

Paroi bactérienne et bêta-lactamines

La structure de la paroi bactérienne est maintenant bien connue. Ses caractéristiques et propriétés dans différentes espèces bactériennes expliquent largement leur résistance ou sensibilité aux bêta-lactamines.

Laurent Gutmann

Chef de travaux

Russell Williamson

Chargé de recherche à l'Inserm

Les bêta-lactamines sont les antibiotiques les plus couramment utilisés en clinique et leur nombre n'a cessé de croître depuis la découverte de la pénicilline G. Leur mode d'action est intimement lié à la structure de la paroi bactérienne car elles vont inhiber des enzymes indispensables pour sa synthèse et entraîner par divers processus la destruction de cette paroi et la mort bactérienne. En contrepartie, les bactéries ont acquis des mécanismes de résistance de plus en plus complexes et variés mettant en jeu différentes structures de la paroi bactérienne, afin d'échapper à l'effet bactériostatique et bactéricide de ces antibiotiques.

Bactéries à Gram positif et à Gram négatif

La paroi des bactéries (*figure 1*) à Gram positif est essentiellement formée d'une couche épaisse, le peptidoglycane, qui vient au contact de la membrane cytoplasmique. Celui-ci peut être recouvert d'une couche polysaccharidi-

que [1]. Le peptidoglycane est formé de longs polymères dont la structure disaccharidique de base (*N*-acétylglucosamine-acide muramique) va être répétée d'une trentaine à plusieurs centaines de fois selon l'organisme. Ces chaînes polysaccharidiques sont reliées entre elles par des ponts interpeptidiques unissant les chaînes peptidiques appendues sur l'acide muramique (*figure 2*). La paroi est ainsi composée de 50 à 100 feuilles de peptidoglycane se recouvrant les unes les autres. Au sein de ce peptidoglycane, on retrouve deux autres composants essentiels : 1) les acides teichoïques qui, liés à l'acide muramique, représentent 20 à 30 % du poids du mur bactérien et auraient pour rôle de capter les cations comme le magnésium ; 2) les acides lipoteichoïques qui sont insérés par leur fraction lipidique dans la membrane cytoplasmique sous-jacente et joueraient un rôle important dans la régulation du système autolytique impliqué dans la mort bactérienne. Chez les bactéries à Gram négatif, la structure de la paroi

ADRESSES

Gutmann L. : laboratoire de microbiologie médicale, hôpital Saint-Joseph, 7, rue Pierre-Larousse, 75674 Paris Cedex 14.

Williamson R. : laboratoire de microbiologie médicale, université Pierre et Marie-Curie, 15, rue de l'École de Médecine, 75270 Paris Cedex 06.

RÉFÉRENCES

1. Shockman GD, Barrett JF. Structure, function and assembly of cell walls of Gram positive bacteria. *Annu Rev Microbiol* 1983 ; 37 : 501-27.
 2. Costerton JW, Ingram JM, Cheng KT. Structure and function of the cell envelope of Gram negative bacteria. *Microbiol Rev* 1974 ; 38 : 87-170.
 3. Nikaido H, Vaara M. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability. *Microbiol Rev* 1985 ; 49 : 1-32.
 4. Ghuysen JM. The concept of the penicillin target from 1965 until today. *J Gen Microbiol* 1977 ; 101 : 13-33.
 5. Tipper DJ, Strominger JL. Mechanism of action of penicillins : a proposal based on their structural similarity to acyl-D-alanyl-D-alanine. *Proc Natl Acad Sci USA* 1965 ; 54 : 1133-41.
 6. Nakae T. Identification of the outer membrane protein of *E. coli* that produces transmembrane channels in reconstituted vesicle membranes. *Biochem Biophys Res Commun* 1976 ; 71 : 877-84.
 7. Nikaido H, Luckey M, Rosenberg EY. Nonspecific and specific diffusion channels in the outer membrane of *Escherichia coli*. *Journal of Supramolecular Structure* 1980 ; 13 : 305-13.
 8. Yoshimura F, Nikaido H. Diffusion of beta-lactam antibiotics through the porin channels of *Escherichia coli* K-12. *Antimicrob Agents Chemother* 1985 ; 27 : 84-92.
 9. Waxman DJ. Penicillin-binding proteins and the mechanism of action of beta-lactam antibiotics. *Ann Rev Biochem* 1983 ; 52 : 825-69.
 10. Spratt BG. Penicillin binding proteins and the future of beta-lactam antibiotics. *J Gen Microbiol* 1983 ; 129 : 1247-60.
 11. Hayes MV, Ward JB. The role of Penicillin binding proteins in the Antibacterial activity of beta-lactam antibiotics. In : Lorian V, ed. *Antibiotics in Laboratory Medicine*. Baltimore-London-Los-Angeles-Sydney : Williams & Wilkins, 1986 : 722-56.
- (figure 1) est plus complexe [2, 3]. Il existe une membrane externe séparée de la membrane interne cytoplasmique par un espace périplasmique qui contient le peptidoglycane (une ou deux feuilles), beaucoup moins épais que chez les bactéries à Gram positif. La membrane externe est formée d'une couche interne phospholipidique et d'une couche externe essentiellement composée de lipopolysaccharide (LPS). Parmi les protéines majeures qui la composent, la protéine OmpA et la lipoprotéine de Braun, accrochées au peptidoglycane sous-jacent, participent au maintien de sa structure.
- Les précurseurs solubles du peptidoglycane sont synthétisés dans le cytoplasme de la cellule au cours d'étapes qui peuvent être inhibées par différents antibiotiques comme la phosphomycine, la cyclosérine et la bacitracine. Une fois que le précurseur final a été synthétisé (disaccharide pentapeptide, DSP) (figure 2), et qu'il a franchi la membrane cytoplasmique, il va s'intégrer dans le peptidoglycane pré-existant. C'est dans cette phase d'intégration et dans la maturation ultérieure du peptidoglycane que vont intervenir trois types essentiels d'enzymes situées sur la membrane cytoplasmique : 1) les transglycosylases qui vont permettre la formation de longues chaînes de peptidoglycane linéaire à partir des DSP. Elles sont insensibles à l'action des bêta-lactamines ; 2) les transpeptidases qui permettent, après la rupture du D-alanyl-D-alanine terminal du pentapeptide, l'établissement d'un pont interpeptidique par formation d'une liaison entre le résidu « D-alanine » restant et l'acide aminé (généralement le 3^e) d'un autre pentapeptide. Cela permet l'accrochage des chaînes linéaires de peptidoglycane au peptidoglycane préexistant ; 3) les carboxypeptidases qui scindent aussi les liaisons D-alanyl-D-alanine sans permettre la liaison interpeptidique.
- L'activité conjuguée des transpeptidases et carboxypeptidases va aboutir à la formation d'un réseau plus ou moins serré dans le peptidoglycane. Ces deux derniers types d'enzymes sont les cibles des bêta-lactamines parce qu'il existe une analogie structurale entre les bêta-lactamines et le substrat naturel de ces enzymes (le D-alanyl-D-alanine terminal du pentapeptide) [4, 5]. Les cellules eucaryotes, qui n'ont pas de peptidoglycane, ou des bactéries telles que les Halobactéries ou les Archéobactéries dont la morphologie ne dépend pas de la présence de peptidoglycane, sont insensibles aux bêta-lactamines. Chez les bactéries à Gram positif, l'accessibilité des bêta-lactamines à ces enzymes situées sur la membrane cytoplasmique est libre, le peptidoglycane n'étant pas une barrière pour leur diffusion. Chez les bactéries à Gram négatif, la situation est différente [2, 3], car l'accessibilité aux transpeptidases et carboxypeptidases situées sur la membrane cytoplasmique dépend de la diffusion des bêta-lactamines au travers de la membrane externe. Cette membrane externe globalement hydrophobe empêcherait la pénétration des molécules hydrophiles, et notamment des bêta-lactamines, s'il n'existait pas des protéines spécialisées appelées porines qui permettent la diffusion de ces molécules et dont la limite d'exclusion est d'environ 600 daltons [6,7,8]. Les porines sont des trimères formés de trois canaux ouverts vers l'extérieur, se résolvant en un canal s'ouvrant dans l'espace périplasmique. La pénétration des bêta-lactamines au travers des porines est d'autant plus rapide que leur charge est neutre, que leur hydrophylité est plus importante et que leur taille est plus petite [8].

Protéines de liaison à la pénicilline (PLP)

Les transpeptidases et les carboxypeptidases fixent les bêta-lactamines en formant une liaison covalente et stable [9]. De ce fait, si l'on utilise une bêta-lactamine radioactive, les complexes enzymes-bêta-lactamines (PLP) peuvent être mis en évidence et

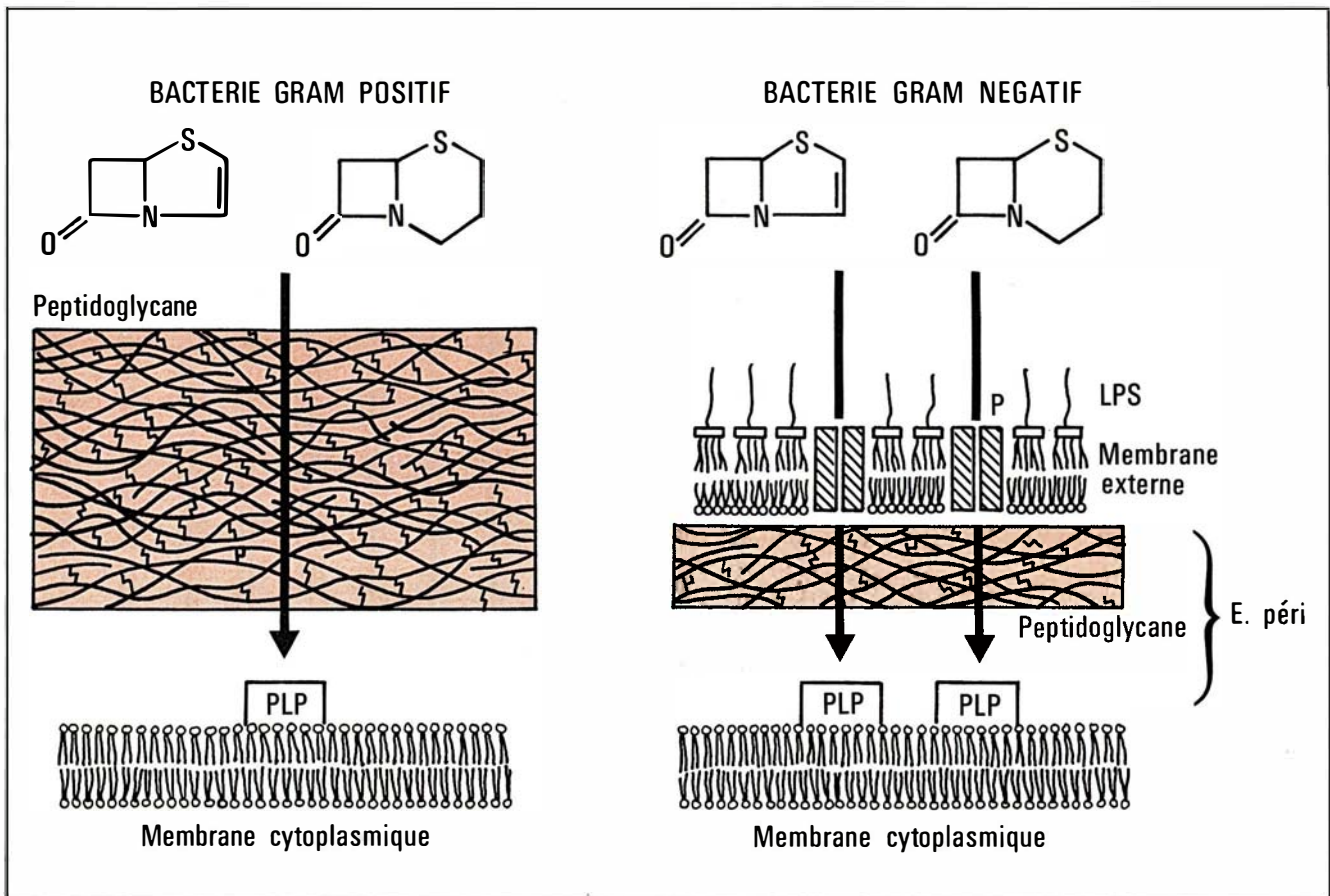


Figure 1. **Représentation schématique de la paroi des bactéries à Gram-positif et des bactéries à Gram-négatif.** Chez les bactéries à Gram-positif, les β -lactamines vont traverser librement le peptidoglycane pour aller se fixer sur les protéines de liaison à la pénicilline (PLP). Chez les bactéries à Gram-négatif, les β -lactamines vont diffuser au travers des porines (P) présentes dans la membrane externe puis traverser le peptidoglycane et l'espace périplasmique (E. péri) pour aller se fixer sur les PLP. LPS = lipopolysaccharide.

distingués des autres protéines de la membrane cytoplasmique par autoradiographie [10]. Cette technique a permis un réel progrès dans l'interprétation du rôle des différentes enzymes. Le nombre de PLP, classées en fonction de leur poids moléculaire, varie d'un organisme à l'autre [11], mais semble spécifique d'une espèce. Par exemple, il en existe trois chez *Neisseria gonorrhoeae*, quatre chez *Bacillus licheniformis*, cinq chez *Streptococcus pneumoniae*, six chez *Clostridium perfringens*, sept ou huit chez *E. coli* et les Entérobactéries en général [11]. Le nombre total des molécules de PLP varie

d'environ 2 000 chez *E. coli* à 20 000 chez *S. pneumoniae*. Le nombre de PLP différents ne fait que refléter la complexité de la synthèse du peptidoglycane et les différents événements qui vont le mener à sa forme mature définitive. Chaque PLP a un rôle bien précis intervenant à un moment donné de la synthèse. C'est chez *E. coli* que leur fonction a été la mieux étudiée. Parmi les sept PLP, l'activité des PLP1a et 1b est essentielle pour l'intégrité du peptidoglycane. Leur inhibition mènerait à la lyse bactérienne ; la PLP2 est responsable de la maintenance de la forme bacillaire et

son inhibition entraîne l'apparition de formes rondes ; la PLP3 est nécessaire à la division cellulaire et son inhibition entraîne la formation de longs filaments par absence de séparation des cellules filles. Ces quatre PLP seraient des transpeptidases. Les PLP4, 5, 6 seraient des carboxypeptidases dont le rôle est mal précisé et dont l'absence ne semble pas modifier la croissance bactérienne [10]. De telles modifications morphologiques ne sont que rarement retrouvées chez les cocci à Gram positif mais peuvent se voir chez certains bacilles à Gram positif comme *Clostridium perfrin-*

gens, où l'inhibition de plusieurs PLP peut entraîner la formation de filaments [12].

Une fois franchi le peptidoglycane chez les bactéries à Gram positif et surtout la membrane externe chez les bactéries à Gram négatif (ce qui prendrait tout au plus quelques secondes [13]), l'inhibition de la croissance bactérienne (bactériostase) ne dépend que de l'affinité des PLP pour les bêta-lactamines. Trois problèmes sont alors posés : comment se produit l'arrêt de la croissance ? Quelle(s) PLP est (sont) impliquée(s) dans l'arrêt de cette croissance ? Existe-t-il un rapport structure-activité des différentes bêta-lactamines vis-à-vis des PLP ? Il semblerait que, faisant suite à l'inhibition des PLP par les bêta-lactamines et à l'interruption de la synthèse du peptidoglycane, il y ait un « message » qui soit adressé dans le cytoplasme entraînant l'inhibition de la synthèse de l'ARN, des protéines et de l'ADN provoquant une cessation de la croissance bactérienne. Le peptidoglycane est essentiel à cet effet des bêta-lactamines puisqu'en son absence les protoplastes, bien qu'ayant des PLP à la surface de la membrane cytoplasmique, n'interrompent pas leur croissance en présence de ces antibiotiques. Parmi les PLP d'un même organisme, une ou plusieurs PLP sont dites essentielles, c'est-à-dire qu'il existe une relation entre leur saturation par différentes bêta-lactamines et la concentration minimale de ces antibiotiques (CMI) susceptible d'interrompre la croissance. De telles corrélations ont été mises en évidence, pour la PLP2b de *Streptococcus pneumoniae*, et la PLP1 de *Clostridium perfringens* [11, 12]. Chez *E. coli*, 4PLP (1a, 1b, 2 et 3) joueraient un rôle essentiel et l'utilisation de bêta-lactamines ayant une affinité préférentielle, comme la céphaloridine sur la PLP1b, le mécillinam sur la PLP2 et la céphalexine sur la PLP3, ont permis de mettre en évidence les modifications morphologiques précédemment décrites. Une des études prospectives les plus intéressantes serait celle qui

tenterait d'établir une relation entre la structure d'une bêta-lactamine et l'inhibition qu'elle provoque en se fixant sur les PLP, le but ultime étant de fabriquer une bêta-lactamine dont l'affinité serait très importante pour la ou les PLP essentielles. Ce type de relation a été tenté pour de nombreuses bêta-lactamines et les PLP d'*E. coli*. Ce que l'on sait, c'est que les structures de base des bêta-lactamines, telles que l'acide pénicillanique ou l'acide céfalosporanique, ont peu d'affinité pour les PLP et que l'addition de différents radicaux sur ces structures peut entraîner une grande affinité, parfois très sélective. Néanmoins, il n'existe pas de relation claire et l'on ne sait pas si les changements d'affinité très importants observés en fonction des substitutions ne dépendraient pas aussi de la reconnaissance au sein de la PLP d'autres sites qui, fixant une partie de la molécule, interféreraient avec la fixation au site actif. Au cours de ces dernières années, de nouvelles céphalosporines dites de 3^e génération, comme la céfotaxime ou la ceftazidime, et des monobactams, comme l'aztreonam, ont été synthétisées et sélectionnées pour leur capacité à résister à l'hydrolyse des bêta-lactamases plasmidiques et chromosomiques. Il s'est avéré que la plupart de ces molécules, outre la capacité de résister à l'hydrolyse, ont des CMI très basses vis-à-vis des Entérobactéries, parce qu'elles ont une très forte affinité pour la PLP3. Si l'on comprend bien la substitution nécessaire pour faire de ces bêta-lactamines des antibiotiques stables vis-à-vis des bêta-lactamases, en revanche leur affinité préférentielle pour les PLP3 n'est pas expliquée.

Effet bactéricide des bêta-lactamines

L'effet « bactériostatique » des bêta-lactamines, provoqué par l'inhibition de l'activité des PLP essentielles, s'accompagne d'un effet bactéricide plus ou moins rapide selon l'espèce bactérienne

RÉFÉRENCES

12. Tomasz A. Mode of action of beta-lactam antibiotics—a microbiologist's view. In : Demain AL, Solomon NA, ed. *Antibiotic : Containing the Beta-lactam Structure .1.* New York : Springer Verlag, 1983 : 15-95.
13. Yoshimura F, Nikaido H. Diffusion of beta-lactam antibiotics through the porin channels of *Escherichia coli* K-12. *Antimicrob Agents Chemother* 1985 ; 27 : 84-92.
14. Ward JB, Williamson R. Bacterial autolysins : specificity and function. In : Nombela C, ed. *Microbial Cell Wall Synthesis and Autolysis.* Amsterdam : Elsevier science publishers, 1984 : 159-66.
15. Shockman GD, Daneo-Moore L, McDowell TD, Wong W. Function and structure of the cell wall—its importance in the life and death of bacteria. In : Salton MRJ, Shockman GD, ed. *Beta-lactam Antibiotics.* New York : Academic press, 1981 : 31-65.

et la bêta-lactamine impliquée. Cet effet bactéricide est généralement la conséquence d'une lyse bactérienne. Trois modèles de lyse ont été ébauchés au fur et à mesure de la compréhension des mécanismes d'action. Le premier modèle expliquait la lyse par une croissance cytoplasmique continue qui, en l'absence de synthèse du peptidoglycane, aurait entraîné un véritable éclatement de la bactérie. Les deux autres modèles font intervenir des enzymes que l'on appelle autolysines [14]. Ces enzymes présentes dans le peptidogly-

cane joueraient un rôle dans l'intégration du peptidoglycane récemment synthétisé et dans la division cellulaire. Elles sont capables de couper différentes liaisons telles que celles qui relient le N-acétylglucosamine et l'acide muramique (hexosaminidase), l'acide muramique et le premier acide aminé du pentapeptide (amidase, figure 2), ou encore les liaisons interpeptidiques (endopeptidase). Dans le second modèle, il y aurait un déséquilibre entre la synthèse du peptidoglycane qui serait inhibé et les autolysines qui con-

tinueraient de fonctionner, entraînant la rupture du peptidoglycane et la lyse [15]. Le troisième modèle [12] est un modèle plus dynamique qui a été particulièrement étudié sur le pneumocoque. Dans cet organisme, le système autolytique (amidase) serait sous le contrôle d'inhibiteurs lipidiques, les acides lipotéichoïques. Après inhibition de la synthèse du peptidoglycane, il y aurait un relâchement des acides lipotéichoïques et une mise en jeu incontrôlée du système autolytique aboutissant à la lyse et à la mort bactérienne.

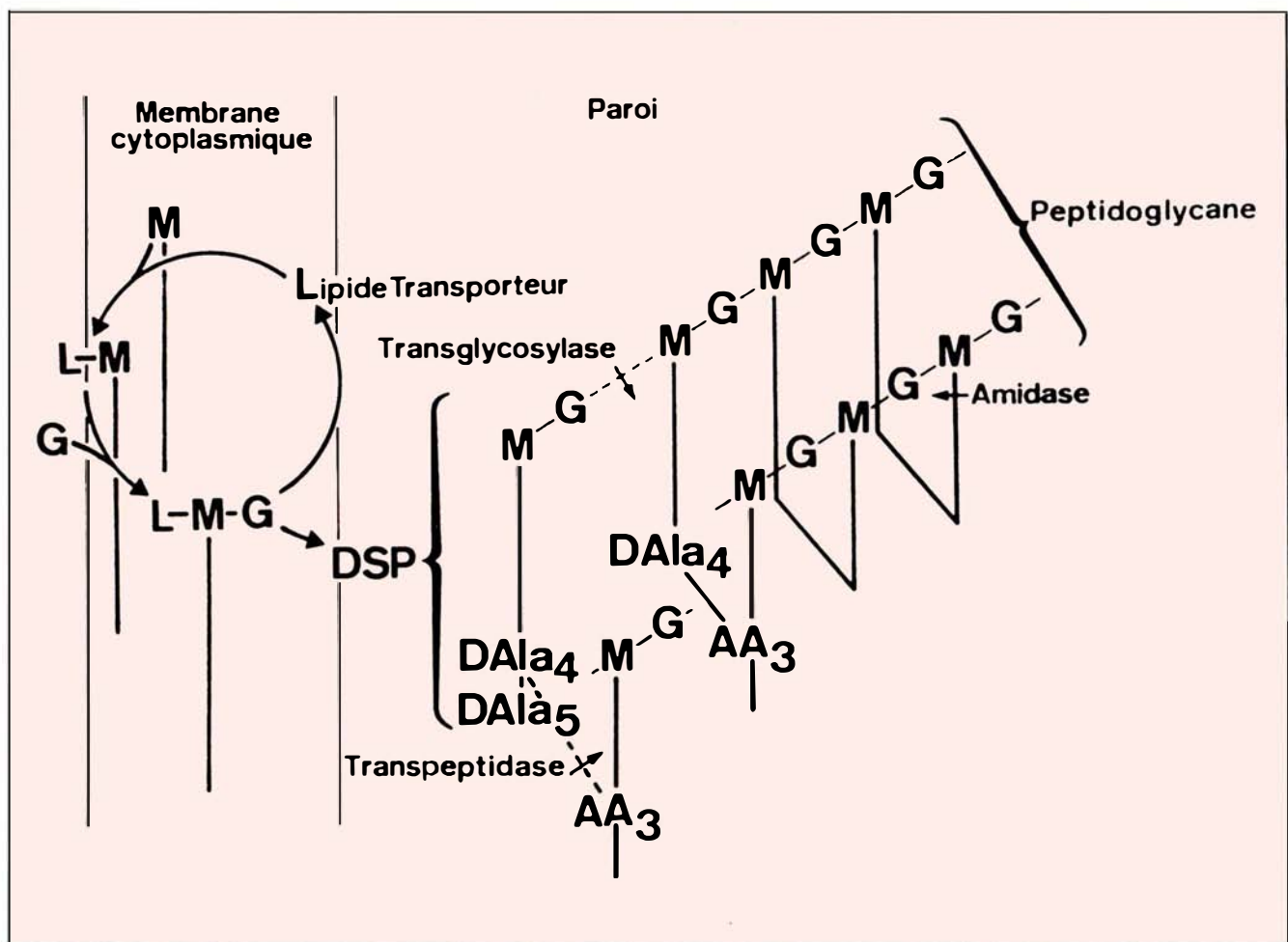


Figure 2. Représentation schématique des dernières étapes de la synthèse du peptidoglycane. La formation d'une liaison B-1-4 à partir du DSP par la transglycosylase permet la synthèse du polysaccharide. La transpeptidase permet de créer des liaisons interpeptidiques reliant les chaînes polysaccharidiques entre elles. L = lipide transporteur ; M = acide muramique ; G = N-acétyl-glucosamine ; DSP = disaccharide pentapeptide ; DAla : D-alanine ; AA₃ : 3^e acide aminé du pentapeptide.

RÉFÉRENCES

16. Handwerker S, Tomasz A. Antibiotic tolerance among clinical isolates of bacteria. *Rev Infect Dis* 1985 ; 7 : 368-85.
17. Meideros AA. Beta-lactamases. *Medical Bulletin* 1984 ; 40 : 18-27.
18. Minami S, Yotsuji A, Inoue M, Mitsuhashi S. Induction of beta-lactamase by various beta-lactam antibiotics in *Enterobacter cloacae*. *Antimicrob Agents Chemother* 1980 ; 18 : 382-5.
19. Collatz E, Gutmann L, Williamson R, Acar JF. Development of resistance to beta-lactam antibiotics with special reference to third generation cephalosporins. *J Antimicrob Chemother* 1984 ; 14 Suppl. B : 13-21.
20. Gutmann L, Williamson R, Collatz E. The possible role of porins in bacterial antibiotic resistance. *Ann Intern Med* 1984 ; 101.
21. Piddock LJV, Wise R. Newer mechanisms of resistance to beta-lactam antibiotics in Gram negative bacteria. *J Antimicrob Chemother* 1985 ; 16 : 279-84.
22. Williamson R. Resistance of *Clostridium perfringens* to beta-lactam antibiotics mediated by a decreased affinity of a single essential penicillin-binding protein. *J Gen Microbiol* 1983 ; 129 : 2339-42.
23. Fontana R. Penicillin-binding proteins and the intrinsic resistance to beta-lactams in Gram positive cocci. *J Antimicrob Chemother* 1985 ; 16 : 412-5.
24. Zigelboim S, Tomasz A. Penicillin-binding proteins of multiply antibiotic-resistant south african strains of *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 1980 ; 17 : 434-42.
25. Vu H, Nikaïdo H. Role of beta-lactam hydrolysis in the mechanisms of resistance of a beta-lactamase-constitutive *Enterobacter cloacae* strain to expanded spectrum beta-lactams. *Antimicrob Agents Chemother* 1985 ; 27 : 393-8.
26. Gutmann L, Williamson R, Moreau N, et al. Cross-resistance to nalidixic acid, trimethoprim, and chloramphenicol associated with alterations in outer membrane proteins of *Klebsiella*, *Enterobacter* and *Serratia*. *J Infect Dis* 1985 ; 151 : 501-7.

Un rôle similaire comme inhibiteur des autolysines a été démontré pour des phospholipides et des phosphoglycérides dans d'autres espèces de bactéries à Gram positif [15]. Chez *E. coli*, plusieurs autolysines interviendraient dans la lyse lors de la dérégulation du système autolytique. L'inhibition de la PLP1a et 1b, mais aussi de la PLP1a associée à la PLP2 ou la PLP3 ou encore de la PLP2 associée à la PLP3, entraînerait sa mise en jeu sans que l'on connaisse les étapes qui la provoquent.

L'importance du système autolytique dans la mort bactérienne provoquée par les bêta-lactamines a été soulignée par l'isolement de mutants tolérants, tant chez les bactéries à Gram positif que chez les bactéries à Gram négatif [12, 16]. Ces mutants, en présence de bêta-lactamines, vont interrompre leur croissance (bactériostase) sans qu'il y ait lyse et mort bactérienne (bactéricide). L'absence de lyse chez ces mutants s'explique, soit par un niveau anormalement bas d'autolysines, soit par une modification du mur bactérien sur lequel l'autolysine ne peut plus agir, soit par une absence de mise en jeu du système autolytique bien que la quantité d'autolysines présentes soit normale (excès d'inhibiteur par exemple). Ces souches dites « tolérantes » sont ainsi rencontrées en clinique dans des espèces telles que les *Streptococcus sanguis*, les Entérocoques, les *Streptococcus pneumoniae* et certains Staphylocoques [16]. Si la lyse bactérienne semble donc être le facteur déclenchant essentiel de la mort bactérienne provoquée par les bêta-lactamines, il est probable que ce facteur ne soit pas unique, comme le montre l'effet bactéricide extrêmement rapide de la pénicilline sur le *Streptococcus A*, en l'absence de toute lyse [12, 16].

Mécanismes de résistance

Les mécanismes de résistance aux bêta-lactamines peuvent être divisés en deux grandes catégories, les mécanismes de résistance « enzymatiques » et « non enzymati-

ques ». Les mécanismes de résistance enzymatiques sont liés à la production de bêta-lactamases qui hydrolysent les bêta-lactamines. On peut schématiquement classer les bêta-lactamases en deux catégories [17] : les pénicillinases et les céphalosporinases. Les premières ont un support plasmidique ou chromosomique et sont présentes chez les bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Les secondes sont d'origine chromosomique et uniquement présentes chez les bactéries à Gram négatif. Elles sont inductibles dans différentes espèces comme les Entérocoque, les *Serratia*, les Protéus, les Citrobacter et les Pseudomonas [17, 18]. Les bêta-lactamases représentent le support essentiel de la résistance chez les bactéries à Gram négatif où elles sont présentes dans l'espace périplasmique. Les mécanismes dits « non enzymatiques » sont liés soit à des modifications des PLP, surtout chez les bactéries à Gram positif, soit à des modifications de la membrane externe chez les bactéries à Gram négatif [3, 19, 20, 21].

La fabrication de mutants résistants vis-à-vis de différentes bêta-lactamines peut s'accompagner de modifications des PLP. Cela a permis de démontrer (et de confirmer par une autre méthode que celle des corrélations entre la CMI et l'affinité des PLP pour les bêta-lactamines) quelle pouvait être la PLP essentielle dans différents organismes (Streptocoque A, Entérocoque, *Clostridium perfringens*). Chez les bactéries à Gram positif, trois grands types de modifications des PLP expliquent la résistance : 1) la structure de la PLP est modifiée et son affinité pour les bêta-lactamines est diminuée : c'est le cas de la PLP1 de *Clostridium perfringens*. Témoignant du rapport structure-activité, il faut savoir qu'entre la souche sensible, avec une PLP1 normale, et la souche résistante, avec une PLP1 modifiée, la CMI augmente d'un facteur 100 pour la pénicilline G et d'un facteur 10 000 pour une céphalosporine comme le céfotaxime [22]. 2) Il y a une

augmentation quantitative importante d'une PLP essentielle qui ne peut être saturée que par une quantité plus importante de bêta-lactamines. C'est le cas de la PLP5 chez les Entérocoques [23]. 3) Il y a apparition d'une nouvelle PLP qui, d'une part, présente une faible affinité pour les bêta-lactamines et, d'autre part, va remplir une fonction essentielle prenant le relais de PLP déjà présentes. C'est ainsi qu'on explique la résistance à la méthicilline chez les Staphylocoques [23]. Chez les Pneumocoques, où la résistance aux bêta-lactamines a été la plus étudiée, on a montré que différents mécanismes, parmi les trois précédents, étaient associés et qu'ils étaient le résultat d'événements génétiques multiples [24]. Chez les bactéries à Gram négatif, les modifications de PLP responsables de résistance aux bêta-lactamines ont été rapportées *in vitro* (*E. coli*, *Neisseria gonorrhoeae*), mais beaucoup plus rarement *in vivo* (*Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*) [21]. L'autre mécanisme de résistance non enzymatique est la conséquence d'une diminution de la perméabilité par modification de différentes structures de la membrane externe. Une diminution quantitative des porines semble être le mécanisme majeur de ce type de résistance chez les Entérobactéries, alors que ce serait des modifications du LPS qui expliqueraient la résistance par « imperméabilité » chez les *Pseudomonas* [3, 21]. En fait, si l'« imperméabilité » explique en partie la résistance, il n'est pas impossible que les bêta-lactamases naturellement présentes dans ces bactéries aient un rôle amplifié par la diffusion ralentie des molécules au travers de la membrane externe. Normalement, le nombre de molécules d'une bêta-lactamine passant au travers de la membrane externe est tel qu'un nombre suffisant a accès aux PLP, même si une faible proportion d'entre elles est hydrolysée dans l'espace périplasmique. Lorsqu'il existe une « imperméabilité », il n'est pas impossible que le nombre de

molécules franchissant la membrane externe soit alors suffisamment restreint pour que le nombre de molécules libres non détruites par les bêta-lactamases soit devenu insuffisant pour saturer les PLP [25].

Conclusion

L'effet bactériostatique et bactéricide des bêta-lactamines fait intervenir des événements en cascade parmi lesquels la mise en jeu des autolysines reste l'étape la plus mal élucidée. L'étude des différentes enzymes directement ou indirectement impliquées dans la synthèse de la paroi, et les relations structurales qu'elles occupent avec cette paroi, restent un élément déterminant de l'étude des mécanismes d'action des bêta-lactamines. Parmi les mécanismes de résistance non enzymatiques, les mécanismes par imperméabilité aux bêta-lactamines restent les moins bien connus. Ils s'avèrent d'autant plus complexes qu'ils peuvent, dans certaines espèces, entraîner une résistance croisée pour plusieurs familles d'antibiotiques ou s'associer à d'autres mécanismes de résistance tels que la dérégulation d'une bêta-lactamase chromosomique ou la modification de PLP [19, 26] ■

ABRÉVIATIONS

PBPs : penicillin binding proteins

PLP : protéine de liaison à la pénicilline

LPS : lipopolysaccharide

OmpA : outer membrane protein A

DSP : disaccharide pentapeptide

CFI : concentration minimale inhibitrice

Summary

The mode of action of beta-lactam antibiotics is intimately associated with the structure of the bacterial cell wall, because they inhibit the essential enzymes involved in its synthesis. Peptidoglycan is the polymer which gives rigidity. Gram-positive bacteria have a thick layer of this polymer. Gram-negative organisms have a very thin layer surrounded by an external membrane, which contains specialized proteins called porins allowing the diffusion of small compounds, including antibiotics. The terminal stages of peptidoglycan synthesis involve transpeptidases responsible for cross-linking the long polysaccharide chains of peptidoglycan by peptide bridges. These enzymes are sensitive to beta-lactam antibiotics. The number of such enzymes, penicillin-binding proteins (PBPs), differs from one organism to another, and may have different functions. Inhibition of the PBPs results in the cessation of cell growth (bacteriostasis), which in some organisms causes cell lysis resulting in cell death. Absence of autolytic enzymes or a changed autolytic system results in organisms being « tolerant » (able to survive) the normally bactericidal activity of beta-lactam antibiotics. Different resistance mechanisms other than production of beta-lactamases are associated with the cell wall itself. They involve changes in the characteristics of the PBPs (quantities, affinities), generally in Gram-positive bacteria, or of the porins (quantities) in Gram-negative organisms.

TIRÉS A PART

L. Gutmann : laboratoire de microbiologie médicale, hôpital Saint-Joseph, 7, rue Pierre-Larousse, 75674 Paris Cedex 14