

Dissémination de la résistance aux antibiotiques : le génie génétique à l'œuvre chez les bactéries

Paul H. Roy

L'émergence de la résistance bactérienne à de multiples antibiotiques nous conduit à parler de la « fin du miracle ». Plusieurs mécanismes de résistance ont été décrits parmi lesquels on trouve la dégradation enzymatique des antibiotiques, l'altération des cibles auxquelles se lient les antibiotiques et l'expulsion de l'antibiotique par la bactérie. L'accumulation de mutations ponctuelles peut altérer de façon significative l'enzyme ou sa cible: des β -lactamases (enzymes dégradant les pénicillines), mutées, peuvent désormais hydrolyser des céphalosporines de troisième génération. Les gènes de résistance, s'ils provenaient vraisemblablement autrefois des bactéries productrices d'antibiotiques, ont pu être acquis, plus récemment, par transfert horizontal par les bactéries pathogènes. Les transposons peuvent comporter des séquences de gènes de résistance, voire coder pour toute une voie métabolique entraînant la résistance. Récemment, on a décrit des éléments d'ADN, les intégrons, dans lesquels les gènes de résistance existent sous la forme de cassettes mobiles qui sont réarrangées par une sorte de génie génétique naturel et forment des opérons de résistance fortement exprimés.

ADRESSE

P.H. Roy : professeur titulaire au département de biochimie, Faculté des sciences et de génie, Université Laval et chercheur senior, Centre de recherche en infectiologie, CHUL (centre hospitalier de l'université Laval). Centre de recherche du centre hospitalier de l'université Laval et département de biochimie, Université Laval, 2705, boulevard Laurier, Sainte-Foy, Québec, G1V 4G2 Canada.

On a considéré la découverte et l'utilisation clinique des sulfamides puis de la pénicilline comme le « miracle » qui allait sonner le glas des maladies infectieuses d'origine bactérienne. Cependant, la riposte des bactéries a été sans équivoque : aujourd'hui, on parle de la « fin du miracle » ou encore de « l'apocalypse » car les antibiotiques deviennent souvent inefficaces en raison de la résistance bactérienne [1-3]. L'utilisation croissante des antibiotiques, non seulement en médecine humaine et vétérinaire mais aussi comme supplément alimentaire pour stimuler la croissance des animaux (application controversée), a contribué à la sélection de

bactéries résistantes aux antibiotiques. Les gènes de résistance que l'on retrouve aujourd'hui, s'ils n'ont pas toujours été présents chez les bactéries pathogènes, ne sont pas non plus nécessairement apparus *de novo* depuis l'ère des antibiotiques. Ces gènes proviennent plutôt des microbes producteurs d'antibiotiques ou de ceux qui cohabitent avec eux dans l'environnement. Ces gènes, qui ont évolué depuis des millions d'années, étaient prêts à être recrutés par des éléments génétiques mobiles et à être transférés chez des organismes ayant maintenant besoin des gènes de résistance pour survivre. Comme nous le verrons, les moyens naturels de dissémination de la résistance ressemblent parfois étrangement aux méthodes de génie génétique développées au laboratoire.

Les mécanismes de la résistance

Résistance à médiation enzymatique

Les bactéries produisent des enzymes qui altèrent chimiquement les antibiotiques et les rendent ainsi inactifs : c'est le cas des β -lactamases hydrolysant l'anneau β -lactame des pénicillines et des céphalosporines, mécanisme le plus répandu de résistance à la pénicilline [4]. D'autres enzymes inactivent des molécules d'antibiotiques en y ajoutant des groupements chimiques : par exemple, les aminosides peuvent être inactivés par phosphorylation, adénylylation ou acétylation [5]. Les chloramphénicol-acétyltransférases modifient le chloramphénicol pour le rendre inactif. La découverte récente d'une nouvelle classe de chloramphénicol-acétyltransférases [6, 7], sans aucune identité de séquence avec les précédentes est une démonstration probante d'évolution convergente. L'analyse de leurs séquences a conduit à la découverte d'acétyltransférases similaires, chez les bactéries Gram positif, modifiant une autre classe d'antibiotiques, les macrolides [8].

Altération de la cible

Des bactéries peuvent produire des protéines structurales ou des enzymes se substituant aux protéines qui sont les cibles normales des antibiotiques (figure 1). Citons comme exemple

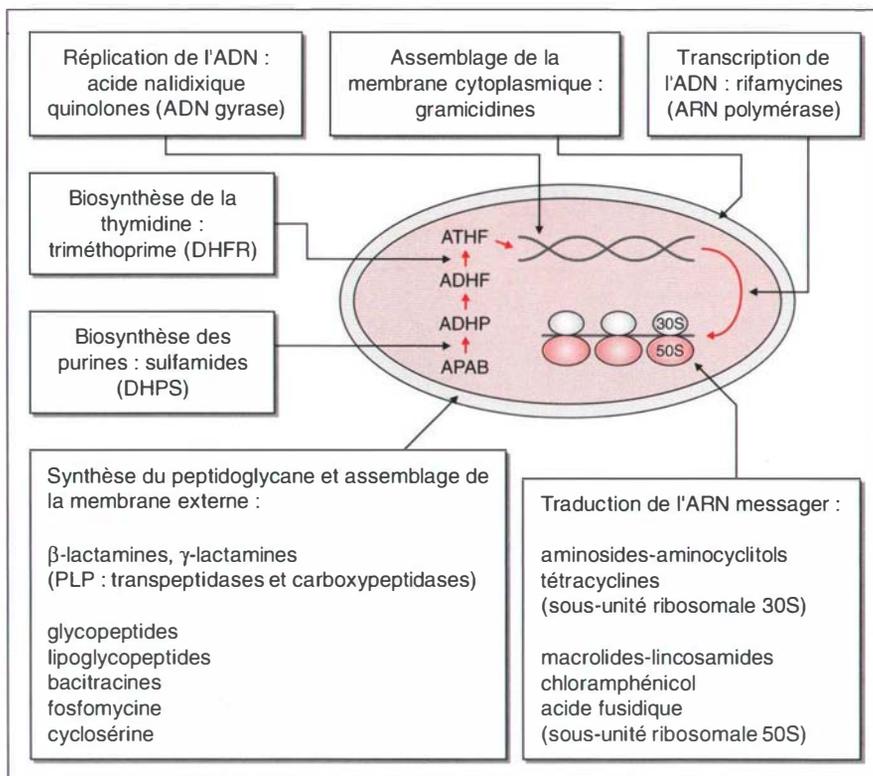


Figure 1. Divers agents antimicrobiens et leur action sur le métabolisme bactérien. Les cibles des molécules sont indiquées entre parenthèses. ADHF: acide dihydrofolique; ADHP: acide dihydroptéroïque; ATHF: acide tétrahydrofolique; APAB: acide para-aminobenzoïque; DHFR: dihydrofolate réductase; DHPS: dihydroptéroate synthase; PLP: protéines liant la pénicilline. (Adapté de Neu [31].)

l'altération de la PLP (protéine liant la pénicilline) produite par des staphylocoques résistants à la méthicilline. Ces protéines PLP mutées permettent aux bactéries de synthétiser normalement leurs parois cellulaires, même en présence d'antibiotiques de la classe des β -lactamines. Chez les staphylocoques, le gène de cette protéine PLP a probablement été acquis par transfert horizontal mais, chez les pneumocoques, la résistance à la pénicilline serait plutôt due à l'accumulation de mutations ponctuelles des gènes codant pour leurs PLP [9, 10]. D'autres résistances, plutôt des contournements de la cible que des altérations de celle-ci, sont dues à la synthèse d'une dihydrofolate-réductase résistante au triméthoprime et d'une dihydroptéroate-synthase résistante aux sulfamides [11].

Expulsion des antibiotiques

Les bactéries produisent souvent des protéines membranaires agissant comme pompes moléculaires per-

mettant d'expulser un antibiotique à l'extérieur de la cellule. C'est le mécanisme principal de la résistance à la tétracycline, chez les bactéries Gram positives et Gram négatives. Il existe aussi de telles pompes spécifiques de la résistance au chloramphénicol chez les bactéries Gram négatives et de la résistance aux quinolones chez les staphylocoques. D'autres pompes, comme le produit du gène *emrB* de *E. coli*, ont moins de spécificité de substrat et sont capables de transporter des antibiotiques variés. Ces pompes appartiennent à une grande famille de protéines transmembranaires incluant les transporteurs de sucres [12]; il est possible que les transporteurs d'antibiotiques aient évolué à partir des transporteurs de sucres.

Mutations des gènes de résistance

En raison de la pression de sélection continue imposée par l'utilisation

des antibiotiques, plusieurs mutations nouvelles peuvent s'établir dans une population bactérienne. Les β -lactamases à spectre élargi [4] sont capables d'hydrolyser les céphalosporines de troisième génération, telles que la ceftazidime, la céfotaxime et le ceftriaxone (Tableau I). Ces enzymes résultent de mutations ponctuelles des gènes de β -lactamases de type TEM-1 ou SHV-1, mutations qui altèrent la structure du site actif de l'enzyme permettant ainsi l'hydrolyse de nouveaux substrats. Contrairement à l'évolution des gènes complets, ces mutations ponctuelles sont récentes. Avec l'acquisition de leur capacité d'hydrolyser les céphalosporines de troisième génération, les β -lactamases à spectre élargi perdent un peu de leur efficacité vis-à-vis des pénicillines : c'est pourquoi ces mutations n'ont pu s'établir de façon stable avant l'ère des antibiotiques.

Un autre cas d'évolution récente par mutation ponctuelle est celui des β -lactamases IRT (*inhibitor resistant TEM*) [13] résistantes aux inhibiteurs de β -lactamases. Ces composés sont utilisés depuis quelques années en combinaison avec des pénicillines pour préserver l'efficacité des pénicillines même vis-à-vis des bactéries productrices de β -lactamases. Leur efficacité est maintenant compromise.

Une multiplicité de protéines sont impliquées dans la résistance aux aminosides, chacune ayant sa propre spécificité vis-à-vis des divers antibiotiques de cette famille. Des mutations ponctuelles peuvent contribuer à l'évolution de ces enzymes. Les aminosides-6'-acétyltransférases AAC(6')-Ib et AAC(6')-II diffèrent par plusieurs acides aminés; cependant, le changement d'un seul acide aminé détermine la préférence de AAC(6')-Ib pour l'amikacine comme substrat, et de AAC(6')-II pour la gentamicine [5].

On croyait, à tort, qu'avec l'utilisation des quinolones ayant pour cible l'ADN-gyrase, enzyme-clé de la réplication de l'ADN, le développement de la résistance serait pratiquement impossible. Cependant, des mutants d'ADN-gyrases toujours fonctionnels mais résistants aux quinolones sont décrits avec une fréquence inquiétante dans de nombreuses espèces bactériennes. Ces mutations ponctuelles, rendant l'ADN-gyrase insen-

Tableau I
EXEMPLES DE MUTATIONS PONCTUELLES
AFFECTANT LA SPÉCIFICITÉ DES ENZYMES DE RÉSISTANCE

Gène	Acide aminé	Commentaire	Références
<i>bla</i> (TEM-3)	E104K + G238S	Résistance à la ceftazidime et à la céfotaxime	[32]
<i>bla</i> (TEM-12)	R164S	Résistance à la ceftazidime	[33]
<i>bla</i> (TEM-33)	M69L	Résistance aux inhibiteurs de la β -lactamase	[34]
<i>bla</i> (SHV-2)	G238S	Affecte la structure de la fente du site actif	[35]
<i>bla</i> (SHV-8)	D179N	Affecte la structure de la boucle oméga	[36]
<i>bla</i> (OXY-1)	*GATAGT → TATAGT	Résistance aux céphalosporines due à la surproduction de la β -lactamase	[37]
<i>aacA4</i>	L119S	Deviens sensible à l'amikacine mais en même temps résistante à la gentamicine	[5]
<i>gyrB</i>	S464T	Résistance aux quinolones	[38]

* Mutation dans le promoteur affectant la boîte - 10.

sible à l'action des quinolones, affectent tout de même l'activité de l'enzyme et les bactéries mutantes sont éliminées de la population bactérienne lorsque le traitement par l'antibiotique est terminé. Le gène reste au niveau du chromosome et ne se retrouve pas sur les plasmides puisque la surproduction de l'ADN-gyrase serait nuisible à la cellule. La dissémination de la résistance aux quinolones se fait donc par dissémination clonale des mutants ponctuels, ce qui peut entraîner des petites épidémies d'infections nosocomiales et communautaires.

La dissémination de la résistance

Plasmides

Les gènes de résistance aux antibiotiques peuvent être transmis d'une espèce à l'autre par des plasmides, éléments d'ADN extrachromosomiques capables de réplication indépendante du chromosome. Le mécanisme de réplication d'un plasmide donné détermine sa gamme de cellules-hôtes: quelques plasmides sont capables de se répliquer uniquement chez des bacilles entériques, d'autres uniquement chez les *Pseudomonas* alors que certains se retrouvent dans plusieurs espèces ou dans plusieurs genres. La plupart des plasmides

d'importance clinique sont conjuguatifs*. Ils possèdent des gènes pour les pili** et pour un mécanisme spécialisé de réplication de l'ADN. Les gènes de résistance peuvent s'associer aux plasmides, soit par le système de recombinaison homologue de la cellule, soit encore par des mécanismes spécialisés tels que les transposons et les intégrons. Une fois le gène de résistance présent sur le plasmide, il peut être transmis à toutes les espèces faisant partie de la gamme des cellules hôtes du plasmide.

Transposons

Les transposons sont des éléments mobiles d'ADN («gènes sauteurs») capables de se transférer entre un chromosome et un plasmide ou encore entre deux plasmides. Le transposon simple, Tn3 (figure 2) code pour un seul gène de résistance, celui de la β -lactamase TEM-1, ainsi que pour deux autres gènes

* La conjugaison bactérienne est le transfert génétique entre une bactérie mâle donatrice et une bactérie femelle réceptrice, par un pont cytoplasmique interbactérien ou par l'intermédiaire de pili sexuels. Les éléments génétiques ainsi transférés peuvent être chromosomiques ou extrachromosomiques, en particulier plasmidiques.

** Les pili sexuels sont des appendices filamenteux qui interviendraient dans la conjugaison bactérienne.

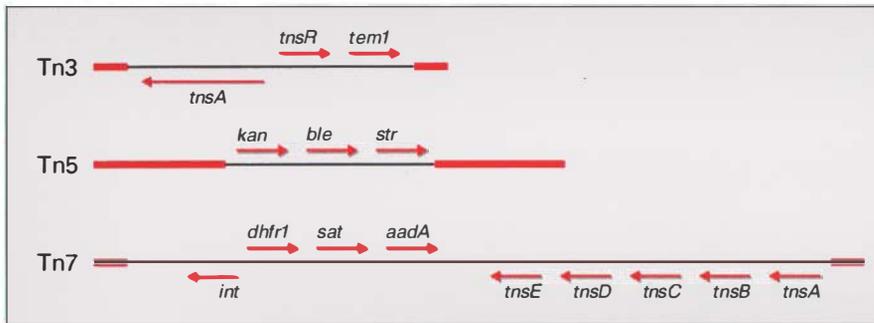


Figure 2. **Quelques transposons communs.** Le transposon Tn3 code pour la β -lactamase TEM-1. Le transposon Tn5 code pour la résistance à quelques vieux aminosides, tandis que la résistance aux aminosides plus récents (comme la gentamicine et l'amikacine) se trouve principalement dans les intégrons. kan, ble, str : gènes de résistance aux vieux aminosides, kanamycine, bléomycine, streptomycine. Le transposon Tn7 a été le donateur de la cassette dhfr1 (résistance au triméthoprim) qui se trouve maintenant dans un intégron en compagnie du gène sul1 codant pour la résistance aux sulfamides. int : gène de l'intégrase; sat : gène de la streptotricine acétyltransférase; aadA : gène de l'aminoside N-adénylyltransférase, conférant, respectivement, la résistance à la streptomycine et à la spectinomycine. Les gènes tns sont nécessaires à la transposition.

nécessaires à la transposition. Le gène *tem1* étant présent sur Tn3, la protéine TEM-1 est la β -lactamase la plus répandue chez les bactéries Gram négatifs. Les médecins ont dû apprendre à soigner malgré la résistance à la pénicilline (relayée par TEM-1), mais il ne faut pas perdre de vue que les gènes des β -lactamases à spectre élargi résident également sur ce transposon et risquent donc de se répandre aussi efficacement.

Un des meilleurs exemples de l'importance de la transposition dans la dissémination de la résistance est l'apparition, au début des années 1970, de la résistance des *Haemophilus* et *Neisseria* aux pénicillines [14]. Ces bactéries étaient auparavant uniformément sensibles aux pénicillines. Les souches de *H. ducreyi* résistantes à la pénicilline contiennent un plasmide portant le transposon Tn3 en entier. Ce plasmide serait dû à l'arrivée, probablement par transformation, d'un plasmide portant Tn3 en provenance d'une bactérie entérique. Le plasmide étant incapable de se répliquer chez *Haemophilus*, avant qu'il ne soit dégradé, Tn3 aurait transposé sur un plasmide cryptique endogène. *H. ducreyi* est donc l'intermédiaire probable dans la dissémination de TEM-1 puisqu'on y retrouve le plasmide portant le Tn3 complet, alors que chez *H. parainfluenzae* et *N. gonorrhoeae*, on retrouve

un plasmide ne contenant que 40 % de Tn3, c'est-à-dire un transposon délesté de son gène de transposase. On retrouve le même plasmide chez *H. ducreyi*. Ce « délestage » aurait donc eu lieu chez *H. ducreyi* avant le transfert de ce plasmide vers *H. parainfluenzae* et *N. gonorrhoeae*. Ces plasmides n'étant pas conjugatifs, les transferts ont probablement eu lieu par transformation. Par conséquent, le gène perdu de la transposase n'est pas indispensable. On peut facilement imaginer l'environnement des sites de ces transferts.

Si Tn3 ne porte qu'un seul gène de résistance, d'autres, tel Tn1546 trouvé chez les entérocoques, codent pour une voie métabolique complète conférant la résistance à la vancomycine. Le gène *vanA* code pour une enzyme qui, aux extrémités des pentapeptides de la paroi, interpose un D-Ala-D-lactate (résistant à la vancomycine) au lieu d'un D-Ala-D-Ala (sensible à la vancomycine). Le gène *vanA* est flanqué par le gène *vanH* qui code pour une déshydrogénase produisant le substrat de *vanA*, et par le gène *vanX* dont le produit hydrolyse le D-Ala-D-Ala. Ces trois gènes sont suivis de deux gènes auxiliaires, *vanY* (codant pour une DD-carboxypeptidase) et *vanZ* (impliqué dans la résistance à la téicoplanine). Si cet opéron était exprimé de façon constitutive, la paroi alternative serait syn-

thétisée en tout temps, ce qui n'est pas le cas ; de fait, l'opéron est sous le contrôle d'un « système à deux composants » codé par les gènes *vanR* et *vanS* induisant l'expression des autres gènes *van* en présence d'un stimulus extérieur, probablement la vancomycine elle-même. Tn1546 est donc un système très complexe qui permet à l'entérocoque de bâtir une paroi alternative résistante à la vancomycine, en réponse à la présence de l'antibiotique [15, 16].

Intégrons

Au cours des années 1980, nous avons trouvé que plusieurs gènes de résistance différents étaient regroupés sur des plasmides faisant souvent partie des transposons apparentés à Tn21. Des études par cartographie avec des enzymes de restriction et par microscopie électronique des hétéroduplex entre deux transposons apparentés, ont permis de voir que ces éléments ne différaient souvent que par une région d'ADN de la taille d'un gène. Des études ultérieures de séquençage ont montré que plusieurs gènes codant, par exemple, pour des β -lactamases, des gènes de résistance aux aminosides, des dihydrofolate-réductases résistantes au triméthoprim et des résistances au chloramphénicol, possèdent en effet tous des cassettes ayant à leur extrémité 3' une courte séquence palindromique [17-20]. Ces cassettes sont toutes intégrées, seules ou en tandem avec d'autres cassettes, à un site spécifique situé entre deux régions conservées. L'une de ces régions code pour une intégrase similaire aux intégrases des bactériophages lysogènes comme λ [21], l'autre contient deux gènes de résistance, l'un pour les antiseptiques et l'autre pour les sulfamides.

Maintenant, on appelle ces éléments des intégrons [22, 23] (figure 3), qui sont en quelque sorte le génie génétique effectué par la bactérie. L'excision et l'intégration des cassettes, par un mécanisme de recombinaison spécifique de site relayé par l'intégrase, ont été démontrées et la cartographie par PCR a permis de trouver de nouveaux arrangements de cassettes [24]. Les cassettes sont exprimées ensemble comme opéron à partir de deux promoteurs localisés juste

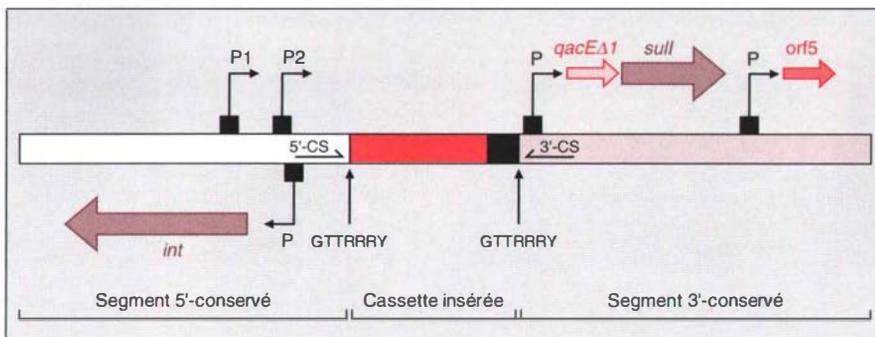


Figure 3. **Structure générale des intégrons.** Les flèches indiquent la direction de la transcription. L'emplacement et l'orientation des promoteurs sont indiqués. Les séquences GTTRRY indiquent les points de crossing-over pour l'intégration spécifique de site des cassettes. Les courtes flèches 5'-CS et 3'-CS indiquent les oligonucléotides utilisés pour la cartographie des intégrons par PCR. On indique ici une cassette insérée avec sa séquence palindromique en aval; il peut y avoir plusieurs cassettes intégrées en tandem. *qacEΔ1*: résistance aux composés aminés quaternaires (faible, gène tronqué).

en amont du site d'intégration des cassettes. L'analyse de ces promoteurs a révélé que l'intégron est en effet un vecteur d'expression naturel; certaines versions des promoteurs de l'intégron sont plus fortes que le promoteur *tac* souvent utilisé dans les vecteurs d'expression du laboratoire [25]. Quant aux gènes inclus dans les cassettes, l'analyse de leur utilisation de codons permet de déterminer leurs origines diverses. Aucun de ces gènes n'a encore été trouvé dans son contexte « originel » chromosomique. La façon dont un gène s'associe pour la première fois à sa séquence palindromique pour former une cassette reste inconnue.

Les plasmides portant les intégrons se retrouvent chez les entérobactéries et les pseudomonades. Non seulement les intégrons accumulent les cassettes de résistance, mais ce sont aussi des éléments mobiles [26]. Ils font parfois partie d'autres transposons, comme Tn21, mais ils se retrouvent aussi dans des plasmides de plusieurs groupes d'incompatibilité (correspondant aux gammes de cellules hôtes). Parmi les gènes de résistance cliniquement importants portés par les intégrons, notons la présence de gènes conférant la résistance aux aminosides tels que la gentamicine, la nétilmicine, la tobramycine et l'amikacine ainsi que les gènes de β-lactamases de type OXA- et CARB- et plusieurs gènes responsables de la résistance au triméthoprime. Parmi ces derniers, le gène *dhfrI* a été initialement trouvé dans

Tn7, qui possède un intégron différent de celui trouvé dans Tn21. La cassette de *dhfrI* a maintenant été retrouvée dans des intégrons en association avec le gène responsable de la résistance aux sulfamides [27]. Cette association *dhfrI-sul* trouvée chez des shigelles isolées au Sri Lanka, rend inutile la combinaison triméthoprime-sulfamide, thérapie efficace et peu coûteuse [11]. D'autres gènes *dhfr*, comme *dhfrXII* résistant à des concentrations élevées de triméthoprime, ont récemment été décrits. D'autres gènes associés pour la première fois aux intégrons incluent ceux d'une β-lactamase à spectre élargi (OXA-11) et d'une métallo-β-lactamase (*bla-IMP*) codant pour la résistance aux carbapénèmes [28].

Que nous réserve l'avenir ?

Il est, bien sûr, impossible de prévoir exactement la façon dont le problème de la résistance aux antibiotiques évoluera dans les prochaines années. Nous pouvons néanmoins tirer des leçons de l'évolution récente et considérer quelques scénarios plausibles à partir des mécanismes de dissémination connus.

Haemophilus et *Neisseria* résistantes aux céphalosporines de troisième génération

Nous savons comment les entérobactéries ont développé, par mutation ponctuelle, des β-lactamases à spectre

élargi. On peut se demander pourquoi *Haemophilus* et *Neisseria* produisent toujours la même β-lactamase, TEM-1, acquise dans les années 1970. Les ADN-polymérase de ces organismes sont-elles plus fidèles que celles d'*E. coli*, ou leurs systèmes de réparation d'ADN sont-ils plus efficaces ? Il n'y a aucune raison, *a priori*, pour que les mutations ponctuelles entraînant la production de β-lactamases TEM à spectre élargi ne se retrouvent pas chez *Haemophilus* et *Neisseria*. Il est même étonnant que cela n'ait pas encore été observé. Avec l'augmentation de la proportion de gonocoques résistants à la pénicilline, le traitement de premier choix des gonorrhées est maintenant la ceftriaxone, une céphalosporine de troisième génération. La pression de sélection est donc présente, et il faut trouver une alternative au cas où des bacilles *Haemophilus* ou *Neisseria* producteurs de β-lactamase à spectre élargi apparaîtraient. Il est peu probable que les anciens antibiotiques, comme la tétracycline, soient d'une grande utilité. En effet, son utilisation dans le tiers-monde est associée à une augmentation de la proportion de gonocoques résistants à la tétracycline.

Staphylocoques résistants à la vancomycine

Le transposon Tn1546 porte tous les gènes nécessaires à la synthèse d'une paroi « alternative » où les liens D-Ala-D-Ala sont remplacés par les D-Ala-D-lactates insensibles à l'action de la vancomycine. L'acquisition de ce mode de résistance est-il spécifique des entérocoques ? Probablement pas, car il a été montré que le plasmide portant ce transposon peut être introduit *in vitro* chez *S. aureus* et conférer la résistance à la vancomycine. Si ce transfert peut se produire *in vitro*, alors pourquoi pas *in vivo* ? Les conditions dans l'environnement sont loin d'être aussi idéales que dans le laboratoire, mais le passage du plasmide portant Tn1546 d'un entérocoque à un staphylocoque demeure possible. Même si le plasmide entier est incapable de se répliquer, le transposon pourrait se déplacer dans l'ADN chromosomique, par exemple au niveau de la région du gène *mec*, lieu de prédilection pour

l'insertion des séquences d'insertion et des transposons, comme Tn4001 codant pour la résistance aux aminosides [29]. Le développement de la résistance à la vancomycine chez les staphylocoques résistants à la méthicilline, pour lesquels la vancomycine est le seul antibiotique utile, pourrait alors nous ramener à l'ère préantibiotique.

D'autres scénarios sont plus difficiles à prévoir. On ne peut pas exclure l'arrivée d'une nouvelle résistance chez une espèce auparavant uniformément sensible. La leçon des *Haemophilus* et des *Neisseria* nous apprend que rien n'est impossible. Il est également difficile de prévoir quand et comment d'autres gènes chromosomiques (pas seulement des gènes de résistance – peut-être aussi les facteurs de virulence) seront recrutés par les intégrons. Les compagnies pharmaceutiques recherchent activement de nouvelles cibles, mais il y a très peu de développement de nouveaux antibiotiques et il n'y a pas de solution miracle à l'horizon. Il reste donc à utiliser prudemment un arsenal thérapeutique en diminution [30] ■

RÉFÉRENCES

- Davies J. Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. *Science* 1994; 264: 375-82.
- Cohen ML. Epidemiology of drug resistance: implications for a post-antimicrobial era. *Science* 1992; 257: 1050-5.
- Neu HC. The crisis in antibiotic resistance. *Science* 1992; 257: 1064-73.
- Jacoby GA. Extrachromosomal resistance in Gram-negative organisms: the evolution of β -lactamase. *Trends Microbiol* 1994; 2: 357-60.
- Shaw KJ, Rather PN, Hare RS, Miller GH. Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes. *Microbiol Rev* 1993; 57: 138-63.
- Tennigkeit J, Matzura H. Nucleotide sequence analysis of a chloramphenicol-resistance determinant from *Agrobacterium tumefaciens* and identification of its gene product. *Gene* 1991; 98: 113-6.
- Parent R, Roy PH. The chloramphenicol acetyltransferase gene of Tn2424: a new breed of cat. *J Bacteriol* 1992; 174: 2891-7.
- Allignet J, Loncle V, Simenel C, Delpierre M, El Solh N. Sequence of a staphylococcal gene, *vat*, encoding an acetyltransferase inactivating the A-type compounds of virginiamycin-like antibiotics. *Gene* 1993; 130: 91-8.
- Spratt BG. Resistance to antibiotics mediated by target alterations. *Science* 1994; 264: 388-93.
- Dowson CG, Coffey TJ, Spratt BG. Origin and molecular epidemiology of penicillin-binding-protein-mediated resistance to β -lactam antibiotics. *Trends Microbiol* 1994; 2: 361-6.
- Huovinen P, Sundström L, Swedberg G, Sköld O. Trimethoprim and sulfonamide resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 279-89.
- Nikaido H. Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and active efflux. *Science* 1994; 264: 382-8.
- Blazquez J, Baquero MR, Canton R, Alos I, Baquero F. Characterization of a new TEM-type β -lactamase resistant to clavulanate, sulbactam, and tazobactam in a clinical isolate of *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37: 2059-63.
- Brunton J, Meier M, Ehrman N, Clare D, Almay R. Origin of small β -lactamase plasmids in *Haemophilus* species and *Neisseria gonorrhoeae*. *J Bacteriol* 1986; 168: 374-9.
- Arthur M, Molinas C, Depardieu F, Courvalin P. Characterization of Tn1546, a Tn3-related transposon conferring glycopeptide resistance by synthesis of depsipeptide peptidoglycan precursors in *Enterococcus faecium* BM4147. *J Bacteriol* 1993; 175: 117-27.
- Shlaes DM, Rice LB. Bacterial resistance to the cyclic glycopeptides. *Trends Microbiol* 1994; 2: 385-8.
- Cameron FF, Groot Obbink DJ, Ackerman VP, Hall RM. Nucleotide sequence of the AAD(2^o) aminoglycoside adenyltransferase determinant *aadB*. Evolutionary relationship of this region with those surrounding *aadA* in R538-1 and *dhfrII* in R388. *Nucleic Acids Res* 1986; 14: 8625-35.
- Hall RM, Vockler C. The region of the IncN plasmid R46 coding for resistance to β -lactam antibiotics, streptomycin/spectinomycin and sulphonamides is closely related to antibiotic resistance segments found in IncW plasmids and in Tn21-like transposons. *Nucleic Acids Res* 1987; 15: 7491-501.
- Ouellette M, Bissonnette L, Roy PH. Precise insertion of antibiotic resistance determinants into Tn21-like transposons: nucleotide sequence of the OXA-1 β -lactamase gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 7378-82.
- Sundström L, Rådström P, Swedberg G, Sköld O. Site-specific recombination promotes linkage between trimethoprim and sulfonamide resistance genes. Sequence characterization of *dhfrV* and *sulfI* and a recombination active locus in Tn21. *Mol Gen Genet* 1988; 213: 191-201.
- Ouellette M, Roy PH. Homology of ORFs from Tn2603 and from R46 to site-specific recombinases. *Nucleic Acids Res* 1987; 15: 10055.
- Stokes HW, Hall RM. A novel family of potentially mobile DNA elements encoding site-specific gene-integration functions: integrons. *Mol Microbiol* 1989; 3: 1669-83.
- Bissonnette L, Roy PH. Characterization of In0 of *Pseudomonas aeruginosa* plasmid pVS1, an ancestor of integrons of multiresistance plasmids and transposons. *J Bacteriol* 1992; 174: 1248-57.
- Lévesque C, Piché L, Larose C, Roy PH. PCR mapping of integrons reveals several novel combinations of resistance genes. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 185-91.
- Lévesque C, Brassard S, Lapointe J, Roy PH. Diversity and relative strength of tandem promoters for the antibiotic-resistance genes of several integrons. *Gene* 1994; 142: 49-54.
- Rådström P, Sköld O, Swedberg G, Flensburg J, Roy PH, Sundström L. Transposon Tn5090 of plasmid R751, which carries an integron, is related to Tn7, Mu, and the retroelements. *J Bacteriol* 1994; 176: 3257-68.
- Sundström L, Sköld O. The *dhfrI* trimethoprim resistance gene can be found at specific sites in other genetic surroundings. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34: 642-50.
- Osano E, Arakawa Y, Wacharotayankun R, Ohta M, Horii T, Ito H, Yoshimura F, Kato N. Molecular characterization of an enterobacterial metallo β -lactamase found in a clinical isolate of *Serratia marcescens* that shows imipenem resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38: 71-8.
- Archer GL, Niemeyer DM. Origin and evolution of DNA associated with resistance to methicillin in staphylococci. *Trends Microbiol* 1994; 2: 343-7.
- Cohen ML. Antimicrobial resistance: prognosis for public health. *Trends Microbiol* 1994; 2: 422-5.
- Neu HC. The biochemical basis of antimicrobial and bacterial resistance. *Bull New York Acad Med* 1987; 63: 295-317.
- Sougakoff W, Goussard S, Courvalin P. The TEM-3 β -lactamase, which hydrolyzes broad-spectrum cephalosporins, is derived from the TEM-2 penicillinase by two amino acid substitutions. *FEMS Microbiol Lett* 1988; 56: 343-8.
- Chanal C, Siroit D, Malaure H, Poupard MC, Siroit J. Sequences of CAZ-3 and CTX-2 extended-spectrum β -lactamase genes. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38: 2452-3.
- Zhou XY, Bordon F, Siroit D, Kitzis MD, Gutmann L. Emergence of clinical isolates of *Escherichia coli* producing TEM-1 derivatives or an OXA-1 β -lactamase conferring resistance to β -lactamase inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38: 1085-9.

RÉFÉRENCES

35. Huletsky A, Couture F, Levesque RC. Nucleotide sequence and phylogeny of SHV-2 β -lactamase. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34: 1725-32.
36. Rasheed JK, Jay C, Metchock B, Berkowitz F, Weigel L, Crellin J, Steward C, Hill B, Medeiros AA, Tenover FC. Evolution of extended-spectrum β -lactam resistance (SHV-8) in a strain of *Escherichia coli* during multiple episodes of bacteremia. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41: 647-53.
37. Fournier B, Lagrange PH, Philippon A. β -lactamase gene promoters of 71 clinical strains of *Klebsiella oxytoca*. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40: 460-3.
38. Gensberg K, Jin YF, Piddock LJ. A novel *gyrB* mutation in a fluoroquinolone-resistant clinical isolate of *Salmonella typhimurium*. *FEMS Microbiol Lett* 1995; 132: 57-60.

TIRÉS À PART

P.H. Roy.

Summary

Dissemination of antibiotic resistance

While antibiotics have, for the past fifty years, been « miracle drugs », we are presently facing the « end of the miracle ». The increasing use of antibiotics has led to the selection of bacteria resistant to multiple antibiotics. Diverse mechanisms of resistance are found in resistant bacteria. Among these are enzymatic degradation or alteration of antibiotic molecules (e.g. β -lactamases and aminoglycoside modifying enzymes), altered targets (e.g. penicillin-binding proteins and dihydrofolate reductase), and drug efflux (e.g. of tetracycline). Often point mutations can drastically alter the enzyme or the target: β -lactamases become able to digest third-generation cephalosporins, dihydrofolate reductase becomes resistant to trimethoprim, and DNA gyrase becomes resistant to quinolones. Resistance genes have not always been present in common pathogenic bacteria, but have been evolving in antibiotic producing bacteria or in those cohabiting with them in the environment, and have recently been acquired by horizontal transfer. Many resistance genes are on conjugative plasmids of wide host range, often as part of transposons. Examples are the TEM β -lactamase, whose gene can mutate to yield resistance to third-generation cephalosporins, and vancomycin resistance in enterococci, where a complete metabolic pathway for an altered cell wall is encoded by a transposon. In addition, a novel DNA element called an integron has been described, in which individual resistance genes exist as mobile cassettes and are rearranged by site-specific recombination, in a sort of natural genetic engineering, to form strongly expressed multiresistance operons. Knowledge of the mechanisms of resistance gene evolution and dissemination and of antibiotic usage patterns leads to the prediction, in a more or less immediate future, of the emergence of vancomycin-resistant staphylococci, of multiresistant pneumococci, and of third-generation-cephalosporin-resistant *Haemophilus* and *Neisseria*, for which the medical community must be prepared.

GENATLAS en LIGNE

La base de données **GENATLAS** est maintenant accessible sur le Web, par l'intermédiaire du serveur INFOBIOGEN, à l'adresse suivante :

<http://www.infobiogen.fr>

GENATLAS collige les informations se rapportant à la cartographie des gènes, maladies et marqueurs. Des informations complémentaires sont fournies sur la catégorie à laquelle les gènes appartiennent, par exemple celle des facteurs de croissance, leur structure, leur polymorphisme et leur fonction, leur expression différentielle dans le temps et l'espace ou selon le parent transmetteur ainsi que sur les maladies qui leur sont associées.

Ces caractéristiques confèrent sa spécificité à **GENATLAS** avec, notamment, le fort accent qui est mis sur les maladies génétiques. Celles-ci sont classées selon l'organe, le tissu ou le système atteint. Outre les maladies mendéliennes, il s'agit des gènes de prédisposition à des caractères multifactoriels, des remaniements chromosomiques ou des points de cassure observés dans des anomalies congénitales constitutionnelles ou dans des affections malignes.

Les informations relatives aux gènes, maladies et marqueurs sont assorties de références, ainsi que d'informations sur les liaisons génétiques, de cartes et de données de cartographie comparée, ces dernières colligées par John H. Edwards. Enfin, **GENATLAS** est en interaction avec d'autres bases de données, comme la Location Data Base de Newton E. Morton, OMIM de V.A. McKusick, MEDLINE et les bases de séquences nucléotidiques.

Les personnes intéressées sont invitées à consulter, en ligne, l'introduction qui leur permettra de **mieux connaître GENATLAS**, et à faire connaître leurs avis et commentaires au Professeur Jean FRÉZAL, éditeur, à l'adresse suivante :

Pr Jean FRÉZAL, Service de Génétique Médicale, Hôpital des Enfants Malades, 149, rue de Sèvres, 75743 Paris Cedex 15, France. Tél. : 01 44 49 51 54 - Télécopie : 01 40 56 34 97 - E mail : frezalj@necker.fr

N.B. **GENATLAS** est aussi disponible, en versions PC et Macintosh, sur le CD-ROM :

GID, Genome Interactive Databases

GID regroupe **GENATLAS** et les bases de données du CEPH (index, lod, YACs), la base de données du GENETHON sur les microsatellites et la Location Data Base (LDB) de Newton E. Morton. Prochaine édition : septembre 1997.

Éditeur : John Libbey Eurotext, 127, avenue de la République, 92120 Montrouge, France. Tél. : 00 (0)1 46 73 06 60 - Fax : 00 (0)1 40 84 09 99