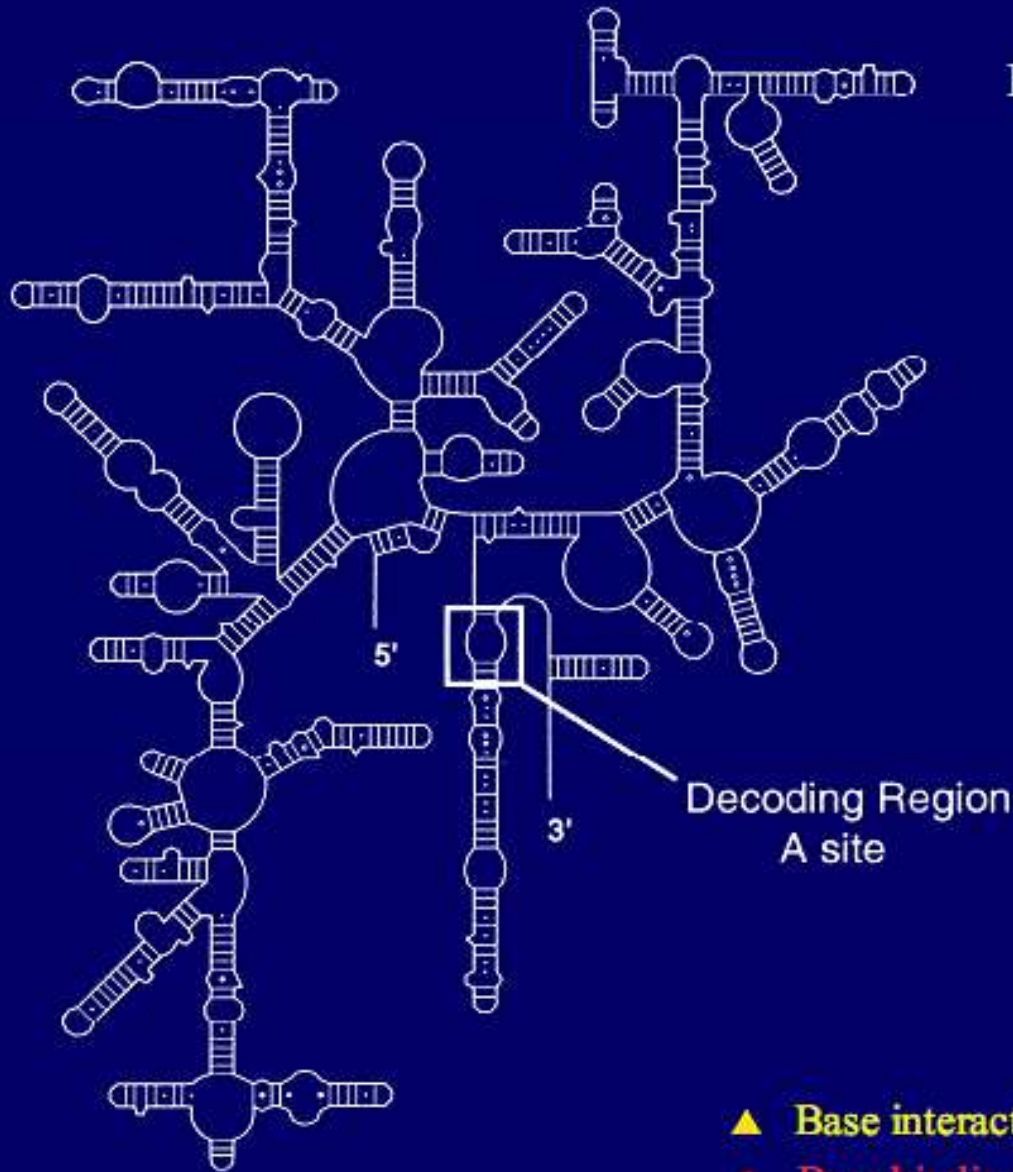


Résistance aux autres familles d'antibiotiques

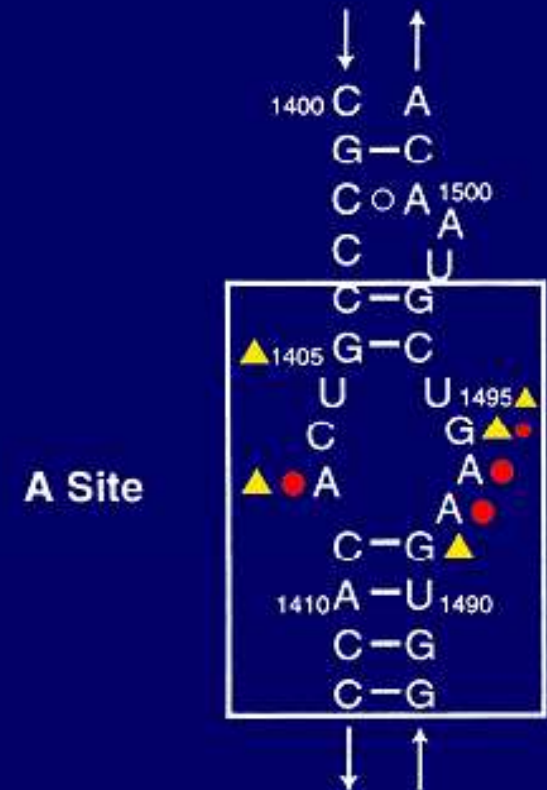
Dr. MAIRI A.

Résistance aux aminoglycosides

Interaction of aminoglycosides with 16S RNA



Eukaryotes: G1408 Prokaryotes: A1408



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

Altération du ribosome

- Mécanisme restreint du fait de l'existence de plusieurs copies de l'opéron ARNr.
- La résistance à la spectinomycine chez *Neisseria meningitidis* et *N. gonorrhoeae* due respectivement aux mutations G1064C et C1192U de l'ARNr 16S (3 copies) a été observée.
- Certaines mutations des protéines ribosomales sont responsables de la résistance à la spectinomycine et à la streptomycine. Les protéines S5 et S12 siègent au contact de l'ARNr et certaines mutations génèrent des changements conformationnels de l'ARN 16S qui affectent l'interaction avec les aminosides.
- Enfin, trois activités de méthylation de l'ARN 16S modifient le site A aux positions G1405, A1408 et C1407.
- La méthylation G1405 de l'ARN 16S a été récemment rapportée dont *armA*, et *rmtB*. Cette méthylation confère une résistance de haut niveau aux 4,6-2-DOS.

Altération de la cible (I)

Mutations

- Protéine ribosomale

Protéine S12 → Streptomycine

Protéine S5 → Spectinomycine

Protéine L6 → Gentamicine

- ARN ribosomal

A₅₂₃ → C

C₉₁₂ → U

C₁₁₉₂ → U

G₁₀₆₄ → C

A₁₄₀₈ → G

| Streptomycine

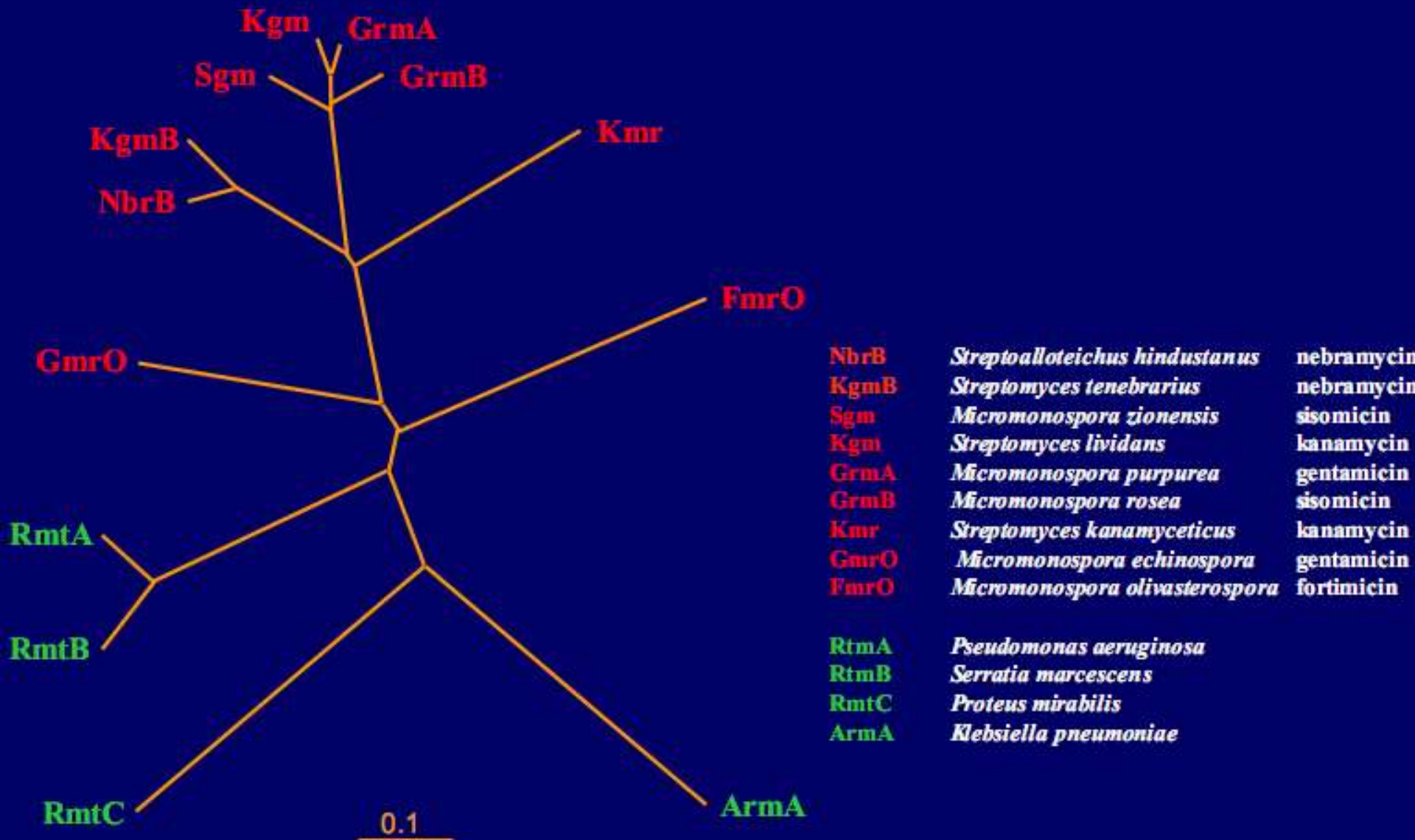
| Spectinomycine

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

Importance du nombre de copie de l'opéron rRNA

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

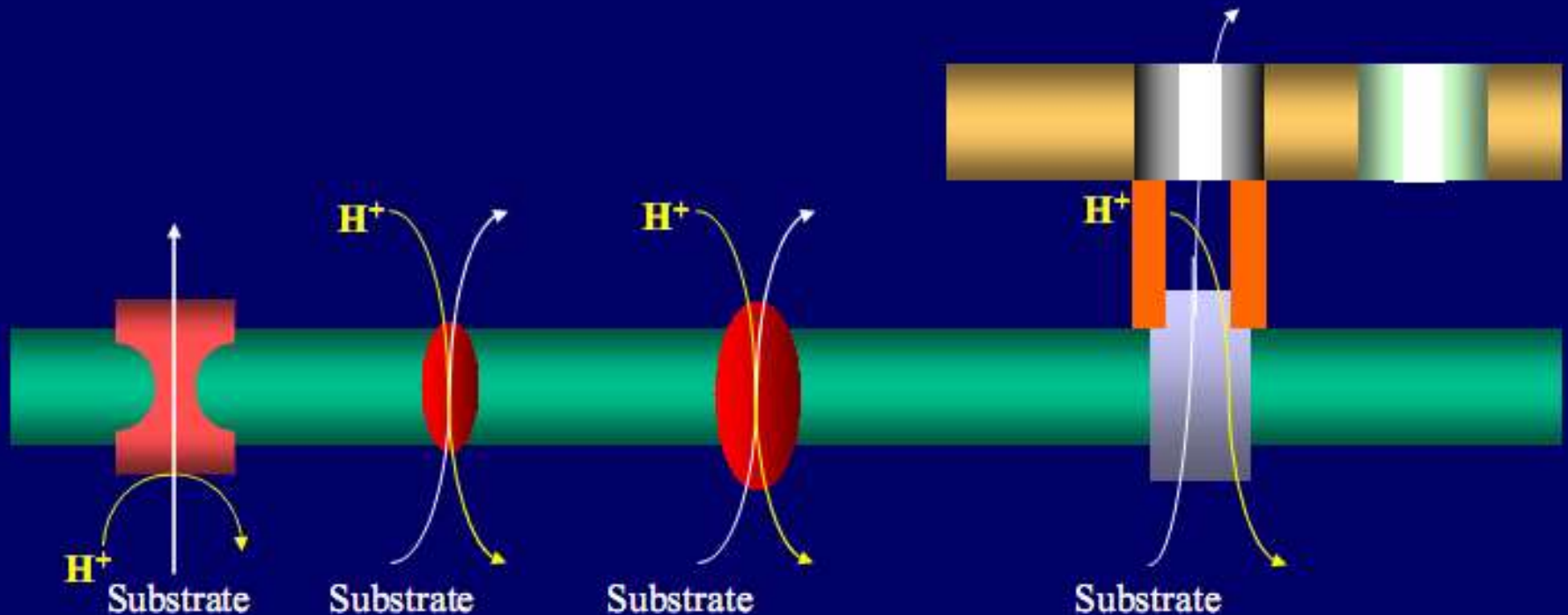
Phylogenetic relationship among 16S rRNA methyltransferases



Efflux

- *Burkholderia pseudomallei* AmrAB-OprA
- *Pseudomonas aeruginosa* MexXY-OprM
- *Escherichia coli* AcrD
- *Acinetobacter baumannii* AdeABC

Aminoglycoside efflux pumps



ABC

LmrA *L. lactis*

SMR

YkkC/D *E. coli*

MF, MATE

Tap *M. fortuitum*
MdfA *E. coli*

NorM *V. parahaemolyticus*
YdhE *E. coli*

RND

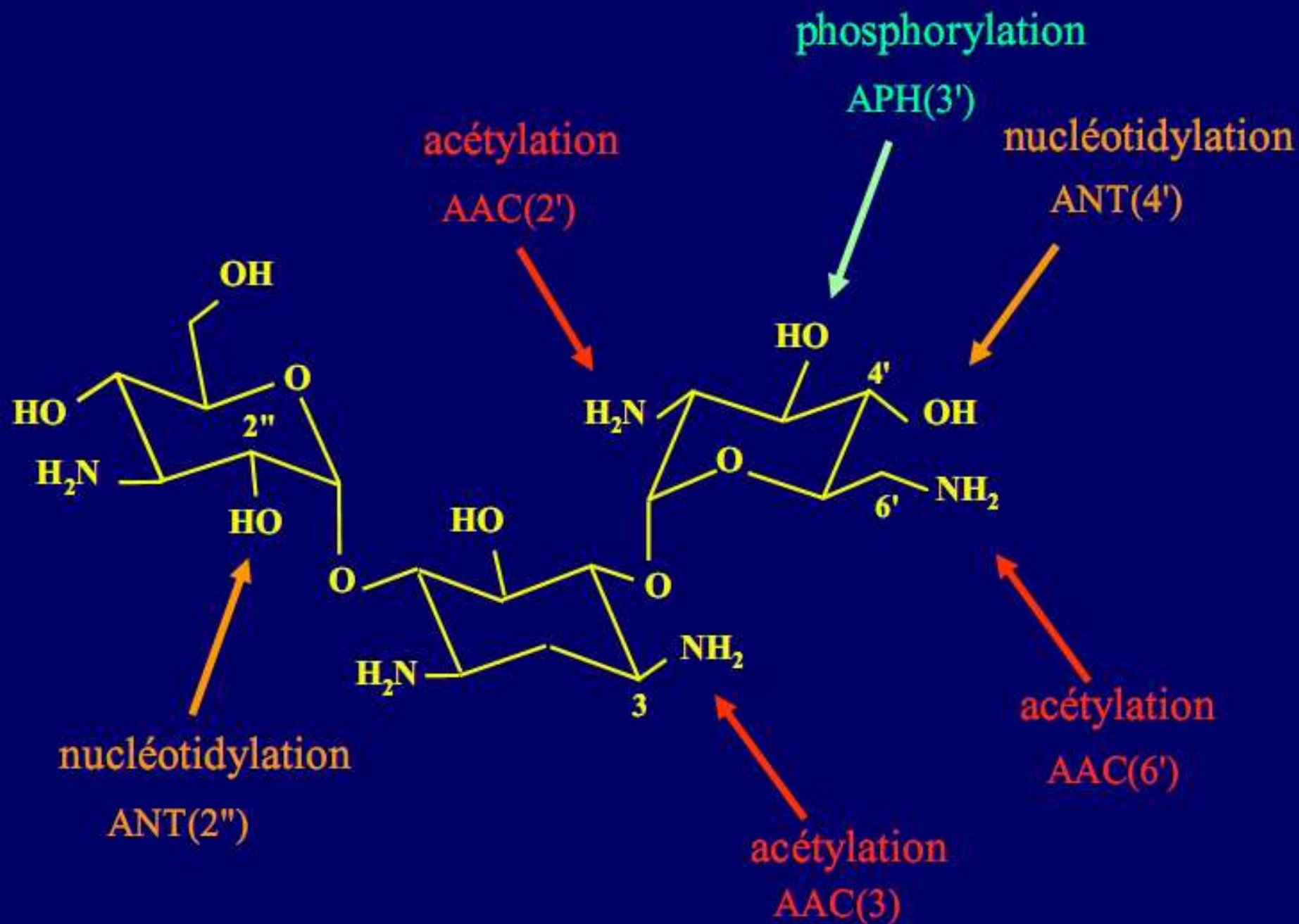
MexY *P. aeruginosa*
AmrA *B. pseudomallei*
AcrD *E. coli*

Impact du système AdeABC sur la résistance aux aminosides de *A. baumannii* (CMI en mg/L)

Aminoside	AdeABC	AdeABC surexprimé	AdeABC délété
Kanamycine	1	4	1
Amikacine	1	8	0.5
Gentamicine	0.5	8	0.25
Tobramycine	0.5	2	0.25
Nétlmicine	0.5	16	0.25

Modification enzymatique

- Il existe trois classes d'enzymes en fonction de la réaction catalysée : aminoside N-acétyltransférase (**AAC**), aminoside O-phosphotransférase (**APH**) et aminoside O-nucléotidyltransférase (**ANT**).
- Chacune de ces classes peut être divisée en sous-classes en fonction de la position du carbone qui porte le groupement aminé ou hydroxyle qui sera modifié (chiffre arabe).
- Au sein de certaines sous-classes, certaines enzymes peuvent différer par leur profil de substrat, ce qui se traduit par plusieurs formes isozymiques (chiffre romain).
- Chaque enzyme va reconnaître un certain nombre de substrats qu'elle modifie, ce qui va se traduire par un phénotype de résistance.



- Les enzymes sont constitutives et intracellulaires ; l'aminoside n'est modifié qu'après pénétration dans la cellule et cette modification empêche sa fixation sur le ribosome.
- Le niveau de résistance varie selon la classe d'enzymes : les APH confèrent un haut niveau de résistance par rapport aux AAC et ANT.
- Certaines enzymes n'ont été détectées que chez les cocci à Gram positif [APH(2'')],
- D'autres que chez les bacilles à Gram négatif [AAC(3), ANT(2'')]
- et certaines chez les deux types de bactéries comme [APH(3')], [AAC(6')]. Cependant ces dernières sont codées par des gènes différents et ne présentent pas le même profil de résistance. Ainsi, les **APH(3')I** et **II** chez les bacilles à Gram négatif modifient la KAN et la NEO, mais pas l'AMK, alors que **APH(3')III** présente chez les cocci à Gram positif modifie la KAN, NEO et également l'AMK.

Enzymes modificatrices des aminosides chez les cocci à Gram positif

Enzyme	Phénotype de résistance
ANT(6)-I	Sm
ANT(9)-I	Sp
APH(3')-III	KmNm(Ak-Is)
ANT(4')(4'')-I	KmTm(Nm,Ak,Is)
AAC(6')-APH(2'')	KmGmTm(Ak,Is,Nt)
AAC(6')	KmTm(Ak,Is,Nt)
APH(2'')	KmGmTm

Ak: amikacine, **Gm** : gentamicine, **Is** : isépamicine, **Km** : Kanamycine, **Nm** : Néomycine, **Nt** : nétilmicine, **Sm** : streptomycine, **Sp** : spectinomycine, **Tm** : tobramycine.

() : antibiotiques partiellement modifiés.

Résistance conférée par les enzymes modificatrices des aminosides chez les bacilles à Gram négatif

Enzyme	Kan	Tob	Ami	Gen	Net
APH(3')-I et II	R	S	S	S	S
APH(3')-VI	R	S	R	S	S
AAC(2')	S	S/R	S	S/R	S/R
AAC(3)-I	S	S	S	R	S
AAC(3)-II et IV	S/R	R	S	R	R
AAC(6')-I	R	R	S/R	S	R
AAC(6')-II	R	R	S	R	R
ANT(2'')	R	R	S	R	S
ANT(4')-II	S/R	R	S/R	S	S

Exemple : Profil de substrats des APH(3')

Aminoside	I	II	III	IV	V	VI	VII
Kanamycine	+	+	+	+		+	+
Néomycine	+	+	+	+	+	+	+
Butirosine	-	+	+	+	-	+	-
Lividomicine	+	-	+	-	-	-	-
Amikacine	-	-	(+)	(+)	-	+	+

Piégeage de l'aminoside

- APH(3')-I = hyperproduction $\Rightarrow$ résistance à la tobramycine chez *E. coli*
- AAC(6')-29b = hyperproduction $\Rightarrow$ résistance amikacine, sisomicine, tobramycine mais pas à la nétilmicine en absence de modification enzymatique

Résistance intrinsèque

Pseudomonas aeruginosa: kanamycine [APH(3')]

Providencia stuartii: tobramycine, gentamicine, nétilmicine [AAC(2 ')]

Serratia marcescens: tobramycine (CMI # 2 µg/ml), [AAC(6')-I]

<i>Acinetobacter haemolyticus</i>		tobramycine, amikacine, nétilmicine
-----------------------------------	--	-------------------------------------

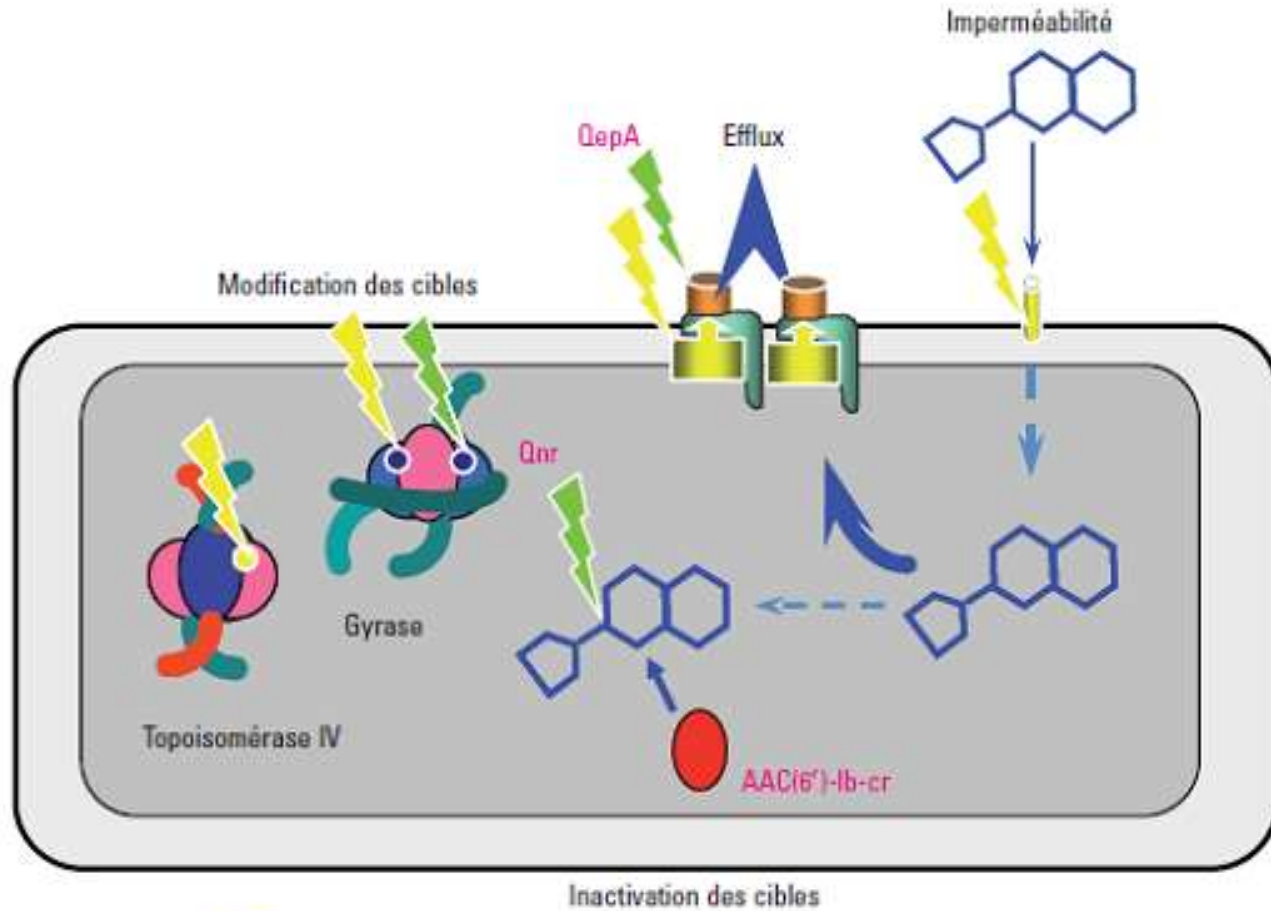
<i>Acinetobacter</i> sp. 6, sp. 13		[AA(6 ')-I]
------------------------------------	--	-------------

Burkholderia cepacia: (efflux, imperméabilité)

Stenotrophomonas maltophilia: (AAC(6 ')-I, efflux, imperméabilité)

Résistance aux quinolones

Mécanismes de résistance acquise aux FQ



- Les résistances chromosomiques sont les plus fréquentes
- Les résistances plasmidiques sont les plus récentes

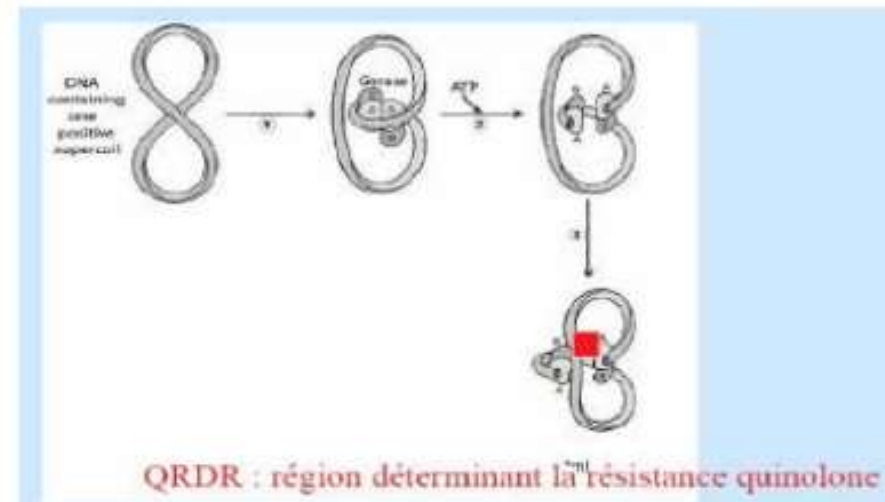
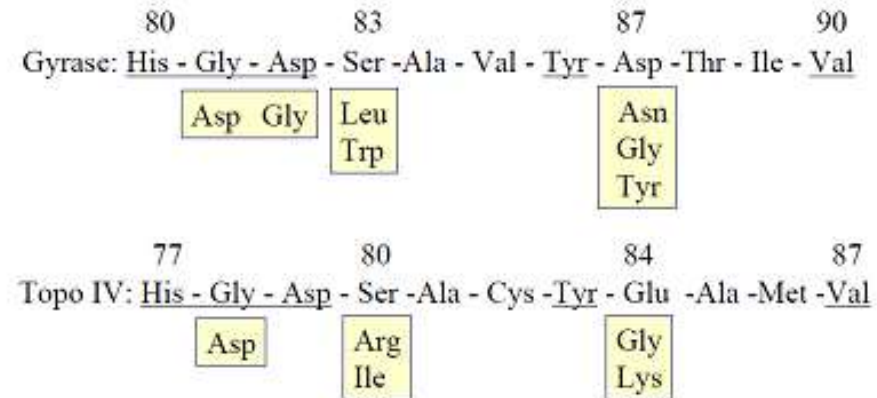
1- Résistance par modification de la cible

■ Principal mécanisme

■ Mutations sélectionnées en présence de quinolones avec une fréquence 10^{-8}

■ Mutations ↪ plus souvent sur ***gyrA* ou *parC***, plus rarement sur *gyrB* ou *parE*

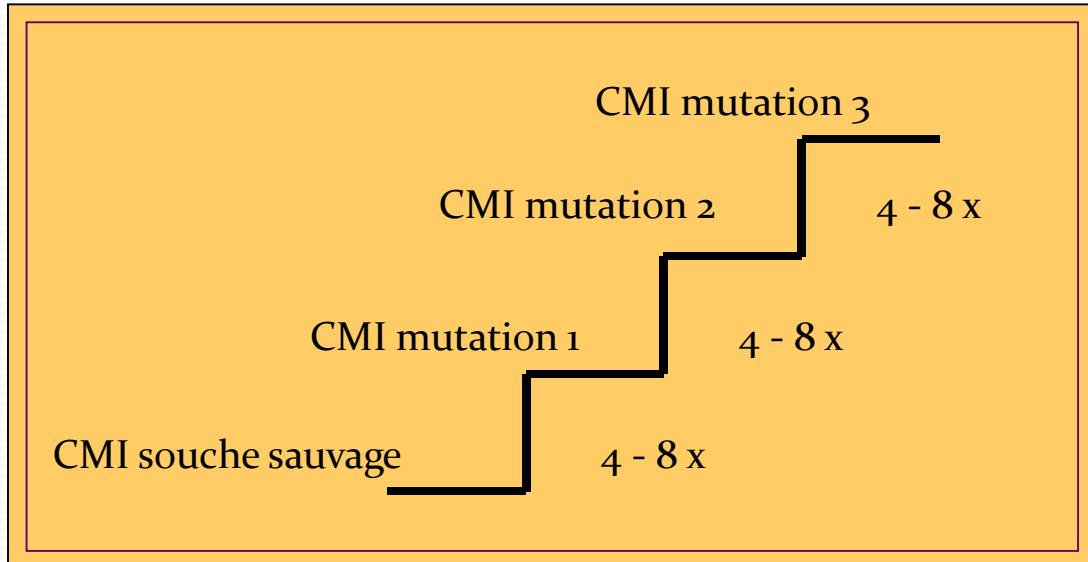
■ Région spécifique **QRDR**: site actif de l'enzyme



Chez *E. coli*:

- Mutations les plus fréquentes: 83 (Ser83Leu) et 87 (Asp87His) de GyrA
↪ HNR à NA et BNR aux FQ

Mécanismes de résistance acquise des quinolones

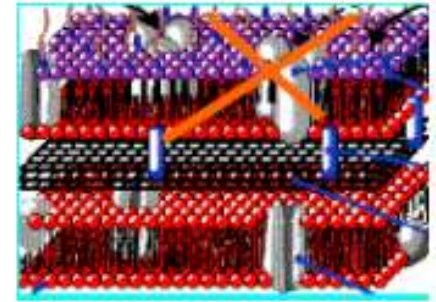


Évolution progressive des résistances, par mutations successives. Chaque marche représente une mutation spontanée qui multiplie par 4 à 8 fois la CMI : notion de « first step », « second step »...

2- Résistance par défaut d'accumulation

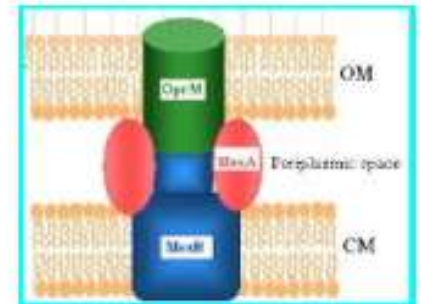
1- Diminution de perméabilité:

Mutation ↪ Porines / OmpF (modification quantitative et/ou qualitative)

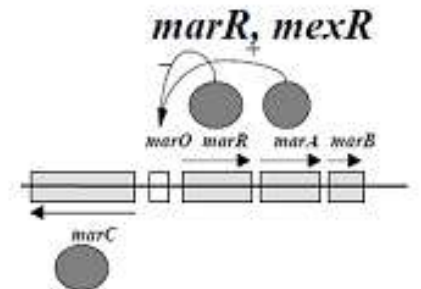


2- Efflux actif

- Mutations dans la région régulatrice
↪ Hyperactivité de ces systèmes



- ↪ Bas niveau de R
- ↪ R croisées à plusieurs molécules



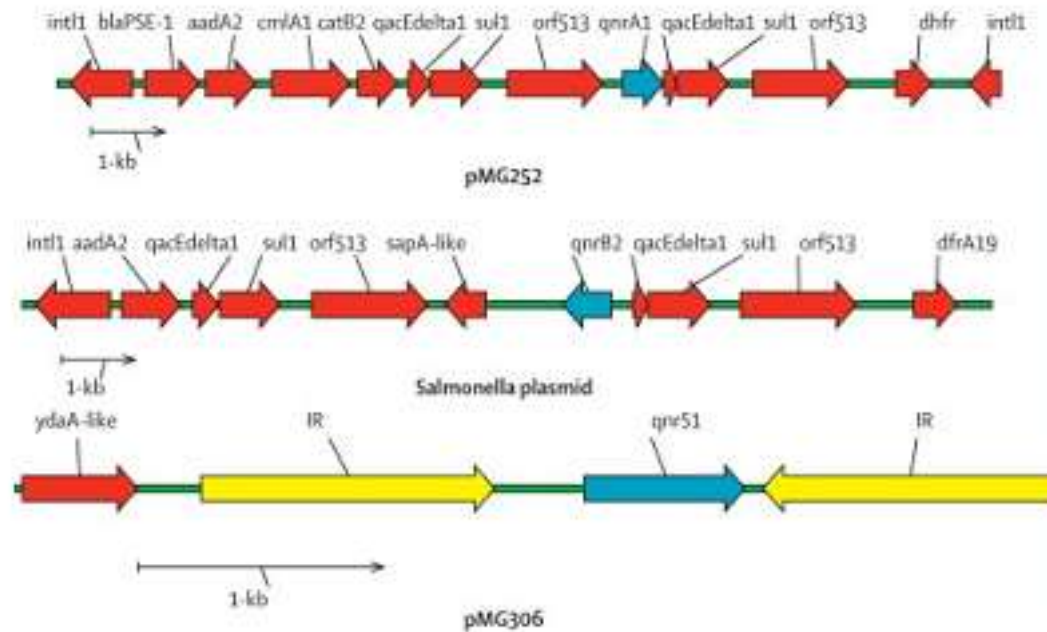
Mécanismes de résistance plasmidiques

- Plus récents
- Chez bacilles à Gram négatif
- Bas niveau de R ➡ Facilite la sélection des mutants R par FQ et augmente l'effet des mutations
- Transférable horizontalement entre bactéries

1- Protection de la cible (1998)

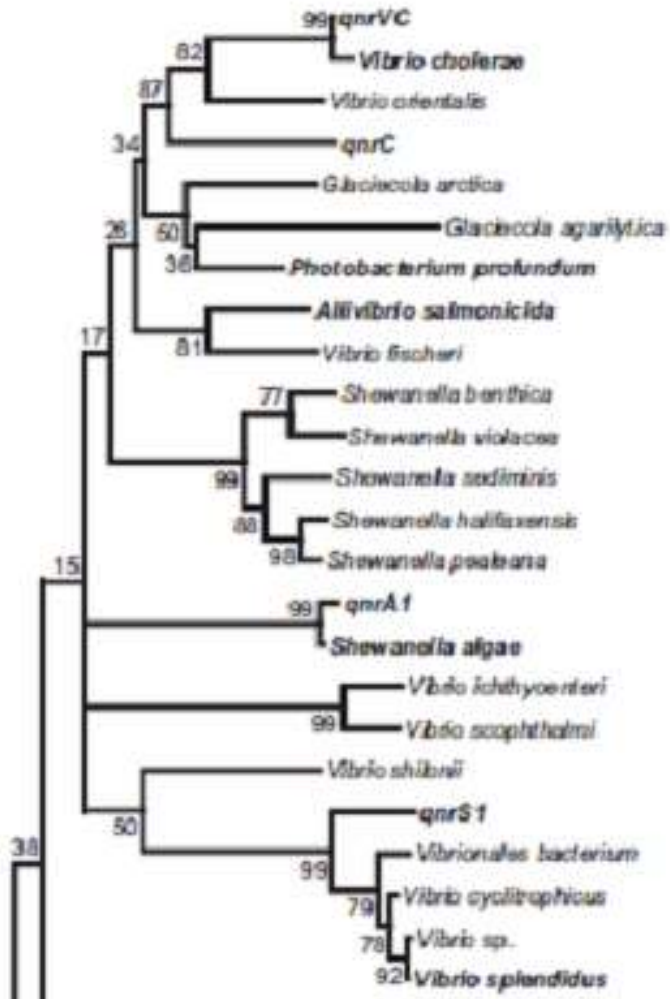
- ***qnrA1*** (quinolone resistance) : *K. pneumoniae* isolée en 1998 aux USA
- Depuis, nombreux autres gènes *qnr* décrits :
 - ***qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *qnrC* et *qnrD*** (chacun plusieurs allèles dont la description est consignée sur le site www.lahey.org)
- **Protéines Qnr**
 - Appartiennent à la famille des protéines à motifs pentapeptidiques répétés (PRP), protéines constituées de séries de répétition en tandem de 5 AA
 - ↳ Protègent les topoisomérases de l'action des Q

Support génétique: Plasmides transférables



qnr + d'autres marqueurs de R / BLSE : intégrons de type *sul1(orf513 / orf1*:
codant **recombinases** ➔ **Mobilisation +++**

Origine des *qnr*

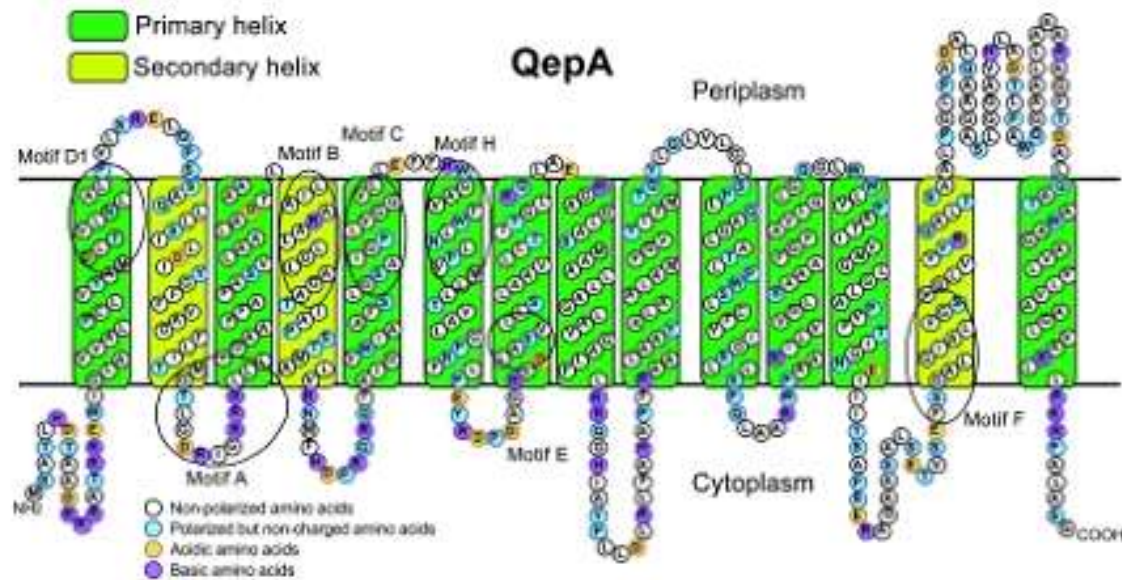


qnr auraient été mobilisés à partir de gènes ***qnr* chromosomiques** présents chez des bactéries de l'environnement hydrique/
Vibrionaceae* et *Shewanella algae

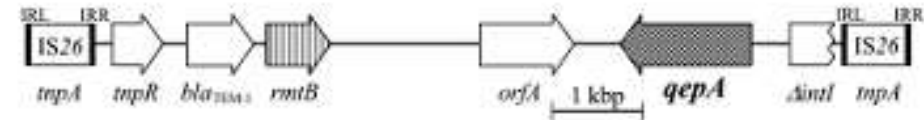
Gènes *qnr* chromosomiques
En 2008, chez *S. maltophilia* : *smqnr*
En 2010, chez *S. marcescens*: *smaqnr*

3- Pompes à efflux plasmidiques (2007)

- *qepA* codant QepA appartenant à la famille MFS (Major Facilitator Superfamily)

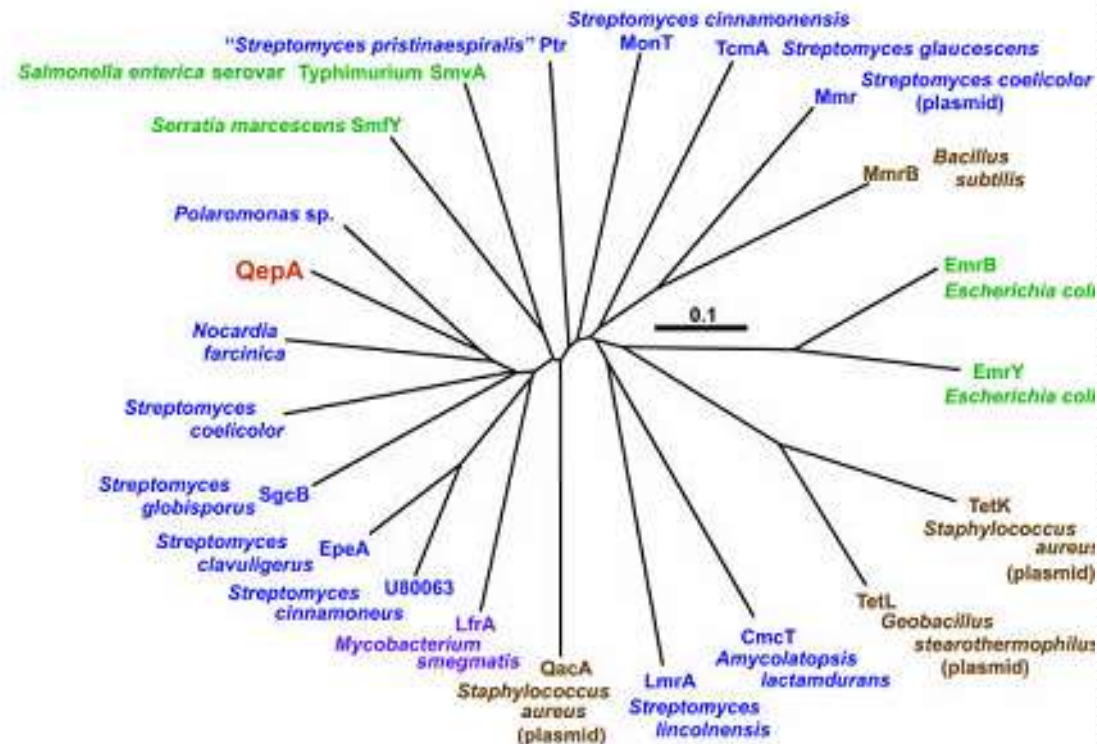


- Association à méthylase RmtB



3- Pompes à efflux plasmidiques (2007)

- Origine : Actinomycètes



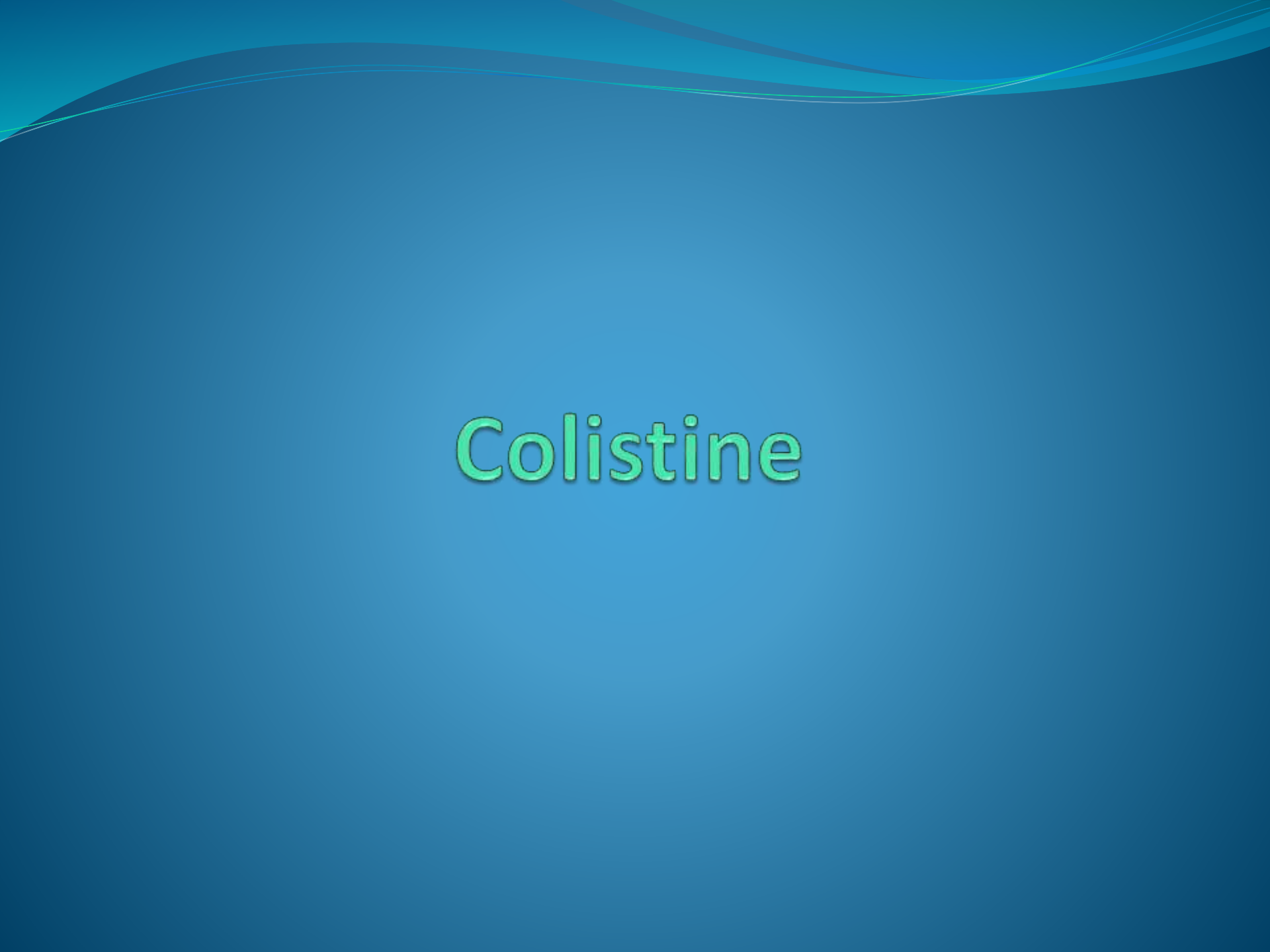
- ✚ R aux FQ hydrophiles : norfloxacin et ciprofloxacine
- ✚ Augmentation des CMI 10 - 23 x

3- Pompes à efflux plasmidiques (2007)

- **OqxAB** de la famille des RND (Resistance Nodulation Cell Division)
- Codée par *oqxA* & *oqxB*
- ↪ R aux quinoxalines croisée à de nombreux agents incluant cotrimoxazole, chloramphénicol et FQ
- Initialement, souches *E. coli* d'origine porcine (Danemark et Suède)

3- Pompes à efflux plasmidiques (2007)

- En 2009, Corée du Sud, 1^{ière} souches humaines:
 - *E. coli* (n=1), *E. cloacae* (n=3) et *K. pneumoniae* (n=100)
 - Plasmide conjugatif (pOLA52) chez *E. coli* et *E. cloacae*
 - Support chromosomique chez *K pneumoniae*
 - ↳ ***K. pneumoniae* réservoir !!!**
- **2012, Chine** (5,2% d'*E. coli* humaines)
- **En Tunisie (2010):** sur 40 *K. pneumoniae* BLSE: 26 ↳ *oqxAB*



Colistine

Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study



Yi-Yun Liu*, Yang Wang*, Timothy R Walsh, Ling-Xian Yi, Rong Zhang, James Spencer, Yohei Doi, Guobao Tian, Baolei Dong, Xianhui Huang, Lin-Feng Yu, Danxia Gu, Hongwei Ren, Xiaojie Chen, Luchao Lv, Dandan He, Hongwei Zhou, Zisen Liang, Jian-Hua Liu, Jianzhong Shen

Summary

Background Until now, polymyxin resistance has involved chromosomal mutations but has never been reported via horizontal gene transfer. During a routine surveillance project on antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli* from food animals in China, a major increase of colistin resistance was observed. When an *E coli* strain, SHP45, possessing colistin resistance that could be transferred to another strain, was isolated from a pig, we conducted further analysis of possible plasmid-mediated polymyxin resistance. Herein, we report the emergence of the first plasmid-mediated polymyxin resistance mechanism, MCR-1, in Enterobacteriaceae.

Methods The *mcr-1* gene in *E coli* strain SHP45 was identified by whole plasmid sequencing and subcloning. MCR-1 mechanistic studies were done with sequence comparisons, homology modelling, and electrospray ionisation mass spectrometry. The prevalence of *mcr-1* was investigated in *E coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains collected from five provinces between April, 2011, and November, 2014. The ability of MCR-1 to confer polymyxin resistance in vivo was examined in a murine thigh model.

Findings Polymyxin resistance was shown to be singularly due to the plasmid-mediated *mcr-1* gene. The plasmid carrying *mcr-1* was mobilised to an *E coli* recipient at a frequency of 10^{-1} to 10^{-3} cells per recipient cell by conjugation, and maintained in *K pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*. In an in-vivo model, production of MCR-1 negated the efficacy of colistin. MCR-1 is a member of the phosphoethanolamine transferase enzyme family, with expression in *E coli* resulting in the addition of phosphoethanolamine to lipid A. We observed *mcr-1* carriage in *E coli* isolates collected from 78 (15%) of 523 samples of raw meat and 166 (21%) of 804 animals during 2011–14, and 16 (1%) of 1322 samples from inpatients with infection.

Interpretation The emergence of MCR-1 heralds the breach of the last group of antibiotics, polymyxins, by plasmid-mediated resistance. Although currently confined to China, MCR-1 is likely to emulate other global resistance mechanisms such as NDM-1. Our findings emphasise the urgent need for coordinated global action in the fight against pan-drug-resistant Gram-negative bacteria.

Lancet Infect Dis 2015

Published Online

November 18, 2015

[http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00424-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00424-7)

See Online/Articles

[http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00463-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00463-6)

*Contributed equally

College of Veterinary Medicine, National Risk Assessment Laboratory for Antimicrobial Resistance of Microorganisms in Animals, South China Agricultural University, Guangzhou, China (Y-Y Liu BS, L-X Yi BS, X Huang PhD, L-F Yu BS, X Chen MS, L Lv MS, D He MS, Prof Z Liang MS, Prof J-H Liu PhD); Beijing Advanced Innovation Center for Food Nutrition and Human Health, College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing, China (Y Wang PhD, B Dong BS, H Ren BS, Prof J Shen PhD); Department of Medical Microbiology and Infectious Disease, Institute of Infection

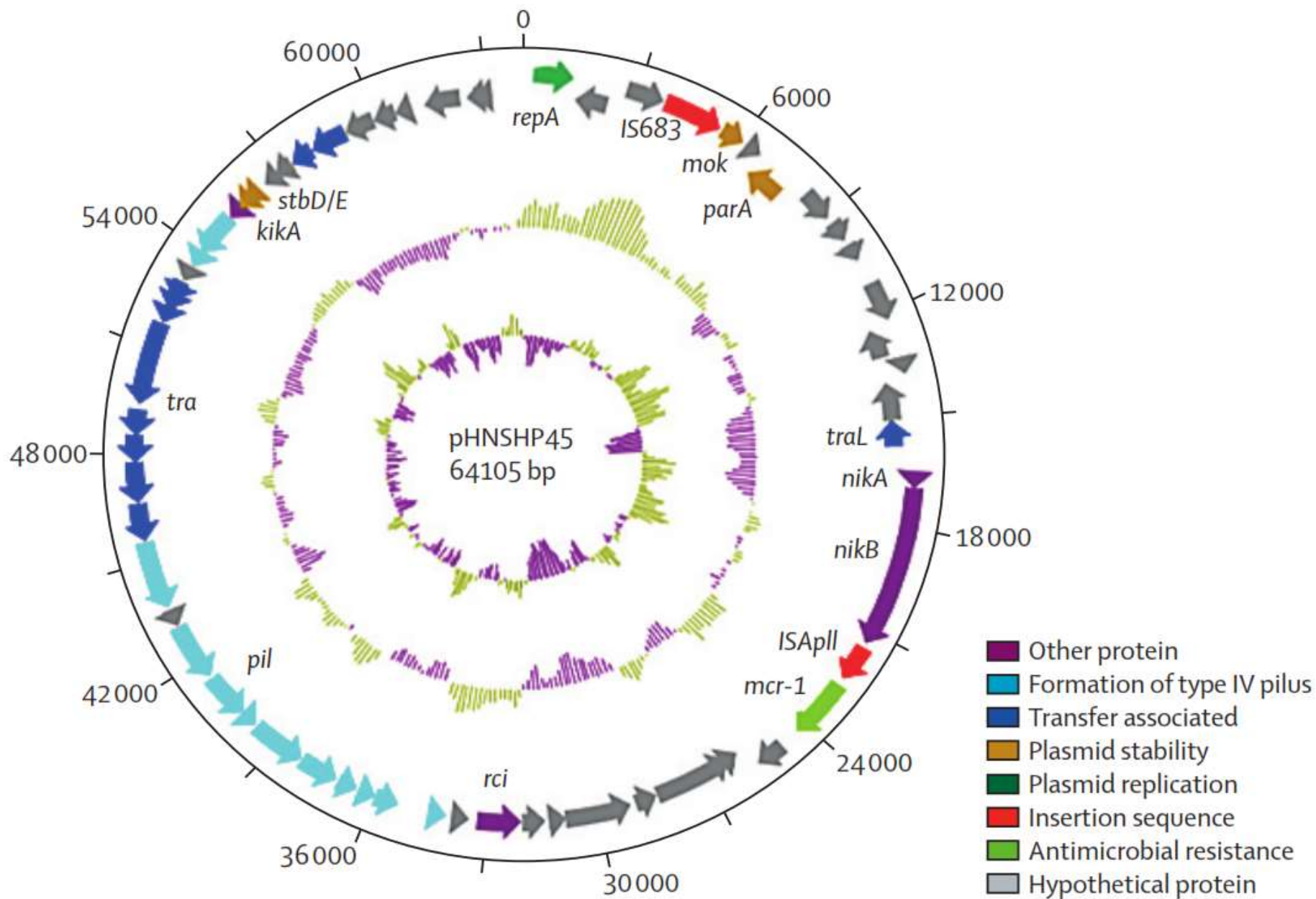


Figure 2: Structure of plasmid pHNSHP45 carrying *mcr-1* from *Escherichia coli* strain SHP45

- La protéine MCR-1 fait partie de la famille des phosphoéthanolamine transférase dont l'expression chez *E. coli* et *K. pneumoniae* aboutit à l'addition de pEtN sur le lipide A et donc à une diminution de sensibilité aux polymyxines.
- Gènes *mcr-1*, -2, -3, -4*plusieurs variants*