

La résistance par efflux

Jacques Croizé

MCU-PH

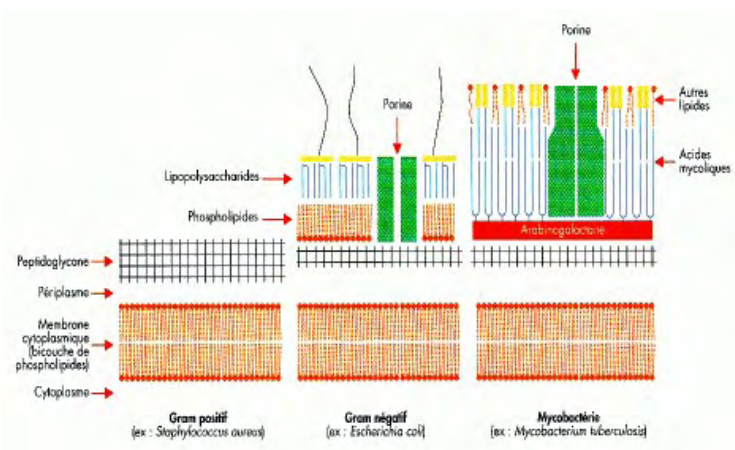
UFR Médecine - CHU - Grenoble

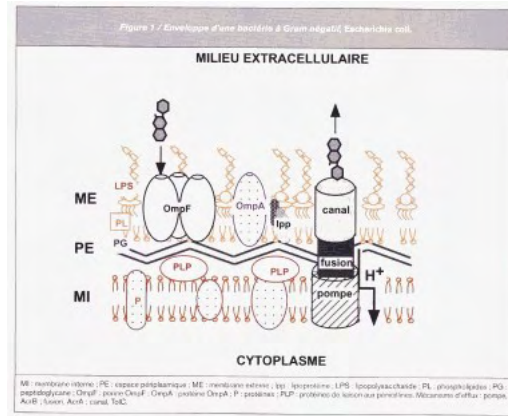
DESC Infectiologie 10 octobre 2005

42. McMurry LM, Petrucci RE, Jr, Levy SB. Active efflux of tetracycline encoded by four genetically different tetracycline resistance determinants in *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; **77**: 3974-7.

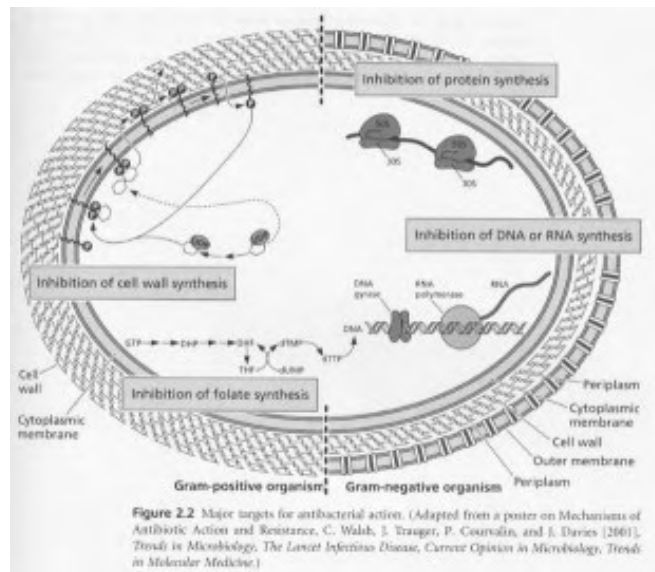
43. Ball PR, Shales SW, Chopra I. Plasmid-mediated tetracycline resistance in *Escherichia coli* involves increased efflux of the antibiotic. *Biochem Biophys Res Commun* 1980; **93**: 74-81.

Structure d'une bactérie





Mode d'action des antibiotiques



Mécanismes de résistance

Mécanismes de résistance

- Inactivation ou modification de l'antibiotique (B lactamines et aminosides)
- Altération de la cible (macrolides)
- Accumulation diminuée
 - Diminution de la perméabilité
 - Efflux augmenté
- Souvent mécanismes complexes , mixtes

Mécanismes d'efflux actif et résistance par efflux actif

Système d'efflux

- Définition : ce sont des mécanismes de transport membranaire universellement répandus chez des organismes vivants; ils ont un rôle clé dans la physiologie bactérienne
- Rôle : préserver l'équilibre physico-chimique du milieu intracellulaire en s'opposant à l'accumulation de substances naturelles ou synthétiques toxiques : transport de substances nutritives et export de substances toxiques.
- Différenciation des pompes à efflux par :
 - Spécificité ou non des molécules exportées
 - Structure : une à trois protéines
 - Type d'énergie nécessaire : ATP ou force proton-motrice
 - Mode expression : inductible ou constitutif

Répartition dans le monde vivant

- Chez les eucaryotes ou les procaryotes
- Cellules eucaryotes, *Candida albicans* et *Aspergillus* ont des ABC transporteurs :
 - la résistance à la chloroquine dans le cadre du paludisme
 - La résistance aux médicaments anticancéreux chez l'homme sont dus à des ABC transporteurs
- Chez les bactéries Pompes RND et SMR
 - Pompe RND que chez les Gram négatif
 - MFS et ABC les plus répandus chez les Gram positif

Structure des systèmes d'efflux actif

- Protéine localisée dans l'épaisseur de la membrane cytoplasmique assurant la reconnaissance, le fixation et le transport de substrats proches par leur structure
- La pompe comporte 4, 12 ou 14 segments peptidiques hydrophobes transmembranaires reliés entre eux par des boucles hydrophiles extramembranaires. La comparaison des séquences en acides aminés à permis de les en cinq grandes familles.
- Elles sont des substrats spécifiques ou sont à spectre large (multidrug : MD)
- Les pompes MD sont conservées et sont codées par le chromosome; les pompes spécifiques sont codées par des plasmides (Tn ou intégron)

Rôle des systèmes d'efflux actif dans la résistance aux antibiotiques ou aux biocides

- Pompe localisée dans la membrane cytoplasmique va empêcher l'antibiotique ou le biocide d'atteindre sa cible en effectuant son efflux actif hors de la bactérie
- Les antibiotiques qui ne pourront atteindre la cible intracytoplasmique seront plus touchés que ceux agissant sur des cibles à la surface de la bactérie (B lactamines, glyco et lipopeptides sont moins touchés)

Les cinq grandes familles des systèmes d'efflux actif

- ABC : ATP binding cassette transporter:
 - 12 domaines transmembranaires et un domaine de fixation de ATP
- RND : resistance / nodulation / cell division : Gram négatif; trois composants :
 - protéine de transport dans la membrane cytoplasmique
 - Protéine dans le périplasme formant un canal reliant les deux membranes
 - Protéine dans la membrane externe type porine expulsant le substrat

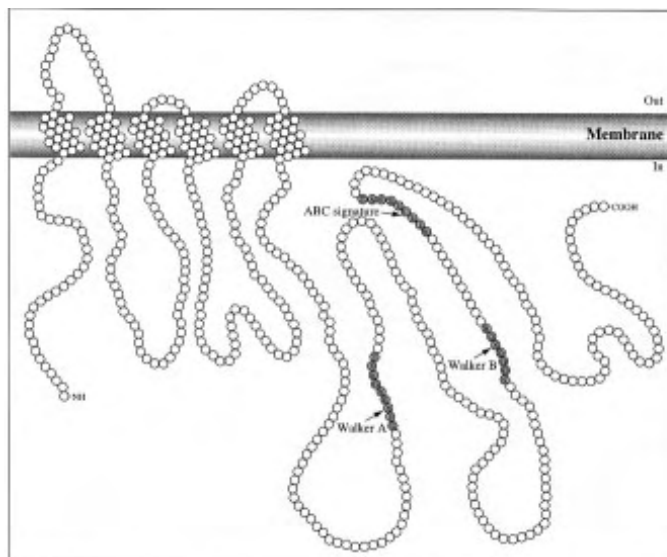


Figure 2. Structure typique d'un monomère de pompe de la famille ABC transporteur (*ATP binding cassette*) comportant 6 domaines transmembranaires (d'après Putnan *et al.* [50]). Les cercles représentent les acides aminés. Les motifs de Walker A et B et la séquence signature des ABC transporteurs sont indiqués en gris.

Les cinq grandes familles des systèmes d'efflux actif

- MFS ou MF: major facilitator superfamily
 - avec 12 ou 14 domaines transmembranaires
- SMR : small multidrugresistance
 - avec 4 domaines transmembranaires
- MATE : multidrug and toxic exclusion

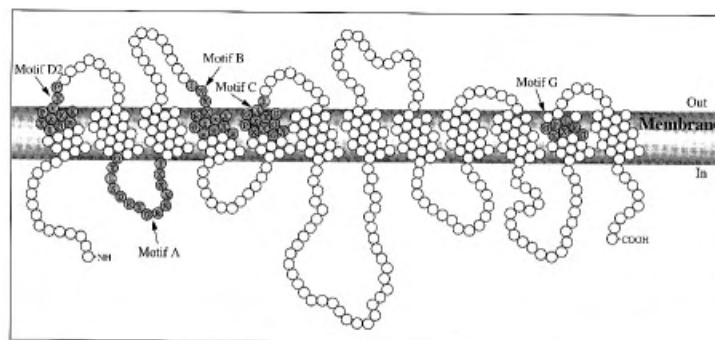


Figure 1. Structure typique d'une pompe de la famille MFS (*major facilitator superfamily*) comportant 12 domaines transmembranaires (d'après Putman *et al.* [50]). Les cercles représentent les acides aminés. Les motifs conservés sont indiqués en grisé.

Schéma général

Les systèmes d'efflux actif selon la structure bactérienne Gram positif ou négatif

- Gram négatif : deux membranes cytoplasmique et externe:
 - soit un seul élément au niveau de la membrane cytoplasmique: accumulation dans l'espace périplasmique
 - soit systèmes complexes à 3 éléments permettant de rejeter directement les produits dans le milieu extérieur

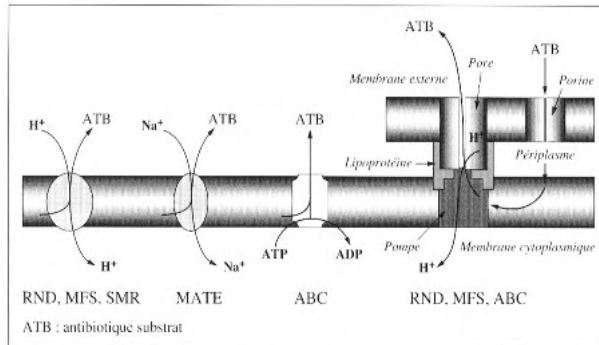


Figure 1. Structure des systèmes d'efflux actif.

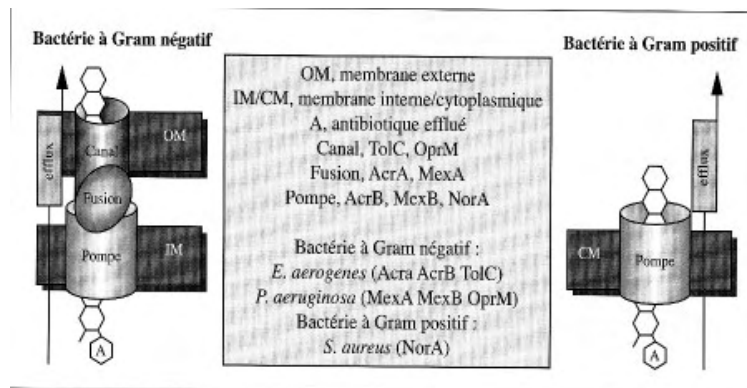


Figure 1. Présentation de quelques pompes d'efflux bactériennes. Les systèmes concernent les pompes AcrAB-TolC, MexAB-OprM et NorA de *E. aerogenes*, *P. aeruginosa* et *S. aureus*.

Schéma chez les Gram positif

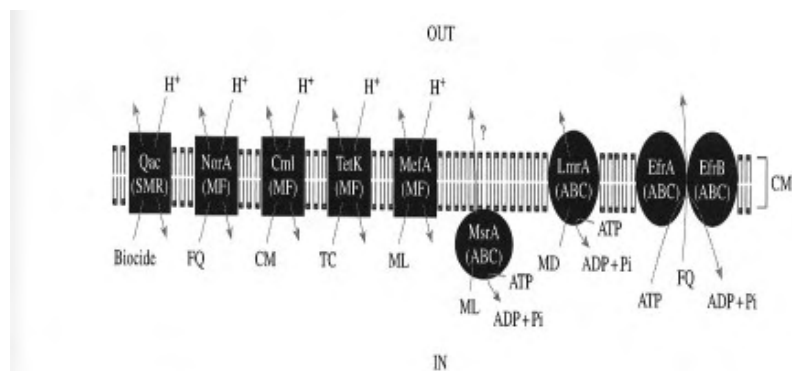


Figure 1. Schematic diagram of representative drug exporting systems in Gram-positive bacteria, highlighting the different families of pumps involved in resistance. FQ, fluoroquinolone; CM, chloramphenicol; TC, tetracycline; ML, macrolides; MD, multidrug. While NorA is, strictly speaking, a multidrug transporter, it exports only FQs (and biocides) as clinically relevant agents and so it is highlighted here as an MF family efflux determinant of FQ resistance.

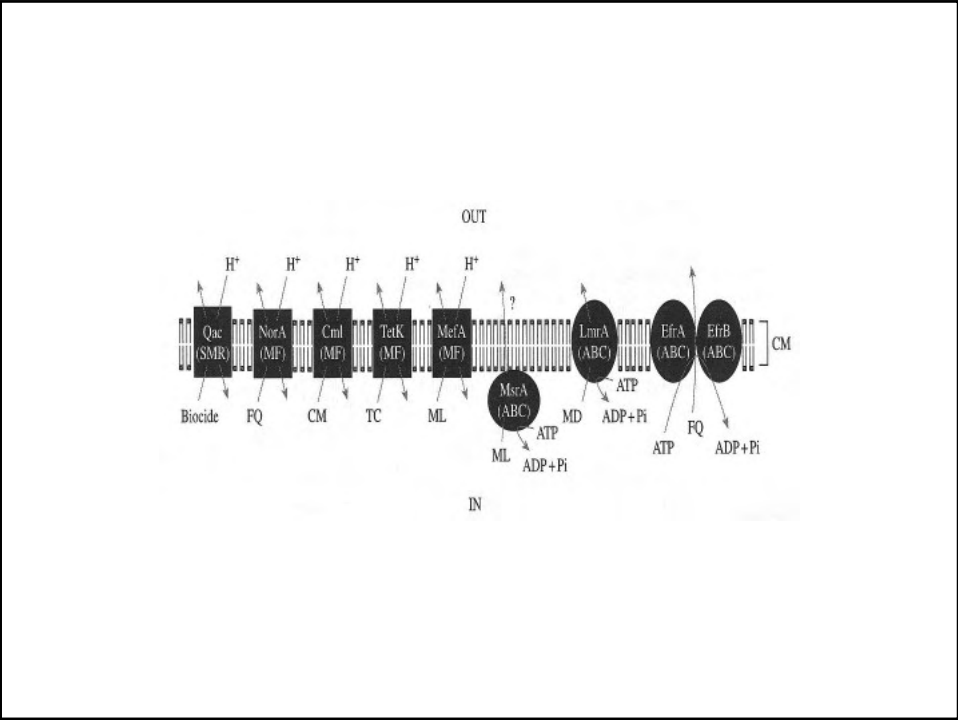


Schéma chez les Gram négatif

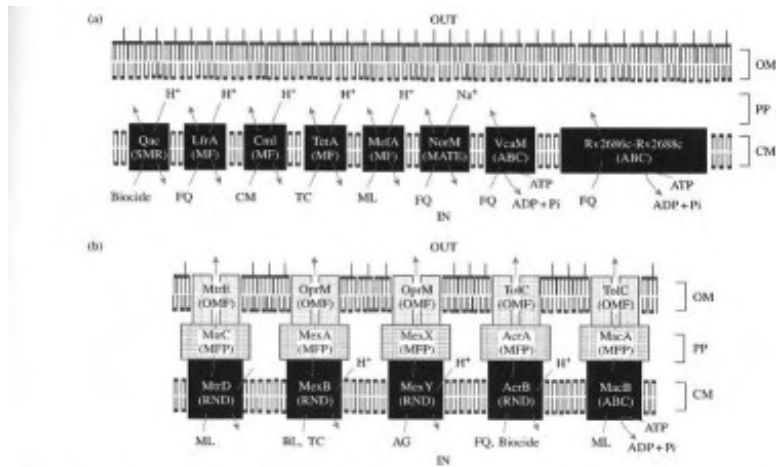
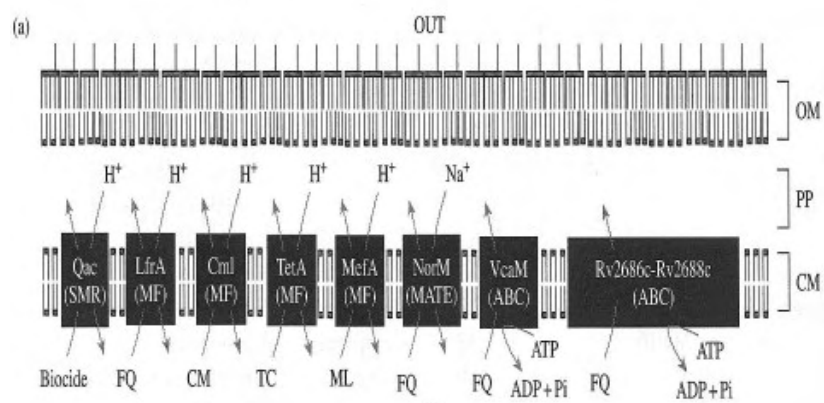
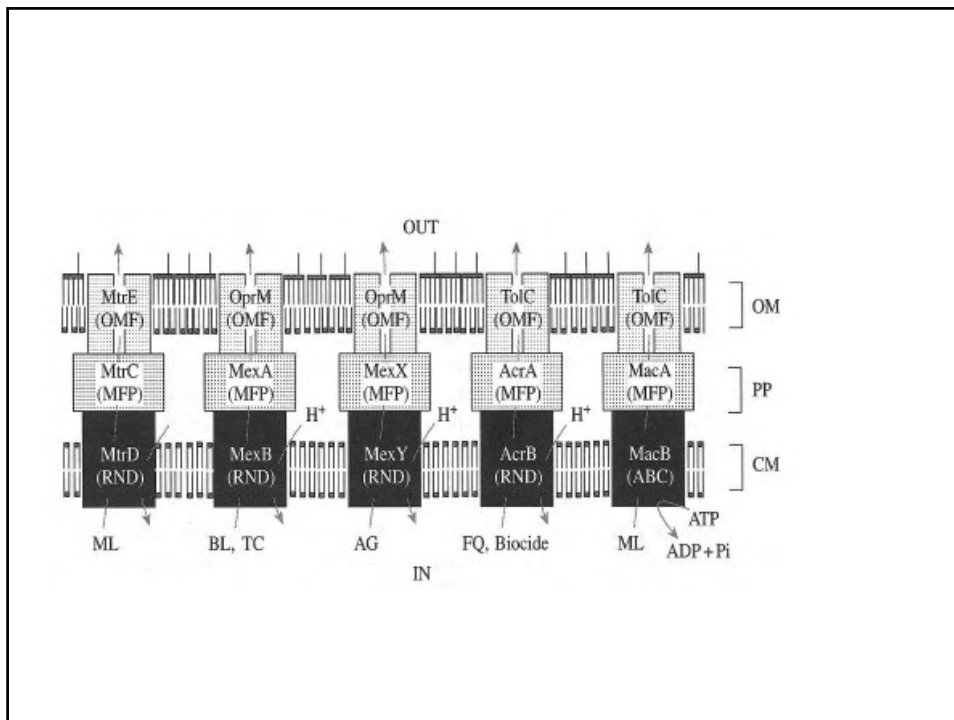


Figure 2. Schematic diagram of representative drug exporting systems in Gram-negative bacteria, highlighting the different families of pumps involved in resistance. (a) Pumps localized solely to the cytoplasmic membrane; (b) Pumps that span the cell envelope. FQ, fluoroquinolone; CM, chloramphenicol; TC, tetracycline; ML, macrolides; BL, β -lactams. While many of the indicated efflux system are actually multidrug exporters, they are highlighted here for their contribution to resistance to specific agents because their expression in mutants is reportedly selected by those agents. They have been shown to contribute to meaningful resistance to the indicated agent in clinical isolates or the indicated agent is the only clinically-relevant antimicrobial exported by the efflux system.





Résistance par efflux chez les bactéries à Gram négatif

Les systèmes d'efflux actif chez les Gram négatif

- Souvent de types RND
- Codés par gènes chromosomiques ++ avec systèmes régulateurs complexes permettant l'adaptation de la bactérie
- Peuvent aussi être codés par
 - plasmide ou transposon: Tet
 - Intégron : MFS polyrésistance chez STM DT 104

Résistance naturelle chez les Gram négatif

- Ensemble de mécanismes de résistance
 - Modification ou hydrolyse de l'antibiotique
 - Faible affinité de l'antibiotique sur sa cible
 - Imperméabilité ou efflux actif
- La résistance naturelle par efflux est importante chez les Gram négatif
- La preuve de la résistance par efflux est apporté
 - par des expériences d'inactivation de gènes rendant les bactéries plus sensibles avec des CMI 2 à 16 fois inférieures aux souches sauvages
 - Par l'utilisation d'inhibiteurs de l'énergie membranaire : réserpine, CCCP

Résistance acquise chez les Gram négatif

- Acquisition de gènes étrangers : tet, cmlA, flo, qac
 - Modification ou hydrolyse de l'antibiotique
 - Faible affinité de l'antibiotique sur sa cible
 - Imperméabilité ou efflux actif
- Surproduction d'un système existant, par mutation
 - CMI augmentées modérément : de 4 à 8 fois
 - Exemples E. coli et Gonocoque AcrAB-TolC et MtrCDE : résistance bas niveau Tét, Macro et CMP et sensibilité conservée de FQ et BL
 - Exemple Pyo : suexpression de MexAB-OprM : résistance à Tic et Azt et certaines FQ

Tableau I. Systèmes d'efflux des bactéries Gram négatives.

| Espèce | Système | Famille ^a | RN ^b | RA ^c | Antibiotiques substrats | Réf. |
|------------------------------------|------------|----------------------|-----------------|-----------------|--|----------|
| <i>Acinetobacter baumannii</i> | AdeABC | RND | ? | oui | FQ, Tet, Cmp, Ery, BL, Tmp... | [45] |
| <i>Bacteroides thetaiotomicron</i> | BexA | MATE | oui | ? | FQ | [49] |
| <i>Brucella melitensis</i> | NorMI | MATE | ? | ? | FQ, AG... | [6] |
| <i>Burkholderia cepacia</i> | MexAB-OprM | RND | ? | ? | FQ, Cmp, Tmp... | [8] |
| | BcrA | MFS | ? | ? | Nal, Tet... | [93] |
| <i>Campylobacter jejuni</i> | CmeABC | RND | oui | ? | FQ, Tet, Cmp, Ery, BL, Rif... | [37, 71] |
| <i>Enterobacter aerogenes</i> | AcrAB-TolC | RND | oui | oui | FQ, Tet, Cmp, Novo... | [70] |
| <i>Escherichia coli</i> | AcrAB-TolC | RND | oui | oui | FQ, Nal, Tet, Cmp, Ery, BL, Rif, Fus, Novo, Tmp... | [43, 44] |
| | AcrEF | RND | non | ? | Tet, Ery, BL, Rif, Fus, Novo, Vanco... | [43] |
| | AcrD | RND | oui | ? | AG, Novo | [59, 77] |
| | MdfA | MFS | non | ? | FQ, Tet, Cmp, Ery, Rif, Fus, AG, Tmp... | [13, 14] |
| | EmrAB-TolC | MFS | ? | ? | Nal | [40] |
| | YhiUV-TolC | RND | non | ? | Ery | [60] |
| | MacAB-TolC | ABC | non | ? | Ery | [26, 87] |
| YdhE | MATE | ? | ? | FQ, Tmp... | [51, 59] | |

| | | | | | | |
|-------------------------------------|------------|------|-----|------------|-------------------------------------|--------------|
| <i>Haemophilus influenzae</i> | AcrAB-like | RND | oui | ? | Ery, Rif, Novo... | [81] |
| <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | MtrCDE | RND | oui | oui | Tet, Ery, BL, Rif... | [21] |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | MexAB-OprM | RND | oui | oui | FQ, Nal, Tet, Cmp, BL, Novo, Tmp... | [27, 36] |
| | MexCD-OprJ | RND | non | oui | FQ, Tet, Cmp, Ery, BL... | [69, 85] |
| | MexEF-OprN | RND | non | oui | FQ, Cmp, Tmp | [28] |
| | MexJK-OprM | RND | non | oui | Tet, Ery | [10] |
| | MexXY-OprM | RND | oui | oui | FQ, Tet, Ery, BL, AG... | [73, 92] |
| <i>Salmonella typhimurium</i> | AcrAB | RND | oui | oui | FQ, Tet, Cmp, BL lipophiles... | [19, 57, 67] |
| <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> | SmeABC | RND | ? | oui (SmeC) | FQ, AG... | [33] |
| | SmeDEF | RND | oui | oui | FQ, Nal, Tet, Cmp, Ery... | [1, 97] |
| <i>Vibrio cholerae</i> | VeeAB | MFS | oui | ? | Nal | [12] |
| <i>Vibrio parahaemolyticus</i> | NorM | MATE | oui | ? | FQ, AG... | [51] |

^a La famille du transporteur.

^b Implication du système dans la résistance naturelle (RN).

^c Démonstration de mutants d'efflux résistants surexprimant le système.

FQ (fluoroquinolones), Nal (acide nalidixique), Tet (tétracycline), Cmp (chloramphénicol), Ery (érythromycine), BL (β-lactamines sauf imipénème), Rif (rifampicine), Fus (acide fusidique), Novo (novoblocine), Tmp (triméthoprime), AG (aminoglycosides) (autres divers).

Tableau I. Effet du système d'efflux sur la sensibilité à la norfloxacine et au chloramphénicol chez *E. aerogenes*, *P. aeruginosa* et *S. aureus*.

| Bactéries | Sensibilité (CMI, µg/ml) | | | |
|----------------------|--------------------------|-----------------|--------------|-----------------|
| | Souche sensible | | Efflux actif | |
| | norfloxacine | chloramphénicol | norfloxacine | chloramphénicol |
| <i>E. aerogenes</i> | 0,5 | 4 | 16 | 64 |
| <i>P. aeruginosa</i> | 0,5 | 4 | 4 | 32 |
| <i>S. aureus</i> | 1 | nd | 64 | nd |

Cas particulier du *P. aeruginosa*

Caractéristiques

- Résistance naturelle ou acquise à de nombreux antibiotiques en raison de l'imperméabilité de sa membrane externe et de l'action de pompes à efflux à large spectre.
- 5 systèmes caractérisés : MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN, MexJK-OprM, MexXY-OprM
- En cas de surexpression, expulsion de composés toxiques et des auto-inducteurs impliqués dans la régulation de virulence par quorum sensing pouvant expliquer la perte de virulence

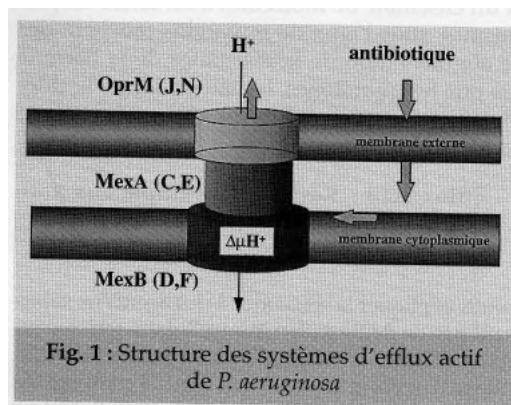


Tableau I. Antibiotiques exportés par les systèmes d'efflux chez *P. aeruginosa*.

| Système d'efflux | Antibiotiques exportés |
|------------------|--|
| MexAB-OprM | quinolones, tétracycline, chloramphénicol, triméthoprime, β-lactamines et inhibiteurs des β-lactamases |
| MexXY-OprM | tétracyclines, érythromycine, aminoglycosides |
| MexJK-OprM | érythromycine, tétracycline |
| MexCD-OprJ | quinolones, érythromycine, céphalosporines de troisième génération |
| MexEF-OprN | quinolones, chloramphénicol, triméthoprime |

Résistance par efflux chez les bactéries à Gram positif

Exemples de résistance naturelle dues aux pompes à efflux chez les Gram positif

- La plus ancienne connue avec la tétracycline en 1980
- Surtout de type MFS ou ABC
- CMI restent basses et souvent les ATB sont actifs sauf si inactivation de la pompe
- *S. aureus* : analyse du génome montre l'existence de 12 pompes MFS, type Nor A entraînant un efflux physiologiques de FQ hydrophiles (CIP, NOR) mais ne le rendant pas moins sensible. Les FQ hydrophobes (OFL, LEV, SPA, MOX) ne sont pas rejetées
- *Enterococcus* sp : 34 pompes potentielles
- *S. pneumoniae* : pompe PmrA touchant Cip et NOR

Tableau 1. Pompes physiologiques effectuant l'efflux d'antibiotiques chez les bactéries à Gram positif.

| Pompe | Nombre d'hélices alpha | Espèce bactérienne | Substrat* | Réf. |
|--|------------------------|-----------------------------------|--|------|
| SMR (small multidrug resistance) | | | | |
| YkkCD | 4 | <i>Bacillus subtilis</i> | BET, PF, CV, PY, MV, CPC, CP, SM, TC, PPM, TPP | [19] |
| MFS (major facilitator superfamily) | | | | |
| Cmr | 12 | <i>Corynebacterium glutamicum</i> | BL, ERY, TC, PM (chez <i>E. coli</i>) | [24] |
| NorA | 12 | <i>Staphylococcus aureus</i> | AC, AQ, BET, FQ, R6G, TPP, PM, CP | [41] |
| PmrA | 12 | <i>Streptococcus pneumoniae</i> | AC, BET, FQ | [19] |
| Bmr | 12 | <i>Bacillus subtilis</i> | AC, AQ, BET, FQ, R6G, TPP, PM, CP | [40] |
| Blt | 12 | <i>Bacillus subtilis</i> | AC, AQ, BET, FQ, R6G, TPP, PM, CP | [11] |
| LmrP | 12 | <i>Lactococcus lactis</i> | BET, DM, ERY, H33342, LIN, TC, TPP, VGM | [49] |
| MdrL | 12 | <i>Listeria monocytogenes</i> | BET, ERY | [9] |
| Lde | 12 | <i>Listeria monocytogenes</i> | AC, BET, FQ | [20] |
| MdeA | 12 | <i>Staphylococcus aureus</i> | LIN, VGM | [22] |
| EmeA | 12 | <i>Enterococcus faecalis</i> | BET, FQ | [26] |
| LmrB | 14 | <i>Corynebacterium glutamicum</i> | LIN | [29] |
| ABC transporteurs | | | | |
| Lsa | 12 | <i>Enterococcus faecalis</i> | LIN, SgA | [63] |
| MsrC | 12 | <i>Enterococcus faecalis</i> | ERY, SgB | [62] |

* Abréviations (les noms des antibiotiques et antiseptiques sont en gras). AC, acriflavine ; AQ, ammoniums quaternaires ; BET, Bromure d'éthidium ; BL, bisépimé ; CC, colchicine ; CH, chlorhexidine ; CP, chloramphénicol ; CPC, chaîne de cetylpyridinium ; CV, cristal violet ; DAK, danoflobicine ; DM, diméthocycine ; DXR, doxorubicine ; ERY, érythromycine ; FQ, fluoroquinolones ; H33342, Hoechst 33342 ; IP, isothiocyanate de permanganite ; IS, indoliane sulfone ; LIN, lincosamides ; MV, méthyle violet ; PF, proflavine ; PM, purpurine ; PY, pyocyanine ; R6G, rhodamine ; R123G, Rhodamine 123G ; SgA, streptogramins A ; SgB, streptogramins B ; SM, streptomycine ; TC, tétracycline ; TPP, bromure de tétraphénylphosphonium ; VB, virblantine ; VC, vincristine ; VGM, virginiamycine

Exemples de résistance acquises dues aux pompes à efflux chez les Gram positif

- Hyperproduction des pompes d'efflux
 - *S. pneumoniae* avec hyperexpression de *prmA* entraînant une augmentation de CMI des quinolones hydrophiles; la réserpine diminuant le niveau de CMI vis-à-vis de la norfloxacine
 - *S. aureus* : accroissement de la synthèse de la pompe NorA; les FQ hydrophiles (CIP et NOR) sont plus touchées que les hydrophobes (OFL, MOX, GAT)
- Acquisition de gène d'efflux
 - Staphylocoques :
 - tétracyclines: gènes Tet K et Tet L, protéine MFS, (différent gène Tet M (protection ribosomique); touche que la tétracycline et pas la minocycline.
 - MLSB : résistance plasmidique *msrA* touche C14 et C15 et SB. Les C16 spi et Jos sont actifs et Kétolides

Tableau IV. Pompes acquises de résistance par efflux aux antibiotiques chez les bactéries à Gram positif.

| Pompe | Famille de pompe | Support génétique | Espèce bactérienne | Substrats* | Réf. |
|--------------------|------------------|-------------------|--|--------------------|--------------------|
| TetK, TetL | MFS | Plasmide | <i>Staphylococcus</i> spp. <i>Streptococcus</i> spp., <i>Enterococcus</i> spp. | TC | [52] |
| QacA | MFS | Plasmide | <i>Staphylococcus aureus</i> | AQ, BET, CH, IP | [32] |
| QacB | MFS | Plasmide | <i>Staphylococcus aureus</i> | AQ, BET, CH, IP | [32] |
| QacC (Smr) | SMR | Plasmide | <i>Staphylococcus aureus</i> | AQ | [9] |
| MsrA | ABC transporteur | Plasmide | <i>Staphylococcus aureus</i> | ERY, SgB | [55] |
| VgA, VgAv, VgAB | ABC transporteur | Plasmide | <i>Staphylococcus aureus</i> | SgA | [2, 3, 21] |
| MeIA | MFS | Transposon | Streptococcus, <i>Corynebacterium</i> sp., <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Acinetobacter junii</i> | ERY | [11, 34, 35] |

* Abréviations (les noms des antibiotiques et antiseptiques sont en gras). AQ, ammoniums quaternaires ; BET, Bromure d'éthidium ; CH, chlorhexidine ; CP, chloramphénicol ; ERY, érythromycine ; IP, isothiocyanate de penicilline ; SgA, streptogramines A ; SgB, streptogramines B ; TC, tétracycline.

Tableau III. Activité des quinolones vis-à-vis des souches de *Streptococcus pneumoniae* et de *Staphylococcus aureus* résistantes aux quinolones par efflux [23, 41].

| Souche | Caractéristiques | CMI (mg/l)* | | | | | | |
|--------------------------|---|-------------|-------|------|-----|------|------|------|
| | | NOR | NOR+R | CIP | OFL | SPA | MOX | GAT |
| <i>S. pneumoniae</i> R6 | Sensible | 2 | 2 | 0,5 | ND | 0,25 | 0,12 | ND |
| <i>S. pneumoniae</i> R6N | Transformant de R6, mutation de <i>pmrA</i> | 16 | 4 | 2 | ND | 0,25 | 0,12 | ND |
| <i>S. aureus</i> ISP794 | Sensible | 0,5 | 0,5 | 0,25 | 0,5 | 0,12 | ND | 0,12 |
| <i>S. aureus</i> MT23142 | Mutant <i>norA</i> de ISP1794 | 4 | 1 | 1 | 0,5 | 0,12 | ND | 0,25 |

* CIP, ciprofloxacine ; GAT, gatifloxacine ; MOX, moxifloxacine ; NOR, norfloxacine ; OFL, ofloxacine ; R, résérpine ; SPA, sparfloxacine.

Les résistances par efflux actif décrits par famille d'antibiotiques

In JAC 2005, 56,20-51 (K. Poole)

Table 1. Efflux-mediated resistance to non-fluoroquinolone antimicrobials

| Antimicrobial | Efflux system | Pump family | Gene location | Organism(s) |
|---|---|-------------|---------------------------------|--|
| Chloramphenicol & florfenicol Chloramphenicol | Cml, CmlA, CmlB | MF | mostly plasmid; some chromosome | <i>P. aeruginosa</i> , <i>E. aerogenes</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>S. enterica</i> serovar Typhimurium |
| | Cml, Cmlv, Cmr, Cmx, CmrA | ? | plasmid & chromosome | <i>Streptomyces</i> spp., <i>Corynebacterium</i> spp., <i>Rhodococcus</i> spp. |
| | MdA ^b | MF | chromosome | <i>E. coli</i> |
| | MexEF-OprN ^c , variety of three-component RND pumps ^d | RND | chromosome | <i>P. aeruginosa</i> , several Gram-negative bacteria |
| Chloramphenicol, florfenicol | OqxAB | RND | plasmid | <i>E. coli</i> |
| | Flo, FloR, pp-Flo | MF | plasmid & chromosome | <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>V. cholerae</i> , <i>S. enterica</i> serovar Typhimurium |
| Macrolides, lincosamides, streptogramins & ketolides Macrolides | FexA | ? | plasmid | <i>S. lensus</i> |
| | Mef(A) | MF | chromosome | <i>Streptococcus</i> spp., <i>Corynebacterium</i> spp., <i>Enterococcus</i> spp., <i>Micrococcus</i> spp., <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Acinetobacter</i> spp., <i>Bacteroides</i> spp., <i>Neisseria</i> spp., several Enterobacteriaceae and Pseudomonadaceae commensals |

| | | | | |
|---|--|-----|-------------|---|
| Macrolides, type B streptogramins | Msr(A) | ABC | plasmid | <i>Staphylococcus</i> spp. |
| Macrolides, ketolides | Msr(C) | ABC | chromosome | <i>E. faecium</i> |
| Macrolides, lincosamides, type A streptogramins | Msr(D) | ABC | chromosome | <i>S. pneumoniae</i> |
| | MdeA | MF | chromosome | <i>S. aureus</i> , <i>S. hemolyticus</i> , <i>B. cereus</i> , <i>B. subtilis</i> |
| Type A streptogramins | Vga(A/B) | ABC | plasmid | <i>S. aureus</i> |
| Lincosamides, streptogramins | Lsa | ABC | chromosome | <i>E. faecalis</i> |
| Clindamycin | Lsa(B) | ABC | plasmid | <i>S. sciuri</i> |
| Lincosamides | LmrB | MF | chromosome? | <i>B. subtilis</i> |
| Lincosamides | LmrB | MF | chromosome | <i>C. glutamicum</i> |
| Erythromycin | Cme | MF | chromosome | <i>C. difficile</i> |
| Macrolides, lincosamides, type B streptogramins | ? | ? | ? | <i>S. pyogenes</i> |
| Macrolides | MacAB-TolC | ABC | chromosome | <i>E. coli</i> |
| Macrolides | MtrCDE | RND | chromosome | <i>N. gonorrhoeae</i> |
| Macrolides, lincosamides, ketolides | AcrAB-TolC, Mex ^g ; RND pumps in several Gram-negative bacteria ^h | RND | chromosome | <i>E. coli</i> , <i>E. aerogenes</i> , <i>P. aeruginosa</i> ; other Gram-negative bacteria |
| Erythromycin | MdfA ^m | MF | chromosome | <i>E. coli</i> |
| Erythromycin | ? | ? | ? | <i>Campylobacter</i> spp. |

Table 1. (continued)

| Antimicrobial | Efflux system | Pump family | Gene location | Organism(s) | Reference ^a |
|--------------------------------------|--|-------------|---------------|---|------------------------|
| Erythromycin, oxytetracycline | MexCD-Opj | RND | plasmid | <i>Pseudomonas</i> spp. | 201 |
| Tetracyclines & glycoxytetracyclines | Tet(A), Tet(B), Tet(C), Tet(D), Tet(E), Tet(G), Tet(H), Tet(J), Tet(V), Tet(Z), Tet(Sb), Tet(39) | MF | Plasmid | Gram-negative bacteria | 47, 96, 322 |
| | Tet(K), Tet(L) | MF | plasmid | Gram-positive bacteria | 47, 522 |
| | Tet(S) | MF | chromosome | <i>S. aureus</i> | 94 |
| | Tet(V) | MF | chromosome | <i>M. tuberculosis</i> , <i>M. fortuitum</i> | 95 |
| | Rv1258/Tap | MF | chromosome | <i>M. tuberculosis</i> , <i>M. fortuitum</i> | 129, 130 |
| | P55Rv1410 | MF | chromosome | <i>M. tuberculosis</i> , <i>M. bovis</i> | 131 |
| | MdfA ^m | MF | chromosome | <i>E. coli</i> | 74 |
| | MexAB-OpjM, several three-component pumps of the RND family | RND | chromosome | <i>P. mirabilis</i> , <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>M. morganii</i> , <i>P. aeruginosa</i> | 460-464a |
| Glycoxytetracyclines | AcrAB-TolC, MexXY-OpjM, MexAB-OpjM, MexCD-Opj MepA | RND | chromosome | <i>S. aureus</i> | 464a |
| β-Lactams | AcrAB-TolC ^g | RND | chromosome | <i>H. influenzae</i> | 331 |
| | MexAB-OpjM ^g ; several three-component pumps of RND family ^h | RND | chromosome | <i>P. aeruginosa</i> ; several Gram-negative bacteria | 74, 250 |
| Aminoglycosides | LmrA ^m | ABC | chromosome | <i>L. lactis</i> | 85 |
| | AcrAB-TolC | RND | chromosome | <i>E. coli</i> | 74, 522 |
| | OpjAB-OpjB | RND | chromosome | <i>S. pneumoniae</i> | 292 |
| | AmrAB-OpjA | RND | chromosome | <i>S. pneumoniae</i> | 524 |
| | MexXY-OpjM | RND | chromosome | <i>P. aeruginosa</i> | 74, 306, 307 |
| | MexAB-OpjM ^g | RND | chromosome | <i>P. aeruginosa</i> | 74 |
| | EmeE ^g | RND | chromosome | <i>P. aeruginosa</i> | 74 |
| | MdfA ^m | MF | chromosome | <i>E. coli</i> | 74 |
| | LmrA ^m | ABC | chromosome | <i>L. lactis</i> | 85 |
| Oxazolidinones | AcrAB-TolC, AcrEF-TolC | RND | chromosome | <i>E. coli</i> | 198 |

Table 2. Efflux-mediated resistance to fluoroquinolones^a

| Efflux system | Pump family | Antimicrobial ^b | Organism(s) |
|--------------------------------------|-------------|----------------------------|-------------------------|
| Gram-positive | | | |
| NraA | MF | NOR, CIP | <i>S. aureus</i> |
| NraB | MF | NOR, CIP, MOX, SPR | <i>S. aureus</i> |
| ? | ? | NOR, CIP, MOX, GAT, SPR | <i>S. aureus</i> |
| PmrA | MF | NOR, CIP | <i>S. pneumoniae</i> |
| ? | ? | NOR, CIP, MOX | <i>S. pneumoniae</i> |
| EmeA | MF | NOR, CIP | <i>E. faecalis</i> |
| Lde | MF | NOR, CIP | <i>L. monocytogenes</i> |
| EfrAB | ABC | NOR, CIP | <i>E. faecalis</i> |
| ? | ? | FQ | <i>B. anthracis</i> |
| Bmr | MF | FQ | <i>B. subtilis</i> |
| Blt | MF | FQ | <i>B. subtilis</i> |
| Bmr3 | MF | FQ | <i>B. subtilis</i> |
| MD1, MD2 ^d | ABC | CIP | <i>M. hominis</i> |
| LfrA | MF | FQ (CIP, NOR?) | <i>M. smegmatis</i> |
| EfpA | MF | CIP, NOR | <i>M. smegmatis</i> |
| Rv1634 | MF | FQ | <i>M. tuberculosis</i> |
| Rv1258c | MF | OFL | <i>M. tuberculosis</i> |
| Rv2686c-Rv2687c-Rv2688c ^d | ABC | FQ | <i>M. tuberculosis</i> |
| LmrA | ABC | CIP, OFL | <i>L. lactis</i> |
| Mnr | SMR | CIP, NOR | <i>M. smegmatis</i> |

| | | | |
|---|-----|----------|---|
| Gram-negative | | | |
| AcrAB-TolC, AcrEF-TolC | RND | FQ | <i>E. coli</i> |
| MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN, MexXY-OprM ^d | RND | FQ | <i>P. aeruginosa</i> |
| AcrAB-TolC | RND | FQ | <i>Enterobacter</i> spp. |
| AcrAB-TolC | RND | FQ | <i>Klebsiella</i> spp. |
| AcrAB-TolC | RND | FQ | <i>S. enterica</i> (Typhimurium, Enteritidis) |
| AcrEF-TolC | RND | FQ | <i>S. enterica</i> serovar Typhimurium |
| SmeABC, SmeDEF | RND | FQ | <i>S. multiphila</i> |
| CmeABC, CmeDEF | RND | FQ | <i>C. jejuni</i> |
| SdeAB | RND | FQ | <i>S. marcescens</i> |
| SdeXY | RND | NOR | <i>S. marcescens</i> |
| MitCDE | RND | FQ | <i>N. gonorrhoeae</i> |
| CeoAB-OpcM | RND | FQ | <i>B. cepacia</i> (cenocepacia) |
| AcrAB | RND | CIP | <i>P. mirabilis</i> |
| AdeABC | RND | FQ | <i>A. baumannii</i> |
| VcaM | ABC | CIP, NOR | <i>V. cholerae</i> |
| Opr12-Opr11-Opr10 (plasmid) ^d | ABC | NAL, NOR | <i>Pseudomonas</i> spp. |
| MdfA | MF | FQ | <i>E. coli</i> |
| ? | ? | FQ | <i>A. salmonicida</i> |
| ? | ? | FQ | <i>C. freundii</i> |
| ? | ? | OFL | <i>P. vulgaris</i> |
| ? | ? | CIP, NOR | <i>B. fragilis</i> |

Résistance par efflux actif touchant les biocides

- Très fréquent :
 - Ammoniums quaternaires (QAC)
 - Chlorhexidine
 - Triclosan
 - Argent

Moyens de lutter contre la résistance par efflux actif

Moyens de lutte

- By-passing (contournement)
- Inhibiteurs de la pompe

By-passing

- Nouvelles fluoroquinolones
- Kétolides (même si nouveau système spécifique)
- Glycylcycline : les Gram positif ne sont pas touchés par les systèmes d'efflux des tétracyclines contrairement aux Gram négatif

Inhibiteurs des systèmes d'efflux

Cibles potentielles

- Molécule agissant sur le composante énergétique
- Molécule agissant sur la pompe elle-même
- Molécule modifiant les caractéristiques fonctionnelles du canal
- Molécule modifiant l'assemblage

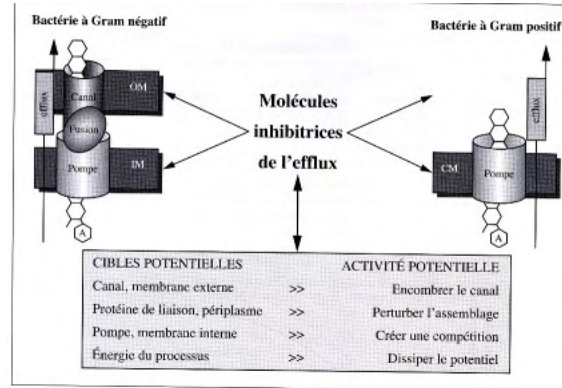


Figure 3. Cibles potentielles dans le mécanisme d'efflux.

Les inhibiteurs d'efflux chimiques

- Carbonyl cyanure m-chlorophényl hydrazone (CCCP) agit sur l'énergie membranaire; surtout in vitro (Gram négatif et positif)
- Phénylalanine arginine B-naphtylamide (PABN) par peptidomimétisme in vitro (Gram négatif)
- Dérivés quinoléine : inhibition de l'efflux par compétition (Gram négatif)
- Réserpine : inhibiteurs chez des eucaryotes et chez les Gram positif

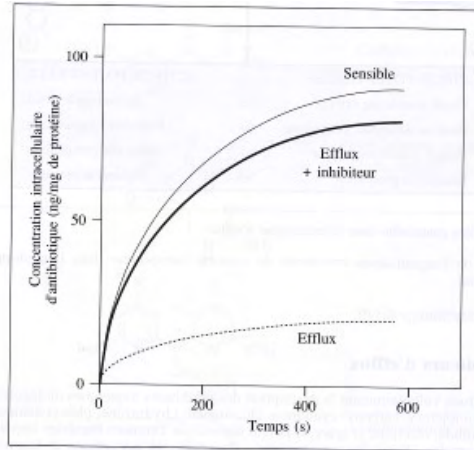


Figure 2. Inhibiteur et concentration intracellulaire de l'antibiotique. Les concentrations intracellulaires d'un antibiotique représentées correspondent à la situation recherchée avec une bactérie sensible (trait fin), une bactérie exprimant le système d'efflux (trait pointillé), et la même bactérie en présence d'un inhibiteur efficace (trait épais).

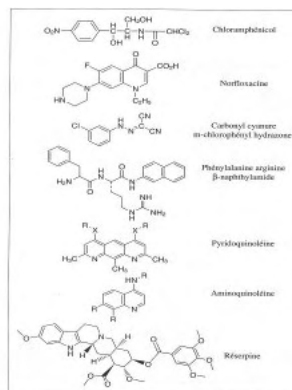


Figure 4. Présentation de quelques solutions des pompes et antibiotiques soumis à l'efflux.

Tableau II. Effet de quelques inhibiteurs d'efflux sur la sensibilité à la norfloxacine chez *E. aerogenes*, *P. aeruginosa* et *S. aureus*.

| Bactéries (+ efflux) | Inhibiteur | Norfloxacine ($\mu\text{g/ml}$) |
|----------------------|-------------------|-----------------------------------|
| <i>E. aerogenes</i> | - | 16 |
| | + PA β N | 4 |
| | + aminoquinoléine | 2 |
| <i>P. aeruginosa</i> | - | 4 |
| | + PA β N | 0,25 |
| <i>S. aureus</i> | - | 64 |
| | + réserpine | 8 |

Les inhibiteurs d'efflux d'origine naturelle : extraits de plantes

- Biricodar et timcodar
- *Geranium coespitosum*
- Falvone
- *Berberis*
- *Mahonia*
- *Dalea versicolor*
- *Lycopus europaeus*
- *Rosmarinus officinalis*

Conclusion

- Mécanismes de résistance anciens qui depuis la tétracycline prend de plus en plus d'importance, touchant spécifiquement une molécule, ou une famille ou des antibiotiques différents
- Néanmoins souvent niveau de résistance bas
- Approche de nouvelles thérapeutiques originales à partir de plantes

Bibliographie

- 22^e RICA 2002 CR symposium et conférences EDK Paris
 - Plésiat P. Résistance par efflux actif chez les bactéries à Gram négatif
 - Leclercq R. Résistance par efflux actif chez les bactéries à Gram positif
 - Join-lambert O et Kohler T. relation efflux-virulence chez *Pseudomonas aeruginosa*
 - Pagès JM Inhibiteurs des systèmes d'efflux chez les bactéries
- Poole K; efflux-mediated antimicrobial resistance JAC 2005,56,20-51 (568 références)
- Li X et Nikaido H; Efflux-mediated drug resistance in bacteria Drugs 2004,64,159-204 (481 références)