerons ensuite quelques notions relatives à l'épidémiologie de ce phénomène, et notamment les voies d'acquisition des gènes responsables des résistances telles que les plasmides conjugatifs, les éléments transposables et le système des intégrons qui permettent le déplacement de gènes non seulement entre les différentes parties du génome bactérien mais également entre différentes bactéries.

### 1. INTRODUCTION

Depuis l'introduction de la pénicilline au cours des années quarante du siècle passé, un grand nombre d'agents antibactériens ont été développés et commercialisés à des fins thérapeutiques, réduisant ainsi la morbidité et la mortalité humaine importantes associées aux infections bactériennes observées avant « l'ère des antibiotiques ». Pourtant, l'optimisme initial, fondé sur l'intime conviction que toute infection bactérienne pouvait être traitée avec ces composés, fut rapidement renversé quand les premiers rapports d'émergence de résistances aux antibiotiques virent le jour peu après leur introduction en clinique (Boerlin et White, 2006 ; Harbottle *et al.*, 2006). En réalité, ce phénomène était tout à fait prévisible, et en 1945, Alexander Fleming, lors de la conférence qu'il donna au cours de la cérémonie de remise du Prix Nobel, mettait déjà en garde la communauté scientifique du danger encouru lors d'un usage inapproprié, tel qu'un sous-dosage, des pénicillines et des conséquences d'un tel acte *in vitro* et *in vivo* (Fleming, 1945).

En plus des bénéfices évidents pour la santé humaine, l'introduction et

l'usage des antimicrobiens en médecine vétérinaire ont, sans nul doute, contribué à l'amélioration de la productivité et de la santé animale au cours des dernières décennies (Pidcock, 1996 ; Johnston, 1998). Cependant, leur utilisation dans l'alimentation animale en tant que promoteur de croissance (usage interdit depuis le 1<sup>er</sup> janvier 2006 dans l'Union européenne (Union européenne, 2005)) ou pour la prévention et le traitement de différentes maladies infectieuses, a également, progressivement, contribué à une sélection de résistances vis-à-vis de différentes familles d'antibiotiques parmi les microorganismes pathogènes et commensaux rencontrés au niveau des différentes flores de l'organisme des individus traités (Harbottle *et al.*, 2006).

Malgré l'abondance de phénotypes de résistance aux antibiotiques observés au sein des bactéries, seul un nombre limité de mécanismes par lesquels ces résistances sont acquises ont été décrits. Ainsi, les gènes codant pour les déterminants des résistances aux antibactériens sont localisés, soit sur le chromosome bactérien, soit sur des éléments génétiques mobiles tels que

des plasmides ou des transposons, pour être transmis verticalement et horizontalement. La facilité avec laquelle les populations bactériennes s'adaptent à un environnement hostile, associée à leur grande capacité d'échange de matériel génétique, souligne le caractère inévitable du phénomène biologique des résistances aux antibiotiques, auquel nous faisons face aujourd'hui et qui sera probablement un problème récurrent de santé publique pour les décennies à venir (Harbottle *et al.*, 2006).

Actuellement, environ 25.000 personnes décèdent chaque année, dans l'Union européenne, des suites d'une infection à bactérie résistante (Codex alimentarius commission, 2010). En effet, comparativement aux pathologies à bactéries sensibles aux antibiotiques, les infections causées par des germes résistants sont associées à une morbidité et une mortalité plus élevées (Boerlin et White, 2006). Et les conséquences économiques n'en demeurent pas moins importantes, avec un allongement des séjours hospitaliers et une augmentation des coûts liés aux soins de santé, dans un contexte où les alternatives antibiotiques en cas de

résistance aux molécules de première voire de deuxième intention, sont généralement plus toxiques, moins efficaces, plus coûteuses et nécessitent des traitements plus longs, pour être confronté, dans les cas les plus extrêmes à des atteintes incurables bien souvent de pronostic sombre (Codex alimentarius commission, 2010).

Dans cette course effrénée pour la lutte contre les bactéries résistantes, l'introduction de nouvelles familles d'antibiotiques ainsi que la modification et l'amélioration des classes existantes, au cours des six décennies écoulées, n'a pas suffi. Actuellement, des mécanismes de résistance sont rapportés pour tous les antibiotiques disponibles pour un usage clinique dans les domaines de la médecine humaine et de la médecine vétérinaire. C'est pourquoi une gestion efficace des molécules disponibles, de même que la recherche et le développement de nouveaux composés, sont indispensables afin de préserver la santé humaine et animale, des maladies infectieuses de plus en plus agressives en termes de traitements requis (Boerlin et White, 2006 ; Harbottle *et al.*, 2006).

Cette revue de la littérature présentera une description des principaux mécanismes de résistances aux antibiotiques rapportés aujourd'hui, et abordera les supports génétiques ainsi que l'épidémiologie de ce phénomène. Alors qu'un second article suivra et sera consacrée à la description et l'épidémiologie des mécanismes chromosomiques et plasmidiques de résistance aux fluoroquinolones, antibiotiques très souvent de dernier recours tant en médecine humaine que vétérinaire.

## 2. DÉFINITIONS

### 2.1 Antimicrobiens et antibiotiques

Sur base de l'étymologie du mot « antimicrobien » (du grec *anti* : contre, *mikros* : petit et *bios* : vie), on définit un composé de ce type comme toute substance capable d'agir contre la vie des microorganismes. L'adjectif antibiotique (du grec *anti* : contre, *biotikos* : concernant la vie) utilisé pour la première fois en 1889, en référence à une substance synthétisée par un organisme pour en détruire un autre, se précisera plus tard, comme une substance chimique produite par un microorganisme et disposant en solution diluée de la capacité d'inhiber sélectivement la croissance voir même

de détruire d'autres microorganismes. Les composés utilisés à des fins thérapeutiques lors de maladies bactériennes chez l'homme et les animaux sont fréquemment appelés, par les professionnels de la santé ainsi que par les profanes, antibiotiques. Pourtant, ce terme est bien souvent utilisé de façon erronée et subit régulièrement un élargissement de son sens. En effet, la définition du mot antibiotique réfère strictement aux substances antimicrobiennes d'origine naturelle, et selon cette notion, ce terme ne devraient donc pas être employé pour qualifier des substances synthétiques telles que les sulfamidés et les quinolones, ou semi-synthétiques telles que l'amoxicilline et l'amikacine (Guardabassi et Courvalin, 2006). Par souci de facilité dans la suite de cet article, le terme antibiotique fera néanmoins référence à ces trois catégories de composés.

### 2.2. Résistance aux antibiotiques

La résistance aux antimicrobiens est un terme tout à fait relatif. En effet, il existe un grand nombre de définitions pour l'expression « résistance bactérienne aux antibiotiques », qui sont basées sur différents critères (génétiques, biochimiques, microbiologiques et cliniques) et qui ne se recoupent pas forcément. Les définitions les plus fréquemment employées se fondent sur les critères microbiologiques (résistance *in vitro*) et sur les critères cliniques (résistance *in vivo*). Selon la définition microbiologique du terme, une souche est dite résistante lorsqu'elle se cultive en présence de concentration plus élevée en antibiotique comparativement à d'autres souches qui lui sont phylogénétiquement liées. Par conséquent, la résistance est une propriété qui ne peut être étudiée que par comparaison d'au moins deux souches, dont l'une de référence souvent appelée souche sauvage et développée en laboratoire à partir d'individus prélevés dans la nature, d'une même espèce ou d'un même genre, cultivées dans les mêmes conditions. Selon la définition clinique, une souche est qualifiée de résistante lorsqu'elle survit à la thérapie antibiotique mise en place. En outre, il est important de signaler, qu'en conditions *in vivo*, la capacité de résistance ou de sensibilité de la souche à la thérapie antimicrobienne mise en place sera dépendante de différents paramètres, tels que la localisation de la bactérie, le dosage et le mode d'ad-

ministration de l'antibiotique, et l'état du système immunitaire de l'individu traité. Et nombreuses sont les situations où le composé ne pourra pénétrer ou agir au niveau du site infectieux, créant de la sorte un état de résistance clinique : citons pour exemples les abcès fibrotiques ou les conditions de pH ou de pression partielle en oxygène trop faibles (Guardabassi et Courvalin, 2006).

### 2.3. Détermination de la sensibilité d'une bactérie à un antibiotique

#### 2.3.1. Concentration minimale inhibitrice

La concentration minimale inhibitrice (CMI) d'un antibiotique correspond à la plus faible concentration capable d'inhiber toute croissance visible des bactéries d'un inoculum dont la taille est prédéfinie ( $10^4$  à  $10^5$  bactéries) dans un milieu de croissance spécifique et en conditions de culture standardisées (18 à 24 heures d'incubation, à pression atmosphérique et à une température comprise entre 35 et 37°C pour les bactéries aérobies et aéro-anaérobies selon les conditions standardisées de l'EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) (Andrews, 2001). En outre, on définit deux paramètres supplémentaires, lorsqu'au cours d'une épreuve de sensibilité à un antibiotique, un grand nombre de bactéries d'une même espèce sont testées. Ainsi, la CMI<sub>50</sub>, médiane d'une distribution des valeurs de la CMI, correspond à la concentration la plus faible qui inhibe la croissance d'au moins 50 % des souches de l'espèce bactérienne testée. Alors que la CMI<sub>90</sub>, 90<sup>e</sup> percentile d'une distribution des valeurs de la CMI, correspond à la concentration la plus faible qui inhibe la croissance d'au moins 90 % des souches de l'espèce bactérienne testée (Schwarz *et al.*, 2010).

#### 2.3.2. Catégorisation clinique d'une souche ou « comment interpréter les résultats des tests de sensibilité ? »

La catégorisation clinique d'une souche bactérienne au sein du système SIR pour « Sensible, Intermédiaire, Résistante » vis-à-vis d'un antibiotique repose sur, d'une part, la détermination *in vitro* de sa CMI, et d'autre part, la confrontation de la valeur de la CMI mesurée à deux valeurs de concentrations critiques proposées par des comités d'experts nationaux et

internationaux. On établit une concentration critique inférieure « c » et une concentration critique supérieure « C » à partir de différentes données dont: les critères pharmacocinétiques et pharmacodynamiques spécifiques de chaque antibiotique utilisé aux doses recommandées et aux doses maximales autorisées, la répartition des valeurs des CMI de souches sauvages de la même espèce et une confrontation des résultats obtenus lors d'essais cliniques *in vivo* et *in vitro*. Une souche sera déclarée sensible à l'antibiotique lorsque sa CMI est inférieure à c, résistante si la CMI est supérieure ou égale à C et intermédiaire si elle est comprise entre ces deux valeurs (mais supérieure ou égale à c). Ainsi, le groupe des souches dites sensibles se compose de bactéries pour lesquelles la probabilité d'un succès thérapeutique est élevée lors d'un traitement systémique à une posologie habituelle recommandée dans le résumé des caractéristiques du produit (RCP), alors que le groupe des souches dites résistantes se compose de bactéries pour lesquelles la probabilité de succès thérapeutique est nulle quel que soient le mode d'administration et le schéma posologique utilisé. Enfin, le groupe des souches dites intermédiaires, situé entre les deux catégories précédemment décrites, se compose des bactéries pour lesquelles le succès thérapeutique est imprévisible. Ces souches forment un groupe hétérogène pour lequel les résultats obtenus *in vitro* ne seront pas prédictifs des résultats *in vivo*. On retrouve dans cette catégorie des souches présentant une sensibilité plus faible par adaptation phénotypique ou une résistance à bas niveau naturelle ou acquise. L'établissement d'un traitement antibiotique face à une bactérie de ce groupe nécessitera l'emploi d'une posologie plus élevée et/ou d'une molécule dont la diffusion locale au niveau du site infectieux est importante (Cavallo et Mérens, 2008). En outre, on observe parfois une absence de parallélisme entre les résultats de laboratoire et l'efficacité clinique de l'antibiotique choisi. Cette discordance entre la situation observée *in vitro* et *in vivo* s'explique par une multitude de facteurs dont les plus importants sont: le choix du schéma posologique et d'administration, la pénétration intracellulaire pour les pathologies à bactéries intracellulaires ainsi que la diffusion au niveau du site infecté, l'état physiologique ou pathologique de

l'animal traité sur la pharmacocinétique de l'antibiotique, la métabolisation de la molécule et sa disponibilité sous forme active (chélation, fixation sur des débris organiques, conditions de pH défavorables), l'état métabolique de la bactérie au sein du foyer infectieux (les bactéries au repos et les formes L sont insensibles aux antibiotiques actifs sur la synthèse de la paroi de peptidoglycane), les résistances induites au cours du traitement...

En conclusion, il est indispensable qu'un dialogue s'installe entre le laboratoire et le clinicien. En effet, le laboratoire doit rendre rapidement un résultat explicite et sélectif, c'est-à-dire adapté au cas clinique et à l'espèce animale envisagée. Alors que de son côté, le praticien devra analyser judicieusement le résultat rendu pour faire un choix raisonné et raisonnable. Ainsi, une indication de résistance doit aboutir à une non-utilisation du composé alors qu'une mention de sensibilité doit conduire inmanquablement à la réflexion : « l'antibiotique actif *in vitro* sera-t-il actif *in vivo* compte tenu du contexte clinique ? ».

### 2.3.3. Concentration minimale bactéricide

La concentration minimale bactéricide (CMB) d'un antibiotique correspond à la plus faible concentration capable de tuer 99,99 % des bactéries d'un inoculum prédéfini dans un milieu de croissance spécifique et en conditions de culture standardisées (18 à 20 heures d'incubation, à pression atmosphérique et à une température comprise entre 35 et 37°C pour les bactéries aérobies et aéro-anaérobies) (Andrews, 2001).

### 2.3.4. Concentration de prévention de mutant résistant

#### 2.3.4.1. Mutant

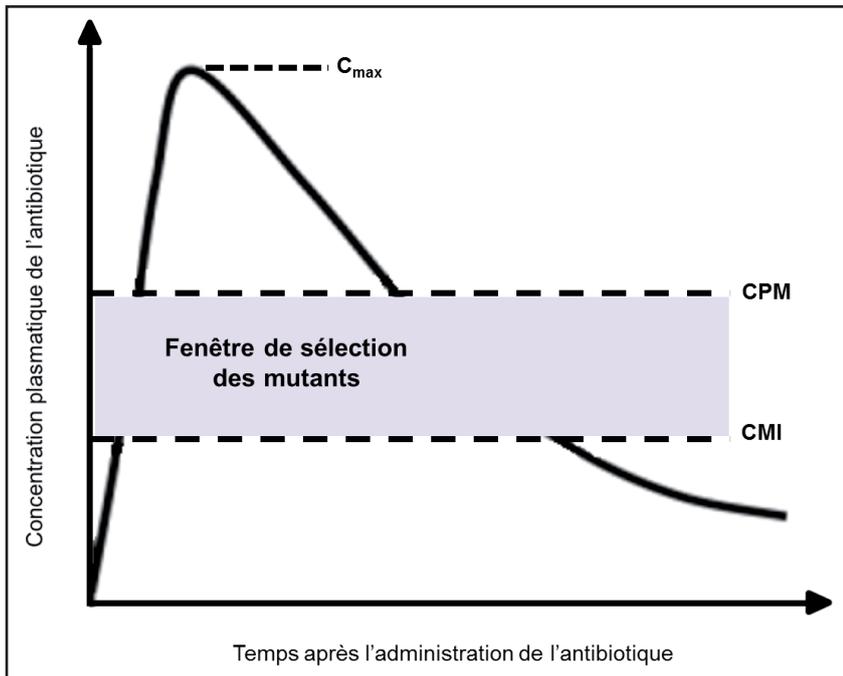
Les mutations, conséquence d'altérations au niveau de l'ADN existant ou d'erreurs survenant au cours du processus de réplication, se produisent naturellement au sein de tout organisme vivant. Face à ces mutations, aux effets souvent délétères sur la survie d'une cellule individuelle, les bactéries ont été contraintes de développer des mécanismes de correction et de réparation de l'ADN. Cependant, ces systèmes ne sont pas non plus à l'abri des mutations, créant ainsi des bactéries dites « super mutantes », dotées de capacité d'adaptation plus élevées lorsqu'elles sont confrontées

à un environnement hostile tel qu'en présence d'antibiotiques (Boerlin et Reid-Smith, 2008).

#### 2.3.4.2. Fenêtre de sélection des mutants

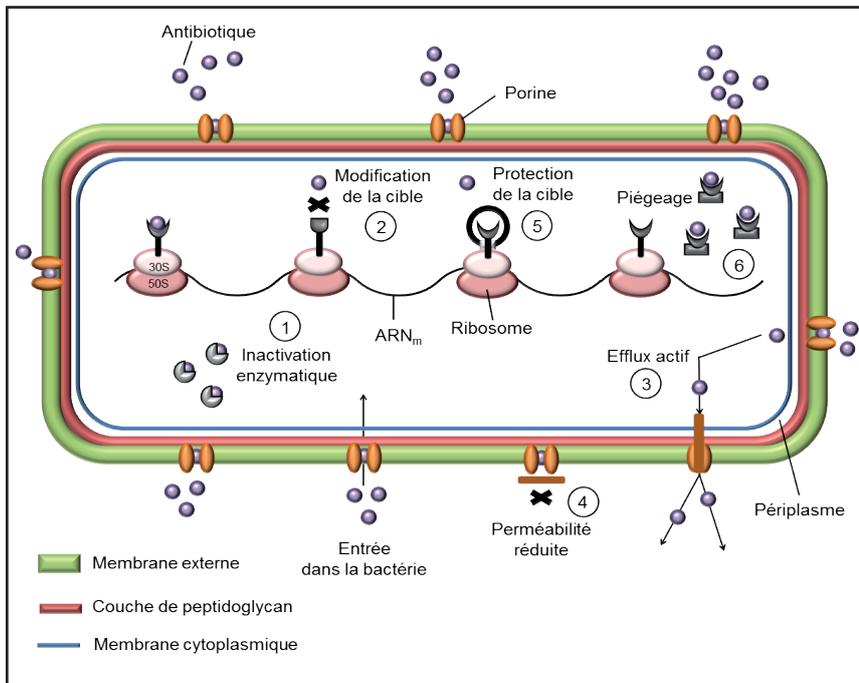
Le phénomène de résistance aux antibiotiques est un problème complexe qui nécessite une attention tout à fait particulière. Dans ce contexte, de nombreuses études ont focalisé leur attention sur des schémas posologiques particuliers pour réduire la sélection des bactéries résistantes. De ces travaux, une hypothèse est née, « la fenêtre de sélection de mutants ». Selon cette théorie, une sous-population de bactéries mutantes résistantes à un antibiotique défini et présente avant l'initiation du traitement, serait enrichie et amplifiée au cours de la thérapie, lorsque les concentrations en antimicrobien chutent dans un intervalle particulier, nommé fenêtre de sélection des mutants (FSM). La limite supérieure de la FSM, la concentration de prévention des mutants (CPM), se définit comme la CMI d'un inoculum de  $10^{10}$  bactéries (la grande taille de l'inoculum assure la présence de sous-populations résistantes) de la sous-population la moins sensible à l'antibiotique. La limite inférieure de cette fenêtre est, quant à elle, la concentration la plus faible exerçant une pression de sélection, à savoir la CMI d'une population sauvage de bactéries de la même espèce. La figure 1 présente une illustration de la fenêtre de sélection des mutants avec ces limites inférieures et supérieures. En outre, deux principes fondamentaux découlent de cette hypothèse. Le premier, les schémas posologiques conventionnels, fondés sur les approches traditionnelles pharmacocinétique/pharmacodynamie et dont le but est d'empêcher l'émergence de bactéries résistantes en tuant la population sensible, permettent un enrichissement en pathogènes résistants à l'antibiotique utilisé par le maintien de concentration généralement à l'intérieur de la FSM. Le second, le maintien des concentrations au-delà de la CPM tout au long du traitement, permet une réduction importante de l'acquisition de bactéries mutantes résistantes en empêchant leur amplification. Il est indispensable d'intégrer ces deux concepts lors de la mise au point de stratégies de dosage visant à se prémunir de l'émergence de sous-population bactériennes résistantes. Sur ces fondements, Zhao et Drlica (2008),

**Figure 1 :** Représentation de la fenêtre de sélection des mutants avec ces limites inférieure et supérieure, à savoir, la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration de prévention des mutants (CPM), adapté de Drlica et Zhao (2007) et Martinez et Silley (2010).



$C_{max}$  : pic de concentration plasmatique.

**Figure 2 :** différents mécanismes de résistance aux antibiotiques dans une bactérie Gram négative, adapté de Guardabassi et Courvalin (2006)



1 : inactivation enzymatique de l'antibiotique, 2 : modification de la cible de l'antibiotique, 3 : efflux actif de l'antibiotique, 4 : perméabilité réduite, 5 : protection de la cible de l'antibiotique, 6 : piégeage de l'antibiotique.

ARN<sub>m</sub> : acide ribonucléique messager

ont suggéré le remplacement des paramètres  $AUC_{24}/CMI$  (le rapport entre l'aire sous la courbe d'évolution de la concentration plasmatique en fonction du temps pour une durée de 24 heures ( $AUC_{24}$ ) et la CMI) et  $T > CMI$  (durée pendant laquelle la concentration plasmatique en antibiotique est supérieure à la CMI) habituellement utilisés dans la conception des plans de dosage des antibiotiques par les paramètres  $AUC_{24}/CPM$  et  $T > CPM$ . Si la compréhension de cette théorie est simple, son application en thérapeutique l'est moins. En effet, les doses requises prévenant l'émergence de germes mutants résistants étant supérieures aux doses habituellement utilisées lors d'un traitement, les patients seront, à l'avenir, confrontés à un risque accru d'effets secondaires toxiques pour assurer un ralentissement de l'acquisition de résistances aux antibiotiques au sein de la communauté (Drlica et Zhao, 2007 ; Zhao et Drlica, 2008 ; Martinez et Silley, 2010).

### 3. MÉCANISMES DE RÉSISTANCE

#### 3.1. Résistances intrinsèques et acquises

Une résistance intrinsèque se définit comme une caractéristique fonctionnelle ou structurelle conférant une certaine tolérance, voir une insensibilité totale, à tous les membres d'un groupe de bactéries (une espèce, un genre ou parfois un groupe plus grand), vis-à-vis d'une molécule particulière ou vis-à-vis d'une classe d'antimicrobiens. L'absence ou la réduction de sensibilité à un antibiotique peut être due à : (i) un manque d'affinité du composé pour la cible bactérienne (par exemple, la faible affinité de l'acide nalidixique pour la gyrase des entérocoques), (ii) une inaccessibilité de la molécule à la cellule bactérienne (imperméabilité de la membrane externe des bactéries Gram négatives aux glycopeptides comme la vancomycine), (iii) une expulsion de l'antibiotique par des pompes à efflux chromosomiques (résistance aux tétracyclines, au chloramphénicol et aux quinolones chez *Pseudomonas aeruginosa*, ou encore (iv) une inactivation enzymatique innée de l'antibiotique (la production d'une  $\beta$ -lactamase AmpC chez certains membres de la famille *Enterobacteriaceae*).

Contrairement à la résistance intrinsèque, la résistance acquise se définit comme une caractéristique propre à

quelques souches bactériennes d'un genre ou d'une espèce particulière, provoquant l'émergence et la diffusion de résistances au sein de populations de germes normalement sensibles. On décrit deux phénomènes majeures à la base de l'acquisition de résistances par modifications du génome bactérien, à savoir, les mutations responsables des résistances endogènes, et l'acquisition horizontale de matériel génétique étranger responsable des résistances exogènes. En outre, certaines résistances résultent de l'association d'une mutation et d'un transfert horizontal de gène, comme par exemple les événements conduisant à l'élargissement du spectre des bêta-lactamases ou qui leur confèrent une résistance aux inhibiteurs de bêta-lactamases (Guardabassi et Courvalin, 2006).

### 3.2. Types de mécanismes de résistances

Les bactéries ont développé différents mécanismes afin de neutraliser l'action des agents antibactériens, les plus répandus étant l'inactivation enzymatique de l'antibiotique, la modification ou le remplacement de la cible de l'antimicrobien, l'efflux actif ou encore la pénétration réduite de la molécule. D'autres mécanismes tels que la protection ou la sur-production de la cible de l'antibiotique sont également décrits. Ils sont, cependant, plus rares et surtout associés à certaines classes de composés (Guardabassi et Courvalin, 2006). La figure 2 présente une illustration de ces différents mécanismes de résistance au sein des bactéries Gram négatives.

#### 3.2.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique

L'inactivation enzymatique de l'antibiotique représente le principal mécanisme de résistance des bêta-lactames, des aminoglycosides et des phénicolés. On décrit également ce type de résistance pour le groupe MLS (macrolides, lincosamides, streptogramines), pour les tétracyclines, pour la fosfomycine et plus récemment pour les fluoroquinolones, bien que cette inactivation ne représente pas le mécanisme de résistance qui prévaut pour ces molécules. L'enzyme en modifiant le noyau actif de l'antibiotique par clivage ou par addition d'un groupement chimique, empêche la fixation de l'antimicrobien sur sa cible et provoque une perte d'activité. Parmi

les réactions biochimiques catalysées par ces enzymes bactériennes, on peut citer des hydrolyses, des acétylations, des phosphorylations, des nucléotidylations, des estérifications, des réductions et des réactions d'addition d'un glutathion. Ces enzymes sont généralement associées à des éléments génétiques mobiles (Guardabassi et Courvalin, 2006 ; Alekshun et Levy, 2007 ; Nikaido, 2009).

#### 3.2.2. Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique

La cible de l'antibiotique peut être structurellement modifiée ou remplacée, de telle sorte que le composé antibactérien ne puisse plus se lier et exercer son activité au niveau de la bactérie. La modification de la cible, mécanisme de résistance décrit pour presque tous les antibiotiques, est particulièrement importante pour les résistances aux pénicillines, aux glycopeptides et aux molécules du groupe MLS chez les bactéries Gram positives, et pour les résistances aux quinolones chez les bactéries Gram positives et Gram négatives. Ce type de résistance peut être la conséquence de l'acquisition de matériel génétique mobile codant pour une enzyme modifiant la cible de l'antibiotique, ou peut résulter d'une mutation au niveau de la séquence nucléotidique de la cible. Le remplacement de la cible de l'antibiotique est, quant à lui, un mécanisme décrit pour les sulfamidés, les diaminyrimidines (triméthoprime) et les bêta-lactames dont les *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline (SARM) ainsi qu'à toutes les bêta-lactames d'usage vétérinaire sont un exemple remarquable par la synthèse d'une nouvelle PBP (*Penicillin Binding Protein*) possédant une affinité moindre pour la méthicilline (Guardabassi et Courvalin, 2006 ; Alekshun et Levy, 2007 ; Nikaido, 2009).

#### 3.2.3. Pompes à efflux

L'efflux actif, médié par des protéines transmembranaires connues sous le terme de pompes à efflux ou transporteurs actifs, est un mécanisme nécessitant de l'énergie et utilisé par les bactéries, par les cellules eucaryotes dont notamment les protozoaires, pour expulser à l'extérieur des métabolites et des composés toxiques étrangers tels que des antibiotiques et d'autres médicaments. Ces pompes à efflux ont généralement une spécificité de substrats assez large, et seulement cer-

taines d'entre elles confèrent une résistance aux antibiotiques. La résistance provient de la réduction de concentration en antimicrobien dans le cytoplasme de la bactérie, ce qui prévient et limite l'accès de l'antibiotique à sa cible. On classe ces pompes à efflux sur base notamment de leur spécificité de substrats et de la source d'énergie employée. Certains de ces transporteurs sont très spécifiques et on les appelle pompes SDR (pour *specific-drug-resistance*), alors que d'autres agissent sur une multitude de molécules et on les nomme pompes MDR (pour *multiple-drug-resistance*).

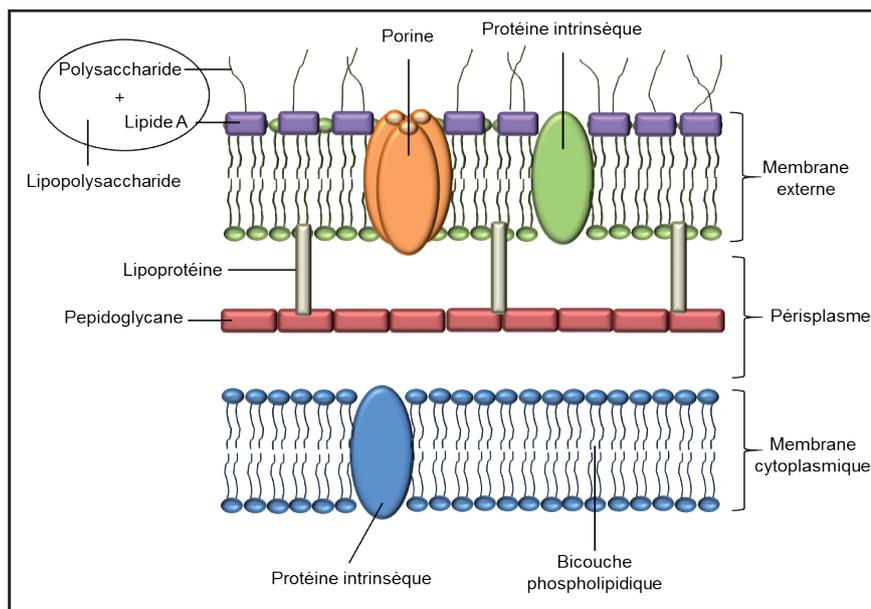
Les pompes SDR, généralement responsables de hauts niveaux de résistance et dont les gènes sont portés par des éléments génétiques mobiles, représentent un important mécanisme de résistance aux tétracyclines essentiellement parmi les bactéries Gram négatives, aux composés du groupe MLS et aux phénicolés.

Les pompes MDR (dont notamment MexAB-OprM chez *P. aeruginosa*, AcrAB-ToiC chez *Escherichia coli*, QacA chez *S. aureus*, VceAB chez *Vibrio cholerae*, MdrL chez *Listeria monocytogenes* et MreA chez *Streptococcus agalactiae*) (Poole, 2001 ; Li et Nikaido, 2004 ; Kumar et Schweizer, 2005), généralement responsables de bas niveaux de résistance et dont les gènes sont fréquemment chromosomiques, sont classées en deux groupes sur base de la source d'énergie utilisée : les transporteurs ABC (pour *ATP-binding cassette*) utilisant l'hydrolyse de l'ATP et plutôt spécifiques de certains composés comme le groupe MLS, et les transporteurs secondaires exploitant le gradient électrochimique transmembranaire de protons et d'ions sodium pour expulser la molécule à l'extérieur de la cellule et responsables de résistances multiples aux antibiotiques (Guardabassi et Courvalin, 2006 ; Alekshun et Levy, 2007 ; Nikaido, 2009).

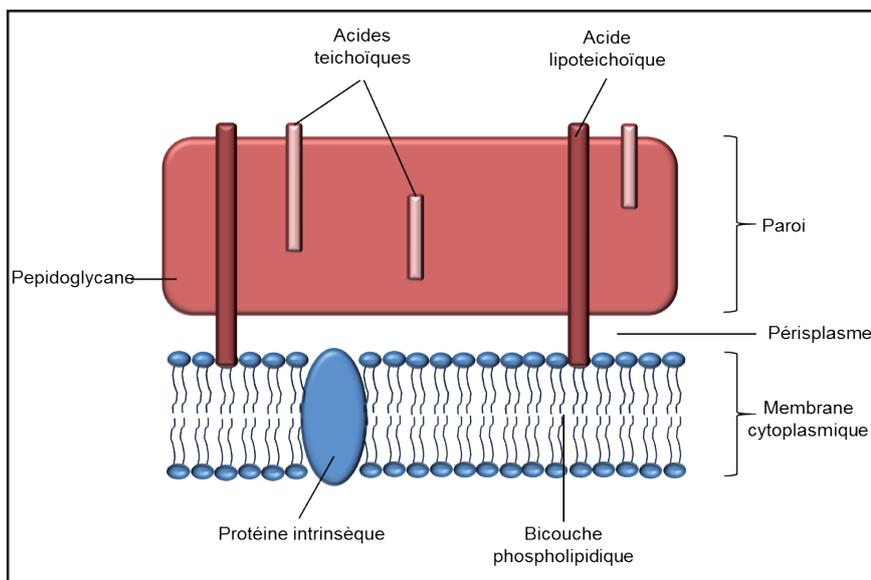
#### 3.2.4. Perméabilité réduite

Contrairement aux bactéries Gram positives, dont la structure enveloppante est assez simple, composée d'une paroi externe épaisse de peptidoglycane que les antibiotiques traversent par simple diffusion, les bactéries Gram négatives jouissent quant à elles d'une enveloppe plus complexe et plus difficilement franchissable. Les figures 3a et 3b présentent la structure des bactéries Gram négatives et Gram positives.

**Figure 3a** : Structure de la paroi des bactéries Gram négatives.



**Figure 3b** : Structure de la paroi des bactéries Gram positives.



Ainsi, au sein des bactéries Gram négatives, les antibiotiques hydrophiles pénètrent dans la bactérie via des protéines transmembranaires nommées porines, alors que les molécules hydrophobes diffusent simplement à travers la couche phospholipidique. La membrane externe de certaines bactéries telles que *P. aeruginosa* est moins perméable que celle d'autres espèces, ce qui lui confère un niveau moins élevé de sensibilité aux antimicrobiens. En outre, des mutations au niveau des gènes qui codent pour les porines et qui conduisent à leur perte, ou à la réduction de leur taille ou encore à une diminution de leur expression, se traduiraient par l'acquisition de bas niveaux

de résistance vis-à-vis de nombreux antibiotiques. Citons comme exemple, la réduction de l'expression de la porine OmpF chez *E. coli* qui entraîne une réduction de sensibilité aux quinolones, aux bêta-lactames, aux tétracyclines et au chloramphénicol. La diminution de la perméabilité est donc un mécanisme de résistance cliniquement très important chez les bactéries Gram négatives et plus précisément chez *P. aeruginosa* et les *Enterobacteriaceae*, étant donné le large spectre d'antibiotiques qu'elle cible. En outre, on décrit également ce type de phénomène pour expliquer la résistance aux aminoglycosides parmi les germes anaérobies ainsi que le faible niveau de sensibilité clinique (résistance

intrinsèque à bas niveau) observé vis-à-vis de cette famille de composés parmi les bactéries anaérobies facultatives telles que les entérocoques et les streptocoques. En effet, cette famille d'antibiotiques pénètre à l'intérieur des cellules bactériennes via un mécanisme de transport dépendant d'un métabolisme aérobie (Guardabassi et Courvalin, 2006 ; Alekshun et Levy, 2007 ; Nikaido, 2009).

### 3.2.5. Protection de la cible de l'antibiotique

La protection de la cible de l'antibiotique est un mode de résistance bien connu pour la famille des tétracyclines et plus récemment décrit pour les quinolones et les fluoroquinolones. Ainsi, on ne dénombre pas moins de huit protéines de protection ribosomiale qui confèrent une résistance aux tétracyclines en les déplaçant de leur site de fixation par la création d'un encombrement stérique au niveau du ribosome. Depuis quelques années, des souches présentant des résistances sub-cliniques dites à bas niveau aux fluoroquinolones ont été observées. Ces résistances sont notamment dues à la présence de gènes plasmidiques *qnr* (pour *quinolone resistance*) dont 5 groupes existent. Ce mécanisme a été rapporté parmi différentes bactéries Gram négatives à travers le monde, et des analogues de ces gènes ont également été décrits chez des bactéries Gram positives (Rodriguez-Martinez *et al.*, 2008). Les protéines *qnr* en se fixant sur les topoisomérases, cibles des fluoroquinolones, réduisent l'affinité de la famille d'antibiotiques pour leurs cibles (Robiczek *et al.*, 2006a ; Cavaco *et al.*, 2009 ; Wang *et al.*, 2009).

### 3.2.6. Piégeage de l'antibiotique

Les bactéries sont capables de piéger un antibiotique en augmentant la production de sa cible ou en produisant une autre molécule possédant une affinité pour ce dernier. Il en résulte une diminution de l'antibiotique à l'état libre au niveau de la cible. Ainsi des mutations chromosomiques responsables d'une surproduction des cibles des sulfamidés et dutriméthoprime ont été décrites chez de nombreuses espèces bactériennes. Ce mécanisme est également impliqué dans des bas niveaux de résistance aux glycopeptides chez certaines souches de *S. aureus*, et à la tobramycine chez *E. coli* (Guardabassi et Courvalin, 2006).

## 4. GÉNÉTIQUE DES RÉSISTANCES AUX ANTIBIOTIQUES

### 4.1. Origine et évolution des gènes de résistance aux antibiotiques

Les bactéries ont acquis des résistances aux antibiotiques par mutations au sein de leur ADN modifiant la cible de l'antimicrobien, par hyperproduction de gènes initialement présents ou encore, par acquisition de gènes de résistance hétérologues. Les gènes de résistance aux antimicrobiens et les mécanismes de transfert qui y sont associés existent probablement depuis bien avant l'introduction des antibiotiques en médecine humaine et vétérinaire. En effet, des bactéries résistantes âgées de plus de deux mille ans ont été isolées d'un glacier canadien des régions arctiques hautes. De même, des microorganismes résistants ont également été identifiés au sein de collections historiques de souches réalisées avant l'ère moderne des antibiotiques. Actuellement, il semble probable que l'origine de nombreux mécanismes de résistance aux antibiotiques proviennent de germes environnementaux producteurs naturels de substances antimicrobiennes leur assurant une protection contre les substances toxiques qu'ils produisent. En outre, selon cette hypothèse, les bactéries proches de ces microorganismes, par l'acquisition de leurs gènes de résistance, ont obtenu une capacité de survie et de développement dans ce milieu hostile. Cette théorie est d'ailleurs renforcée par l'existence de nombreuses similarités génétiques et biochimiques entre les déterminants de résistance provenant des bactéries produisant des antibiotiques et les gènes de résistance les plus importants et les plus largement répandus, identifiés actuellement au sein des bactéries Gram négatives et Gram positives. Prenons pour exemple, l'homologie remarquable existant entre les enzymes de modification des aminoglycosides des microorganismes producteurs de ces antibiotiques et les enzymes identifiées parmi les bactéries résistantes à ces composés. Une autre théorie complète l'hypothèse précédente grâce aux travaux de Webb et Davies qui ont montré en 1993 qu'un grand nombre de médicaments antibiotiques étaient initialement contaminés par de l'ADN chromosomique de bactéries productrices d'antibiotiques, dont notamment des séquences codantes de gènes de résistance à des molécules

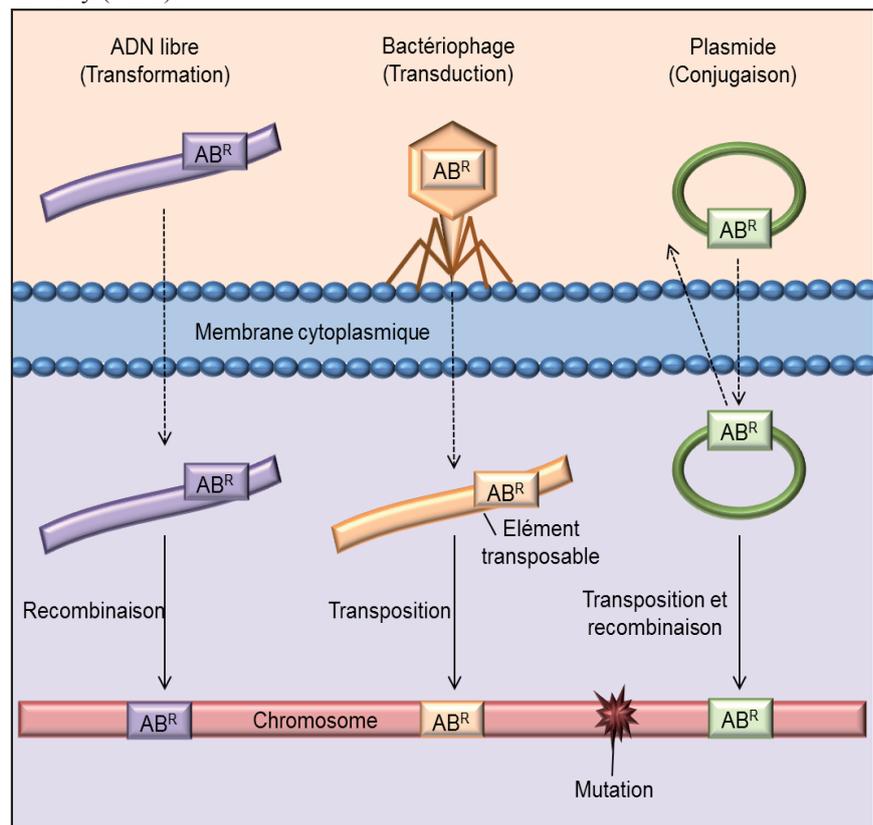
antimicrobiennes. Selon eux, certaines préparations antibiotiques à usage humain et animal représentaient donc une source de gènes de résistance tout en constituant un environnement sélectif en permettant le développement des bactéries réceptrices de ces fragments génétiques. Par conséquent, parmi les bactéries environnementales, l'évolution sélective par mutations et par recombinaisons et la dissémination des gènes de résistance se sont opérées pendant des centaines de milliers d'années pour donner un avantage aux bactéries nouvelles face à leurs ancêtres, alors que l'usage intensif des préparations antibiotiques contenant parfois les gènes de résistance associés, a contribué, en seulement une cinquantaine d'années, à l'accélération de l'émergence et de la dispersion des phénotypes de résistance

connus aujourd'hui. Cependant, pour des substances synthétiques telles que les sulfamidés et le triméthoprime, il apparaît probable que l'évolution de gènes préexistants non liés à une quelconque résistance, à travers des mutations adaptatives et des recombinaisons, soit responsable de l'acquisition de résistance vis-à-vis de ces composés. Enfin, divers gènes intrinsèques, tels que les gènes codant pour des pompes à efflux, sont également une source primaire de nombreux déterminants de résistance (Aarestrup, 2006 ; Boerlin et White, 2006).

### 4.2. Mouvements

Les mouvements des gènes de résistance aux antibiotiques peuvent se produire à deux niveaux distincts, à savoir intra- et intercellulaire, impliquant chacun des

Figure 4 : Voies d'acquisition de résistance aux antibiotiques, d'après Alekshun et Levy (2007).



Une bactérie peut devenir résistante à un antibiotique par mutation survenant au niveau du gène codant pour la cible de l'antibiotique au sein du chromosome. Une bactérie peut également acquérir du matériel génétique étranger par incorporation de segments d'ADN libre dans leur chromosome (transformation). Des gènes de résistance peuvent aussi être transférés lors d'une infection par un bactériophage (transduction) et lors de phénomène de conjugaison de transposons conjugatifs et de plasmides. Le terme général élément transposable désigne une séquence d'insertion, ou un transposon qu'il soit composite, complexe ou conjugatif, ou un bactériophage transposant, ou encore un intégron. ABR : gène de résistance à un antibiotique.

éléments de mobilité différents. Au niveau intracellulaire, les gènes de résistance aux antibiotiques se déplacent à l'intérieur du génome bactérien composé du chromosome et des éléments répliquatifs tels que les plasmides et les phages, via des recombinaisons homologues (homologie de séquences) ou non (site spécifique) des transposons et des intégrons. Quant aux mouvements intercellulaires (transmission horizontale), trois mécanismes en sont potentiellement responsables, à savoir, les transformations (acquisition de segments d'ADN libre), les transductions (transfert via des bactériophages) et les conjugaisons (transfert par des plasmides ou d'autres éléments conjuguatifs) (Boerlin et Reid-Smith, 2008). La figure 4 illustre différentes voies d'acquisition de résistance aux antibiotiques et le tableau I résume les caractéristiques des différents éléments

généétiques impliqués dans la dispersion des gènes de résistance.

#### 4.2.1. Les intégrons et l'intégration

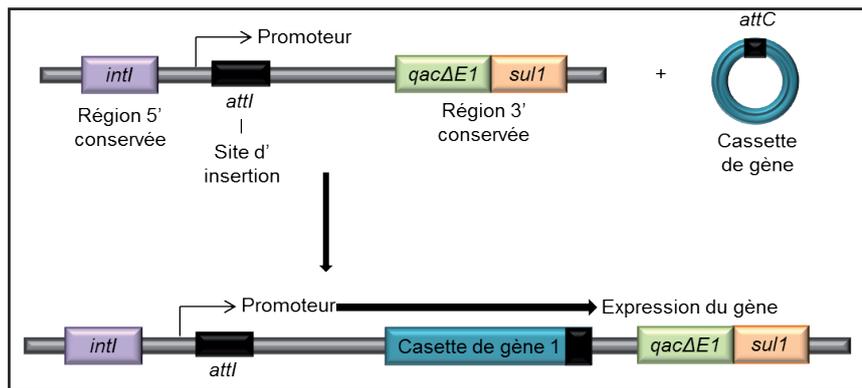
Les intégrons sont des systèmes génétiques de capture, d'incorporation et de transformation en gènes fonctionnels, de fenêtres de lecture ouverte. Ils ne sont pas mobiles à eux-seuls, mais ils sont souvent localisés sur des éléments génétiques conjuguatifs tels que les plasmides et les transposons. Ils sont dotés d'une structure spécifique, composée de deux segments conservés encadrant une région centrale dans laquelle peuvent s'insérer les « cassettes » de gène de résistance aux antimicrobiens (figure 5). Actuellement, quatre classes d'intégrons ont été identifiées sur base de la structure du gène codant pour l'intégrase, parmi

lesquelles les intégrons de classe 1 semblent être les plus largement répandus. L'extrémité 5' conservée des éléments de cette classe comporte un gène codant pour une intégrase, suivi d'un site d'attachement primaire, dit *attI*. L'intégrase catalyse une réaction de recombinaison entre le site *attI* et une cible secondaire *attC* d'une cassette de gène. Les cassettes de gènes sont des éléments génétiques circulaires et libres d'environ 500 à 1000 paires de bases qui ne possèdent pas de région promotrice et qui ne peuvent donc pas être exprimées seules. Un élément de cette cassette, de 59 paires de bases, dit site *attC*, et localisé en aval d'une fenêtre de lecture ouverte sert de site de recombinaison. La recombinaison conduit à l'insertion de la fenêtre de lecture ouverte en aval d'un promoteur résidant localisé dans

**Tableau I** : Caractéristiques de différents éléments génétiques impliqués dans la dispersion des gènes de résistance

Élément génétique	Caractéristiques	Rôles
<b>Plasmide conjuguatif</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Circulaire</li> <li>- Élément de réplication autonome</li> <li>- Présence des gènes nécessaires au transfert par conjugaison</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Transfert de gènes de résistance</li> <li>- Mobilisation d'autres éléments portant des gènes de résistance</li> </ul>
<b>Plasmide mobilisable</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Circulaire</li> <li>- Élément de réplication autonome</li> <li>- Présence des gènes permettant d'utiliser l'appareil de conjugaison d'un plasmide conjuguatif</li> </ul>	Transfert de gènes de résistance
<b>Transposon et ISCR</b>	Capacité de déplacement depuis un segment d'ADN vers un autre à l'intérieur d'une bactérie	Transport de gènes de résistance du chromosome vers un plasmide et vice versa
<b>Transposon conjuguatif</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Élément intégré pouvant s'exciser pour former un intermédiaire de transfert non répliquatif</li> <li>- Présence des gènes nécessaires au transfert par conjugaison</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Transfert de gènes de résistance</li> <li>- Mobilisation d'autres éléments portant des gènes de résistance</li> </ul>
<b>Cassette de gène</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Circulaire</li> <li>- Segment d'ADN non répliquatif</li> <li>- Présence seulement d'une fenêtre de lecture ouverte</li> <li>- Intégration dans les intégrons</li> </ul>	Porte des gènes de résistance
<b>Intégron</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Segment d'ADN intégré</li> <li>- Présence d'une intégrase, d'un promoteur, et d'un site d'intégration pour la cassette de gène</li> </ul>	Groupe de gènes de résistance dont l'expression est sous le contrôle du promoteur de l'intégron
<b>Hot génomique et EIC</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Segment d'ADN chromosomique</li> <li>- Présence des gènes nécessaires aux déplacements et au transfert par conjugaison</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Transfert de gènes de résistance</li> <li>- Mobilisation d'autres éléments portant des gènes de résistance</li> </ul>
<b>Bactériophage</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Virus de bactérie</li> <li>- Circulaire ou non</li> <li>- Élément de réplication autonome</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Transfert de gènes de résistance</li> <li>- Mobilisation d'autres éléments portant des gènes de résistance</li> </ul>
<b>Fragment d'ADN isolé dans le milieu</b>	Transféré par transformation d'une bactérie compétente	Porte des gènes de résistance

**Figure 5** : Structure d'un intégron de classe 1 et représentation du mécanisme de capture et d'expression d'une cassette de gène, d'après Harbottle et collaborateurs (2006).



La structure se compose du gène *intI* codant pour l'intégrase à l'extrémité 3' de laquelle se trouve un promoteur suivi d'un site d'insertion *attI*. L'intégrase catalyse une recombinaison entre le site *attC* d'une cassette de gène circulaire et le site d'attachement de l'intégron. Il en résulte une transcription du gène de résistance présent au niveau de la cassette par le promoteur de l'intégron.

*qacΔE1* : gène de résistance aux ammoniums quaternaires, *sul1* : gène de résistance aux sulfamidés.

l'intégron. L'extrémité 3' conservée des intégrons de classe 1 se compose quant à elle, des gènes *sul1* et *qacEΔ1* codant respectivement pour une résistance aux sulfamidés et aux ammoniums quaternaires. Les fenêtres de lecture ouverte codant pour des résistances aux antibiotiques sont les plus fréquentes, et plus de 100 gènes de résistances différents couvrant la plupart des classes d'antimicrobiens ont été identifiés sous la forme de cassettes de gène (Recchia et Hall, 1995). Un intégron peut incorporer successivement plusieurs cassettes. Les intégrons sont aussi bien répartis parmi les bactéries Gram négatives que Gram positives, et semblent d'ailleurs impliqués parmi ces dernières dans la dissémination de gènes de résistance autrefois supposés restreints aux germes Gram négatifs. Des études, réalisées sur des populations de bactéries collectées au niveau d'hôpitaux et de différents sites agricoles, ont révélé la présence de nombreux intégrons complets, disposant de cassettes de gènes de résistance, ce qui souligne l'importance du processus de capture de gènes médié par ces éléments particuliers au cours de l'évolution des résistances aux antibiotiques (Aarestrup, 2006 ; Harbottle *et al.*, 2006 ; Boerlin et Reid-Smith, 2008 ; Davies et Davies, 2010).

#### 4.2.2. Les plasmides, la conjugaison et la mobilisation plasmidique

Les plasmides conjugatifs sont des molécules d'ADN extra-chromo-

somique capables d'une répllication autonome régulée par eux-mêmes, et d'échanges (répllication du plasmide suivie de son transfert) au sein de populations bactériennes grâce au phénomène de conjugaison via un appendice de transfert, le pilus, codé par le plasmide et localisé en surface de la bactérie (Frost *et al.*, 2005 ; Harbottle *et al.*, 2006). Certains plasmides dits mobilisables ne sont pas autotransférables car ils ne possèdent pas les gènes requis pour la synthèse du pilus, et ils utilisent donc, au cours du transfert, le pilus d'un plasmide autotransférable présent dans la bactérie. De nombreux plasmides représentent une mosaïque de séquences d'ADN provenant de l'association de structures génétiques elles-mêmes issues d'autres plasmides, de transposons et de phages à ADN. On classe les plasmides en groupes d'incompatibilité (Inc) sur base de leur mode de répllication et de maintien à l'intérieur de la bactérie (Couturier *et al.*, 1988) grâce au typage du réplicon par PCR pour les méthodes actuelles (Caratolli *et al.*, 2005). L'incompatibilité est une manifestation de la parenté existant entre des plasmides et basée sur une machinerie de répllication commune. Ainsi, des plasmides exploitant des modes de répllication différents peuvent coexister au sein d'une seule cellule, alors que des plasmides différents utilisant le même mécanisme de

répllication sont incompatibles, et par conséquent, incapables de résider ensemble pendant une période prolongée dans la même bactérie (Caratolli *et al.*, 2005 ; 2006 ; Harbottle *et al.*, 2006). Les plasmides ne sont pas essentiels à la survie de la bactérie. Cependant ils sont porteurs de gènes conférant un avantage sélectif à la cellule qui les possède. En effet, les fonctions codées par les plasmides se répartissent en fonctions de base qui leur sont essentielles, telles que la répllication, la partition, la conjugaison et autres modes de transfert, et en fonctions non essentielles, conférant un phénotype particulier à la bactérie hôte, telles que des résistances à des antibiotiques, à des métaux lourds ou aux ultra-violetts, des facteurs de virulence (adhésines, toxines), des propriétés de fermentation, des propriétés de dégradation, des propriétés métaboliques, des bactériocines, ou encore la capacité de fixer l'azote atmosphérique. Des plasmides de résistance sont identifiés à la fois parmi des bactéries pathogènes et commensales, Gram positives et Gram négatives. Ils sont porteurs de gènes de résistance vis-à-vis de la majorité des antibiotiques disponibles pour un usage clinique actuellement, y compris les fluoroquinolones (Li, 2005 ; Gay *et al.*, 2006 ; Jacoby *et al.*, 2006), et il n'est pas rare qu'un seul plasmide soit simultanément porteur de gènes de résistances vis-à-vis de plusieurs antibiotiques de familles différentes, et qu'il soit porté par des genres bactériens différents (Sherley *et al.*, 2004 ; Harbottle *et al.*, 2006). Par conséquent, les plasmides offrent, aux cellules hôtes, la capacité d'occuper une grande variété de niches écologiques, et contribuent dès lors à l'évolution, non seulement des espèces bactériennes, mais également des plasmides au sein de ces espèces.

#### 4.2.3. Les transposons, les séquences d'insertion et la transposition

La transposition consiste en l'insertion, en un site du génome de la bactérie (le chromosome ou un plasmide), d'une unité discrète d'ADN (un segment), appelé transposon ou séquence d'insertion. Le mouvement effectué par le transposon est appelé transposition et les enzymes qui en sont responsables sont nommées transposases. Le transposon, également surnommé *jumping gene*, code pour ses propres transposases et conserve sa capacité à « sauter » d'une région à l'autre du

génomique lorsqu'il se déplace. Tous les transposons bactériens sont constitués au niveau de leurs extrémités, de séquences d'ADN inversées et répétées, cibles des transposases et de courtes séquences répétées de l'ADN cible qui encadrent le transposon. Les plus petits transposons bactériens, nommés séquences d'insertion (SI), contiennent très peu d'informations génétiques outre les gènes codant pour les transposases. Ces séquences d'insertion ne codent d'ailleurs pas pour des gènes sélectifs, et leur découverte tient, dès lors, de l'inactivation des gènes qu'elles produisent lorsqu'elles s'intègrent dans ceux-ci et des modifications phénotypiques qu'elles causent. Lorsque deux séquences d'insertion de séquences similaires, généralement en orientation inversée, encadrent d'autres gènes que ceux requis pour la transposition, comme par exemple des gènes de résistance aux antibiotiques, on parle de transposon composite. Les transposons non com-

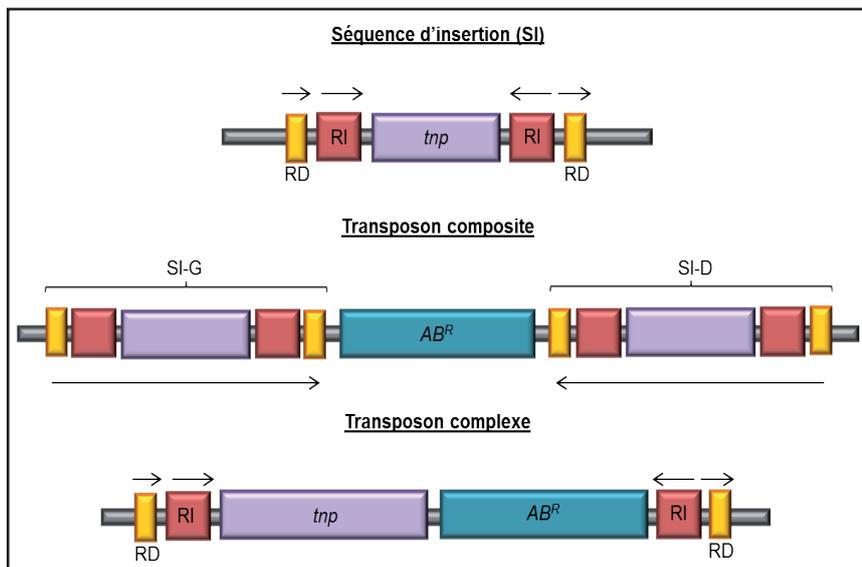
posites complexes ne sont pas associés à des séquences d'insertion, et se composent quant à eux, de courtes séquences répétées inversées encadrant une région centrale composée notamment des gènes nécessaires à la transposition et des gènes de résistance, qui ne représentent qu'une petite partie de l'unité transposable. Les transposons conjugatifs diffèrent des autres transposons car, d'une part, ils possèdent des fonctions de transfert, faisant d'eux une sorte d'hybride entre le transposon et le plasmide, et par, d'autre part, l'absence de séquences répétées inversées. Le transposon conjugatif est capable de promouvoir son excision du génome de la cellule hôte, pour former une structure intermédiaire circulaire d'ADN bicaténaire, suivie ensuite d'une étape de conjugaison à une bactérie voisine. Cette étape de conjugaison peut, en fait, être vue comme une forme de réplication. En effet, au cours de ce processus, l'intermédiaire circulaire

est scindé en deux, une structure simple brin maintenue dans la bactérie donneuse et l'autre fournie à la bactérie receveuse, qui doivent encore être dupliquées pour former à nouveau une structure double-brin essentielle à l'intégration ultérieure au chromosome ou dans un plasmide. Les transposons conjugatifs ont été identifiés parmi les bactéries Gram négatives et Gram positives (Salyers *et al.*, 1995 ; Salyers et Amabile-Cuevas, 1997 ; Frost *et al.*, 2005 ; Harbottle *et al.*, 2006). Enfin, un dernier type d'élément génétique mobile aux caractéristiques proches de certaines séquences d'insertion a été découvert récemment. Ces structures particulières, nommées ISCR (IS pour *insertion sequence* soulignant l'étroite relation entre ces éléments et les séquences d'insertion, et CR pour *common region* soulignant la présence de séquences conservées de recombinaisons), réalisent une transposition répllicative, et se composent d'un gène codant pour une enzyme analogue des transposases, non flanqué des séquences répétées inversées habituellement présentes dans les SI, mais délimité par des séquences d'initiation et de terminaison de réplication. Ces éléments s'insèrent de façon aléatoire dans le génome bactérien, et disposent d'un mécanisme de réplication imprécis se poursuivant généralement au-delà du site de terminaison, et permettant ainsi une mobilisation des séquences adjacentes aux ISCR (Toleman *et al.*, 2006 ; Bennett, 2008 ; Boerlin et Reid-Smith, 2008). La figure 6 propose une représentation simplifiée des séquences d'insertion, des transposons composites et des transposons complexes.

#### 4.2.4. Les éléments intégratifs conjugatifs et les îlots génomiques

Un îlot génomique se définit comme une région d'ADN chromosomique de grande taille, généralement comprise entre 10 et 200 kilo bases, identifiée par sa présence dans le génome d'une espèce mais absente du génome d'autres souches de la même espèce ou d'espèces proches. On distingue les îlots génomiques par le contenu en GC, les biais en GC, et l'usage de codons différents du reste du chromosome de la bactérie dans laquelle ils se sont intégrés. Ces structures sont souvent insérées au niveau de l'extrémité 3' d'un ARN de transfert, site de reconnaissance spécifique de certains types d'intégrase, on les ap-

**Figure 6** : Représentation simplifiée d'une séquence d'insertion, d'un transposon composite et d'un transposon complexe.



La séquence d'insertion se compose de deux courtes séquences directes d'ADN cible et de deux séquences d'ADN répétées inversées, cibles des transposases, encadrant une partie centrale formée par le gène codant pour la transposase. Le transposon composite se compose de deux séquences d'insertion généralement orientées de façon opposée, encadrant une partie centrale comprenant un (des) gène(s) de résistance à un (des) antibiotique(s). Le transposon complexe se compose de deux courtes séquences directes d'ADN cible et de deux séquences d'ADN répétées inversées encadrant une partie centrale comprenant notamment le gène codant pour la transposase (et des gènes codant pour d'autres enzymes non illustrés sur cette représentation) et un (des) gène(s) de résistance à un (des) antibiotique(s). *tnp* : gène codant pour la transposase, *AB<sup>R</sup>* : gène codant pour une résistance à un antibiotique, RI : séquence répétée inversée, RD : séquence répétée directe, SI-G : séquence d'insertion copie gauche, SI-D : séquence d'insertion copie droite.

pelle dans ce cas, éléments intégratifs conjugatifs (EIC). Ils sont habituellement flanqués de courtes séquences répétées directes qui représentent, en fait, le site spécifique d'intégration de l'îlot génomique dans l'ADN cible et qui peuvent également servir de séquence de reconnaissance pour leur excision enzymatique. Les îlots génomiques contiennent fréquemment des gènes de mobilité impliqués dans leur transfert, comme des gènes cryptiques ou fonctionnels codant pour des intégrases, ou des gènes codant pour des facteurs impliqués dans des mécanismes de conjugaison, ou encore des phages. Les îlots génomiques sont généralement porteurs d'éléments d'insertion ou de transposons, impliqués dans l'introduction, la mobilisation ou la délétion de matériel génétique à l'intérieur de ceux-ci. Enfin, les îlots génomiques sont souvent porteurs de gènes conférant un avantage sélectif à la bactérie hôte qu'elle soit pathogène ou environnementale, et jouent par conséquent un rôle crucial dans l'évolution de ces dernières en permettant la dissémination de nombreux gènes tels que des gènes de résistance aux antibiotiques, des gènes de virulence, ou encore des gènes codant pour diverses voies métaboliques (Juhas *et al.*, 2009). En outre, on définit les éléments intégratifs conjugatifs comme une catégorie de structures capable de s'exciser par des recombinaisons site-spécifique sous une forme circulaire auto-transférable par conjugaison, et de s'intégrer dans le génome d'une bactérie hôte, quelle que soit la spécificité du mécanisme d'intégration et de conjugaison utilisé. Ces éléments sont également capables de se répliquer au cours du processus de conjugaison, cependant ce phénomène n'est pas impliqué dans leur maintien (Burris *et al.*, 2002).

#### 4.2.5. Les bactériophages et la transduction

Les bactériophages ou phages sont des virus infectant les bactéries. Comme tous les virus, ils se caractérisent par la possession d'une seule molécule d'acide nucléique et par un parasitisme intracellulaire obligatoire. Lors de contact entre une bactérie et un phage, trois situations sont envisageables : (i) la bactérie résiste à l'infection ; (ii) le phage ou seulement son acide nucléique pénètre dans la bactérie, s'y multiplie, on parle dans ce cas de phage virulent et son cycle

productif aboutit ou non à la lyse bactérienne ; enfin, (iii) le phage ou seulement son acide nucléique est introduit dans la bactérie et s'intègre au génome bactérien à l'état latent sous la forme d'un prophage, on parle dans ce cas de phage tempéré et le cycle est qualifié de lysogénique (Euzéby, sans date). Les bactériophages ne sont pas seulement responsables de l'infection des bactéries, ils sont parfois également impliqués dans le transfert de matériel génétique entre bactéries au cours d'un procédé nommé transduction. Il existe deux types de transduction chez les bactéries : la transduction généralisée au cours de laquelle n'importe quelle région du génome de la cellule hôte peut être transférée à une autre, et la transduction spécialisée, au cours de laquelle seuls certains gènes proches du site d'attachement dans le chromosome du phage lysogénique peuvent être transférés (Snyder et Champness, 1997). Est ainsi envisageable, la transduction de matériel chromosomique pouvant pour se perpétuer recombiner avec le chromosome de la cellule réceptrice lors d'homologie de séquence. On observe également la transduction de plasmide pouvant ainsi se maintenir dans la bactérie receveuse par réplication. Enfin, lorsque le matériel génétique transféré contient un transposon, celui-ci peut « sauter » et s'insérer au niveau d'un plasmide ou du chromosome de l'hôte (Snyder et Champness, 1997). Les échanges génétiques par transduction impliquent l'infection d'une bactérie par un bactériophage, la réplication de celui-ci, l'incorporation d'ADN bactérien (contenant éventuellement des gènes de résistance) à l'ADN du phage, la lyse de la cellule hôte et l'infection d'une nouvelle bactérie à qui les déterminants de résistance peuvent alors être transmis, intégrés ou non au chromosome (figure 4) (Harbottle *et al.*, 2006 ; Alekshun et Levy, 2007 ; Boerlin et Reid-Smith, 2008). La contribution du phénomène de transduction dans l'évolution des résistances multiples aux antibiotiques est difficile à évaluer. Cependant, des expériences de laboratoire ainsi que des souches sauvages attestent le rôle du processus dans le développement des résistances aux antimicrobiens (Blahova *et al.*, 2000 ; Del Grosso *et al.*, 2011 ; van Hoek *et al.*, 2011).

#### 4.2.6. La transformation

La transformation, premier mécanisme de transfert d'ADN découvert chez les procaryotes, est impliquée dans l'acquisition de l'ADN d'une bactérie morte en cours de dégradation par une bactérie compétente se trouvant à proximité de cette dernière (Snyder et Champness, 1997). En effet, lors de la mort d'une bactérie, l'ADN altéré, fragmenté et libéré, et qui contient éventuellement des gènes de résistance vis-à-vis de différents antibiotiques, peut être récupéré par transformation et incorporé par recombinaison dans le génome des bactéries compétentes présentes dans le milieu (figure 4). La compétence des bactéries est un phénomène lié à la perméabilité de la membrane qui peut être induit *in vivo* ou *in vitro* (via des chocs électriques ou des agents chimiques) ou se retrouver naturellement chez certains genres voir certaines espèces parmi les Gram positives (*Bacillus* et *Streptococcus*) et les Gram négatives (*Campylobacter*, *Haemophilus*, *Helicobacter*, *Neisseria* et *Vibrio*) (Harbottle *et al.*, 2006 ; Alekshun et Levy, 2007 ; Boerlin et Reid-Smith, 2008 ; Kovacs *et al.*, 2009). Certains microorganismes tels que les streptocoques sont naturellement compétents à certains stades de leur développement alors que d'autres germes ne possèdent aucune fenêtre de compétence (van Hoek *et al.*, 2011). Certaines entérobactéries dont notamment *E. coli* sont ainsi difficilement naturellement transformables, du fait d'un très faible taux de pénétration de l'ADN et de mécanismes de recombinaison peu efficaces (Sinha et Redfield, 2012). Sur base de ces considérations, la contribution du phénomène de transformation dans l'évolution des résistances aux antibiotiques reste difficile à évaluer bien que théoriquement envisageable. (Blahova *et al.*, 2000 ; Del Grosso *et al.*, 2011 ; van Hoek *et al.*, 2011).

## **5. EPIDÉMIOLOGIE DES RÉSISTANCES AUX ANTIBIOTIQUES**

### **5.1. Résistances croisées, co-résistances et sélection**

On parle de résistance croisée, lorsqu'une résistance à un antibiotique engendre une résistance à un autre composé par un seul et même mécanisme biochimique. Le phénomène de résistance croisée peut survenir parmi tous les membres d'une classe d'antibiotiques, comme c'est le cas pour les

sulfamidés, ou être limité à quelques membres d'un groupe, comme pour les aminoglycosides, ou encore impliquer des antimicrobiens appartenant à des classes différentes. Une résistance croisée est aussi observée, lorsque plusieurs antibiotiques utilisent la même cible, comme par exemple, les macrolides, les lincosamides et les streptogramines B qui agissent tous sur le ribosome. En effet, une seule mutation au niveau de la sous-unité 50S de l'ARNr provoque une résistance à haut niveau aux trois antimicrobiens, en dépit des différences de structure existant parmi ceux-ci. Ce phénomène est également observé en présence de pompes à efflux non spécifiques qui exportent activement en dehors de la bactérie une grande variété de substrats aux structures chimiques souvent très différentes. Citons encore certaines inactivations enzymatiques efficaces sur différentes classes d'antibiotiques, comme par exemple l'acétylation de certains aminoglycosides et de certaines fluoroquinolones par l'enzyme Aac(6')-Ib-cr (Robicsek *et al.*, 2006a ; 2006b). La co-résistance se définit, quant à elle, comme l'existence au sein d'une bactérie de plusieurs mécanismes conférant chacun une résistance à diverses familles d'antibiotiques. Les gènes correspondants sont souvent adjacents (physiquement liés) et exprimés d'une façon coordonnée comme dans les intégrons. La co-sélection, c'est-à-dire la sélection d'un microorganisme résistant à un antibiotique lors d'une exposition à un autre agent antimicrobien, résulte des phénomènes de résistance croisée et de co-résistance. Pour illustrer ce propos, un exemple remarquable de co-sélection est décrit dans des élevages de porcs et de volaille, où on observe une persistance de souches d'entérocoques résistantes aux glycopeptides malgré l'interdiction d'usage de ces derniers. En fait, l'opéron responsable de la résistance à la vancomycine est lié génétiquement, sur un plasmide conjugatif, à un gène de résistance aux macrolides, dont il résulte une co-sélection de résistance aux glycopeptides lors de l'utilisation de macrolides dans ce type d'élevage (Aarestrup, 2000 ; 2006).

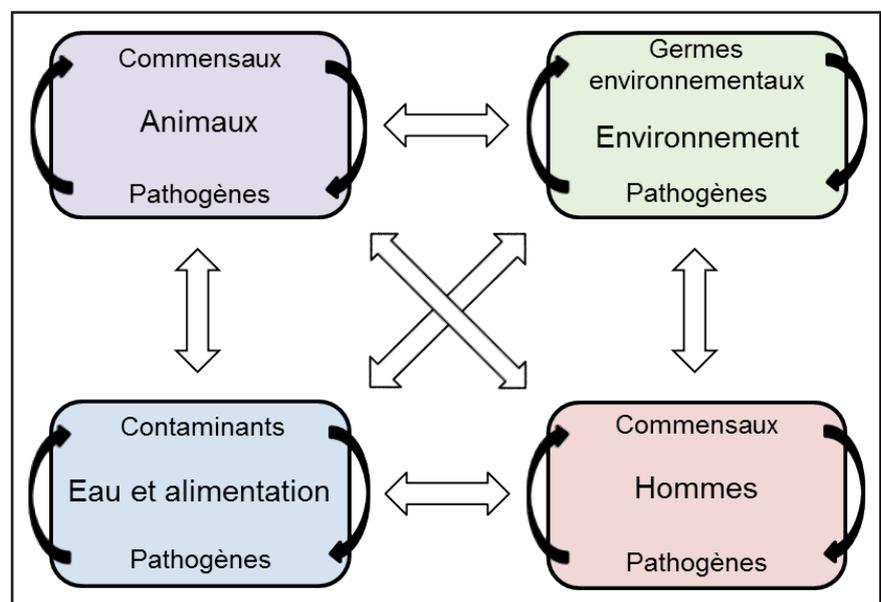
La présence de certains antibiotiques dans l'environnement peut parfois faciliter le transfert de gènes de résistance, en agissant comme de véritables phéromones. Ainsi, des concentrations sub-inhibitrices de pénicilline

favorisent le transfert conjugatif de plasmides entre différentes espèces de bactéries, en augmentant la perméabilité cellulaire et en facilitant le rapprochement bactérien. De faibles concentrations en tétracycline augmentent la fréquence de transfert de transposons conjugatifs porteurs de résistances aux tétracyclines ainsi qu'à d'autres antibiotiques au sein des coques Gram positifs et chez *Bacteroides spp.* En outre, l'exposition aux antibiotiques exerce une pression de sélection, en favorisant les mutations et les transferts de gènes, et en permettant aux génotypes résistants devenus prédominants de s'installer au sein de la population bactérienne (Courvalin et Trieu-Cuot, 2001 ; Aarestrup, 2006).

## 5.2. Persistance dans l'environnement

L'augmentation de la prévalence et la dissémination des résistances était une issue prévisible du recours croissant à l'antibiothérapie, un exemple du principe darwinien de la survie du plus adapté. Dans toute grande population bactérienne, quelques individus possèdent des caractéristiques qui leur permettent de survivre en présence d'une substance toxique, alors que les organismes sensibles (qui n'ont pas

ou qui ont perdu cette caractéristique) sont éliminés, laissant une population résiduelle de germes résistants. L'usage, à long terme, des antibiotiques contribue à modifier fortement l'écologie microbiologique d'un environnement donné, en permettant aux éléments les moins sensibles de la population microbienne de devenir prédominants (Marshall *et al.*, 1990 ; Salyers et Amabile-Cuevas, 1997 ; Levy, 1998 ; Boerlin et White, 2006). De cette façon, les bactéries commensales et opportunistes résistantes deviennent rapidement les composants essentiels des flores normales de nombreuses espèces hôtes en déplaçant progressivement le niveau de sensibilité des populations. De plus, le regroupement de multiples gènes de résistance sur des plasmides, des transposons et des intégrons rend le problème d'autant plus préoccupant, du fait notamment, des phénomènes de co-sélection de résistances. Ajoutons à cela une complication supplémentaire, lorsqu'une co-sélection peut également s'exercer sur des gènes de résistance aux antibiotiques liés physiquement à d'autres gènes sélectivement avantageux dans certaines circonstances, tels que des caractères de virulence (Boerlin *et al.*, 2005) ou encore une résistance à des antiseptiques, des métaux lourds,



**Figure 7** : Vue simplifiée de l'épidémiologie des résistances aux antibiotiques, d'après Boerlin et White (2006).

Les bactéries peuvent être transférées (flèches blanches) entre les animaux et les hommes par l'intermédiaire de l'eau et de l'alimentation, par contact directe ou encore via l'environnement. Les résistances aux antibiotiques, quant à elles, s'échangent via le transfert de matériel génétique s'opérant entre les bactéries d'un compartiment mais également entre les bactéries de différents compartiments.

et des désinfectants (Salyers et Amabile-Cuevas, 1997 ; Boerlin et White, 2006).

Porter et répliquer des gènes de résistance lorsqu'ils ne sont plus nécessaires représente, par contre, un fardeau pour une bactérie. Ainsi, en absence de pression de sélection exercée par un antibiotique, les bactéries sensibles possèdent un avantage sélectif et assurent lentement un retour de la population à un niveau de sensibilité global (Aarestrup *et al.*, 2001 ; Boerlin *et al.*, 2001). Cependant, des travaux récents montrent que les bactéries sont également capables de conserver les traits de résistance à un antibiotique en l'absence de pression de sélection exercée par ce dernier, notamment par les événements de co-sélection décrits plus haut. Les mécanismes qui sous-tendent ce phénomène ne sont pas élucidés. Ils semblent multifactoriels et font probablement intervenir des mécanismes de compensation de la charge métabolique imposée à la bactérie par la présence des gènes de résistance, ou encore une régulation de l'expression des gènes en présence ou non de l'antibiotique (Boerlin et White, 2006).

Enfin, le réservoir des gènes de résistance aux antibiotiques a deux localisations principales, à savoir les microflore commensales des organismes vivants et les bactéries environnementales. En effet, les flores commensales gastro-intestinales et de toute autre zone non stérile du corps des hommes et des animaux sont le siège de transferts permanents de gènes de résistance entre les bactéries résidentes et les germes pathogènes (Salyers *et al.*, 2004). D'ailleurs, il semblerait que ces échanges constants représentent plus un danger pour la santé publique que la pression de sélection exercée directement sur les agents pathogènes lors des traitements. En fait, le développement occasionnel *de novo* d'une résistance au sein d'un microorganisme pathogène est moins fréquent et a moins d'impact que le trafic incessant organisé depuis le vaste réservoir commensal vers le pool relativement limité constitué des bactéries pathogènes (Boerlin et Reid-Smith, 2008). Le second réservoir majeur des gènes de résistance aux antimicrobiens est composé des microbiotes environnementaux, où la plupart des gènes transférables de résistance aux antibiotiques sont apparus pour ensuite être acquis par les germes patho-

gènes et commensaux (D'Costa *et al.*, 2007). L'ère moderne d'utilisation des antibiotiques, telle que nous la connaissons aujourd'hui, représente en quelque sorte, une pression de sélection artificielle s'opérant sur les transferts naturels. En outre, l'usage intensif actuel des antibiotiques occasionne d'importantes perturbations des écosystèmes microbiens environnementaux via les nombreux résidus rencontrés dans les eaux usées, les fermes et les effluents d'aquaculture pour ne citer qu'eux (Kostich et Lazorchak, 2008). La figure 7 propose une vue simplifiée de l'épidémiologie des résistances aux antibiotiques.

## 6. CONCLUSION

Une meilleure compréhension de l'émergence des résistances aux antimicrobiens ainsi que de leurs transferts nous aidera, à termes, à développer des stratégies de contrôle et de lutte efficaces vis-à-vis de ce fléau. En outre, les progrès permanents, dans le domaine de la biologie moléculaire permettant notamment un traçage de plus en plus performant des gènes de résistance et des souches porteuses, contribuent également à la mise en place et à l'amélioration des plans de contrôle et de surveillance de cette problématique. Cependant, face à la complexité des mécanismes de transmission et à la multitude de réservoirs environnementaux, parfois encore inexploités, de nouveaux gènes de résistance aux antibiotiques ainsi que d'éléments génétiques mobiles susceptibles de les véhiculer, il paraît improbable qu'un « remède miracle » assure un aboutissement, dans un avenir proche, à notre combat contre les antibio-résistances. Ainsi, un usage des antibiotiques prudent, raisonné et raisonnable dont la finalité devra sans cesse être affinée sur base des nouvelles informations et outils mis à notre disposition grâce aux nombreuses recherches qu'il apparaît actuellement indispensable de soutenir et d'encourager, doit rester la pierre angulaire de notre stratégie de protection de l'efficacité des nouveaux mais également des anciens composés antibactériens.

## ABSTRACT

### **Bacterial antimicrobial resistances: the mechanisms and their contagiousness**

After six decades of antimicrobial use, pathogenic bacteria of human and animal origin have reached alarming levels of antibiotics resistances. This literature review will present a description of the main mechanisms of antimicrobial resistance reported today, of which enzymatic antibiotic inactivation, modification or replacement of drug target, efflux pumps, or reduced drug uptake are the most common. We will then discuss some concepts related to the epidemiology of this phenomenon, including the acquisition routes of the genes responsible for resistance such as conjugative plasmids, transposable elements and the integron system that move genes between different parts of the bacterial genome and between different bacteria.

## BIBLIOGRAPHIE

- AARESTRUP F.M. Characterization of glycopeptide-resistant enterococcus faecium (GRE) from broilers and pigs in Denmark: genetic evidence that persistence of GRE in pig herds is associated with coselection by resistance to macrolides. *J. Clin. Microbiol.*, 2000, **38**, 2774-2777.
- AARESTRUP F.M., SEYFARTH A.M., EMBORG H.D., PEDERSEN K., HENDRIKSEN R.S., BAGER F. Effect of abolishment of the use of antimicrobial agents for growth promotion on occurrence of antimicrobial resistance in fecal enterococci from food animals in Denmark. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2001, **45**, 2054-2059.
- AARESTRUP F. The origin, evolution, and local and global dissemination of antimicrobial resistance. In : Aarestrup F.M. (Ed.), *Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin*. ASM Press : Washington, 2006, 339-359.
- ALEKSHUN M.N., LEVY S.B. Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. *Cell*, 2007, **128**, 1037-1050.
- ANDREWS J.M. Determination of minimum inhibitory concentrations. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2001, **48** : Suppl 1, 5-16.
- BENNETT P.M. Plasmid encoded antibiotic resistance: acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in bacteria. *Br. J. Pharmacol.*, 2008, **153** : Suppl 1, S347-357.
- BLAHOVA J., KRALIKOVA K., KRČMERY V., JEZEK P. Low-Frequency transduction of imipenem resistance and high-frequency transduction of ceftazidime and aztreonam resistance by the bacteriophage AP-151 isolated from a *Pseudomonas aeruginosa* strain. *J. Chemother.*, 2000, **12**, 482-486.
- BOERLIN P., WISSING A., AARESTRUP F.M., FREY J., NICOLET J. Antimicrobial growth promoter ban and resistance to macrolides and vancomycin in enterococci from pigs. *J. Clin. Microbiol.*, 2001, **39**, 4193-4195.
- BOERLIN P., TRAVIS R., GYLES C.L., REID-SMITH R., JANECKO N., LIM H., NICHOLSON V., MCEWEN S.A., FRIENDSHIP R., ARCHAMBAULT M. Antimicrobial resistance and virulence genes of *Escherichia coli* isolates from swine in Ontario. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2005, **71**, 6753-6761.
- BOERLIN P., WHITE D.G. Antimicrobial resistance and its epidemiology. In : Giguère S., Prescott J.F., Baggot J.D., Walker R.D., Dowling P.M. (Eds), *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*, Fourth Edition. Blackwell publishing : Ames, 2006, 27-43.
- BOERLIN P., REID-SMITH R.J. Antimicrobial resistance: its emergence and transmission. *Anim. Health Res. Rev.*, 2008, **9**, 115-126.
- BURRUS V., PAVLOVIC G., DECARIS B., GUEDON G. Conjugative transposons: the tip of the iceberg. *Mol. Microbiol.*, 2002, **46**, 601-610.
- CARATTOLI A., BERTINI A., VILLA L., FALBO V., HOPKINS K.L., THRELFALL E.J. Identification of plasmids by PCR-based replicon typing. *J. Microbiol. Methods*, 2005, **63**, 219-228.
- CARATTOLI A., MIRIAGOU V., BERTINI A., LOLI A., COLINON C., VILLA L., WHICHARD J.M., ROSSOLINI G.M. Replicon typing of plasmids encoding resistance to newer beta-lactams. *Emerg. Infect. Dis.*, 2006, **12**, 1145-1148.
- CAVACO L.M., HASMAN H., XIA S., AARESTRUP F.M. qnrD, a novel gene conferring transferable quinolone resistance in *Salmonella enterica* sérovar Kentucky and Bovismorbificans strains of human origin. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2009, **53**, 603-608.
- CAVALLO J.D., MERENS A. Antibacterial spectrum of an antibiotic and clinical categorization. *Pathol. Biol.*, 2008, **56**, 300-304.
- CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. Draft guidelines for risk analysis of foodborne antimicrobial resistance. In : Report of the fourth session of the Codex ad hoc Intergovernmental Task Force on Antimicrobial Resistance, Muju, Republic of Korea, 18–22 October 2010, 2011, 25-49.
- COURVALIN P., TRIEU-CUOT P. Minimizing potential resistance: the molecular view. *Clin. Infect. Dis.*, 2001, **33** : Suppl 3, S138-146.
- COUTURIER M., BEX F., BERGQUIST P.L., MAAS W.K. Identification and classification of bacterial plasmids. *Microbiol. Rev.*, 1988, **52**, 375-395.
- DAVIES J., DAVIES D. Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 2010, **74**, 417-433.
- DEL GROSSO M., CAMILLI R., BARBABELLA G., BLACKMAN NORTHWOOD J., FARRELL D.J., PANTOSTI A. Genetic resistance elements carrying mef subclasses other than mef(A) in *Streptococcus pyogenes*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2011, **55**, 3226-3230.
- D' COSTA V.M., GRIFFITHS E., WRIGHT G.D. Expanding the soil antibiotic resistome: exploring environmental diversity. *Curr. Opin. Microbiol.*, 2007, **10**, 481-489.
- DRLICA K., ZHAO X. Mutant selection window hypothesis updated. *Clin. Infect. Dis.*, 2007, **44**, 681-688.
- EUZEBY J.P. Bactériophages, transduction et conversion lysogénique. [en ligne] (sans date) Adresse URL : <http://www.bacteriologie.net/generale/phages.html>, consulté le 08/12/12.
- FLEMING A. Penicillin. Nobel lecture, December 11, 1945. [Pdf en ligne] (1945) Adresse URL : [http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/1945/fleming-lecture.html](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1945/fleming-lecture.html) consulté le 30/05/2012.
- FROST L.S., LEPLAE R., SUMMERS A.O., TOUSSAINT A. Mobile genetic elements: the agents of open source evolution. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2005, **3**, 722-732.
- GAY K., ROBICSEK A., STRAHILEVITZ J., PARK C.H., JACOBY G., BARRETT T.J., MEDALLA F., CHILLER T.M., HOOPER D.C. Plasmid-mediated quinolone resistance in non-Typhi serotypes of *Salmonella enterica*. *Clin. Infect. Dis.*, 2006, **43**, 297-304.
- GUARDABASSI L., COURVALIN P. Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. In : Aarestrup F.M. (Ed.), *Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin*. ASM Press : Washington, 2006, 1-18.

- HARBOTTLE H., THAKUR S., ZHAO S., WHITE D.G. Genetics of antimicrobial resistance. *Anim. Biotechnol.*, 2006, **17**, 111-124.
- JACOBY G.A., WALSH K.E., MILLS D.M., WALKER V.J., OH H., ROBICSEK A., HOOPER D.C. qnrB, another plasmid-mediated gene for quinolone resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2006, **50**, 1178-1182.
- JOHNSTON A.M. Use of antimicrobial drugs in veterinary practice. *BMJ*, 1998, **317**, 665-667.
- JUHAS M., VAN DER MEER J.R., GAILLARD M., HARDING R.M., HOOD D.W., CROOK D.W. Genomic islands: tools of bacterial horizontal gene transfer and evolution. *FEMS Microbiol. Rev.*, 2009, **33**, 376-393.
- KOSTICH M.S., LAZORCHAK J.M. Risks to aquatic organisms posed by human pharmaceutical use. *Sci. Total Environ.*, 2008, **389**, 329-339.
- KOVÁCS A.T., SMITS W.K., MIROŃCZUK A.M., KUIPERS O.P. Ubiquitous late competence genes in *Bacillus* species indicate the presence of functional DNA uptake machineries. *Environ. Microbiol.*, 2009, **11**, 1911-22.
- KUMAR A., SCHWEIZER H.P. Bacterial resistance to antibiotics: active efflux and reduced uptake. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2005, **57**, 1486-1513.
- LEVY S.B. Multidrug resistance--a sign of the times. *N. Engl. J. Med.*, 1998, **338**, 1376-1378.
- LI X.Z., NIKAIDO H. Efflux-mediated drug resistance in bacteria. *Drugs*, 2004, **64**, 159-204.
- LI X.Z. Quinolone resistance in bacteria: emphasis on plasmid-mediated mechanisms. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2005, **25**, 453-463.
- MARSHALL B., PETROWSKI D., LEVY S.B. Inter- and intraspecies spread of *Escherichia coli* in a farm environment in the absence of antibiotic usage. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1990, **87**, 6609-6613.
- MARTINEZ M., SILLEY P. Antimicrobial drug resistance. *Handb. Exp. Pharmacol.*, 2010, **199**, 227-264.
- NIKAIDO H. Multidrug resistance in bacteria. *Annu. Rev. Biochem.*, 2009, **78**, 119-146.
- PIDDOCK L.J. Does the use of antimicrobial agents in veterinary medicine and animal husbandry select antibiotic-resistant bacteria that infect man and compromise antimicrobial chemotherapy? *J. Antimicrob. Chemother.*, 1996, **38**, 1-3.
- POOLE K. Multidrug resistance in Gram-negative bacteria. *Curr. Opin. Microbiol.*, 2001, **4**, 500-508.
- RECCHIA G.D., HALL R.M. Gene cassettes: a new class of mobile element. *Microbiology*, 1995, **141**, 3015-3027.
- ROBICSEK A., JACOBY G.A., HOOPER D.C. The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Lancet Infect. Dis.*, 2006a, **6**, 629-640.
- ROBICSEK A., STRAHILEVITZ J., JACOBY G.A., MACIELAG M., ABBANAT D., PARK C.H., BUSH K., HOOPER D.C. Fluoroquinolone-modifying enzyme: a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase. *Nat. Med.*, 2006b, **12**, 83-88.
- RODRIGUEZ-MARTINEZ J.M., VELASCO C., BRIALES A., GARCIA I., CONEJO M.C., PASCUALA. Qnr-like pentapeptide repeat proteins in gram-positive bacteria. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2008, **61**, 1240-1243.
- SALYERS A.A., SHOEMAKER N.B., STEVENS A.M., LI L.Y. Conjugative transposons: an unusual and diverse set of integrated gene transfer elements. *Microbiol. Rev.*, 1995, **59**, 579-590.
- SALYERS A.A., AMABILE-CUEVAS C.F. Why are antibiotic resistance genes so resistant to elimination? *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1997, **41**, 2321-2325.
- SALYERS A.A., GUPTA A., WANG Y. Human intestinal bacteria as reservoirs for antibiotic resistance genes. *Trends Microbiol.*, 2004, **12**, 412-416.
- SCHWARZ S., SILLEY P., SIMJEE S., WOODFORD N., VAN DUJKEREN E., JOHNSON A.P., GAASTRA W. Editorial: assessing the antimicrobial susceptibility of bacteria obtained from animals. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2010, **65**, 601-604.
- SHERLEY M., GORDON D.M., COLLIGNON P.J. Evolution of multi-resistance plasmids in Australian clinical isolates of *Escherichia coli*. *Microbiology*, 2004, **150**, 1539-1546.
- SINHA S., REDFIELD R.J. Natural DNA uptake by *Escherichia coli*. *PLoS One*, 2012, **7**, e35620.
- SNYDER L., CHAMPNESS W. Molecular genetics of bacteria. ASM Press : Washington, 1997, 504p.
- TOLEMAN M.A., BENNETT P.M., WALSH T.R. ISCR elements: novel gene-capturing systems of the 21st century? *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 2006, **70**, 296-316.
- UNION EUROPEENNE Ban on antibiotics as growth promoters in animal feed enters into effect. [en ligne] (22/12/05) Adresse URL : <http://europa.eu/rapid/pressReleasesAction.do?reference=IP/05/1687&format=HTML&aged=0&language=EN>, consulté le 30/05/2012.
- VAN HOEK A.H., MEVIUS D., GUERRA B., MULLANY P., ROBERTS A.P., AARTS H.J. Acquired antibiotic resistance genes: an overview. *Front. Microbiol.*, 2011, **2**, 203.
- WANG M., GUO Q., XU X., WANG X., YE X., WU S., HOOPER D.C. New plasmid-mediated quinolone resistance gene, qnrC, found in a clinical isolate of *Proteus mirabilis*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2009, **53**, 1892-1897.
- WEBB V., DAVIES J. Antibiotic preparations contain DNA: a source of drug resistance genes? *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1993, **37**, 2379-2384.
- ZHAO X., DRLICA K. A unified anti-mutant dosing strategy. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2008, **62**, 434-436.