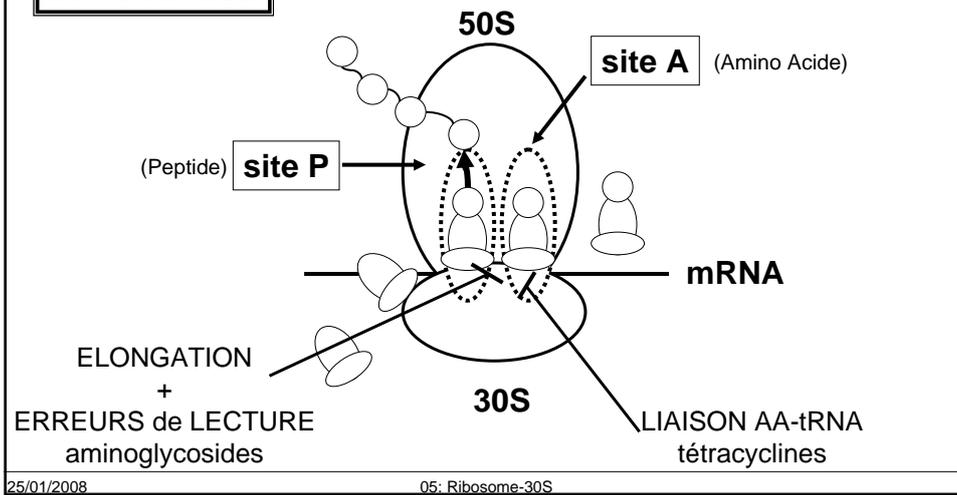


# Ribosome bactérien comme cible d'antibiotiques

**Antibiotiques  
actifs sur 30S**



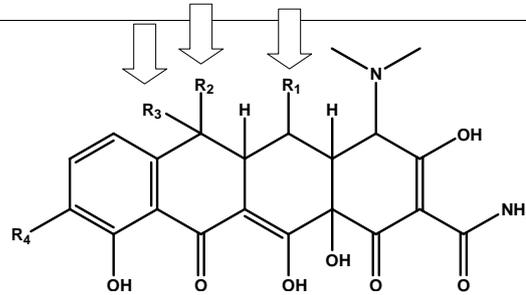
**TETRA- et GLYCYL-CYCLINES**

25/01/2008

05: Ribosome-30S

2

## Structure chimique des tétracyclines



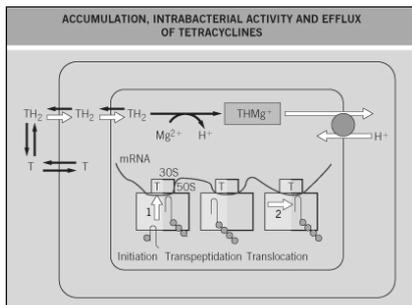
molécule	-R <sub>4</sub>	-R <sub>3</sub>	-R <sub>2</sub>	-R <sub>1</sub>
tétracycline	-H	-OH	-H	-H
doxycycline	-H	-CH <sub>3</sub>	-H	-OH
minocycline	-H	-H	-N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-CH <sub>3</sub>

25/01/2008

05: Ribosome-30S

3

## Mode d'action



© Elsevier 2004. Infectious Diseases 2e - www.idreference.com

- pénétration dans la bactérie
- piégeage sous forme de sel de Mg<sup>2+</sup> (substrat des pompes à efflux)
- inhibition de la synthèse protéique
  - liaison à l'unité 30S
  - prévention de l'accès du AA-tRNA au site A

### Action peu spécifique

Capacité d'interaction également avec les ribosomes de parasites et de cellules eucaryotes dans une moindre mesure

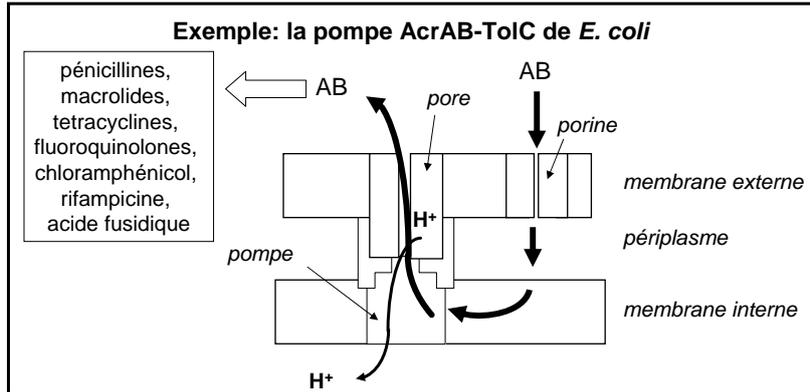
25/01/2008

05: Ribosome-30S

4

## Mécanismes de résistance

- défaut de concentration dans la bactérie
  - diminution de l'activité du transporteur d'entrée
  - efflux actif
    - Pompes Tet à tétracyclines chez les Gram(+) et les Gram(-)
    - Pompes à large spectre chez les Gram(-): Résistances croisées



25/01/2008

05: Ribosome-30S

5

## L'efflux des tétracyclines: démonstration

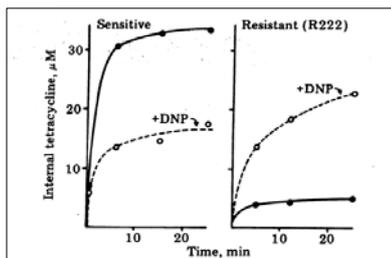


FIG. 1. Tetracycline uptake by *E. coli* ML308-225 (sensitive) and by R222-containing induced (resistant) cells with (O) and without (●) 1 mM DNP. Cells were grown overnight in medium A containing glucose and uptake was measured in the absence of added energy source.

← Whole bacteria

Everted membranes →

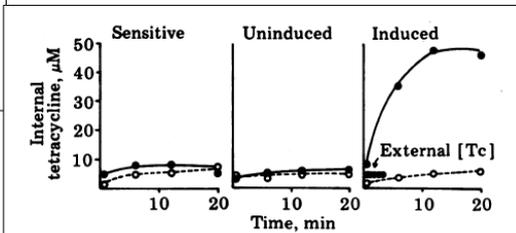


FIG. 2. Tetracycline (Tc) uptake by everted membrane vesicles made from sensitive ML308-225 cells and from uninduced and induced R222-containing cells. O, No energy; ●, D-lactate. Cells were grown in glycerol and vesicles were frozen in 5 mM Tris-HCl, pH 7.2/70 mM KCl/0.25 mM dithiothreitol/50% glycerol. The assay was done at pH 6.6.

McMurry et al., PNAS 1980; 77:3974-3977

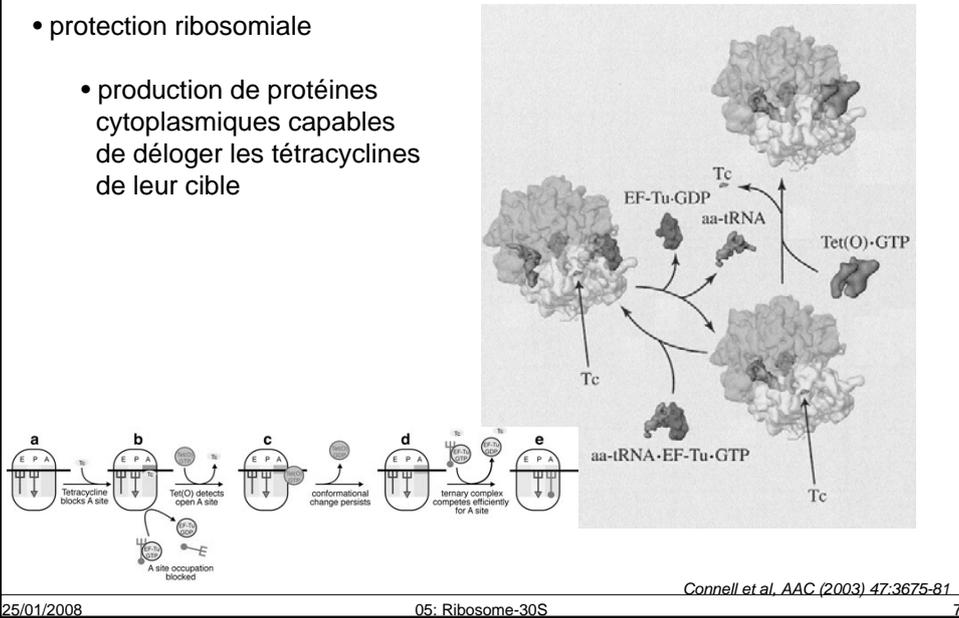
25/01/2008

05: Ribosome-30S

6

## Mécanismes de résistance

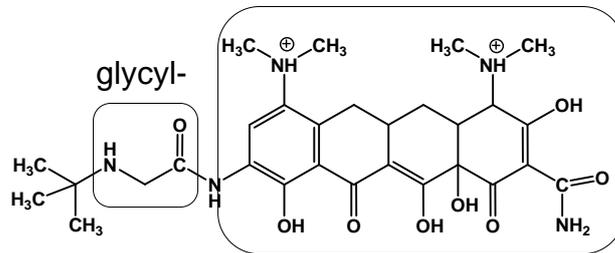
- protection ribosomiale
- production de protéines cytoplasmiques capables de déloger les tétracyclines de leur cible



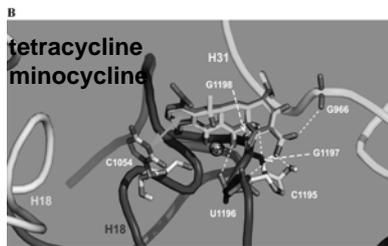
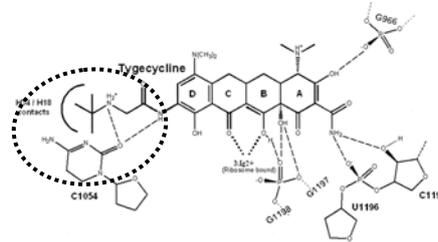
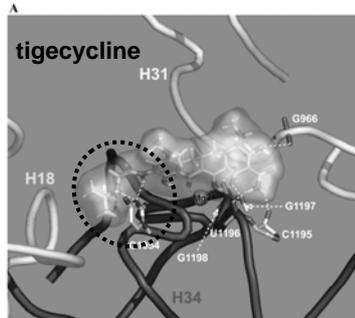
## Et les glycylicyline ?

tigécycline

minocycline



## glycylyclines : action et résistance



- Même site de liaison que les tétracyclines (16S RNA du ribosome) mais site d'interaction supplémentaire
- Non affecté par la résistance due à
  - protection ribosomale
  - pompes à efflux spécifiques aux tétracyclines (Tet), mais reste sensible aux pompes à efflux large spectre (MexXY de *P. aeruginosa*)

Olson *et al.*, AAC (2006) 50:2156-66

25/01/2008

05: Ribosome-30S

9

## Différences entre tétra- et glycylyclines: activité et résistance

espèce	Déterminant de résistance	tétracycline	minocycline	tigécycline
<i>E. coli</i>	sensible	1	1	0.25
	Efflux (Tet)	> 32	16	0.5
	Protection ribosomiale	> 32	> 32	0.25
<i>S. aureus</i>	sensible	0.12	0.06	0.25
	Efflux (Tet)	> 32	0.25	0.5
	Protection ribosomiale	> 32	4	0.25

Petersen *et al* AAC (1999) 43:738-744

25/01/2008

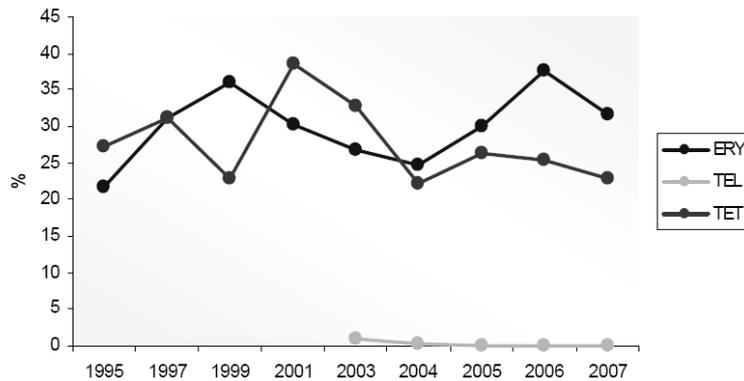
05: Ribosome-30S

10

## Epidémiologie de la résistance aux tétracyclines en Belgique

Evolution au cours des dernières années  
(souches non invasives de streptocoques)

### MLS+TET



Vanhoof et al, 2007; données de l'Institut Pasteur de Bxl

25/01/2008

05: Ribosome-30S

11

## Spectre d'activité et indications

- tétracyclines: spectre extrêmement large  
Gram-positifs, Gram négatifs, intracellulaires, anaérobies  
Activité intrinsèque minocycline et doxycycline >> tétracycline

Usage inconsideré, la plupart des bactéries sont devenues résistantes ...  
Quelques indications marginales restent acceptables :

- infections de la peau et des tissus mous:
  - acné : *Propionibacterium acnes*
  - maladie de Lyme : *Borrelia burgdorferi*
- infections respiratoires à germes intracellulaires :  
*Chlamydia, Mycoplasma*
- infections génitales :  
*Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, Treponema pallidum* (syphilis)
- Infections particulières  
*Rickettsia, amibes*

25/01/2008

05: Ribosome-30S

12

## Spectre d'activité et indications



- glycylicyclines: spectre très large  
Bactéries à Gram-positif,  
et Gram-négatif sauf *Pseudomonas aeruginosa*  
(résistance intrinsèque par efflux actif),  
anaérobies

Indications limitées pour éviter l'émergence de résistance;  
intérêt dans les infections polymicrobiennes :

infections compliquées de la peau et des tissus mous [Gram(+)]:  
*S. aureus* multirésistant, Streptocoques, *B. fragilis*, ...

infections intra-abdominales [Gram(-)] :  
*E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, entérocoques, *B. fragilis*, ...

25/01/2008

05: Ribosome-30S

13

## Pharmacocinétique



- Absorption      bonne biodisponibilité orale  
                    MAIS formation de complexes  
                    non résorbés avec les ions bivalents  
  
                    tigecycline disponible uniquement sous forme injectable  
                    (limitation au milieu hospitalier)
- Distribution    distribution large, sauf sans le SNC  
                    accumulation cellulaire  
                    fixation aux os et aux dents
- Elimination    métabolisme hépatique partiel  
                    élimination rénale pour la tigecycline  
                    t<sub>1/2</sub> environ 20h mino, doxy, tige

Interaction  
avec aliments  
et médicaments

indications intracell.

effets secondaires

Interactions médic.  
via CYP450

administration 1X/jour

25/01/2008

05: Ribosome-30S

14

## Tétra- et glycylo-cyclines: pharmacocinétique et posologie

	dose po	pic sérique (mg/l)	absorption (% de la dose)	liaison prot. (%)	t <sub>1/2</sub> (h)
oxytétracycline	250–500 mg 4x/jour	0.9	58	35	10
tétracycline	250–500 mg 4x/jour	2.2	77	65	6-8
minocycline	100-200 mg 1x/jour ou 100 mg 2x/jour	2.5	95	76	15
doxycycline	100-200 mg 1x/jour ou 100 mg 2x/jour	2.5	93	93	15-20
tigécycline	100 mg 1x/jour (IV)	1-1.5	--	70-90	27

25/01/2008

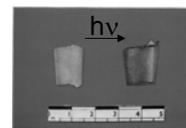
05: Ribosome-30S

15

## Effets secondaires



- effet photosensibilisant
- fixation aux os et aux dents (coloration jaune)  
→ contre-indiqué chez les enfants et les femmes enceintes
- adhérence oesophagienne et ulcération  
→ administration en position assise avec un grand verre d'eau
- rarement, toxicité hépatique ou rénale
- thrombophlébite lors de l'injection intra-veineuse



J Clin Pathol. (1962) 15:112–115.

25/01/2008

05: Ribosome-30S

16



## Interactions médicamenteuses

- Formation de complexes non résorbés avec les ions bi- ou tri-valents (calcium, magnésium, fer, zinc, bismuth)



Prendre à distance des aliments ou médicaments qui en contiennent

*Quelques exemples :  
antacides, sucralfate, didanosine, multivitamines...*

- métabolisme accru en présence d'inducteurs hépatiques

*Quelques exemples :  
carbamazépine, phénytoïne*

- risque d'hémorragie avec les anticoagulants oraux (réduction de la production de VitK par flore digestive)

- perte d'efficacité des contraceptifs oraux (réduction du métabolisme intestinal des conjugués aux oestrogènes)

25/01/2008

05: Ribosome-30S

17

## Conseils pharmacothérapeutiques lors de la délivrance d'une tétracycline

Prescription form details:  
- Prescriber: Dr. A. Dupont  
- Patient: Madame A.B.  
- Medication: R/ doxycycline dt 1 bte 10 co 100 mg  
- Frequency: S/ 1 co 2X/jour  
- Date: 20/08/2007

Prescription chez une femme de 25 ans

Indication potentielle: infection gonococcique

prise d'autres médicaments ?  
contraceptifs ?  
compléments alimentaires ?

matin et soir, avant le repas  
avec un grand verre d'eau  
en position assise

pas d'exposition au soleil



25/01/2008

05: Ribosome-30S

18

# AMINOGLYCOSIDES

## La streptomycine: découverte par S. Waksman en 1943 par criblage systématique...



*streptomyces griseus*



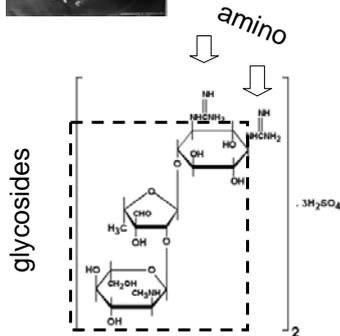
Waksman and Fleming ...



From the point of view of human benefit, never was a Nobel prize so justifiably awarded as was the award to Selman Waksman for the discovery of streptomycin and other antibiotics produced from *Streptomyces spp.* Waksman and his talented team (many of whom went on to make important antibiotic discoveries in their own right) developed the concept of **systematic screening** of microbial culture products for biological activity, a technology which has provided the foundation of the antibiotic industry, and for this alone his name should rank high in any pantheon of microbiology.

J. Davies: *In Praise of Antibiotics*, ASM News  
<http://www.asm.org/memory/asmnews/may99/feature6.html>

## Streptomycine: propriétés générales



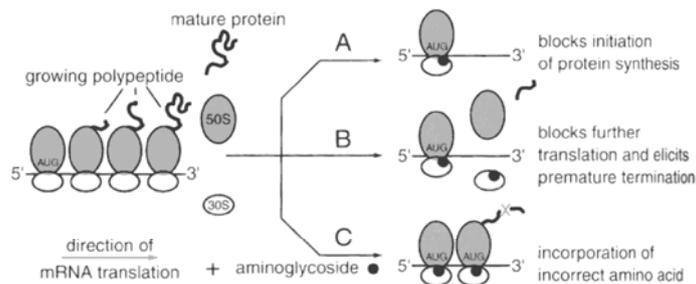
- spectre large incluant les Gram (+) et les Gram (-) et le bacille de la tuberculose
- agit en se liant à l'unité 30 S du ribosome et inhibe la synthèse protéique tout en causant des erreurs de lecture de de l'ARNm, donnant naissance à des protéines anormales et/ou tronquées
- fortement bactéricide de façon concentration-dépendante
- mais a donné lieu rapidement à des émergences de résistance (principalement par mutation ribosomiale) et cause de l'ototoxicité (dihydrostreptomycine surtout)
- utilisée rarement aujourd'hui sauf pour la tuberculose, la tularémie, la peste, et certaines endocardites

25/01/2008

05: Ribosome-30S

21

## Mode d'action



### Effects of aminoglycosides on protein synthesis.

A. Aminoglycoside (represented by closed circles) binds to the 30 S ribosomal subunit and interferes with initiation of protein synthesis by fixing the 30 S-50 S ribosomal complex at the start codon (AUG) of mRNA. As 30 S-50 S complexes downstream complete translation of mRNA and detach, the abnormal initiation complexes, so-called streptomycin monosomes, accumulate, blocking further translation of message. Aminoglycoside binding to the 30 S subunit also causes mis-reading of mRNA, leading to B, premature termination of translation with detachment of the ribosomal complex and incompletely synthesized protein, or C, incorporation of incorrect amino acids (indicated by the "X"), resulting in the production of abnormal or nonfunctional proteins.

Goodman & Gilman's, 10th ed. p 1222

25/01/2008

05: Ribosome-30S

22

## Comment les aminoglycosides induisent-ils des erreurs de lecture ?

**contrôle**

déformation énergie-dépendante (GTP)

et protrusion de A1492 et A1493 uniquement si l'appariement mRNA-tRNA est correct

tRNA complémentaire

ASL

mRNA

le code est confirmé !!

---

**en présence d'un aminoglycoside**

la liaison de l'aminoglycoside induit la même déformation et la protrusion de A1492 et A1493 sans besoin d'énergie

l'appariement sera toujours considéré comme correct

ASL

mRNA

le code sera "confirmé" mais l'appariement ne sera pas nécessairement correct (erreur sur le tRNA...)

**Perturbation du système de vérification du code génétique au niveau de la synthèse protéique ...**

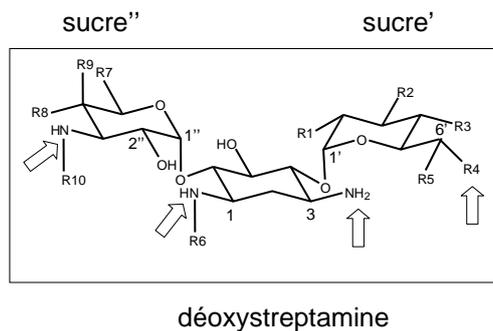
*J. M. Ogle et al., Science (2001) 292, 897-902*

25/01/2008

05: Ribosome-30S

23

## Logique du développement à partir des années '60

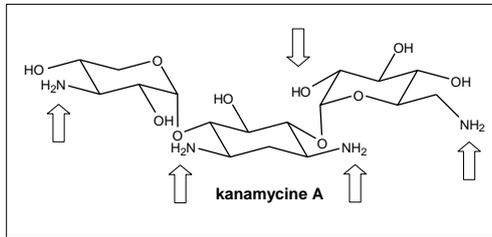


25/01/2008

05: Ribosome-30S

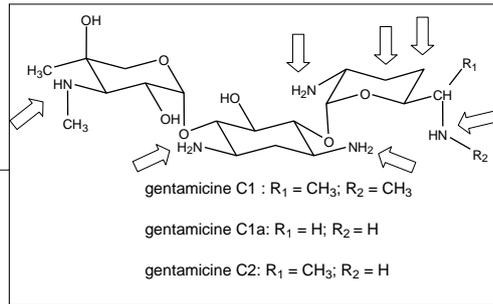
24

## Logique du développement à partir des années '60



- activité raisonnable sur les Gram (-)  
SM-résistants
- toxicité modérée
- succès clinique important (1960-1980),

grand succès clinique  
depuis 1965 !!  
"gentamicine" ...

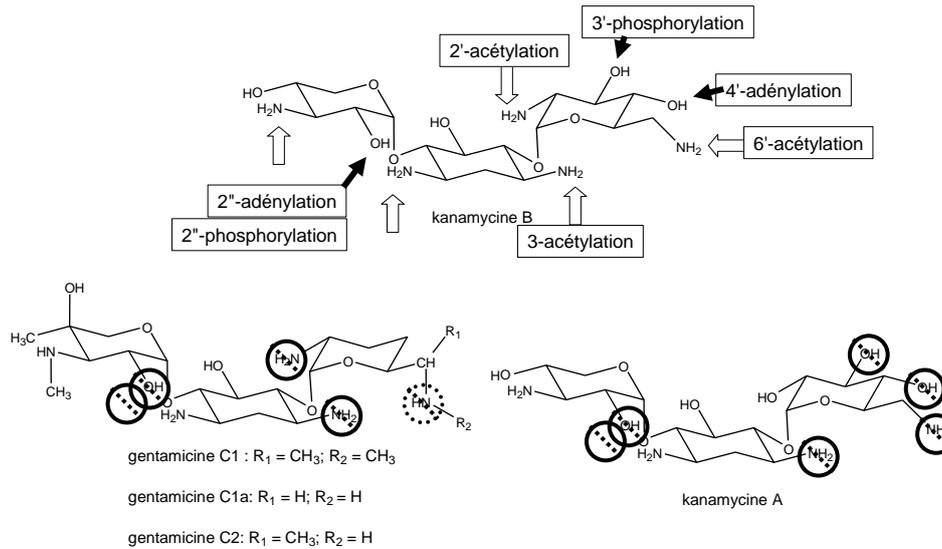


25/01/2008

05: Ribosome-30S

25

## Mais ... émergence rapide de résistance par inactivation enzymatique...



25/01/2008

05: Ribosome-30S

26

### L'évolution...

- plus active que la kanamycine A
- toxique ...

kanamycine B

- (un peu) à moins toxique
- active sur les souches product. de 3'phosphotransférase (rares)
- plus active sur *Pseudomonas*
- ➔ gros succès clinique (1975-1995)

tobramycine

- (un peu) plus toxique
- active sur les souches product. de 3' phospho- et 4'adénylyl transférases (rares)
- MAIS pas d'avantage sur *Pseudomonas*
- moins active sur *Serratia*
- ➔ très faible succès clinique (1975-1995)

dibekacine

25/01/2008
05: Ribosome-30S
27

### L'évolution...

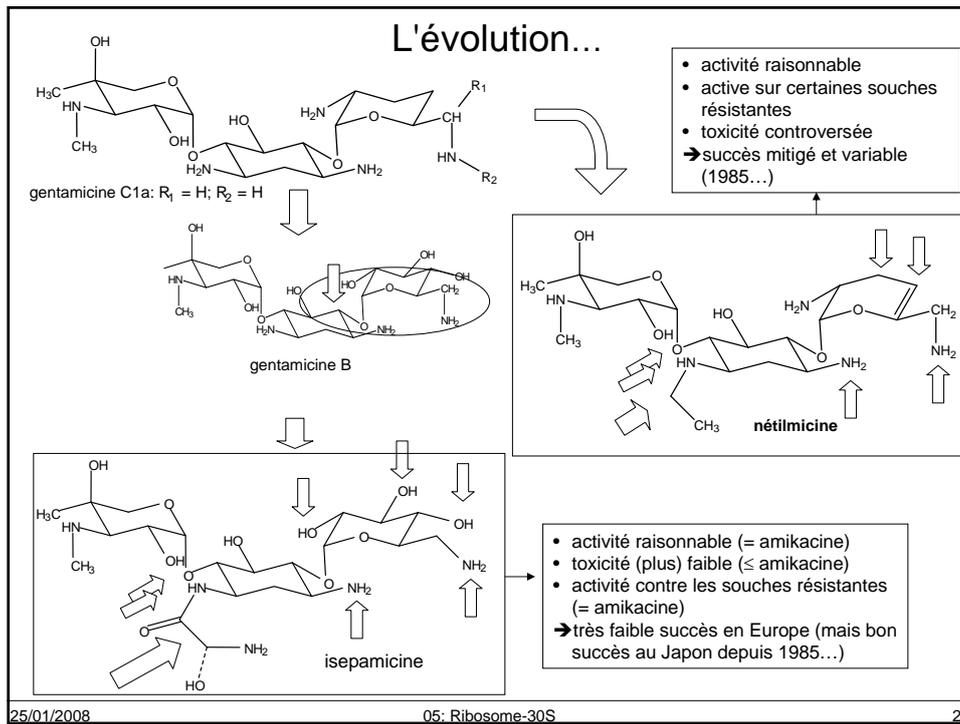
kanamycine A

- activité raisonnable
- toxicité modérée

amikacine

- activité raisonnable
- toxicité (plus) faible
- activité souches résistantes (2', 3; fréquentes) et insensible en 2' (fréquent)
- ➔ très grand succès clinique depuis les années 85

25/01/2008
05: Ribosome-30S
28



### Mécanismes de résistance

- inactivation enzymatique  
phosphorylation et adenylation des hydroxyles  
acétylation des amines
- imperméabilisation  
réduction de pénétration chez les staphylocoques  
efflux actif chez *Pseudomonas*  
(résistance croisée avec fluoroquinolones et certaines céphalosporines)
- modification de la cible par méthylation  
méthylases plasmidiques chez les entérobactéries,  
risque de dissémination rapide !

25/01/2008 05: Ribosome-30S 30

## Spectre d'activité

- bactéries à Gram-positif  
essentiellement, staphylocoques et entérocoques
- principalement, bactéries à Gram-négatif  
y compris *Pseudomonas* et entérobactéries
- inactifs sur les anaérobies  
entrée dans la bactérie médiée par un transporteur oxygène-dépendant

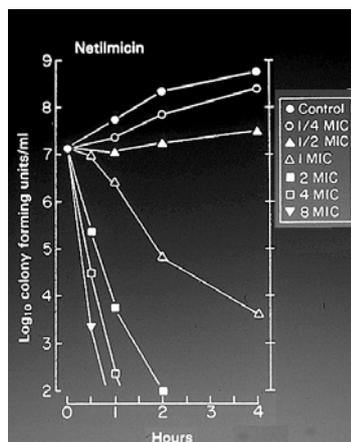
25/01/2008

05: Ribosome-30S

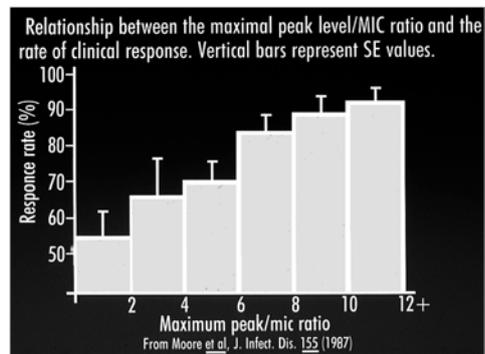
31

## Pharmacodynamie

antibiotiques concentration-dépendants: optimiser le rapport PIC/CMI (> 8) !



in vitro data – Craig et al. , 1992



clinical data

25/01/2008

05: Ribosome-30S

32

## Pharmacocinétique



- Absorption nulle par voie orale (molécules polaires!)  
administration iv de préférence à im
- Distribution dans les fluides extracellulaires ( $V_d \sim 0.2 \text{ L/kg}$ )  
(non diffusibles à travers les membranes)  
accumulation de 5 % de la dose dans le rein et l'oreille)
- Elimination par voie rénale; pas de métabolisation

Pharmacodynamie !

Toxicité !

25/01/2008

05: Ribosome-30S

33



## Interactions médicamenteuses

- médicaments qui augmentent le risque de blocage neuromusculaire:  
curarisants
- médicaments qui favorisent le développement de la toxicité:  
diurétiques  
médicaments néphrotoxiques,  
dont plusieurs anti-infectieux susceptibles d'être coadministrés  
(vancomycine, céphaloridine, amphotéricine, adéfovir, ... )
- médicaments présentant une incompatibilité chimique ;  
→ ne pas administrer dans la même solution de perfusion  
héparine,  $\beta$ -lactames (et autres substances anioniques).

25/01/2008

05: Ribosome-30S

34

## Indications des aminoglycosides



- premier choix : infections sévères à Gram(-) en milieu hospitalier

*Quelques exemples :*

*pneumonie nosocomiale, infections abdominales ou pelviennes*

- en association:

- +  $\beta$ -lactame (combinaison synergique): endocardite à entérocoque
- en trithérapie: tuberculose

- administration non parentérale:

- usage topique (collyre, gouttes auditives)
- voie orale: décontamination digestive



**Toxicité auditive !**

**Pas de goutte otique  
contenant ces médicaments  
sans avis médical!**

25/01/2008

05: Ribosome-30S

35

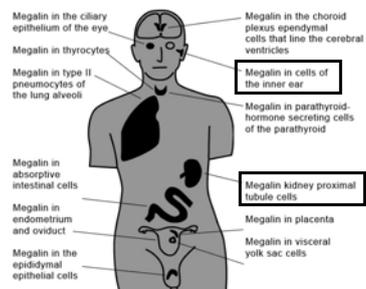
## Effets secondaires

- blocage neuro-musculaire (compétition avec le  $\text{Ca}^{2+}$  dans les plaques motrices)  
→ injection lente (perfusion sur 30 minutes)

- toxicité rénale et auditive (organes où l'accumulation est préférentielle)

### Capture par endocytose

- adsorptive (PL acides)
- récepteur-médiée (mégaline;  
récepteur aux composés polybasiques)



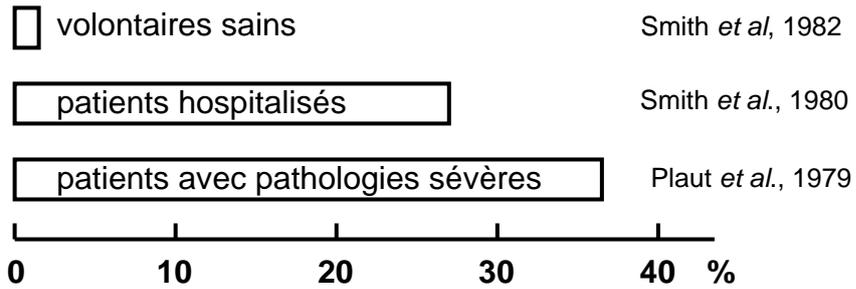
25/01/2008

05: Ribosome-30S

36

## Aminoglycosides et toxicité ...

Patients développant une néphrotoxicité  
lors d'un traitement aux aminoglycosides :

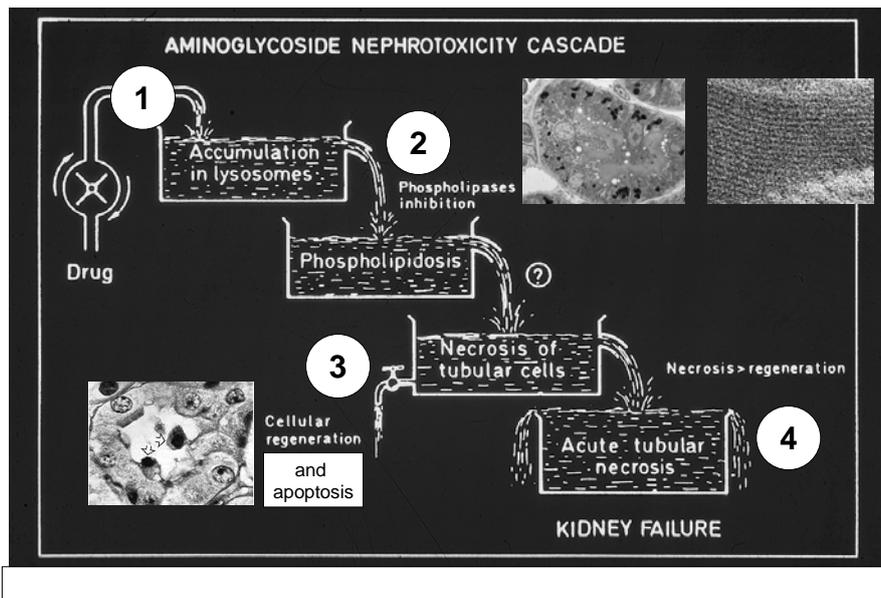


25/01/2008

05: Ribosome-30S

37

## Mécanismes de la néphrotoxicité ...



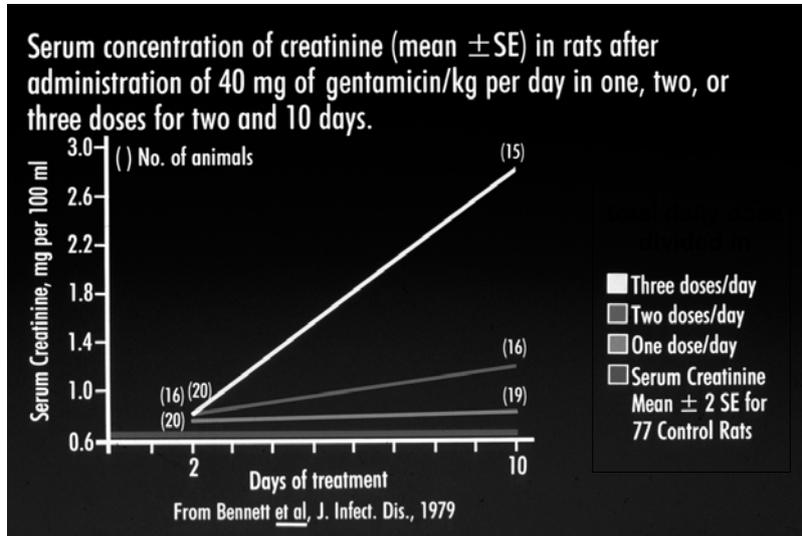
Tulkens, *Am. J. Med.* (1986) 80(6B): 105-114

25/01/2008

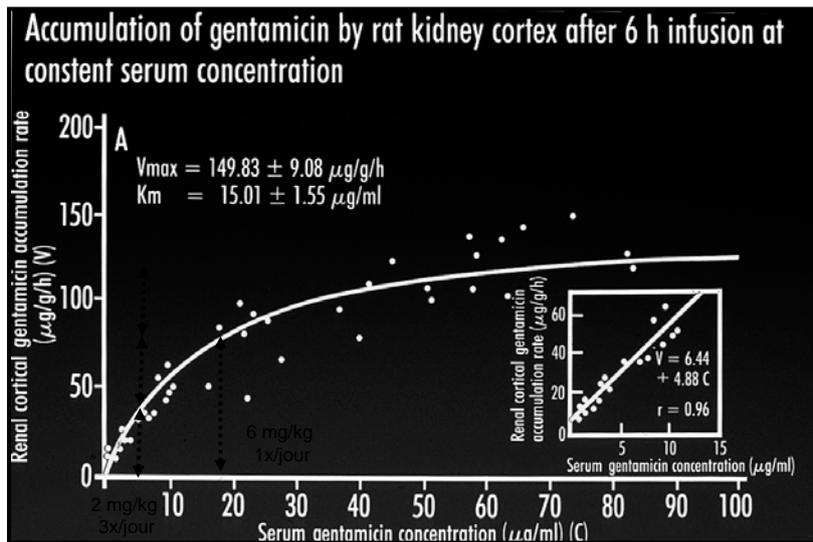
05: Ribosome-30S

38

La néphrotoxicité n'est pas liée au pic ...

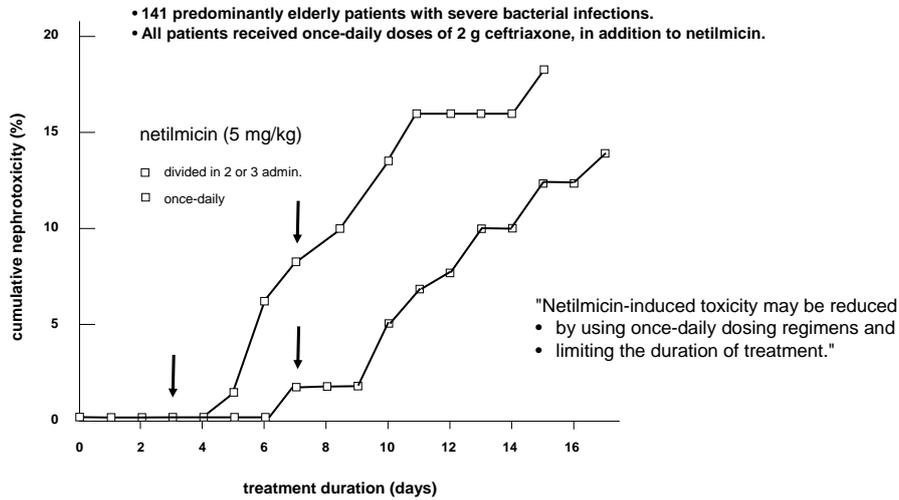


... car la capture des aminoglycosides par le rein est saturable ...



\* Giuliano et al., (1986) J. Pharm. Exp. Ther

## Néphrotoxicité et schéma d'administration en clinique : l'exemple de la nétilmicine ...



ter Braakj et al., Am J Med. 1990 Jul;89(1):58-66.

25/01/2008

05: Ribosome-30S

41

## L'ototoxicité n'est pas davantage liée au pic ...

### Comparison of "once-daily" and a "divided dose" administration schemes on ototoxicity in young patients

no. of patients [over 20 in each group] with lesions\* and total no. of frequencies affected

	low tone (0.25-8 kHz)	high tone (10-18 kHz)
amikacin		
• q24h	1 (1)	3 (4)
• q12h	0	6 (6)
netilmicin		
• q24h	0	3 (7)
• q8h	2 (3)	8 (9)

\* loss of 15dB or more over baseline(max. loss recorded: 30 dB)

p < 001 by  $\chi^2$  analysis

J Antimicrob Chemother. (1991) 27 Suppl C:49-61.

25/01/2008

05: Ribosome-30S

42



## Schéma d'administration et posologie des aminoglycosides

efficacité ↗↗  
si pic élevé

toxicité ↘↘  
si pic élevé

1 x / jour

monitoring :  
pic ~ efficacité  
vallée ~ toxicité

.... même si la plupart des notices mentionnent encore un schéma d'administration fractionné ....

aminoglycoside	Dosage
gentamicine, tobramycine nétilmicine	3-6 mg/kg 1 x/jour
amikacine, isepamicine	15-25 mg/kg 1 x/jour

25/01/2008

05: Ribosome-30S

43

## Un regard critique sur les notices ....



GEOMYCINE Injection (SCHERING-PLOUGH) | VII A 4

### Dénomination:

GEOMYCINE® 80 mg/2 ml Ampoule  
GEOMYCINE® 80 mg/2 ml Vial  
GEOMYCINE® 80 mg/2 ml Disposable Syringe

### Composition:

Geomycine 80 mg/2 ml Ampoule et Geomycine 80 mg/2 ml Vial et Geomycine 80 mg/2 ml Disposable Syringe.  
Gentamicin, sulfas (= gentamicin 80 000 U.I. (80 mg)) — Methyl-p-hydroxybenzoas — Propyl-p-hydroxybenzoas — Natr. bisulfurosum — Dinatr. edetas — Aqua ad iniectionem q.s. ad 2 ml.

### Posologie et mode d'emploi:

Le mode d'administration habituel de Geomycine est intramusculaire. L'administration intraveineuse peut également être utilisée.  
Il est conseillé de suivre les concentrations sériques durant le traitement, surtout chez les patients atteints d'insuffisance rénale.  
La posologie peut être adaptée suivant le résultat obtenu pour arriver à des concentrations efficaces mais pas trop élevées.  
Le pic sérique peut atteindre 6 µg/ml.  
Des pics sériques prolongés de 12 µg/ml doivent être évités.  
Pour la détermination du pic de concentration, les échantillons de sang seront prélevés une heure après l'administration IM. Pour l'administration IV, le temps de prise de l'échantillon dépend de la vitesse de la perfusion.  
On recommande de prélever un échantillon de sang 30 min après une perfusion de 30 min ou bien à la fin d'une perfusion d'1 heure.  
On évitera d'administrer la dose suivante, lorsque la concentration sérique résiduelle est supérieure à 2 µg/ml.  
**ADMINISTRATION IM.**  
En présence d'une fonction rénale normale.  
Chez l'adulte.  
En cas d'infections sévères une dose de 3 mg/kg/jour, répartie en trois doses égales toutes les 8 heures, est recommandée.  
Un schéma de posologie simplifié pourra être:  
pour les patients de plus de 60 kg: 80 mg, 3 x par jour,  
pour les patients de 60 kg et moins de 60 kg: 60 mg, 3 x par jour.  
En cas d'infections létales, des doses pouvant aller jusque 5 mg/kg/jour seront administrées. Cette dose sera ramenée à 3 mg/kg/jour si l'évolution de la maladie le permet.

### Dernière mise à jour de la notice:

28.04.2003



pic IM << pic IV



PIC / CMI > 8  
→ CMI critique = 0.5

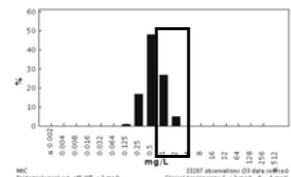


efficacité ↘  
toxicité ↗



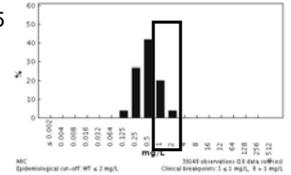
la science avance ...

Gentamicin / Escherichia coli  
Antimicrobial wild type distributions of microorganisms - reference database  
EUCAST



et ces germes -là ?

Gentamicin / Staphylococcus aureus  
Antimicrobial wild type distributions of microorganisms - reference database  
EUCAST

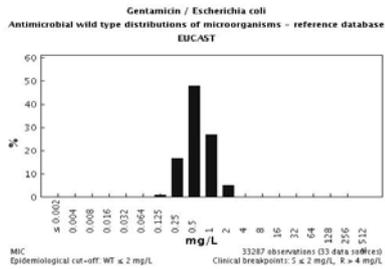


25/01/2008

05: Ribosome-30S

44

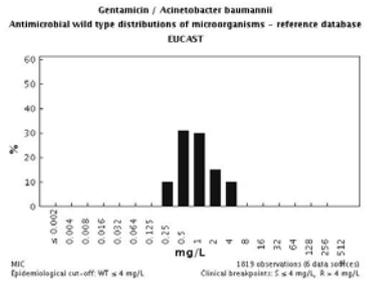
# Un regard critique sur les notices .....



Dose adéquate ?

$$\text{CMI} = 2 \rightarrow \text{PIC} = 2 \times 8 = 16 \text{ mg/L}$$

$$\begin{aligned} \text{Dose IV} &= \text{PIC} \times \text{Vd} \\ &= 16 \text{ mg/L} \times 0.2 \text{ L/kg} \\ &= 3 \text{ mg/kg } 1\text{x/jour} \end{aligned}$$



$$\text{CMI} = 4 \rightarrow \text{PIC} = 4 \times 8 = 32 \text{ mg/L}$$

$$\begin{aligned} \text{Dose IV} &= \text{PIC} \times \text{Vd} \\ &= 32 \text{ mg/L} \times 0.2 \text{ L/kg} \\ &= 6 \text{ mg/kg } 1\text{x/jour} \end{aligned}$$