Effets de concentrations subinhibitrices d'antibiotiques sur les bactéries

Maxime Lenclen

▶ **To cite this version:**

Maxime Lenclen. Effets de concentrations subinhibitrices d'antibiotiques sur les bactéries. Sciences pharmaceutiques. 2018. hal-03297568

HAL Id: hal-03297568
https://hal.univ-lorraine.fr/hal-03297568

Submitted on 23 Jul 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ DE LORRAINE

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

UNIVERSITE DE LORRAINE
2018

FACULTE DE PHARMACIE

T H E S E

Présentée et soutenue publiquement

Le JEUDI 12 JUILLET 2018, sur un sujet dédié à :

EFFETS DE CONCENTRATIONS SUBINHIBITRICES D'ANTIBIOTIQUES SUR LES BACTÉRIES

pour obtenir

le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

par MAXIME LENCLEN

né(e) le 20 FÉVRIER 1989

Membres du Jury

Président : M. Frédéric JORAND, Professeur

Juges : M. Xavier BELLANGER, Maitre de Conférences, Directeur de thèse
Mme Corentine ALAUZET, Maitre de Conférences des Universités, Praticien Hospitalier
M. Édouard COUROT, Pharmacien

UNIVERSITÉ DE LORRAINE
FACULTÉ DE PHARMACIE
Année universitaire 2017-2018

DOYEN
Francine PAULUS
Vice-Doyen/Directrice des études
Virginie PICHON
Conseil de la Pédagogie
Présidente, Brigitte LEININGER-MULLER
Vice-Présidente, Alexandrine LAMBERT
Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier
Présidente, Béatrice DEMORE
Commission Prospective Facultaire
Président, Christophe GANTZER
Vice-Président, Jean-Louis MERLIN
Commission de la Recherche
Président, Raphaël DUVAL

Responsables de la filière Officine	Caroline PERRIN-SARRADO Julien GRAFOULET
Responsables de la filière Industrie	Isabelle LARTAUD, Jean-Bernard REGNOUF de VAINS
Responsables de la filière Hôpital	Béatrice DEMORE Marie SOCHA
Responsable Pharma Plus ENSIC	Jean-Bernard REGNOUF de VAINS
Responsable Pharma Plus ENSAIA	Raphaël DUVAL
Responsable Pharma Plus ENSGSI	Igor CLAROT
Responsable de la Communication	Marie-Paule SAUDER
Responsable de la Cellule de Formation Continue et individuelle	Béatrice FAIVRE
Responsable de la Commission d'agrément des maîtres de stage	François DUPUIS
Responsable ERASMUS	Mihayl VARBANOV

DOYENS HONORAIRES

Chantal FINANCE
Claude VIGNERON

PROFESSEURS EMERITES

Jeffrey ATKINSON
Jean-Claude BLOCK
Max HENRY
Alain MARSURA
Claude VIGNERON

PROFESSEURS HONORAIRES

Pierre DIXNEUF
Chantal FINANCE
Marie-Madeleine GALTEAU
Thérèse GIRARD
Michel JACQUE
Pierre LABRUDE

MAITRES DE CONFERENCES HONORAIRES

Monique ALBERT
Mariette BEAUD
Gérald CATAU
Jean-Claude CHEVIN
Jocelyne COLLOMB
Bernard DANGIEN

Vincent LOPPINET
Alain NICOLAS
Janine SCHWARTZBROD
Louis SCHWARTZBROD

ASSISTANTS HONORAIRES

Marie-Catherine BERTHE
Annie PAVIS

Marie-Claude FUZELLIER
Françoise HINZELIN
Marie-Hélène LIVERTOUX
Bernard MIGNOT
Blandine MOREAU
Dominique NOTTER
Christine PERDICAKIS
Marie-France POCHON
Anne ROVEL
Gabriel TROCKLE
Maria WELLMAN-ROUSSEAU
Colette ZINUTTI

ENSEIGNANTS	*Section CNU**	*Discipline d'enseignement*

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

Danièle BENSOUSSAN-LEJZEROWICZ	*82*	*Thérapie cellulaire*
Jean-Louis MERLIN	*82*	*Biologie cellulaire*
Jean-Michel SIMON	*81*	*Economie de la santé, Législation pharmaceutique*
Nathalie THILLY	*81*	*Santé publique et Epidémiologie*

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

Christine CAPDEVILLE-ATKINSON	*86*	*Pharmacologie*
Igor CLAROT	*85*	*Chimie analytique*
Joël DUCOURNEAU	*85*	*Biophysique, Acoustique, Audioprothèse*
Raphaël DUVAL	*87*	*Microbiologie clinique*
Béatrice FAIVRE	*87*	*Hématologie, Biologie cellulaire*
Luc FERRARI	*86*	*Toxicologie*
Pascale FRIANT-MICHEL	*85*	*Mathématiques, Physique*
Christophe GANTZER	*87*	*Microbiologie*
Frédéric JORAND	*87*	*Eau, Santé, Environnement*
Isabelle LARTAUD	*86*	*Pharmacologie*
Dominique LAURAIN-MATTAR	*86*	*Pharmacognosie*
Brigitte LEININGER-MULLER	*87*	*Biochimie*
Pierre LEROY	*85*	*Chimie physique*
Philippe MAINCENT	*85*	*Pharmacie galénique*
Patrick MENU	*86*	*Physiologie*
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS	*86*	*Chimie thérapeutique*
Bertrand RIHN	*87*	*Biochimie, Biologie moléculaire*

MAITRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

Béatrice DEMORE	*81*	*Pharmacie clinique*
Alexandre HARLE	*82*	*Biologie cellulaire oncologique*
Julien PERRIN	*82*	*Hématologie biologique*
Loïc REPPEL	*82*	*Biothérapie*
Marie SOCHA	*81*	*Pharmacie clinique, thérapeutique et biotechnique*

MAITRES DE CONFÉRENCES

Sandrine BANAS	*87*	*Parasitologie*
Xavier BELLANGER	*87*	*Parasitologie, Mycologie médicale*

Emmanuelle BENOIT	*86*	*Communication et Santé*
Isabelle BERTRAND	*87*	*Microbiologie*
Michel BOISBRUN	*86*	*Chimie thérapeutique*
François BONNEAUX	*86*	*Chimie thérapeutique*
Ariane BOUDIER	*85*	*Chimie Physique*
Cédric BOURA	*86*	*Physiologie*
Joël COULON	*87*	*Biochimie*
Sébastien DADE	*85*	*Bio-informatique*
Dominique DECOLIN	*85*	*Chimie analytique*
Roudayna DIAB	*85*	*Pharmacie galénique*
Natacha DREUMONT	*87*	*Biochimie générale, Biochimie clinique*
Florence DUMARCAY	*86*	*Chimie thérapeutique*
François DUPUIS	*86*	*Pharmacologie*
Reine EL OMAR	*86*	*Physiologie*
Adil FAIZ	*85*	*Biophysique, Acoustique*
Anthony GANDIN	*87*	*Mycologie, Botanique*
Caroline GAUCHER	*86*	*Chimie physique, Pharmacologie*
Stéphane GIBAUD	*86*	*Pharmacie clinique*
Thierry HUMBERT	*86*	*Chimie organique*
Olivier JOUBERT	*86*	*Toxicologie, Sécurité sanitaire*
Alexandrine LAMBERT	*85*	*Informatique, Biostatistiques*
Julie LEONHARD	*86/01*	*Droit en Santé*
Christophe MERLIN	*87*	*Microbiologie environnementale*
Maxime MOURER	*86*	*Chimie organique*
Coumba NDIAYE	*86*	*Epidémiologie et Santé publique*
Marianne PARENT	*85*	*Pharmacie galénique*
Francine PAULUS	*85*	*Informatique*
Caroline PERRIN-SARRADO	*86*	*Pharmacologie*
Virginie PICHON	*85*	*Biophysique*
Sophie PINEL	*85*	*Informatique en Santé (e-santé)*
Anne SAPIN-MINET	*85*	*Pharmacie galénique*
Marie-Paule SAUDER	*87*	*Mycologie, Botanique*
Guillaume SAUTREY	*85*	*Chimie analytique*
Rosella SPINA	*86*	*Pharmacognosie*
Sabrina TOUCHET	*86*	*Pharmacochimie*
Mihayl VARBANOV	*87*	*Immuno-Virologie*
Marie-Noëlle VAULTIER	*87*	*Mycologie, Botanique*
Emilie VELOT	*86*	*Physiologie-Physiopathologie humaines*
Mohamed ZAIOU	*87*	*Biochimie et Biologie moléculaire*

PROFESSEUR ASSOCIE

Julien GRAVOULET	*86*	*Pharmacie clinique*
Anne MAHEUT-BOSSER	*86*	*Sémiologie*

PROFESSEUR AGREGE

Christophe COCHAUD	*11*	*Anglais*

**Disciplines du Conseil National des Universités* :*

80 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé

81 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé

82 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques

85 ; Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé

86 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé

87 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques

11 : Professeur agrégé de lettres et sciences humaines en langues et littératures anglaises et anglo-saxonnes

SERMENT DES APOTHICAIRES

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

Ð' honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

Ð'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

Ðe ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION, NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

Remerciements

La thèse de doctorat en pharmacie représente un travail long et rigoureux, au cours duquel se font des rencontres fructueuses avec des personnes du milieu scientifique et médical. Pendant près de deux années de labeur, mais également durant mon cursus universitaire, j'ai pu échanger avec des confrères pharmaciens, des médecins, des ingénieurs, des scientifiques, mais aussi avec des personnes hors du domaine médical et biologique, des amis, des membres de ma famille, des quidams rencontrés de manière fortuite, qui s'intéressaient tous à la chose qui alors occupait une certaine partie de ma conscience. J'aimerais donc remercier dans les lignes suivantes, toutes ces personnes qui ont gravité de près ou de loin autour de ce travail, qui y ont participé et qui m'y ont encouragé.

Aux membres du Jury :

À Monsieur Frédéric JORAND, pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la Présidence du Jury de ma Thèse d'exercice de doctorat en pharmacie. Je tiens à vous assurer ma plus profonde reconnaissance pour l'intérêt que vous portez à ce travail.

À Monsieur Xavier BELLANGER, pour m'avoir proposé ce sujet si riche et passionnant, pour avoir été présent afin de me conseiller et de m'orienter lors de l'avancement de mes recherches, et pour vos remarques pertinentes durant la rédaction de ce manuscrit. Recevez mes plus grands remerciements pour le temps que vous m'avez consacré du début jusqu'à la fin.

À Madame Corentine ALAUZET, pour me gratifier de votre participation à mon Jury de Thèse d'exercice. Veuillez recevoir l'expression de ma plus sincère reconnaissance.

À Monsieur Édouard COUROT, mon ami et membre de mon Jury. J'aurais bien aimé être dans le tien, mais à cette course c'est toi qui a gagné. Profites-en bien, car même à vélo, bientôt je finirai par passer devant toi. Je tiens à te remercier pour ton fervent soutien.

Aux membres de ma famille :

À mes parents, qui ont toujours été présents durant mes études, pour m'encourager et me soutenir, et qui, à la fin de mon cursus, n'ont eu cesse de répéter : « Et alors, ta thèse ? »
Mes chers parents, pardonnez-moi de vous avoir fait languir tout ce temps. Merci de tout cœur d'être là.

À ma sœur Agathe, qui se riait de moi, narguant mon cheminement pataud ces dernières années. Cette thèse m'était dévolue, ces moments sont dorénavant révolus.

À mon frère Jérémie, à la fois motivant et affligé lorsqu'il était question de ce travail. Souvent donneur de bons conseils, malgré son opiniâtreté authentique.

À mon grand-père, Papy, qui a toujours été passionné par le cheminement intellectuel et social de ses petits-enfants, je t'adresse mes plus profondes pensées.

À ma grand-mère, Mamy, et mes grands-parents maternels, Papi & Mamie, qui sont sans cesse sensibles à la destinée et au bien de leurs proches, recevez mes sentiments les plus chaleureux.

Aux autres membres de ma famille, qui ont suivi, souvent de loin, mon parcours semé d'embûches. Soyez assurés que je pense à vous.

À mes amis, mes amours, mes emm**des :

À ma copine Rosalie, qui m'a encouragé et soutenu, mais qui a surtout subit ma focalisation parfois obsessionnelle sur cette thèse. Merci pour ton amour et ta présence dans les bons moments et ceux plus difficiles.

À Éric, mon binôme durant ces années de fac. Merci pour ton travail, ton énergie, ton humour. J'ai été ravi de passer ces moments avec toi. Bon courage pour tes futurs projets.

À Alex, Manu, Léo, et tant d'autres qui ont partagé voyages et très bons souvenirs.

À Pierre, toujours partant pour un verre ou un magret au feu de cheminée, avec pour challenge d'éviter d'atteindre le point Godwin de l'aviation lors de nos discussions.

Aux personnes rencontrées ici et là, à qui il fallait expliquer chaque fois le principe de mon sujet de thèse lorsqu'ils m'interrogeaient par cette phrase barbante et répétitive : « Et toi, tu fais quoi dans la vie ? »

À toutes les pharmaciennes et tous les pharmaciens, ainsi que leurs équipes, grâce à qui j'ai travaillé et appris, avec beaucoup d'entrain et de passion pour le métier. Je vous exprime ma plus profonde gratitude.

Au personnel de la scolarité, trop souvent oublié. Recevez ma reconnaissance pour avoir su solutionner les déboires de mon cursus.

Enfin, je tiens à mentionner la montagne, le vélo, le ski, les randonnées, les voyages, la bière, la Réunion, les sorties, les festivals, les parties de contrat endiablées, la plage, la communauté de Grand Prix Legends, la cuisine, Netflix, *etc*., tous ces éléments perturbateurs de ma concentration, qui ne m'ont pas permis d'avancer très vite, mais qui en contrepartie m'ont apporté vie et détente, nécessaires à un travail réussi.

In vitro veritas

Sommaire

I. Abréviations et acronymes 5
II. Introduction 7
A. Les familles d'antibiotiques 8
1. Les inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne 9
2. Les inhibiteurs de la synthèse protéique 9
3. Les inhibiteurs de l'ADN 9
4. Les inhibiteurs de la transcription 10
B. Le concept de « concentration subinhibitrice » 12
1. Concentration minimale inhibitrice 12
2. Concentration subinhibitrice 12
3. Intérêt *in vivo* 13
III. Objectifs 15
IV. Méthodologie 17
V. Occurrence des espèces bactériennes 19
VI. Les classes d'antibiotiques 23
A. Les inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne 23
1. Béta-lactamines 23
2. Glycopeptides 36
B. Les inhibiteurs de la synthèse protéique 39
1. Aminosides 39
2. Macrolides 44
3. Tétracyclines 51
4. Chloramphénicol 55
5. Linézolide 56
C. Les inhibiteurs de l'ADN 58
1. Fluoroquinolones 58
2. Cotrimoxazole 64

3. Métronidazole....65
D. Les inhibiteurs de la transcription....66
1. Rifampicine....66
VII. Effets des antibiotiques à concentrations subinhibitrices sur les bactéries....67
A. La morphologie....67
B. Le biofilm....67
1. Définition et formation....67
2. Les antibiotiques influant la formation du biofilm....68
C. La régulation des gènes....70
D. La mortalité bactérienne....70
VIII. Les trois espèces les plus importantes....71
A. *Staphylococcus aureus*....71
1. Le biofilm....72
2. La morphologie....72
3. La virulence....73
4. Bilan....75
B. *Pseudomonas aeruginosa*....77
1. Le biofilm....78
2. La virulence....79
3. La réponse au stress....81
4. Les résistances....81
5. Bilan....82
C. *Escherichia coli*....84
1. Le biofilm....85
2. La morphologie....85
3. La virulence....86
4. La réponse au stress....86
5. Sensibilité vis-à-vis du système immunitaire....87
6. Bilan....87

IX. Conclusion et associations fortes....91
1. *Staphylococcus aureus* 91
2. *Pseudomonas aeruginosa*....92
3. *Escherichia coli* 93
4. Autres associations 94
X. Discussions 95
A. La quantité d'information....95
B. La pertinence de l'information 96
C. Les méthodes expérimentales....96
XI. Références 99

I. Abréviations et acronymes

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice (en anglais ; MIC : *Minimal Inhibitory Concentration*)

PLP : Protéines Liant les Pénicillines.

TSB : Bouillon Trypticase Soja.

AUC : *Area Under Curve*, en pharmacocinétique, aire sous la courbe.

IN : Infections Nosocomiales.

PVL : Leukocidine de Panton-Valentine, facteur de virulence de *Staphylococcus aureus.*

EPS : Exopolysaccharides, polymères de haut poids moléculaire sécrétés par les bactéries dans leur environnement.

CFU : *Colony forming units,* unité formant colonie.

T3SS : Système de Sécrétion de Type 3, système permettant le transport de toxines ou d'effecteurs chez certaines bactéries gram négatif.

SHU : Syndrome Hémolytique et Urémique.

MRSA : *Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus, Staphylococcus Aureus* résistant à la méticilline (SARM).

VRSA : *Vancomycin Resistant Staphylococcus Aureus, Staphylococcus Aureus* résistant à la vancomycine (SARV).

TSST : *Toxic Shock Syndrome Toxin*, Toxine du Syndrome de choc Toxique.

QS : *Quorum Sensing,* système de signalisation et de régulation entre bactéries, contrôlant l'expression spécifique de certains gènes.

ICE : *Integrative and Conjugative Element*, élément intégratif et conjugatif, type d'élément génétique mobile.

II. Introduction

Les bactéries sont un ensemble très diversifié de cellules procaryotes qui, lorsqu'elles interagissent avec d'autres organismes, peuvent adopter un mode de vie parasitique, mutualiste ou commensaliste. Les bactéries parasites, plus couramment appelées pathogènes, sont à l'origine de nombreuses maladies infectieuses parfois mortelles chez les êtres vivants du règne animal et du règne végétal. Elles constituent donc une source importante d'études et de travaux depuis l'avènement de la biologie et de la recherche. En effet, nombre d'entre elles possèdent un pouvoir invasif et pathogène, lié aux caractéristiques génétiques de la souche impliquée ainsi que celles de l'être contaminé.

Parmi les nombreuses aptitudes des microorganismes, celle de produire des molécules actives capables d'inhiber la croissance de certaines bactéries (effet bactériostatique) ou de les tuer (effet bactéricide) a été découverte par l'Homme au milieu du 20ème siècle. La (bio)synthèse de ces antibiotiques à grande échelle est maintenant maitrisée, rendant leur utilisation possible pour de nombreuses applications, notamment dans la prise en charge des infections bactériennes chez l'Homme.

En résumé, les antibiotiques peuvent être caractérisés par deux choses : leur mécanisme d'action, et par conséquence leur effet bactéricide (mort bactérienne) ou bactériostatique (inhibition de la prolifération), et la concentration minimale à laquelle ils ont cet effet. Cette concentration minimale inhibitrice (CMI) est dépendante à la fois de l'antibiotique, mais également de la souche bactérienne étudiée, ainsi que des conditions de croissance (milieu, température, *etc.*). Pourtant certaines molécules peuvent posséder les deux effets, bactéricide et bactériostatique, et cela en fonction de leur concentration dans le milieu. Ainsi, l'action de la ciprofloxacine sur *Escherichia coli* ATCC 25922 [1], est bactéricide à des concentrations de 2 et 4 fois la CMI pendant les six premières heures d'exposition, puis devient bactériostatique (Figure 1).

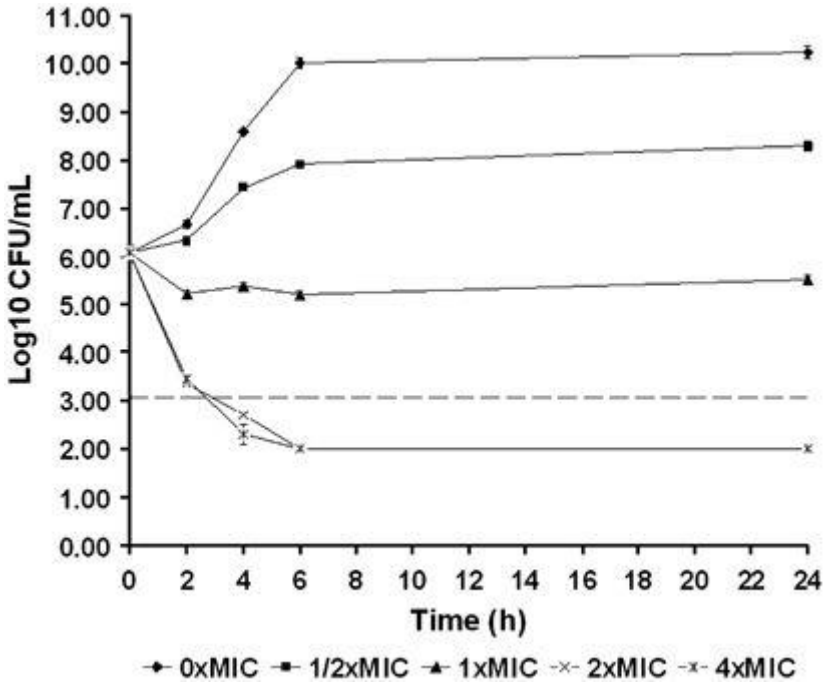

Figure 1 - Comparaison de l'effet bactéricide et bactériostatique de la ciprofloxacine sur E. coli ATCC25922 [1]

A. Les familles d'antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être classés en différentes familles selon leur structure chimique, leur mode d'action et/ou les cibles qu'ils visent au niveau bactérien. Dans ce travail, j'ai choisi de les ordonner à la fois par mécanisme d'action (cible) et par famille (structure chimique). Ainsi, leur classification est la suivante :

A. Les inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne
    1. Béta-lactamines
    2. Glycopeptides
B. Les inhibiteurs de la synthèse protéique
    1. Aminosides
    2. Macrolides
    3. Tétracyclines
    4. Cotrimoxazole (triméthoprime + sulfaméthoxazole)
    5. Chloramphénicol
    6. Linézolide
C. Les inhibiteurs de l'ADN
    1. Fluoroquinolones
    2. Métronidazole

D. Les inhibiteurs de la transcription

1. Rifampicine

Les paragraphes suivants et la Figure 2 résument succinctement cette classification en soulignant les cibles et les modes d'action de chacune des familles.

1. Les inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne

Les béta-lactamines, comprenant les pénicillines, les céphalosporines, les carbapénèmes et les monobactames partagent comme structure chimique de base le noyau béta-lactame. En se liant aux protéines liant les pénicillines (PLP) ils inhibent la formation du peptidoglycane qui est le constituant de base de la paroi bactérienne. Dépourvues de peptidoglycane, les bactéries lysent.

Les glycopeptides, en dépit d'un mécanisme d'action différent, ont la même capacité à empêcher la formation du peptidoglycane de la paroi bactérienne.

2. Les inhibiteurs de la synthèse protéique

En se fixant sur différents sites de la sous-unité 30S du ribosome, les aminosides et les tétracyclines enrayent la synthèse de protéines.

Les macrolides (macrolides vrais, lincosamides, synergistines), les phénicolés (chloramphénicol) et le linézolide ont également un effet de suppression de la synthèse de protéines mais par fixation sur la sous-unité 50S du ribosome.

3. Les inhibiteurs de l'ADN

Les fluoroquinolones, en se fixant sur la sous-unité A de l'ADN gyrase, bloquent la réplication de l'ADN bactérien.

En créant des cassures dans l'ADN bactérien, le métronidazole empêche la synthèse d'acides nucléiques.

Les sulfamides, le triméthoprime ou leur mélange (cotrimoxazole), quant à eux, vont inhiber la synthèse des folates, précurseurs des bases nucléiques au sein de la bactérie.

4. Les inhibiteurs de la transcription

La rifampicine bloque la transcription en inhibant l'action de l'ARN polymérase ADN-dépendante.

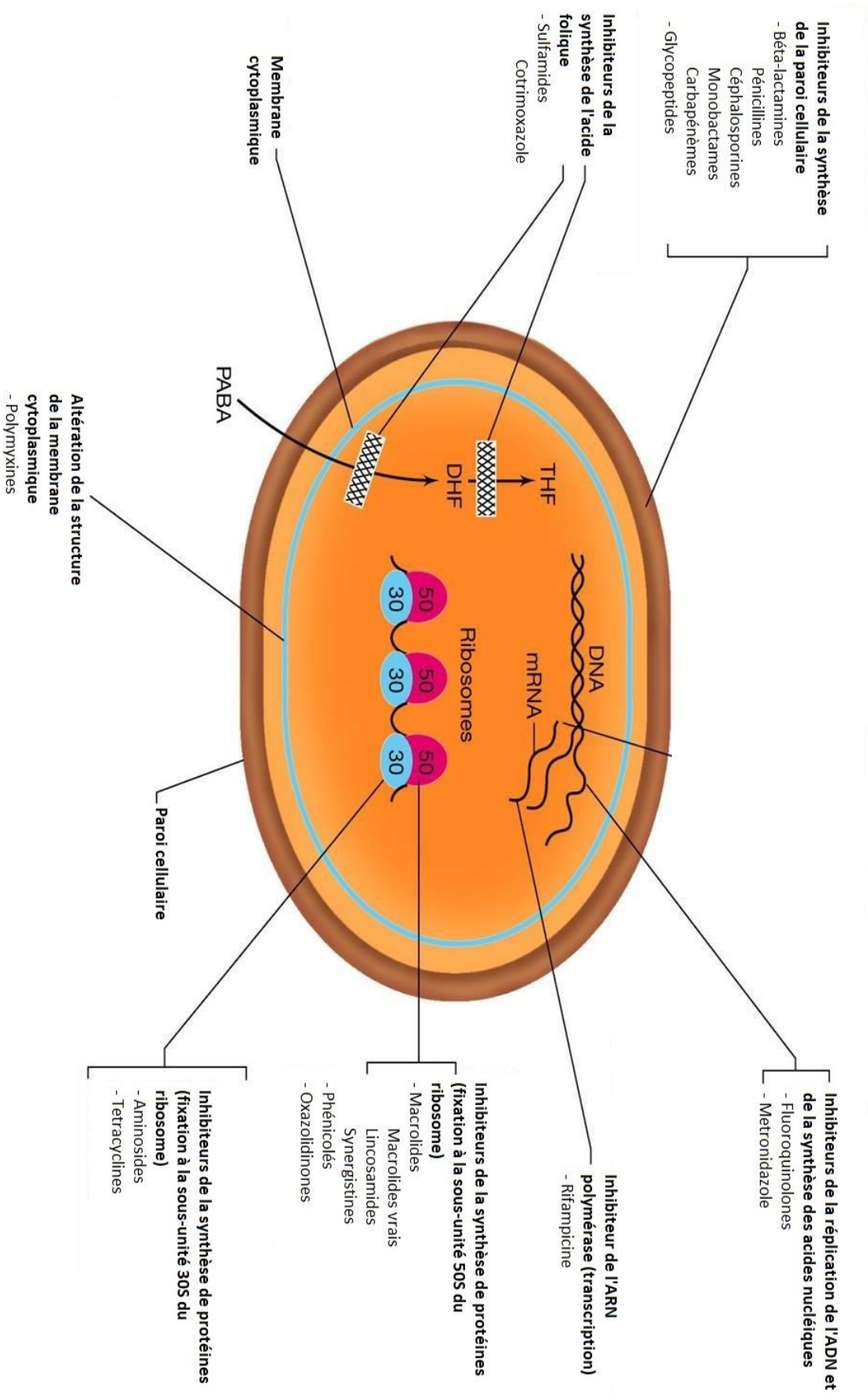

Figure 2 - Représentation des familles d'antibiotiques et leurs cibles sur les fonctions vitales de la bactérie [2] (adaptation : Maxime Lenclen)

B. Le concept de « concentration subinhibitrice »

1. Concentration minimale inhibitrice

La concentration minimale inhibitrice est la concentration la plus faible d'antibiotique qui inhibe la croissance d'une espèce bactérienne *in vitro.* Abréviations : CMI (concentration minimale inhibitrice), ou MIC (*minimum inhibitory concentration*, en anglais).

Elle est définie pour un antibiotique, une souche bactérienne, et des conditions expérimentales précises ce qui peut être à l'origine d'une certaine hétérogénéité dans les valeurs rapportées. Ainsi les variations de CMI pour un même couple antibiotique – espèce bactérienne, parfois nombreuses, sont issues de deux biais principaux.

Biais des souches bactériennes :

La céfoxitine, par exemple, a une CMI de 4 µg/mL pour *Staphylococcus aureus* (souche Wood 46-3) dans une première expérimentation [3], et de 8 µg/mL dans une seconde (souche N315) [4].

Biais des conditions expérimentales :

La céfodizime a pour *E. coli* ATCC 25922 une CMI de 1 µg/mL [5] et de 0,5 µg/mL [6] dans deux travaux différents de Braga et *al.* Cette différence pourrait s'expliquer par la nature des milieux de culture utilisés pour déterminer la CMI (bouillons). Dans la première, le bouillon utilisé pour déterminer la CMI était le Mueller-Hinton tandis que dans la seconde, c'était du bouillon trypticase soja (TSB). Cette différence pourrait également s'expliquer par le pas de dilution de 2 fréquemment utilisé dans les gammes de dilution d'antibiotique employées pour déterminer expérimentalement la CMI (par exemple : 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 16, 32, … µg/mL). Avec ce pas de dilution, des résultats tangents entre c et $2c$ peuvent être facilement obtenus et sont, dans les faits, fréquents.

2. Concentration subinhibitrice

Les concentrations subinhibitrices sont par définition inférieures à la concentration minimale inhibitrice obtenue avec le même couple souche – antibiotique, et dans les mêmes conditions expérimentales. Bien qu'à ces doses, l'antibiotique n'exerce ni son action

bactéricide, ni son action bactériostatique, les effets observés sont très nombreux, divers, et souvent inattendus, tout en étant favorables ou défavorables pour la bactérie. Aux doses faiblement inférieures à la CMI, un ralentissement de la croissance bactérienne est souvent constaté alors qu'aux doses plus diluées, aucun effet n'est observable sur cette croissance. Bien que dans la littérature explorant les effets des antibiotiques en doses subinhibitrices, les gammes de dilution utilisées se situent entre 1 fois la CMI et 1/128 de la CMI, la majorité des concentrations utilisées s'établissent entre 1 fois la CMI et 1/4 de la CMI (Figure 3).

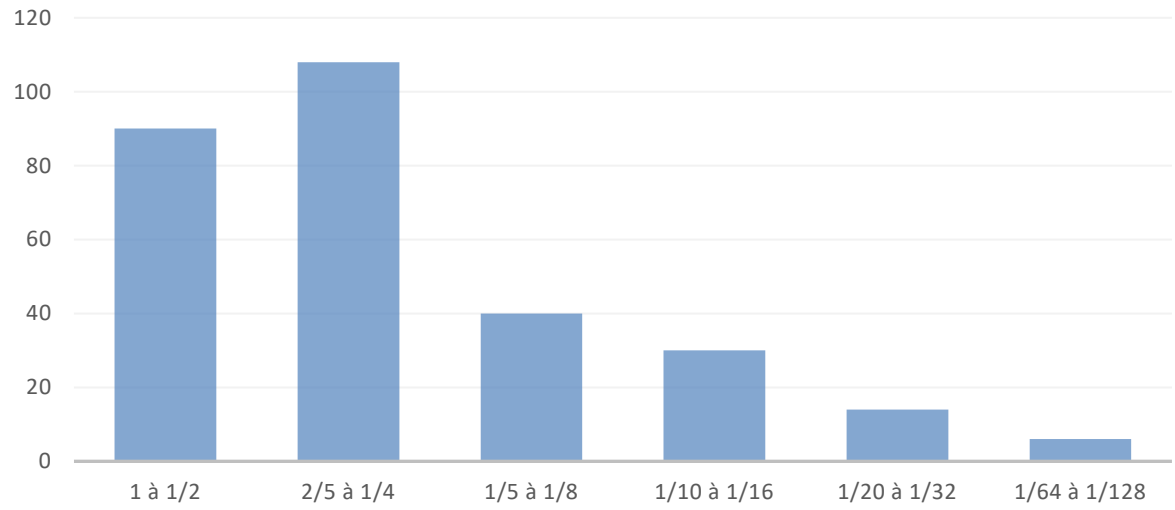

Figure 3 – Occurrence des CMI produisant un effet par tranche de concentrations relevées dans la littérature lors de ce travail

3. Intérêt *in vivo*

En pratique chez le vivant, la concentration d'un antibiotique va varier dans le temps selon ses propres caractéristiques pharmacocinétiques. À la suite de son administration, sa concentration va augmenter au niveau du lieu de l'infection, puis diminuer progressivement, jusqu'à la prochaine administration (Figure 4). Ainsi, suivant l'objectif thérapeutique recherché, la posologie de l'antibiotique va être adaptée afin d'obtenir des concentrations soit très élevées par rapport à la CMI, soit proches ou inférieures à la CMI, tout en restant efficace sans augmenter le risque (toxicologique) pour le patient.

En pharmacocinétique, on distingue deux types de mécanismes. Avec les antibiotiques classés comme « temps dépendants », la thérapeutique consiste à exposer continuellement la bactérie à une concentration d'antibiotique supérieure à la CMI (cas des céphalosporines,

des glycopeptides, des macrolides et des tétracyclines notamment), tandis qu'avec les antibiotiques « concentration dépendants », l'objectif est d'administrer des doses importantes, car plus la concentration de l'antibiotique sera élevée, plus l'effet bactéricide sera fort (cas des aminosides et des fluoroquinolones notamment).

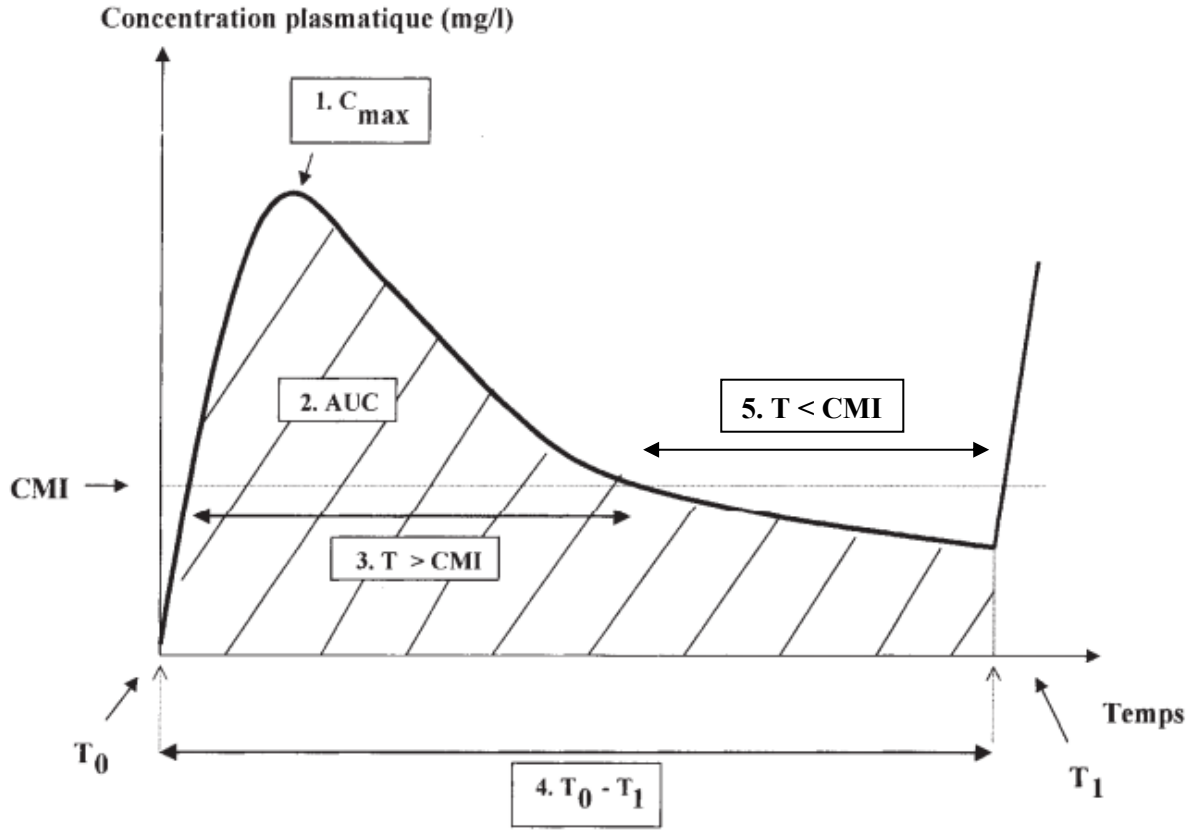

Figure 4 – Pharmacocinétique d'un antibiotique in vivo après son administration à T_0. 1. c_{max} : concentration plasmatique maximale de l'antibiotique ; 2. AUC : aire sous la courbe représentant l'exposition à l'antibiotique lorsque c > CMI ; 3. T > CMI : temps pendant lequel l'antibiotique est à une concentration c > CMI ; 4. $T_0 – T_1$: intervalle entre deux administrations ; 5. T < CMI : temps pendant lequel l'antibiotique est à une concentration c < CMI (concentration subinhibitrice) [7]

Ce qui va nous intéresser dans les pages qui suivent est l'effet de ces antibiotiques à des doses inférieures à la concentration minimale inhibitrice – appelées concentrations subinhibitrices – *in vitro, in vivo*, et leurs impacts sur le comportement des principales bactéries pathogènes.

III. Objectifs

Le but de ce travail est (i) d'obtenir un aperçu global des effets des antibiotiques en doses subinhibitrices grâce à une analyse bibliographique compilant et comparant le comportement des principales espèces bactériennes vis-à-vis de ces molécules, et (ii) de souligner les couples bactérie-antibiotique et d'autres associations fréquemment rapportées.

Les données bibliographiques collectées peuvent être interprétées selon trois axes qui ne sont toutefois pas indépendants les uns des autres :

- Par la nature des antibiotiques. Classés par familles – et sous-familles –, leurs effets peuvent être comparés, entre familles ou entre membres d'une même famille. Bien que des tendances apparaissent pour chacune d'entre elles, nous verrons aussi des résultats sans tendance nette, voire opposés.
- Par la nature des bactéries. Leurs réactions lorsqu'elles sont exposées à divers antibiotiques en dose subinhibitrice. La tendance qu'elles ont à répondre à ces stress, les caractères/phénotypes qui sont le plus touchés (pathogénicité, morphologie, résistances, *etc.*) et leur occurrence dans la sélection d'articles étudiés par rapport à l'ensemble de la littérature sur le sujet.
- Par la nature des effets. Lesquels sont les plus souvent observés, les tendances qui se dégagent.

IV. Méthodologie

Ce travail a consisté à collecter des informations présentées dans un nombre significatif d'articles ou revues par fouille bibliographique *via* des moteurs de recherche spécifiques au milieu scientifique (PubMed, Google Scholar).

En faisant un bilan des fouilles effectuées, les mots-clés majoritairement utilisés ont été les suivants : *antibiotique, environnement, concentration subinhibitrice, bactéries, expression de gènes, métabolisme*. Ce qui donne en anglais (la plupart des publications étant dans cette langue) : *antibiotic(s), subinhibitory concentrations (sub-MIC), gene expression, metabolism*. Ces mots-clés ont parfois été ponctués par l'ajout d'une famille d'antibiotique, d'une molécule ou d'une espèce bactérienne. Exemple : « *subinhibitory concentration* + *azithromycin* » ou encore « *subMIC* + *Pseudomonas* ».

Le nombre de résultats de recherche étant assez conséquent, j'ai débuté mon analyse par les publications qui semblaient les plus pertinentes, ainsi que par celles qui apportaient un point de vue global. Ensuite, grâce aux références présentes dans chacun de ces articles, j'ai étendu mon étude en voyageant de publication en publication, ce qui m'a permis de collecter un grand nombre de données. Au total, la lecture d'une centaine de publications m'a semblée permettre une bonne synthèse des phénomènes les plus généraux tout en mettant en lumière certains moins fréquemment étudiés sur telle bactérie ou tel antibiotique, ce qui était précisément le but de ce travail.

En comparaison du nombre de références bibliographiques totales pouvant être trouvées sur les bases de données à propos du sujet principal de ce travail (« *sub-MIC* »), le chiffre d'une centaine de publications analysées représente seulement une petite proportion du potentiel d'étude. Cependant, après un examen plus précis, il ressort que cette centaine d'articles propose un échantillon plutôt représentatif. En effet, il recouvre toutes les familles d'antibiotiques ainsi que les principales molécules de chaque famille, ce qui correspond aux antibiotiques les plus utilisés. De plus, les genres et espèces bactériens mentionnés dans l'échantillon étudié sont en proportion similaires à leur occurrence générale sur PubMed (voir §V.). Les souches pathogènes et problématiques (responsables d'infections nosocomiales [IN] notamment) sont logiquement les plus représentées dans les publications analysées.

Le schéma d'extraction des informations d'une publication a été le suivant. Tout d'abord, le nom de la (des) espèce(s) bactérienne(s) est (sont) relevé(s) ; la plupart du temps il est

question dans l'article que d'une seule espèce. Ensuite, il en est de même avec le(s) antibiotique(s) auquel (auxquels) les bactéries ont été exposées, parfois de la même famille, mais le plus souvent de familles différentes, afin de les comparer entre eux. L'exposition à ces molécules a le plus souvent été faite avec des concentrations proches de la CMI (1/2, 1/4, 1/8, voir §II.B.). Dans certains cas, le travail rapporté a été effectué sur une gamme de concentrations afin d'observer des effets éventuellement différents en fonction de la quantité d'antibiotique utilisée dans le milieu. Enfin, les résultats ont été compilés pour chaque antibiotique et pour chaque bactérie.

Afin de construire les graphiques qui illustrent les tendances observées pour chaque famille d'antibiotique, un système de pondération par point a été mis en place. Un point positif a été accordé à chaque effet de stimulation (couleur rouge dans les graphiques), et un point négatif à chaque effet d'inhibition ou de diminution (couleur verte dans les graphiques). Les points positifs et les points négatifs ont été, dans un premier temps, totalisés séparément, puis dans un deuxième temps, les différents effets (stimulateur ou inhibiteur) ont été regroupés en six catégories : morphologie, biofilm, métabolisme, régulation des gènes, plasticité génomique/transfert horizontal et viabilité/intégrité cellulaire.

Il y a beaucoup de redondance dans les couples espèce bactérienne – antibiotique, mais certaines subtilités peuvent apparaitre et il est intéressant de s'y attarder. En effet, les différences rapportées sont parfois notables et peuvent s'expliquer par plusieurs faits : les conditions expérimentales de mise en place du stress antibiotique peuvent différer d'une expérience/publication à l'autre, tout comme la nature de la souche étudiée et l'instant choisi pour l'observation des effets.

Il faut considérer que, dans les lignes suivantes, toutes notions d'effets, de conséquences, de comparaisons, d'actions, sont décrites comme étant les résultats de la présence d'antibiotiques en concentrations subinhibitrices, sauf mention contraire.

Étant donné les biais des modalités expérimentales collectées dans les articles étudiés (surreprésentation d'une espèce, d'une souche ou d'un antibiotique), il ne faut pas conclure trop rapidement sur l'absence d'effet d'un antibiotique ou de réponse d'une bactérie. Certains effets peuvent par exemple n'être que peu étudiés ou pas recherchés. Ainsi, l'absence d'effet rapporté pour un antibiotique ou sur une bactérie n'est pas une preuve en soi ou une démonstration.

V. Occurrence des espèces bactériennes

Sur 102 articles analysés, les espèces les plus étudiées sont listées par ordre d'apparition décroissant dans le tableau (Tableau I) suivant :

Tableau I - Occurrence des espèces bactériennes dans les articles étudiés

Espèce	Articles	Taux
Staphylococcus aureus	21	20,6 %
Pseudomonas aeruginosa	15	14,7 %
Escherichia coli	14	13,7 %
Staphylococcus epidermidis	6	5,9 %
Salmonella typhimurium	5	4,9 %
Klebsiella pneumoniae	4	3,9 %
Streptococcus pyogenes	4	3,9 %
Streptococcus pneumoniae	3	2,9 %
Clostridium difficile	3	2,9 %
Enterococcus faecalis	3	2,9 %

Trois germes dominent ce classement : *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli.*

À la suite de ces 3 espèces dans la hiérarchie, on distingue les cocci gram positif :

- Autres *Staphylococcus*
- *Streptococcus*
- *Enterococcus*

Et des bacilles gram négatif :

- *Salmonella*
- *Klebsiella*

Auxquelles viennent s'ajouter les bactéries parasites intracellulaires :

- *Chlamydia*

La présence de toutes ces espèces s'explique par leur pouvoir pathogène et leur implication récurrente en clinique.

Voici un tableau (Tableau II) synthétisant l'occurrence de chaque espèce parmi tous les articles recensés sur MedLine, *via* le moteur de recherche PubMed, avec les mots-clés utilisés comme suit : « [espèce] + *subinhibitory concentrations* » :

Tableau II - Occurrence des espèces bactériennes parmi tous les articles recensés sur PubMed (au 14/07/2017)

Espèce	Articles	Taux
Staphylococcus aureus	329	25,3 %
Escherichia coli	310	23,8 %
Pseudomonas aeruginosa	197	15,1 %
Staphylococcus epidermidis	63	4,8 %
Streptococcus pneumoniae	49	3,8 %
Klebsiella pneumoniae	47	3,6 %
Streptococcus pyogenes	36	2,8 %
Enterococcus faecalis	35	2,7 %
Salmonella typhimurium	31	2,5 %

De légères différences sont à constater entre ce classement et les données de ce travail présentées dans le Tableau I, néanmoins les trois principales espèces étudiées restent : *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli.*

Le graphique suivant (Figure 5), qui compare les taux d'articles recensés pour chaque espèce, permet d'avoir un point de vue global sur la situation des données de la thèse, et de celles disponibles sur MedLine.

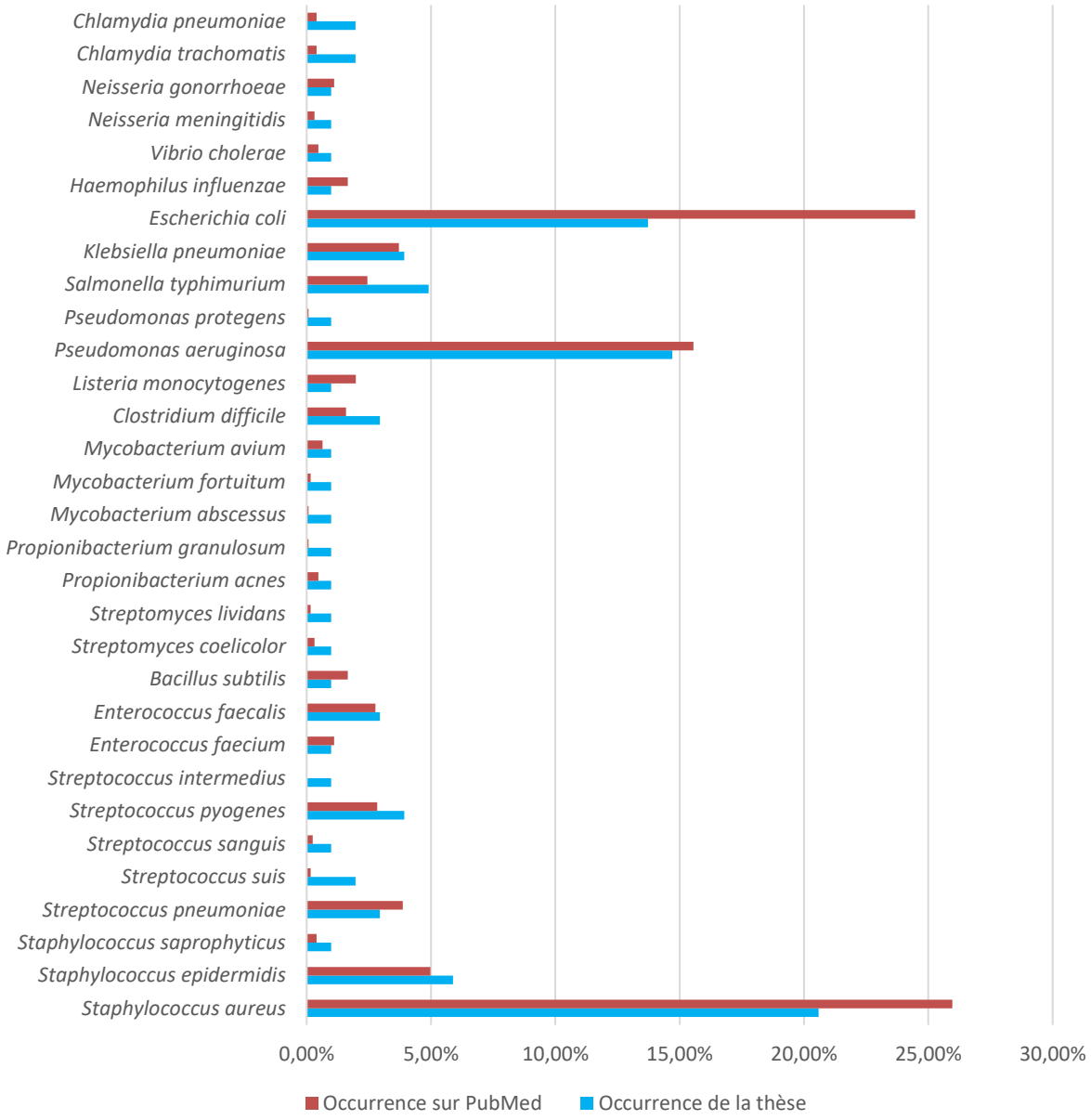

Figure 5 - Occurrence comparative des données de PubMed et de celles de la thèse

Les fortes similitudes d'occurrence constatées dans la Figure 5 sont en corrélation avec les statistiques de l'Inserm concernant les souches incriminées dans les infections nosocomiales qui représentent 5 % des patients séjournant à l'hôpital. Ainsi, « les entérobactéries étaient les plus fréquentes (45,4 %) devant les Cocci à Gram positif (34,0 %) » [8]. Parmi les pourcentages évoqués, « *Escherichia coli* (26,0 % des micro-organismes isolés), *Staphylococcus aureus* (15,9 %) et *Pseudomonas aeruginosa* (8,4 %) étaient les micro-organismes les plus fréquemment isolés des IN ; ils représentaient la moitié (50,2 %) des micro-organismes isolés des IN pour une prévalence de patients infectés de 2,1 % » [8].

En groupant par genre les bactéries recueillies dans les données étudiées, on obtient le diagramme suivant (Figure 6) qui apporte une vue d'ensemble plus synthétique.

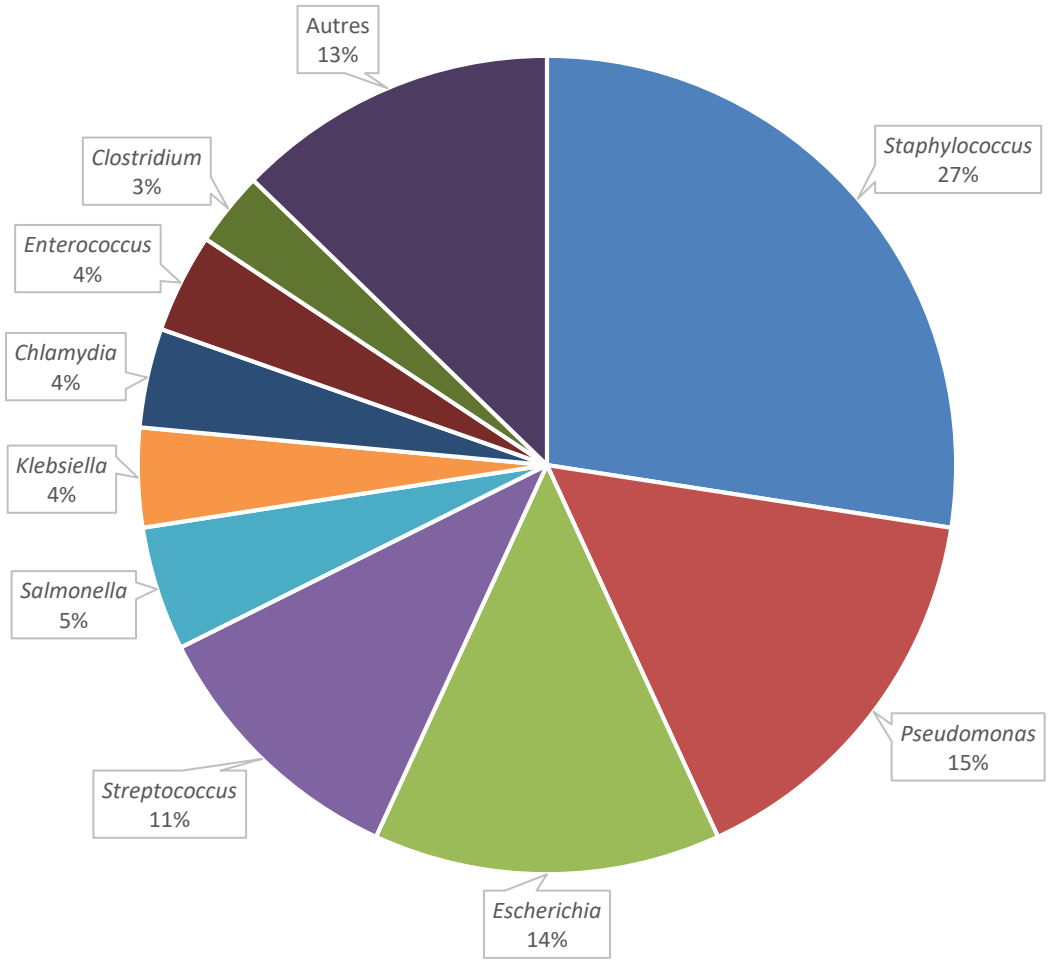

Figure 6 - Occurrence de chaque genre de bactérie parmi les articles étudiés

Le point commun entre toutes ces espèces est leur pathogénicité. En effet, elles sont toutes impliquées dans diverses infections plus ou moins grave que l'Homme peut contracter. C'est pourquoi elles vont nous intéresser ici.

VI. Les classes d'antibiotiques

Le premier angle d'approche dans cette étude de l'action des antibiotiques à doses subinhibitrices a été fait en examinant chaque famille et sous-famille telles que décrites précédemment (II.A.).

A. Les inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne

1. Béta-lactamines

Les données suivantes ont été établies suite à la lecture de 39 articles, en utilisant le système de pondération et de regroupement des effets décris dans le chapitre Méthodologie (§IV.).

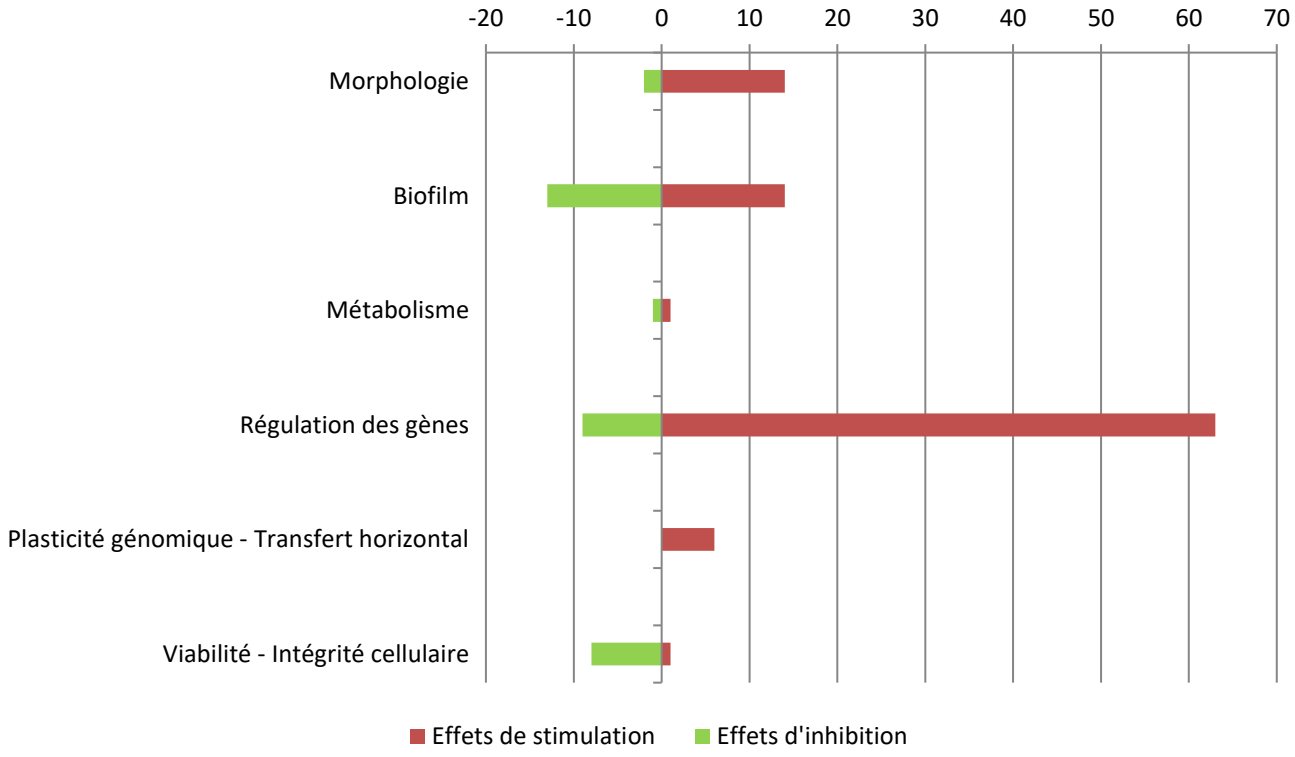

Figure 7 - Somme par groupe d'effets des phénotypes dus à l'action des béta-lactamines sur les bactéries étudiées

La dynamique nette qui émane de ces observations (Figure 7) est l'action des béta-lactamines sur la régulation des gènes, notamment l'augmentation de l'expression de gènes et des facteurs de virulence.

Ensuite, l'activité sur le biofilm est plutôt variable avec des résultats de stimulation et d'inhibition.
Enfin, un impact assez récurrent sur la morphologie des germes est constaté, conséquence de l'exposition aux céphalosporines notamment.

a) Pénicillines

Les pénicillines sont des antibiotiques bactéricides qui inhibent la synthèse de la paroi bactérienne en se fixant aux protéines liant les pénicillines (PLP).

La Figure 8 montre que les effets de stimulation des caractères des bactéries par ces antibiotiques ont été recensés 51 fois contre seulement 9 fois pour les inhibitions. D'un point de vue thérapeutique, c'est donc une tendance négative qui semble ressortir de la présence des pénicillines en doses subinhibitrices.

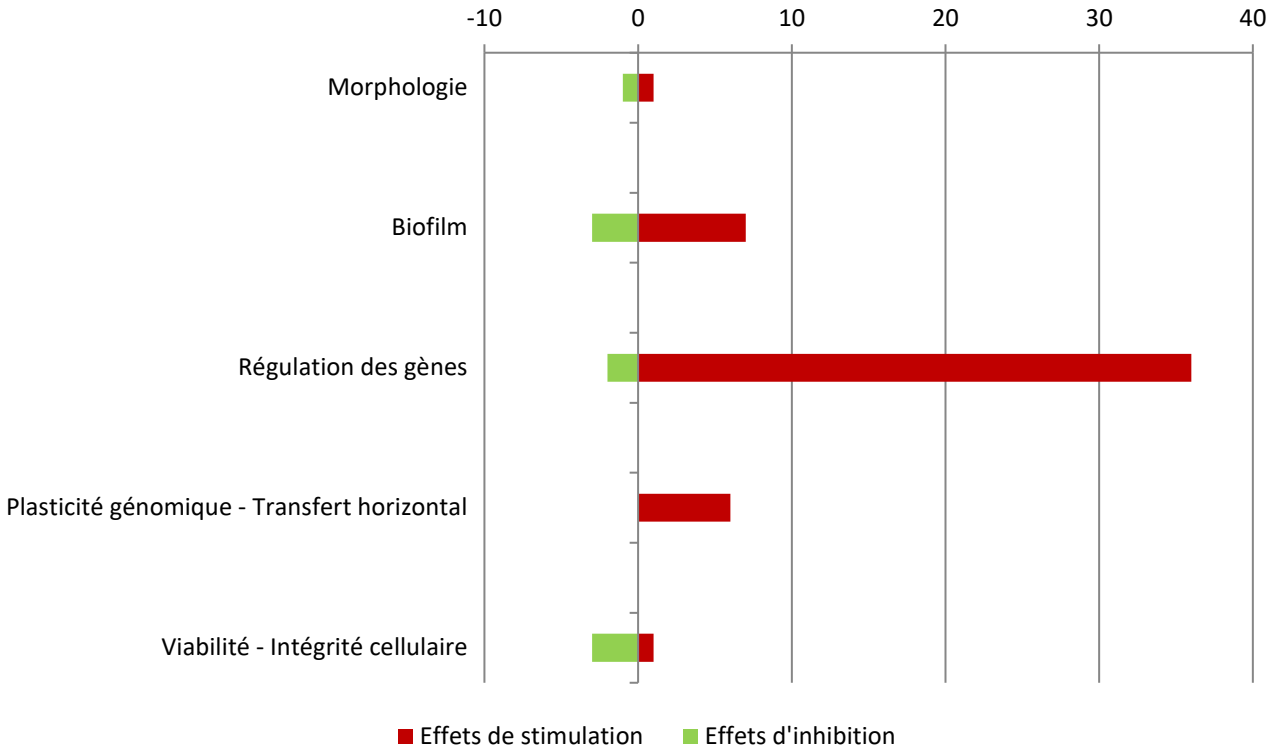

Figure 8 - Somme par groupe d'effets des phénotypes dus à l'action des pénicillines sur les bactéries étudiées

Régulation des gènes :

Dans le domaine de la régulation des gènes, les conséquences des pénicillines sont nombreuses, et très majoritairement en faveur d'une importante stimulation. Dans le détail, les gènes principalement induits sont des facteurs de virulence, qui sont stimulés dans 17 articles impliquant les pénicillines. Parmi les plus importants pathogènes précités, *S. aureus* est l'espèce la plus expérimentée en présence de nombreuses pénicillines (ampicilline, pénicilline G, cloxacilline, pénicilline V, flucloxacilline, méticilline, azlocilline, nafcilline, oxacilline, pipéracilline). Ainsi pour cette espèce, une augmentation de la transcription du gène de l'alpha toxine de 5 à 8 fois est plusieurs fois décrite [3]. Ce qui montre une constance de l'action des pénicillines, quelle que soit la molécule utilisée. Un même effet est également produit par l'ampicilline, la pénicilline G, et la cloxacilline qui stimulent le transfert des ilots de pathogénicité SaPI chez *S. aureus* [9]. La nafcilline provoque l'augmentation de la production des principaux facteurs de virulence de *S. aureus* (Leukocidine de Panton-Valentine, alpha toxine, *toxin shock syndrome toxin-1*) [10], alors que l'oxacilline accroit la capacité d'invasion de la bactérie en stimulant de 5 à 8 fois l'expression de deux gènes de liaison aux fibronectines/fibrinogène *(fnbA* et *fnbB*) [11]. L'expression des gènes de virulence est également fortement stimulée chez *Listeria monocytogenes* exposée à l'amoxicilline ou à l'ampicilline [12].

Une autre conséquence de la modulation de l'expression des gènes par les pénicillines est la stimulation fréquente de la réponse au stress SOS comme chez *S. aureus* en présence d'ampicilline, de pénicilline G ou de cloxacilline [9], contrastant avec l'absence d'effet des aminosides, tétracyclines et macrolides chez cette même bactérie. Chez *Streptococcus pneumoniae*, de nombreux changements dans l'expression de gènes (128 stimulés, 258 inhibés), touchent notamment des gènes de la compétence naturelle, laquelle est réprimée par l'augmentation de sa régulation négative [13].

Ainsi, malgré un mécanisme d'action au niveau membranaire, les pénicillines induisent des conséquences importantes sur la régulation des gènes et peuvent considérablement augmenter l'expression de facteurs de virulence.

Biofilm :

C'est le second domaine où est constaté une certaine influence des pénicillines, globalement aussi en faveur d'une stimulation. Ainsi, *P. aeruginosa* traité par de l'amoxicilline à 1/4 de la CMI (en présence de chlorhexidine) [14] et *E. coli* soumis à l'ampicilline à 1/4 de la CMI [15]

produisent un biofilm plus conséquent. Chez *S. aureus*, la capacité d'adhésion en présence de l'oxacilline est augmentée à la fois chez une souche sensible (adhésion aux ostéoblastes, fibronectines/fibrinogène [souche 8325-4]) [11], et chez une souche résistante (formation de biofilm sur une surface en verre [souche MRSA-VRSA-CP2]) [16].

Le graphique suivant examine dans le détail les effets provoqués par les pénicillines (Figure 9).

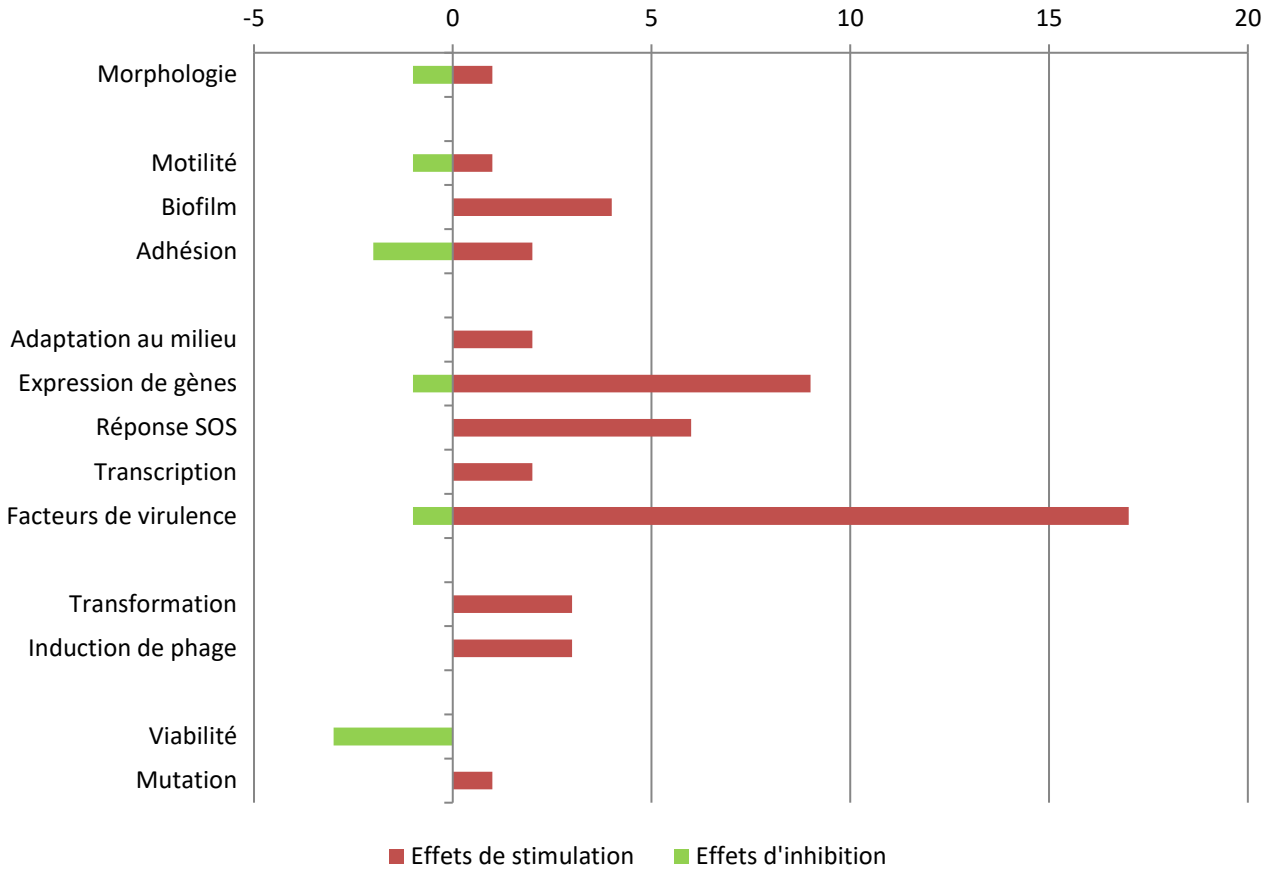

Figure 9 – Détail et occurrence des phénotypes dus à l'action des pénicillines sur les bactéries étudiées

Le tableau suivant (Tableau III) résume les principaux effets des pénicillines par molécule en fonction du genre bactérien.

Tableau III - Synthèse des effets des pénicillines

Antibiotique	Stimulation	Inhibition	Genre	Référence
Amoxicilline		Gènes (capsule, virulence)	*Streptococcus*	[17]
	Biofilm		*Pseudomonas*	[14]
	Gènes (virulence, réponse au stress)		*Listeria*	[12]
Ampicilline	Gènes (virulence)		*Pseudomonas*	[18]
	Gènes (réponse au stress)		*Staphylococcus*	[9]
	Facteurs de virulence			[3]
	Filamentation	Croissance bactérienne	*Escherichia*	[19]
		Adhésion, motilité		[15]
	Gènes (virulence, réponse au stress)		*Listeria*	[12]
	Biofilm		*Streptococcus*	[20]
Pénicilline G	Gènes (virulence, réponse au stress)		*Staphylococcus*	[3], [9], [21]
		Adhésion	*Neisseria*	[22]
		Pili		
Nafcilline	Gènes (virulence)		*Staphylococcus*	[3], [10]
Oxacilline	Gènes (virulence)		*Staphylococcus*	[3], [11], [23]
	Adhésion			[11], [16]

b) *Céphalosporines*

Les céphalosporines sont des antibiotiques bactéricides qui inhibent la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne (fixation aux PLP).

Comme les pénicillines, elles ont une forte tendance à moduler l'expression des gènes. Vingt-six cas de modulation du génome ont été relevés ce qui en fait l'effet principal des céphalosporines à dose subinhibitrice, devant les modifications morphologiques (12 cas). C'est sur ce dernier point qu'elles se distinguent des autres béta-lactamines, et des autres familles d'antibiotiques en général.

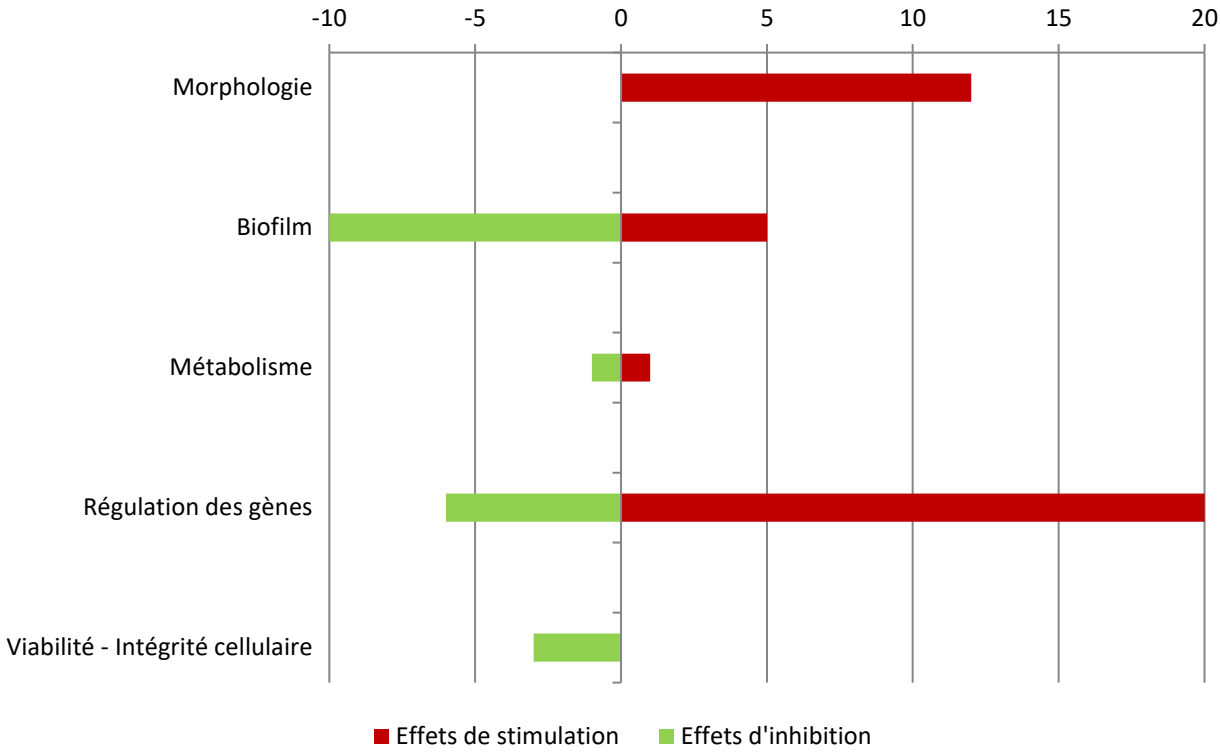

Figure 10 - Somme par groupe d'effet des phénotypes dus à l'action des céphalosporines sur les bactéries étudiées

Régulation des gènes :

À la manière des pénicillines, les céphalosporines stimulent l'expression des gènes de virulence. En chef de file, *S. aureus* exposé à la céfotaxime, céfazoline, céfoxitine, céfuroxime et céftriaxone, augmente sa sécrétion d'alpha toxine *via* l'expression 4 à 7 fois multipliée du gène *hla* [3]. Une étude de la céfoxitine décrit la stimulation de la transcription du gène *saeS* et du système de virulence SaeRS, couplé à une forte hausse de l'activité

hémolytique [4], tandis que la céfalotine est responsable de l'expression de nombreux autres gènes de virulence tels *spa* et *lukE* [21].

Biofilm :

Les déterminants du biofilm sont plutôt inhibés, surtout pour ce qui est de l'adhésion, mais les résultats se révèlent aléatoires chez les différentes bactéries testées. *Salmonella typhimurium* double sa production de biofilm (production accrue d'exopolysaccharides) en étant exposée à la céfotaxime à 1/2 de la CMI [24], de même que *P. aeruginosa* [14]. *S. aureus* a tendance à répondre de façon irrégulière à la présence de céphalosporine. Ainsi sa production de biofilm est multipliée 2 à 3 fois par la céfalexine [25] et par 3 à 4 fois par la céfalotine [21]. Néanmoins, les observations concernant la modulation de la formation du biofilm chez *S. aureus* restent contrastées et une variabilité entre souches différentes a notamment été décrite dans le travail de Lázaro-Díez et *al*., 2016 [26] (stimulation ou inhibition du biofilm en fonction de la souche étudiée). Une baisse de l'adhésion (dose dépendante) de *S. aureus* a aussi été observée avec d'autres céphalosporines [6], tandis que les conséquences d'une exposition d'*E. coli* à la céftazidime [6], la céfodizime [5], [6] et la céftriaxone [6] sont toujours une diminution de l'adhésion bactérienne (Figure 11).

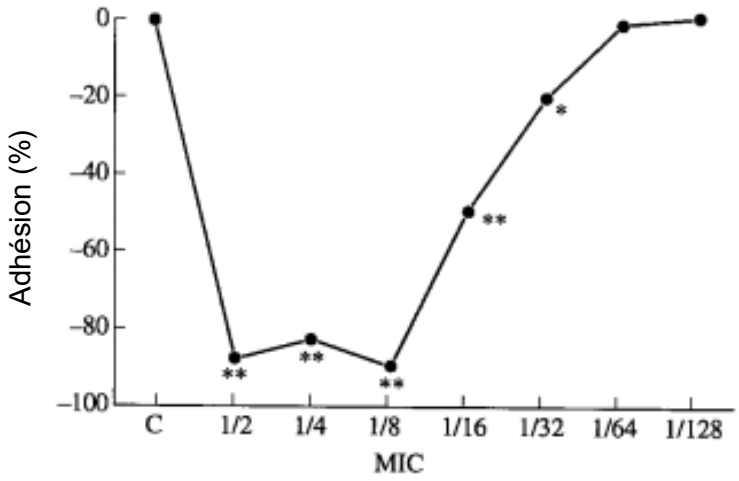

Figure 11 - Taux d'inhibition (en pourcentage) de l'adhérence d'E. coli sur des cellules épithéliales humaines après exposition à différentes concentrations subinhibitrices de céfodizime [5]

Morphologie :

L'effet distinguant l'influence des céphalosporines de celle des autres antibiotiques est leur capacité à modifier la morphologie des bactéries. La céfotaxime et la céfodizime, sur une gamme de 1/2 à 1/16 fois la CMI, engendrent chez *S. aureus* l'apparition de cocci élargis,

semblant endommagés, voire perforés [6] (Figure 12). Il en est de même chez *E. coli*, où les bacilles subissent une filamentation et contiennent des renflements dans leur paroi (Figure 13). La céftazidime a quant à elle une action sur *Klebsiella pneumoniae*, créant des bactéries de formes irrégulières et filamenteuses. Cette modification morphologique est associée à une augmentation de 1,5 à 2 fois du diamètre de la capsule, dont la structure devient lâche avec des agglutinations de matériaux capsulaires [27]. En fait, les céphalosporines ont globalement une tendance à provoquer la filamentation des bacilles comme *E. coli* en présence de céfodizime, céfotaxime [5], [6], *K. pneumoniae* avec la céftazidime [27] et la céfuroxime [28]. L'effet de la céftriaxone chez *E. coli* résume assez bien les différents effets recensés pour les céphalosporines puisqu'elle provoque un changement de morphologie et une augmentation de la mortalité bactérienne grâce à une diminution de l'encapsulation des germes les exposant à la phagocytose et à l'activation du complément [29], [30].

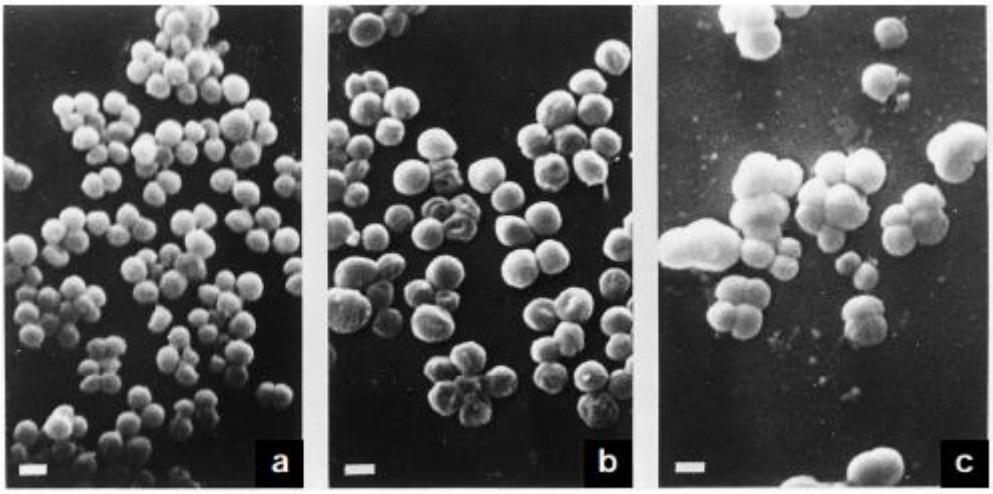

Figure 12 - Modifications morphologiques de S. aureus : a) contrôle, b) ½ CMI céfodizime, c) ½ CMI céfotaxime [6]

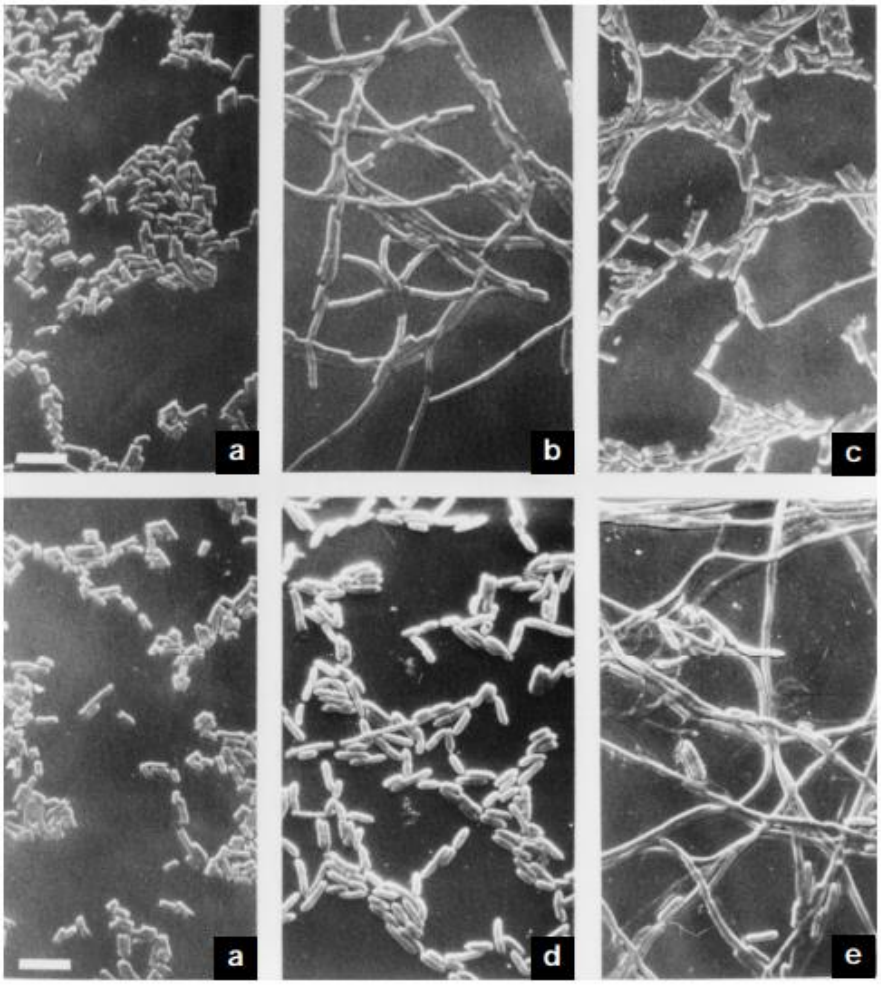

Figure 13 - Modifications morphologiques de E. coli : a) contrôle, b) 1/2 CMI céfodizime, c) 1/16 CMI céfodizime, d) 1/2 CMI céftriaxone, e) 1/16 CMI céftriaxone [6]

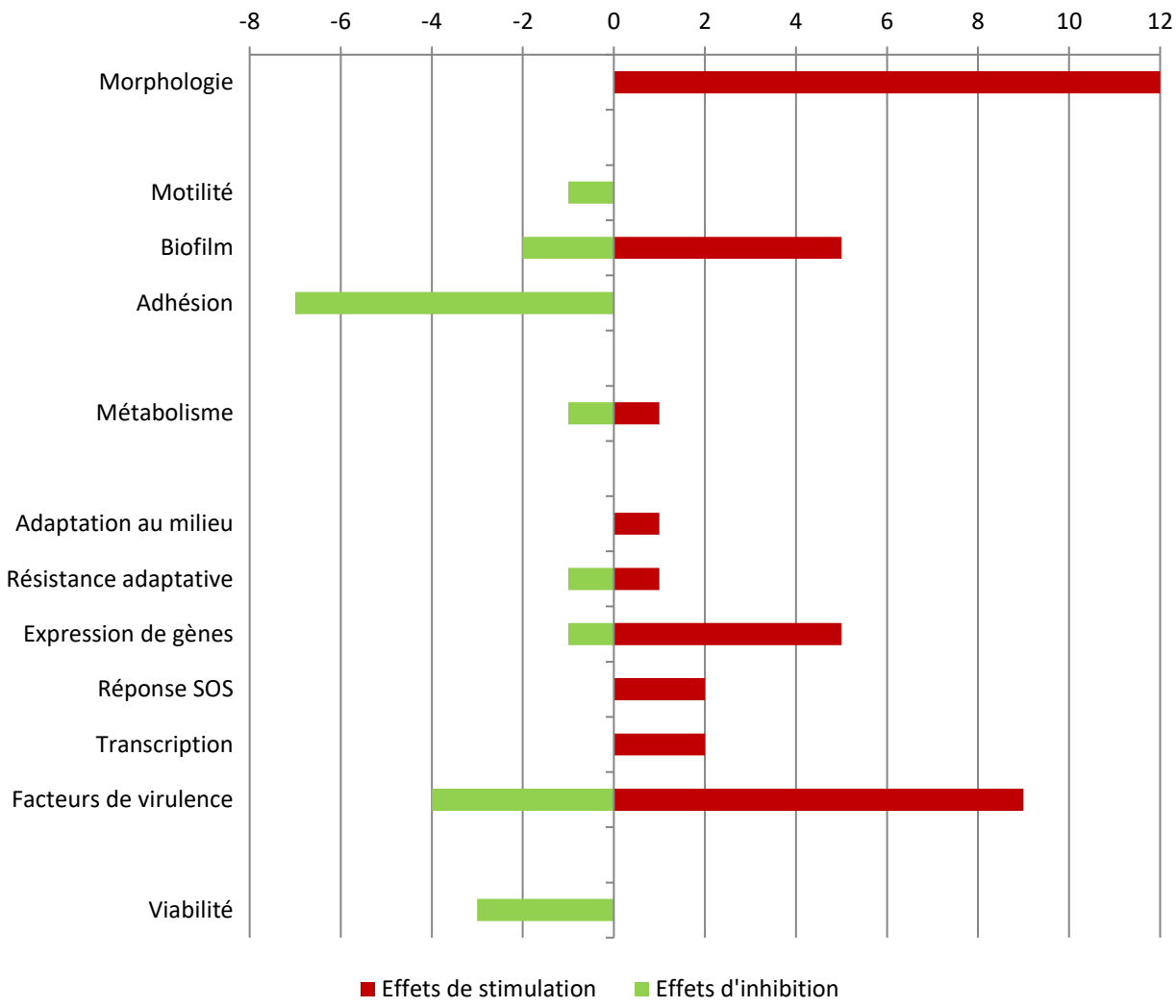

Figure 14 - Détail et occurrence des phénotypes dus à l'action des céphalosporines sur les bactéries étudiées

Le graphique précédent (Figure 14) examine dans le détail les effets provoqués par les céphalosporines.

Le tableau suivant (Tableau IV) résume les principaux effets des céphalosporines par molécule en fonction du genre bactérien.

Tableau IV - Synthèse des effets des céphalosporines

Antibiotique	Stimulation	Inhibition	Genre	Référence
Céfotaxime	Métabolisme		*Salmonella*	[31]
	Biofilm			[24]
	Biofilm		*Pseudomonas*	[14]
	Gènes (virulence)		*Staphylococcus*	[3]
	Morphologie	Adhésion		[6]
	Morphologie	Adhésion	*Escherichia*	
Céftazidime	Morphologie		*Klebsiella*	[27]
	Résistances		*Staphylococcus*	[32]
	Réponse au stress			
Céfodizime	Morphologie (filamentation)	Adhésion, motilité	*Escherichia, Staphylococcus*	[5], [6]
Céfoxitine	Gènes (virulence)		*Staphylococcus*	[3], [4]
Céfuroxime	Gènes (virulence)		*Staphylococcus*	[3]
	Gènes (virulence, réponse au stress)		*Listeria*	[12]
	Morphologie (filamentation)		*Klebsiella*	[28]
Céftriaxone	Gènes (virulence)		*Staphylococcus*	[3]
	Morphologie	Adhésion	*Escherichia, Staphylococcus*	[6]
	Morphologie	Résistance au système immunitaire	*Escherichia*	[29], [30]
Céfalotine	Gènes (virulence)		*Staphylococcus*	[21]
Céftaroline	Morphologie		*Staphylococcus*	[26]
	Gènes (virulence)			

c) Monobactames

Les monobactames sont des antibiotiques bactéricides qui inhibent la synthèse du peptidoglycane.
L'aztréonam est seul représentant commercialisé de cette famille. Étant donné son spectre étroit (bacilles gram négatif), il est peu étudié. Ainsi, les recherches sur MedLine avec les mots-clés « *Aztreonam* + *subinhibitory concentration* » ne donnent que 12 références. Les effets de cet antibiotique ne seront pas développés dans ce travail.

d) Carbapénèmes

Les carbapénèmes sont des antibiotiques bactéricides qui inhibent la synthèse du peptidoglycane. L'imipénème en est le représentant principal. Il est étudié essentiellement sur *P. aeruginosa, S. aureus* et *E. coli* parmi tous les articles qui en font référence.

L'expression de 336 gènes de *P. aeruginosa* est multipliée ou divisée par un facteur 2, et 34 d'entre eux par un facteur 5 [33]. Parmi ceux-ci, les gènes de la division cellulaire, de la synthèse du peptidoglycane, et surtout de la production d'alginate (expression multipliée par 20) dans la matrice (production du biofilm) sont stimulés par la présence d'imipénème à 1/4 de la CMI [33]. Ainsi, à 1/4 de la CMI, le biofilm est plus dense et plus épais. L'imipénème à doses subinhibitrices a tendance à augmenter la capacité de résistance de *P. aeruginosa* aux autres antibiotiques par production de béta-lactamases [33], ou par persistance par sélection de mutants résistants *via* des mécanismes de résistance croisée (aux fluoroquinolones notamment) [34].
Chez *S. aureus*, l'expression des gènes de facteurs de virulence (alpha toxine) [3] est multipliée 8 fois, tout comme ceux de la réponse au stress qui induisent le développement de résistances, parfois croisées (à la vancomycine par exemple) [32].
Globalement, les principaux effets observés ont tendance à augmenter la pathogénicité des bactéries exposées.

Le tableau suivant (Tableau V) résume les principaux effets de l'imipénème en fonction du genre bactérien.

Tableau V - Synthèse des effets de l'imipénème

Antibiotique	Stimulation	Inhibition	Genre	Référence
Imipénème	Facteurs de virulence		*Pseudomonas*	[33]
	Biofilm			
		Gènes (flagelle et pili)		
	Gènes (virulence)		*Staphylococcus*	[3], [32]
	Gènes (résistance, réponse au stress)			[32]
		Résistance au système immunitaire	*Escherichia*	[35]

2. Glycopeptides

Les glycopeptides sont des antibiotiques bactéricides qui inhibent la synthèse du peptidoglycane. Dans les articles étudiés, la vancomycine en est le principal représentant.

D'un point de vue thérapeutique, le seul effet positif observé (Figure 15, Figure 16) est la diminution de l'adhésion chez *Enterococcus faecalis* et *Streptococcus sanguis* [36], ainsi que chez *Staphylococcus epidermidis* et *S. aureus* (dose dépendante, maximale à 1/2 de la CMI) [37]. Malgré cela, une stimulation du biofilm est constatée chez *P. aeruginosa* (motilité, formation de *clusters*) [18] et chez *S. aureus* avec augmentation de la production d'exopolymères et un développement du biofilm sur silicone et nylon [16].

La vancomycine peut provoquer l'activation de plusieurs gènes. La réponse SOS est stimulée chez *E. faecalis via* l'expression du gène *fur*, couplée à celle du gène *vanA*, induisant une résistance à la vancomycine [38]. Chez *L. monocytogenes,* une culture en présence de vancomycine déclenche la réponse SOS puis l'augmentation des facteurs de virulence [12]. Chez *Clostridium difficile*, les toxines A et B, qui en sont les facteurs de virulence majeurs, sont synthétisées et libérées massivement durant une phase de croissance en situation de stress provoqué par l'exposition à 1/2 de la CMI de vancomycine [39].

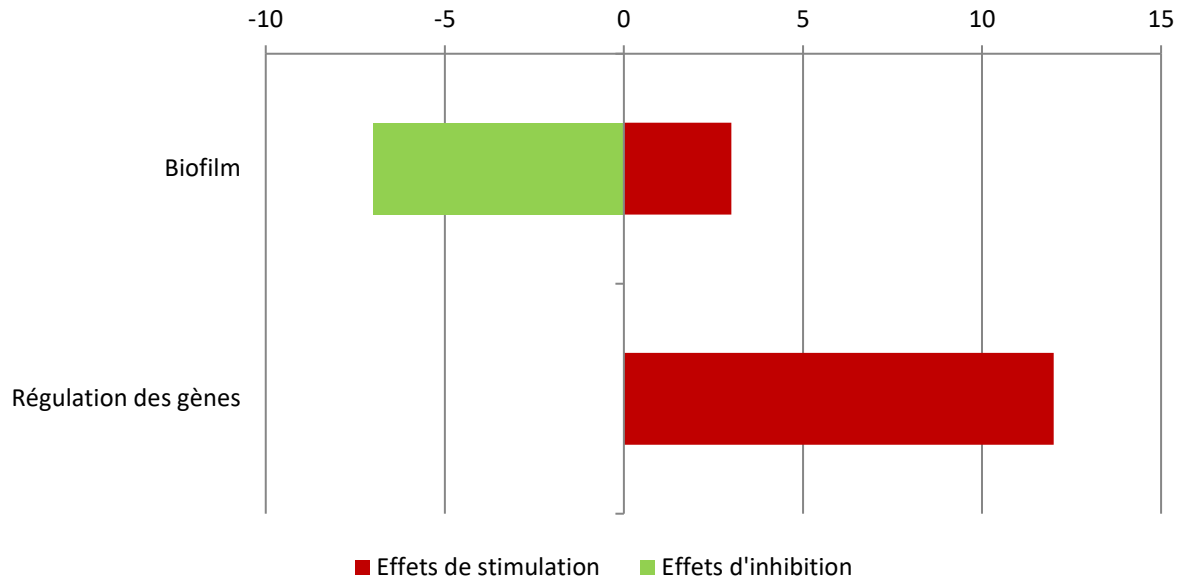

Figure 15 – Somme par groupe d'effet des phénotypes dus à l'action des glycopeptides sur les bactéries étudiées

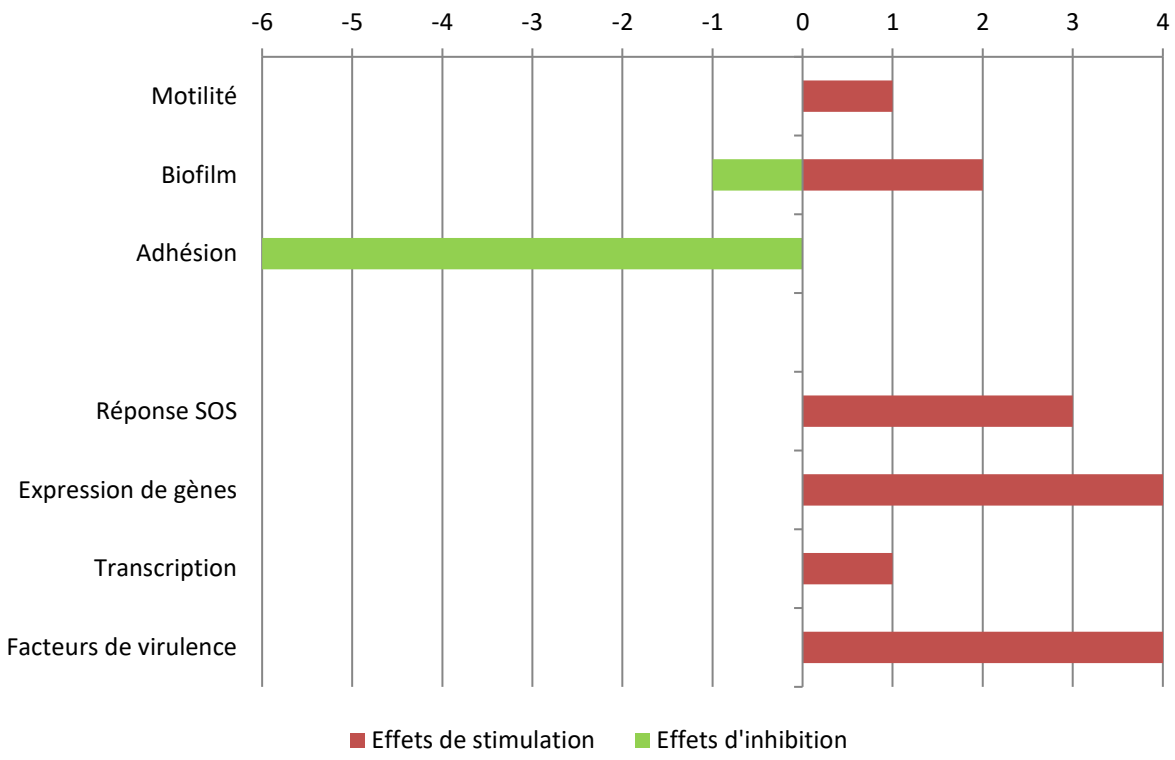

Figure 16 – Détail et occurrence des phénotypes dus à l'action des glycopeptides sur les bactéries étudiées

Le tableau suivant (Tableau VI) résume les principaux effets des glycopeptides par molécule en fonction du genre bactérien.

Tableau VI - Synthèse des effets des glycopeptides

Antibiotique	Stimulation	Inhibition	Genre	Référence
Vancomycine	Gènes (virulence, motilité)		*Pseudomonas*	[40]
		Biofilm, adhérence	*Staphylococcus*	[37], [41]
	Biofilm			[16], [42]
		Adhésion	*Streptococcus*	[36]
	Gènes (résistance, réponse au stress)		*Enterococcus*	[38]
	Gènes (virulence, réponse au stress)		*Listeria*	[12]
	Gènes (virulence)		*Clostridium*	[39]
Teicoplanine		Adhésion	*Staphylococcus*	[37]
	Gènes (virulence, réponse au stress)		*Listeria*	[12]

B. Les inhibiteurs de la synthèse protéique

1. Aminosides

Les aminosides sont une famille d'antibiotiques bactéricides, qui par fixation à la sous-unité 30S des ribosomes, inhibent la synthèse protéique.

17 articles mentionnant les effets de ces antibiotiques ont été étudiés, et 24 concentrations subinhibitrices ont été relevées.

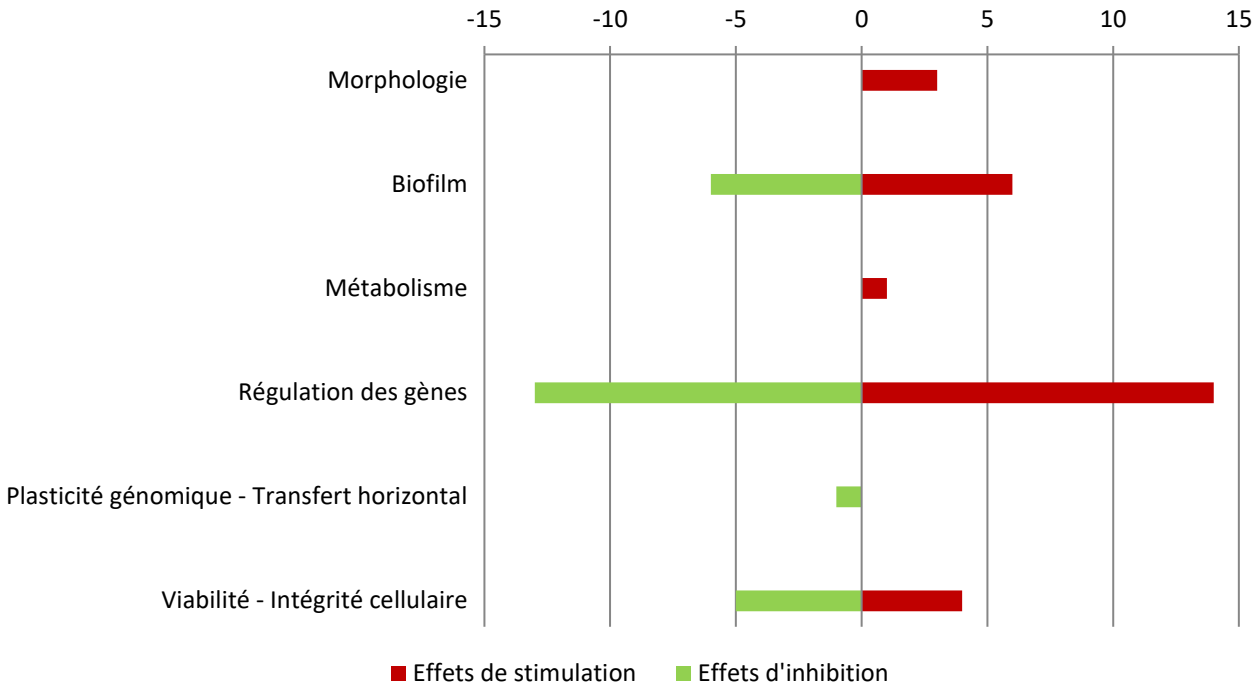

Figure 17 - Somme par groupe d'effet des phénotypes dus à l'action des aminosides sur les bactéries étudiées

Avec les aminosides, la capacité à moduler l'expression des gènes des bactéries étudiées est fréquemment rapportée. Les autres effets relevés sont assez divers. Malgré cela, deux dynamiques se distinguent : l'augmentation des résistances et la diminution des facteurs de virulence dues à des stimulations et inhibitions d'expression géniques. L'activité des aminosides sur la formation du biofilm est quant à elle plutôt aléatoire. Ainsi, on observe une augmentation ou une diminution de sa formation, en fonction du couple antibiotique – espèce bactérienne étudié.

Les aminosides en doses subinhibitrices induisent de nombreuses stimulations de résistance (adaptative). Chez *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas protegens,* en présence de la

kanamycine, une augmentation de CMI par mutation *de novo* est observée [43]. Chez *P. aeruginosa* en présence de tobramycine ou de gentamicine, une diminution de la diffusion des antibiotiques dans le biofilm est rapportée [44].

De plus, on constate une inhibition des facteurs de virulence par les principaux aminosides chez la plupart des souches étudiées : comme chez *S. aureus* en présence de kanamycine (baisse de 23%), tobramycine (baisse de 54%), gentamicine (baisse de 34%), nétilmicine (baisse de 46%) et streptomycine (baisse de 40%) [3], ou chez *P. aeruginosa* en présence de la tobramycine [45]. Dans de rares tests des antibiotiques *in vitro*, la tobramycine, après 10 jours de traitement à 1/10 de la CMI, réduit fortement le développement de l'infection à *P. aeruginosa* [45].

La dynamique d'inhibition des facteurs de virulence est donc nette, d'autant qu'aucun effet de stimulation de la virulence n'a été observé (Figure 18).

Pour le reste, les effets observés sont variables et imprévisibles. Ils sont dépendants des souches, des antibiotiques utilisés et des conditions expérimentales.

En poursuivant dans la liste des effets thérapeutiquement positifs aperçus, l'invasion bactérienne est réduite chez *P. aeruginosa* avec la tobramycine [45], tandis que chez *E. coli* en présence de nétilmicine à 1/2 de la CMI, c'est le système immunitaire qui amplifie son efficacité. Ainsi, des augmentations de la phagocytose et de la consommation du complément engendrant une hausse de la mortalité chez les bactéries non encapsulées ont été observées [29], [30]. Chez *Bacillus subtilis*, la croissance bactérienne diminue, en fonction du temps de présence de la gentamicine. Le travail de Lin et *al.*, 2005 [46], s'attarde sur les variations des effets observés en fonction du temps. Ainsi, l'expression de 462 gènes (notamment des gènes de la synthèse de protéines et du métabolisme des carbohydrates) est stimulée après 5 et 30 minutes d'exposition puis inhibée à 15 et 60 minutes. Cette fluctuation coïncide avec la diminution de la croissance bactérienne observée à 15 et 60 minutes.

Biofilm :

Concernant le biofilm, sa formation est stimulée chez *P. aeruginosa* en présence de tobramycine [47], [48], et chez *E. coli*, par la présence de tobramycine [48] et de gentamicine [15]. Une hypothèse proposée est que les aminosides activeraient une voie de signalisation chez les bactéries à gram négatif [48].

Chez *P. aeruginosa*, il est aisé de mettre en lien la stimulation de la formation du biofilm et l'augmentation de résistances adaptatives qui diminuent la pénétration des antibiotiques dans ledit biofilm.

Cela étant, la streptomycine chez *S. sanguis* et *E. faecalis* provoque une diminution de l'adhésion [36], et par conséquent une altération de la formation du biofilm, ce qui confirme le comportement très aléatoire des bactéries en présence d'aminosides.

Régulation des gènes :

Sur les 17 articles étudiés, 27 effets impactant la régulation des gènes ont été relevés. Quatorze décrivent une stimulation de l'expression des gènes, et treize décrivent une inhibition (Figure 17). C'est le domaine où les aminosides sont les plus influents, avec des réponses très variables.

La tobramycine, chez *P. aeruginosa*, module 555 gènes [47], stimulant ceux impliqués dans la formation du biofilm (motilité) notamment [47], [48]. Mais paradoxalement, elle induit une diminution des facteurs de virulence chez cette même espèce se traduisant par une diminution légère de l'expression des gènes de l'exotoxine A et de l'exoenzyme S, et une diminution plus importante de l'expression des gènes de la phospholipase C, la protéase et l'élastase [45]. De plus, chez *S. aureus,* l'expression du gène de l'alpha toxine est réduit de 54% [3].

L'incohérence des effets de la tobramycine résume à elle seule l'inconstance et l'imprévisibilité des conséquences de l'utilisation des aminosides à doses subinhibitrices.
Il faut ajouter à cela le comportement de *B. subtilis* en présence de gentamicine. En effet, les fluctuations de l'expression de gènes, évoquées précédemment, témoignent des conséquences aléatoires de l'exposition de bactéries aux aminosides en l'espace d'une heure d'observations.

Morphologie :

En premier lieu, en présence de 1/10 de la CMI de kanamycine, *Pseudomonas* subit un changement de morphologie (polymorphisme) [43]. En deuxième lieu, l'amikacine induit chez *Mycobacterium abscessus* un aspect rugueux de la paroi bactérienne [49] – effet réversible dès l'absence de l'antibiotique –, et une disposition des cellules en chaînettes. D'une manière générale, les impacts sur la morphologie des bactéries sont étroitement liés à la

modification de la sensibilité au système immunitaire de l'hôte, ce qui, d'un point de vue thérapeutique, est un comportement à signaler. Cette sensibilité peut être augmentée, comme chez *E. coli* en présence de nétilmicine à 1/2 de la CMI, où la diminution du nombre de bactéries encapsulées les rend plus sensibles à la phagocytose par les polynucléaires, à l'activation du complément, et finalement à leur mort [29], [30]. D'autre part – et c'est encore là une marque de l'inconstance des conséquences de l'exposition aux aminosides –, le changement de morphologie et des structures de *M. abscessus* par l'amikacine diminue la phagocytose et augmente sa résistance aux macrophages.

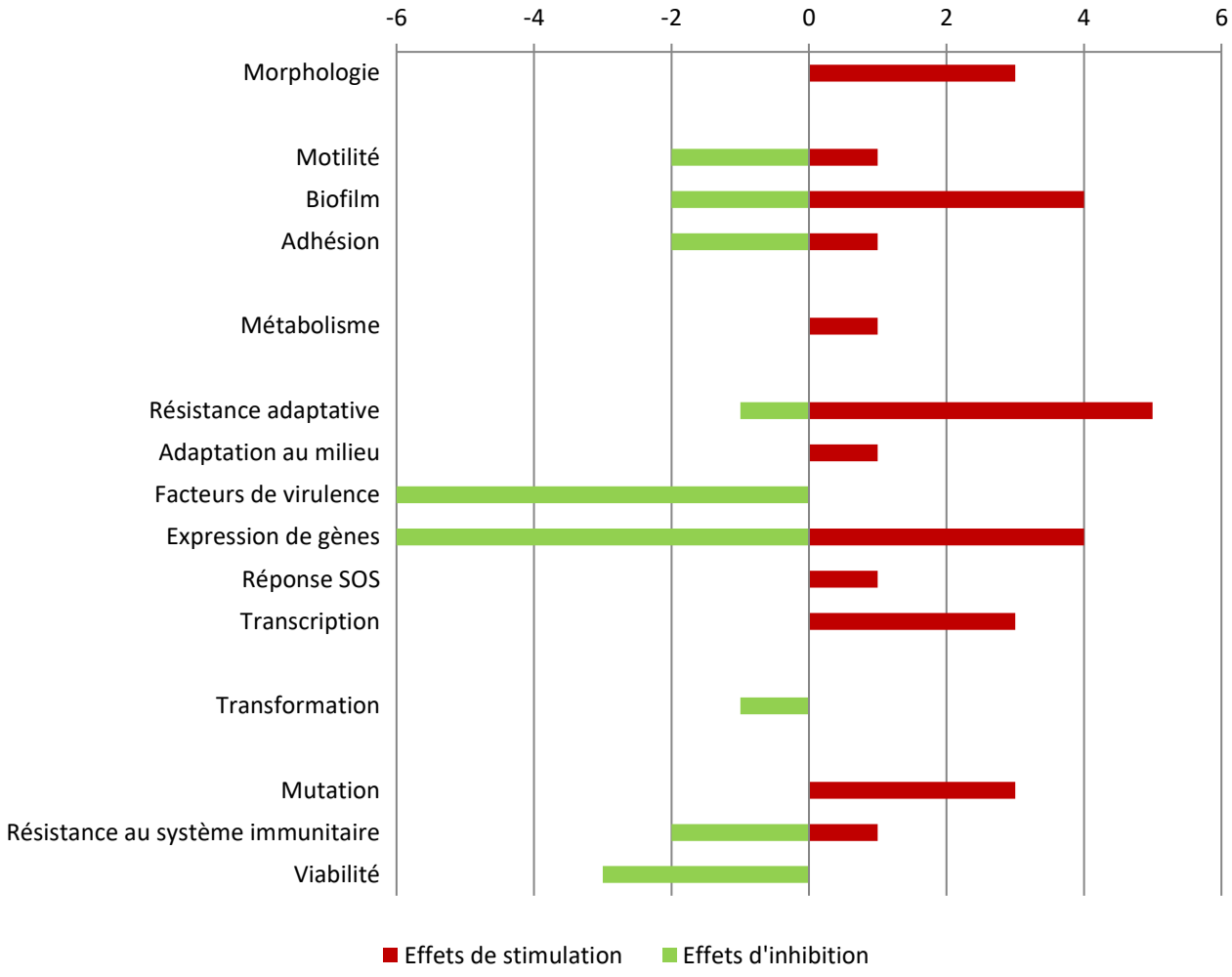

Figure 18 – Détail et occurrence des phénotypes dus à l'action des aminosides sur les bactéries étudiées

Le tableau suivant (Tableau VII) résume les principaux effets des aminosides par molécule en fonction du genre bactérien.

Tableau VII - Synthèse des effets des aminosides

Antibiotique	Stimulation	Inhibition	Genre	Référence
Kanamycine	Morphologie		*Pseudomonas*	[43]
		Gènes (virulence)	*Staphylococcus*	[3]
Tobramycine	Biofilm		*Pseudomonas*	[47], [48]
	Résistance adaptative			[44]
		Gènes (virulence)		[45]
	Biofilm		*Escherichia*	[48]
		Gènes (virulence)	*Staphylococcus*	[3]
Gentamicine	Expression de gènes		*Bacillus*	[46]
		Gènes (virulence)	*Staphylococcus*	[3]
	Résistance adaptative		*Pseudomonas*	[44]
	Expression de gènes			[50]
	Biofilm		*Escherichia*	[15]
	Gènes (réponse au stress)		*Listeria*	[12]
		Biofilm	*Salmonella*	[24]
Nétilmicine		Gènes (virulence)	*Staphylococcus*	[3]
		Résistance au système immunitaire	*Escherichia*	[29], [30]
Streptomycine		Gènes (virulence)	*Staphylococcus*	[3]
		Adhésion (biofilm)	*Streptococcus*	[36]
		Transformation		[51]

2. Macrolides

Les macrolides sont une famille d'antibiotiques qui regroupe les macrolides vrais, les lincosamides et les synergistines. Ces dernières ne seront pas abordées ici. Les macrolides sont des antibiotiques bactériostatiques ou bactéricides qui par fixation à la sous-unité 50S du ribosome, inhibent la synthèse des protéines.

Vingt-neuf articles mentionnant l'effet de ces antibiotiques en concentrations subinhibitrices ont été étudiés.

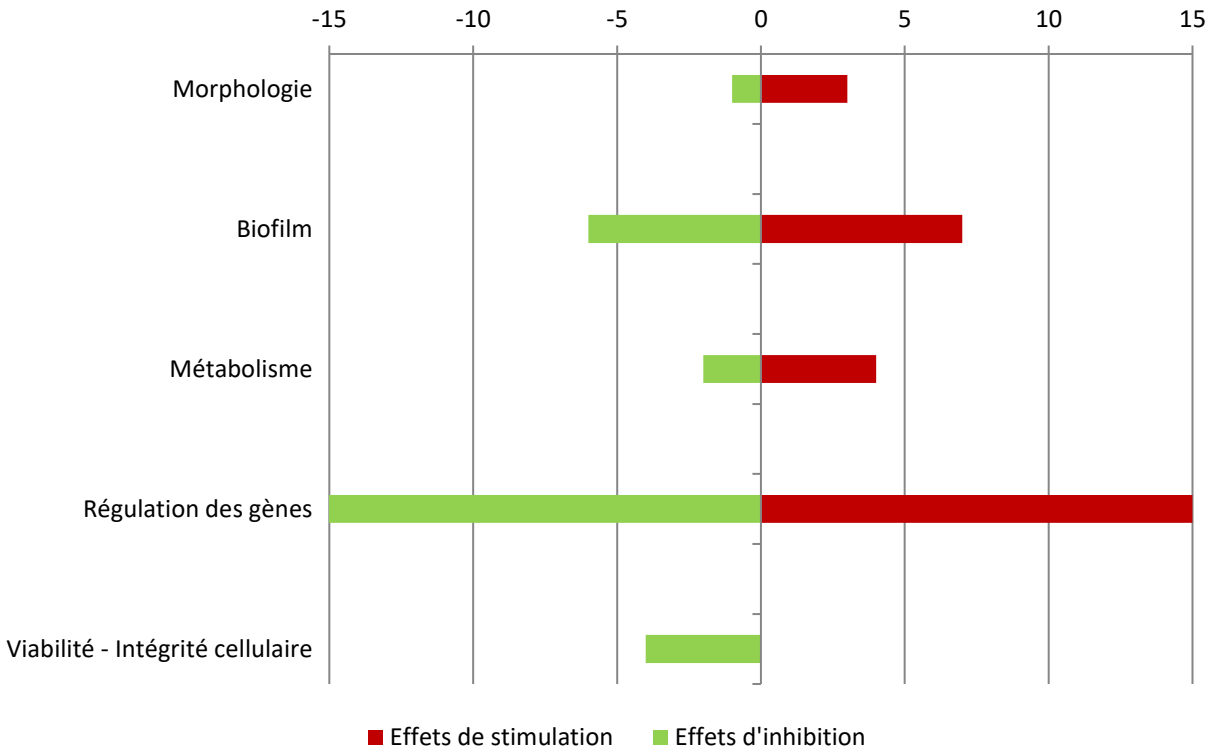

Figure 19 - Somme par groupe d'effet des phénotypes dus à l'action des macrolides (famille rassemblée) sur les bactéries étudiées

Les paragraphes suivants et la Figure 19 détaillent les effets des macrolides vrais, puis ceux des lincosamides.

a) Macrolides vrais

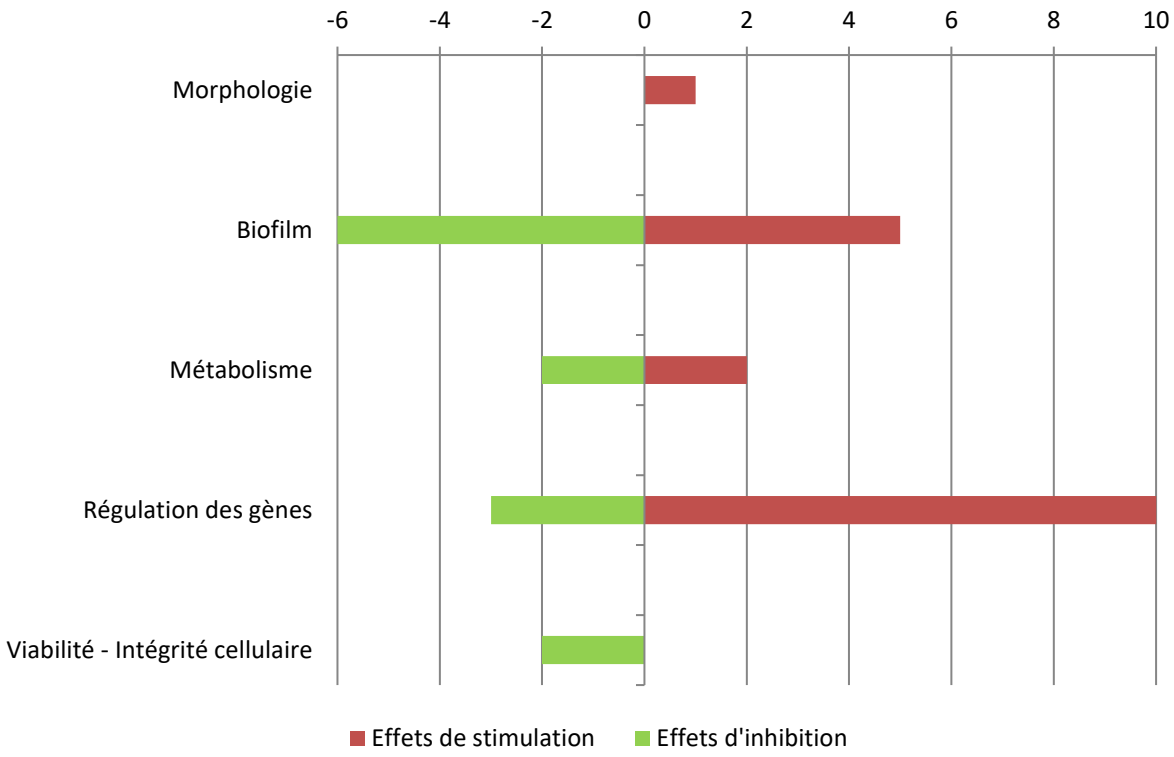

Figure 20 - Somme par groupe d'effet des phénotypes dus à l'action des macrolides vrais sur les bactéries étudiées

Biofilm :

En matière de biofilm, les effets constatés des macrolides vrais sont variables. L'azithromycine représente bien ces résultats discordants. Chez *P. aeruginosa* il peut y avoir une stimulation de la formation du biofilm [14], [18], mais aussi une inhibition [52], ce qui est également noté chez *Haemophilus influenzae* [53]. Une autre étude constate cet effet ambivalent de l'azithromycine. Ainsi, Gillis et Iglewski, 2004 [54] montrent qu'à 1/16 et 1/64 × CMI, la formation de biofilm par la bactérie en présence de la molécule est retardée de 48h (par rapport à un témoin), suite à quoi, le biofilm devient beaucoup plus robuste. Ceci est en lien avec la résistance de la souche à l'antibiotique (CMI = 128 µg/mL). Il est à noter que l'azithromycine n'exerce pas d'effet sur les biofilms déjà formés.

L'érythromycine produit des effets similaires. Ainsi ce macrolide exerce une stimulation du biofilm chez des souches résistantes de *S. epidermidis* [55], et une inhibition chez *Streptococcus suis* [56]. L'inhibition du biofilm est également la conséquence de l'action de la roxithromycine sur *S. aureus* [25], et de la clarithromycine sur *S. epidermidis* [57] et

Mycobacterium avium [58], où dans cette dernière étude, on retrouve qu'il n'y a pas d'effet des macrolides sur les biofilms déjà formés.

Régulation des gènes :

Treize effets sur la régulation des gènes ont été relevés (Figure 20), la majorité décrivant une stimulation. L'érythromycine démontre ces effets de modulations géniques chez *B. subtilis* en impactant 1233 gènes [46]. Chez *S. epidermidis*, ce sont ceux relatifs au biofilm qui sont stimulés [55], [59]. Et, chez *S. pneumoniae*, c'est le métabolisme des purines/pyrimidines qui est augmenté [60].

Quorum sensing :

P. aeruginosa est une espèce bactérienne capable de communiquer *via quorum sensing*, ce qui lui permet notamment de produire de nombreux facteurs de virulence [52]. La propension de l'azithromycine à réduire le *quorum sensing* chez cette bactérie est remarquable [52]. Un autre macrolide dispose aussi de cette capacité : l'érythromycine. Ainsi cette molécule inhibe la faculté de *S. suis* à communiquer grâce à ce système, et par conséquent, diminue la production du biofilm [56].

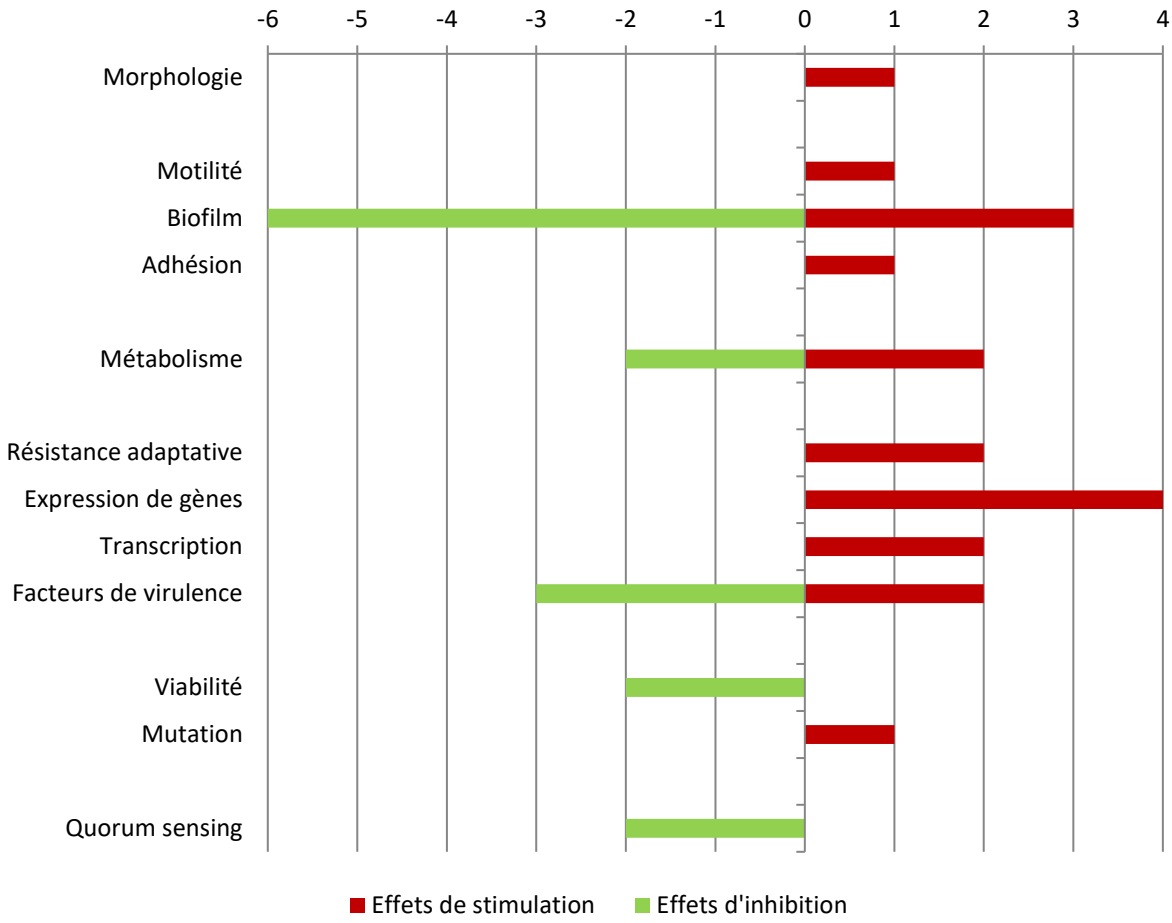

Figure 21 – Détail et occurrence des phénotypes dus à l'action des macrolides vrais sur les bactéries étudiées

Le tableau suivant (Tableau VIII) résume les principaux effets des macrolides vrais par molécule en fonction du genre bactérien.

Tableau VIII - Synthèse des effets des macrolides vrais

Antibiotique	Stimulation	Inhibition	Genre	Référence
Azithromycine	Biofilm		*Pseudomonas*	[14], [18]
		Biofilm		[52], [54]
	Gènes (virulence)			[18]
		Biofilm	*Haemophilus*	[53]
Érythromycine	Transcription		*Salmonella*	[61]
	Promoteurs			
	Expression de gènes		*Bacillus*	[46]
	Adhésion		*Staphylococcus*	[59]
	Biofilm			[55]
		Gènes (virulence)		[3]
		Biofilm	*Streptococcus*	[56]
	Expression de gènes			[60]
	Résistance induite			[62]
Roxithromycine		Biofilm	*Staphylococcus*	[25]
		Facteurs de virulence		
Clarithromycine		Biofilm	*Mycobacterium*	[58]
		Biofilm (perméabilité)	*Staphylococcus*	[57]

b) Lincosamides

Les lincosamides sont des antibiotiques bactériostatiques qui, par action au niveau de la sous-unité 50S du ribosome et par inhibition de la transpeptidation au niveau des chaines polypeptidiques en formation, suppriment la synthèse protéique.

Malgré leur appartenance à la grande famille des macrolides, les lincosamides se distinguent des macrolides vrais par leurs effets à doses subinhibitrices sur les bactéries.

L'effet le plus notable des lincosamides est l'inhibition très majoritaire des facteurs de virulence, là où les macrolides avaient des conséquences plus partagées. En effet, pour 10 articles étudiés, on retrouve 10 effets de diminution des facteurs de virulence contre 1 seul de stimulation. Ceci fait des lincosamides des molécules ayant des attraits assez positifs du point de vue thérapeutique.

La clindamycine sur *S. aureus* diminue de 98 % l'expression du gène *hla*, responsable de la synthèse de l'alpha-toxine [3], [63]. Les exoprotéines (alpha et béta hémolysines, DNases, lipases, TSST-1) sont aussi affectées [64], de même que la Leukocidine de Panton-Valentine, exoprotéine nécessitant la croissance bactérienne pour être sécrétée et dont l'expression du gène est inhibée de façon dose dépendante (de 1/8 à 1/2 fois la CMI) [23], [63].

Chez *S. pyogenes*, on constate la diminution de sécrétion des exoprotéines et de la streptolysine O à 1/5 de la CMI [65], tandis qu'à 1/2 de la CMI, l'efficacité du système immunitaire de l'hôte est soudainement fortement améliorée : la phagocytose augmente, le complément est activé et la fixation aux bactéries est plus intense, la mortalité microbiologique augmente, cela étant une conséquence des changements de morphologie des bactéries [66]. En effet, elles deviennent gonflées, réduites, ou allongées, ce qui les rend plus sensibles à différents mécanismes du système immunitaire.

Ces atteintes morphologiques se retrouvent chez *Propionibacterium acnes* et *Propionibacterium granulosum* en présence de la clindamycine à 1/2 et 1/4 de la CMI [67]. Ces deux espèces subissent une diminution de leur production de lipases en présence de l'antibiotique à concentration subinhibitrice [67].

Le tableau suivant (Tableau IX) résume les principaux effets des lincosamides par molécule en fonction du genre bactérien.

Tableau IX - Synthèse des effets des lincosamides

Antibiotique	Stimulation	Inhibition	Genre	Référence
Clindamycine		Gènes (virulence)	*Staphylococcus*	[3], [23], [63], [64]
		Résistance au système immunitaire	*Streptococcus*	[66]
		Gènes (virulence)		[65]
	Changement de morphologie	Facteurs de virulence	*Propionibacterium*	[67]
Lincomycine	Métabolisme		*Streptomyces*	[68]

3. Tétracyclines

Les tétracyclines sont des antibiotiques bactériostatiques qui par fixation sur la sous-unité 30S du ribosome, inhibent la synthèse de protéines.

Dix-sept articles mentionnant l'effet des tétracyclines à des concentrations subinhibitrices ont été étudiés pour cette famille.

Les tétracyclines à doses subinhibitrices ont des conséquences assez variables chez les espèces étudiées (Figure 22). La morphologie, la formation du biofilm et la régulation des gènes sont des caractères qu'elles impactent aussi bien en termes d'activation que de répression.

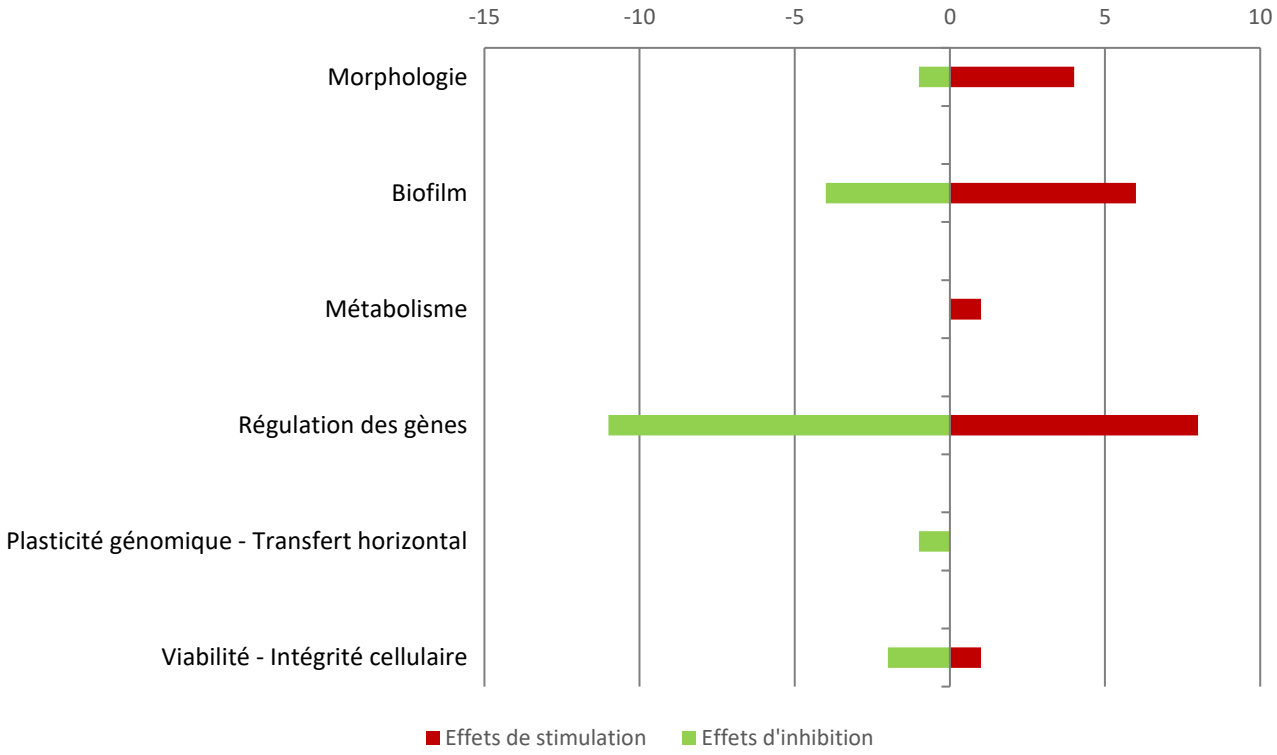

Figure 22 – Somme par groupe d'effet des phénotypes dus à l'action des tétracyclines sur les bactéries étudiées

Morphologie :

La tétracycline induit des modifications de la morphologie de *P. aeruginosa* et *P. protegens* chez des souches résistantes (CMI > 256 mg/L) à 1/10 de la CMI [43]. *Propionibacterium granulosum* subit le même type de changements phénotypiques [67], tandis que chez *Neisseria meningitidis* et *Neisseria gonorrhoeae,* une réduction de nombre de pili à la

surface de la membrane cellulaire a été signalée [22], ce qui entraine une diminution de leur capacité d'adhésion. La doxycycline, quant à elle, conduit *Chlamydia pneumoniae* à former des corps réticulés (structures intracellulaires non-infectieuses classiques) étant 5 à 6 fois plus grands qu'à la normale [69].

Régulation des gènes :

L'expression des gènes est impactée de manière importante par les tétracyclines. Chez *P. aeruginosa*, 6 gènes de virulence sont induits, ce qui conduit à une augmentation de la synthèse de rhamnolipides et l'activation de la motilité [18]. La toxicité du bacille pyocyanique est également multipliée par 4 avec l'expression du système de sécrétion de type III (SS3T) [47]. De même, pour une souche multi-résistante de *S. typhimurium* de nombreux caractères sont surexprimés comme la motilité (gènes de flagelle), la transcription de gènes de plasmides et la capacité d'invasion [70]. Malgré ces résultats, le staphylocoque doré est lui plutôt soumis à une réduction de ses facultés toxiques, à commencer par une légère inhibition de l'expression du gène *hla* de l'alpha toxine [3], [63], mais aussi une atténuation de l'expression de *spa* et de la sécrétion de la Leukocidine de Panton-Valentine [63]. *E. coli* n'est pas en reste puisque le colibacille subit une diminution de la production des phages porteurs du gènes de la shiga-toxine 2 [71]. Un autre effet important à noter chez *L. monocytogenes* est que l'exposition à la tétracycline provoque une altération de la virulence et des mécanismes de réponse au stress, ce qui conduit à une mortalité accrue des bactéries lorsqu'elles sont soumises à un nouveau stress (de type pH acide ou eau oxygénée) [12].

Biofilm :

Chez les cocci, la formation de biofilm par *S. epidermidis* est activée par la tétracycline grâce à la surexpression (9 fois) du gène *ica* (responsable de la synthèse d'adhésines intercellulaires) [59]. La tigécycline a un effet similaire sur le biofilm par une surexpression de 7 à 9 fois des gènes correspondants à cet agglomérat [42]. Cela étant, les réponses des bactéries aux tétracyclines ne vont pas toutes dans le même sens, comme chez *Neisseria spp*. où l'adhésion est réduite (baisse du nombre de pili) [22], ou encore chez *E. faecalis* qui subit une réduction de la formation de biofilm en présence de tigécycline, inversement proportionnelle à la dose d'antibiotique dans le milieu (effet plus intense à 1/4 qu'à 1/2 de la CMI) [72].

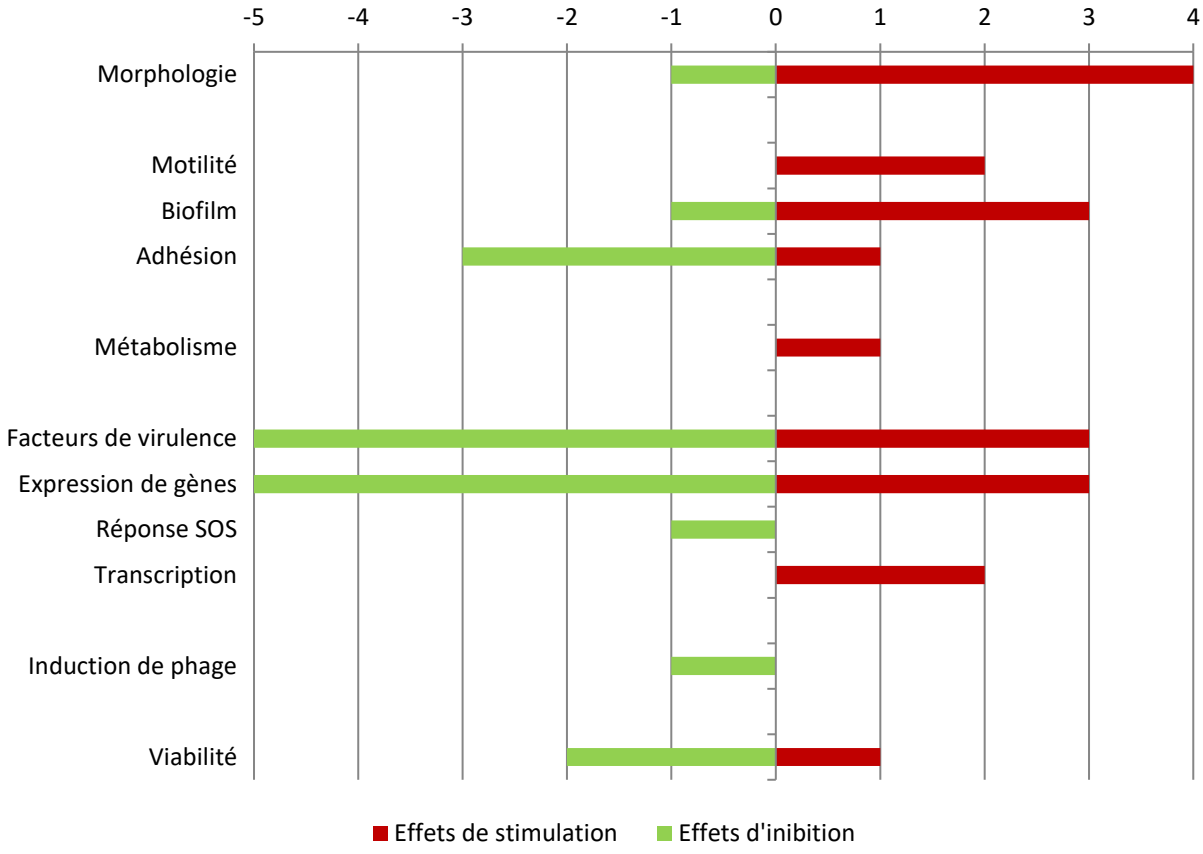

Figure 23 – Détail et occurrence des phénotypes dus à l'action des tétracyclines sur les bactéries étudiées

Le tableau suivant (Tableau X) résume les principaux effets des tétracyclines par molécule en fonction du genre bactérien.

Tableau X - Synthèse des effets des tétracyclines

Antibiotique	Stimulation	Inhibition	Genre	Référence
Tétracycline	Gènes (virulence)		*Pseudomonas*	[18], [47]
	Motilité			[18]
	Morphologie			[43]
	Biofilm, adhésion		*Staphylococcus*	[59]
	Gènes (métabolisme)	Gènes	*Streptococcus*	[60]
		Adhésion		[36]
		Gènes (virulence, réponse au stress)	*Listeria*	[12]
		Adhésion (pili)	*Neisseria*	[22]
	Gènes (motilité, plasmide, invasion)		*Salmonella*	[70]
Doxycycline	Persistance		*Chlamydia*	[69]
	Morphologie			
Tigécycline		Biofilm	*Enterococcus*	[72]
	Biofilm		*Staphylococcus*	[42]
		Gènes (virulence)		[63]
		Gènes (virulence, phage)	*Escherichia*	[71]

4. Chloramphénicol

Le chloramphénicol fait partie de la famille chimique des phénicolés. Il inhibe la synthèse protéique par fixation à la sous-unité 50S du ribosome.

Parmi les effets notables, on constate une baisse de l'adhésion d'*E. faecalis* et *S. sanguis* [36] à 1/4 de la CMI, bien que la souche d'*E. faecalis* soit résistante.
Chez *E. coli* de 1/8 à 1/2 de la CMI, le chloramphénicol réduit la production de shiga toxine-2 (responsable du syndrome hémolytique et urémique [SHU]) par inhibition de la transcription du gène *stx2* et de la diminution de la production du phage *stx2* [71].

5. Linézolide

Le linézolide est un antibiotique de la famille des oxazolidinones, qui inhibe la synthèse de protéines par fixation à la sous-unité 50S du ribosome.

Utilisé chez *S. aureus*, il inhibe l'expression et la synthèse de nombreux facteurs de virulence : la Leukocidine de Panton-Valentine [23], [63], l'alpha toxine [63], [73], l'alpha et la delta hémolysine, et les coagulases [73]. Cet effet d'inhibition est retrouvé également chez *S. pyogenes* avec un impact sur la production de streptolysine O et de DNase [73]. Mais, parmi tous les articles étudiés, une espèce échappe à ces comportements inhibiteurs du linézolide. En effet, chez *C. difficile*, les deux facteurs majeurs de virulence, les toxines A et B, sont produites *via* la stimulation de la transcription de leurs gènes par l'antibiotique [39].

En complément de ces résultats, le linézolide provoque une augmentation des propriétés d'adhésion du biofilm chez *S. aureus* en stimulant l'expression des gènes *fnbB* et *fnbA* codant pour des protéines liant la fibronectine/fibrinogène [11]. Chez *S. epidermidis,* un ajout de linézolide provoque la formation d'un biofilm 6 à 7 fois plus important [42].

Le tableau suivant (Tableau XI) résume les principaux effets du linézolide en fonction du genre bactérien.

Tableau XI - Synthèse des effets du linézolide

Antibiotique	Stimulation	Inhibition	Genre	Référence
Linézolide	Gènes (métabolisme, réponse au stress)	Facteurs de virulence	*Staphylococcus*	[74]
		Facteurs de virulence		[23], [63], [73]
	Adhésion			[11]
	Opsonisation, phagocytose			[73]
	Biofilm			[42]
	Opsonisation, phagocytose	Facteurs de virulence	*Streptococcus*	[73]
	Gènes (virulence)		*Clostridium*	[39]

C. Les inhibiteurs de l'ADN

1. Fluoroquinolones

Les fluoroquinolones sont des antibiotiques bactéricides qui, par fixation à la sous-unité A de l'ADN gyrase bactérienne, inhibent la réplication de l'ADN bactérien.

Pour cette famille, 34 articles ont été étudiés.

Avec 45 effets relevés (Figure 24), la régulation des gènes est sans conteste la cible privilégiée à concentration subinhibitrice des fluoroquinolones. Dans le détail, l'action des fluoroquinolones se situe principalement au niveau de l'apparition de résistances et de la mise en route de la réponse au stress (Figure 25).

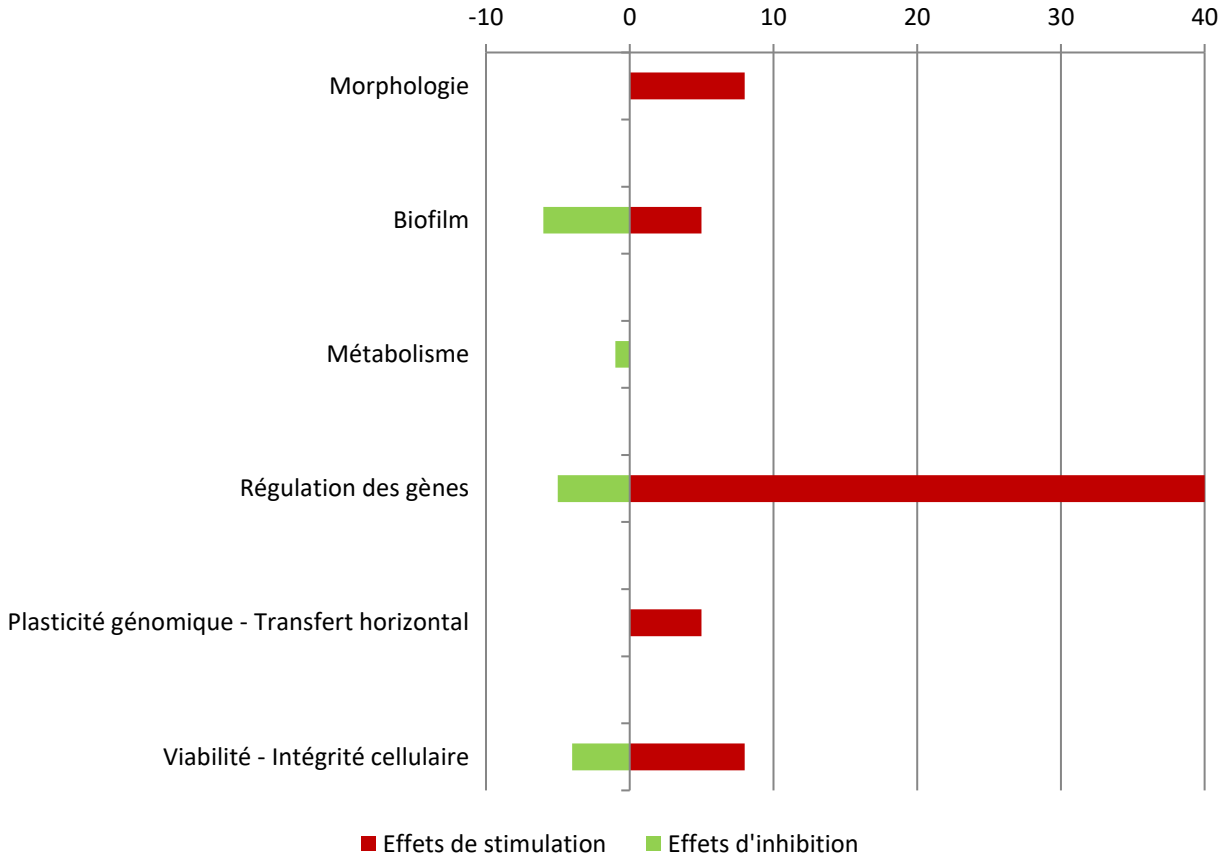

Figure 24 - Somme par groupe d'effet des phénotypes dus à l'action des fluoroquinolones sur les bactéries étudiées

Régulation des gènes :

La ciprofloxacine, molécule la plus étudiée, a été retrouvée dans 29 articles. Elle possède de nombreux effets en matière de modification d'expression du génome, chez *P. aeruginosa* particulièrement [43], [47]. Par exemple, 941 gènes sont impactés par la présence de ciprofloxacine à 3/10 de la CMI, 387 inhibés et 554 stimulés, dont des gènes de pyocine (caractérisant la réponse au stress) et de facteur déterminant de sensibilité (ce qui provoque l'apparition de résistances) [75]. Ces phénomènes se manifestent également pour une concentration de l'ordre de la CMI, où 1230 gènes sont affectés. L'émergence de résistances est une conséquence courante de l'exposition de *P. aeruginosa* aux fluoroquinolones. Dans deux études, à 1/2 de la CMI de ciprofloxacine, de nouvelles résistances aux fluoroquinolones apparaissent (augmentation de la CMI de 4 à 16 fois), parfois croisées avec des résistances à l'imipénème [34], ou à d'autres antibiotiques [76]. Chez un autre bacille, *E. coli*, les gènes d'adhésion et de réponse au stress sont stimulés, causant une augmentation de la formation du biofilm, du nombre de pili, et ayant pour conséquence *in vivo* la multiplication des bactéries dans la vessie et les reins, et l'accroissement du volume des communautés intracellulaires (responsables de l'infection chronique) [15]. La synthèse de facteurs de virulence d'*E. coli* est en outre augmentée, comme pour la shiga toxine-2 (stimulation de la transcription et des phages) responsable du syndrome hémolytique et urémique (SHU) [71]. De plus, la réponse au stress d'*E. coli* exposée à la ciprofloxacine (déjà évoquée ci-dessus), notable aussi chez *Vibrio cholerae*, a pour conséquence l'exacerbation de 300 fois du transfert de SXT, un élément génétique mobile porteur de résistances aux antibiotiques. D'autres développements de résistances sont à mentionner chez *S. pneumoniae* (mutants résistants à la rifampicine) [51], chez *Chlamydia pneumoniae* avec persistance des inclusions [69] et *Chlamydia trachomatis* où la CMI est multipliée par 256 après plus de 30 passages [77], et enfin chez *S. aureus* [76].

L'ofloxacine et la sparfloxacine engendrent autant d'effets dynamisants pour les bactéries, comme la surexpression des gènes de colonisation chez *C. difficile* [78], et le développement de fortes résistances chez *C. trachomatis* [77], [79].

L'incidence de la norfloxacine chez *E. coli* est remarquable, puisqu'elle provoque la stimulation de 118 gènes (phages, réponse au stress) et l'inhibition de 122 autres (métabolisme, membrane). Parmi eux, l'expression de *stx2* (produisant la shiga toxine-2) est multipliée par 150, entrainant une flambée de la sécrétion de ce facteur de virulence après 90 minutes d'exposition à l'antibiotique [80].

Biofilm :

Le bilan des fluoroquinolones sur la formation du biofilm est léger. Certains effets d'inhibition sont à noter, chez *P. aeruginosa* [14], [47] et chez *S. typhimurium* [24] en présence de ciprofloxacine. Et de légères activations ont été rapportées chez *Streptococcus intermedius* [20] et *E. coli* [15].
La rufloxacine entraine une baisse de tous les caractères du biofilm chez *E. coli* (adhésion, motilité), mais aussi une diminution de l'hydrophobicité et de l'hémagglutination [81].

Morphologie :

L'effet de la ciprofloxacine sur la diminution significative du diamètre de *P. protegens* et *P. aeruginosa* est mesuré à 1/10 de la CMI [43]. Mais chez *K. pneumoniae* les conséquences de l'exposition à cette fluoroquinolone sont l'apparition de formes irrégulières et filamenteuses [28] et un étirement du diamètre de la capsule [27]. La filamentation se retrouve aussi chez *E. coli* exposée à la ciprofloxacine [15] ou la rufloxacine [81].
Il est intrigant d'observer le comportement de *C. pneumoniae* (évoluant sous deux formes : corps élémentaire pour l'infestation et corps réticulé pour l'inclusion et la multiplication) qui varie nettement en fonction de la concentration d'antibiotique. Ainsi, à 0,5 µg/mL de ciprofloxacine, la bactérie est inhibée, il ne se passe rien. Tandis qu'à des doses inférieures (0,19 à 0,38 µg/mL), le parasite a tendance à persister dans ses inclusions en résistant au système immunitaire de l'hôte. Notons qu'à 0,38 µg/mL, il y a une portée sur la morphologie par l'agrandissement de la taille des corps réticulé de 5 à 6 fois [69].

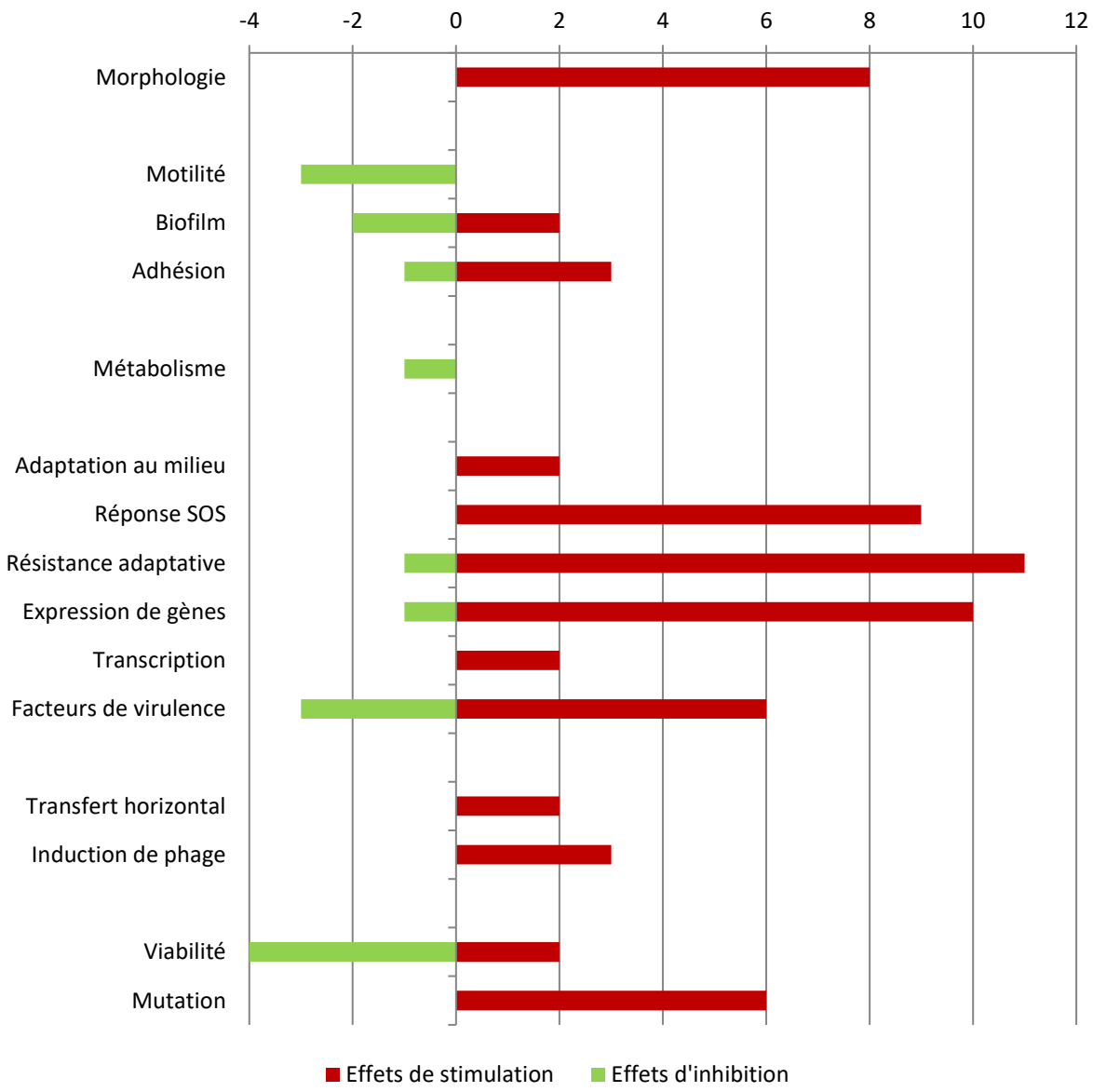

Figure 25 – Détail et occurrence des phénotypes dus à l'action des fluoroquinolones sur les bactéries étudiées

Le tableau suivant (Tableau XII) résume les principaux effets des fluoroquinolones par molécule en fonction du genre bactérien.

Tableau XII - Synthèse des effets des fluoroquinolones

Antibiotique	Stimulation	Inhibition	Genre	Référence
Ciprofloxacine	Gènes		*Pseudomonas*	[43], [47], [75]
	Gènes (réponse au stress)	Motilité		[47]
		Biofilm		[14]
	Résistances			[34], [45], [75], [76]
	Morphologie		*Klebsiella*	[27], [28]
		Résistance au système immunitaire	*Escherichia*	[29], [35]
	Gènes (biofilm, adhésion, réponse au stress)			[15]
	Phages (virulence)			[71]
	Réponse au stress, résistances		*Escherichia, Vibrio*	[82]
	Résistances, persistances		*Chlamydia*	[69], [77]
	Réponse au stress		*Staphylococcus*	[40], [83]
	Gènes (virulence, adhésion)			[40], [84]
	Réponse au stress		*Listeria*	[12]
		Biofilm	*Salmonella*	[24]
	Biofilm		*Streptococcus*	[20]
Ofloxacine, Sparfloxacine	Résistances (croisées)		*Chlamydia*	[77], [79]

Norfloxacine	Gènes (virulence, réponse au stress, phages)	Gènes (métabolisme, membrane)	*Escherichia*	[80]
	Morphologie (filamentation)			
Rufloxacine	Morphologie (filamentation)	Biofilm	*Escherichia*	[81]

2. Cotrimoxazole

Le cotrimoxazole est une association de triméthoprime et de sulfaméthoxazole, qui inhibent tous deux la voie métabolique de l'acide folique.

Il est responsable de la stimulation de gènes de virulence, chez *S. aureus* (avec induction de phages [40]) [3] et *L. monocytogenes* (ainsi que de la réponse au stress) [12].

Concernant le biofilm, on constate quelques variations. Ainsi l'adhésion est stimulée de façon dose dépendante chez *S. sanguis* et *E. faecalis* [36], mais chez *E. coli*, l'impact sur la morphologie, avec diminution du nombre de particules intramembranaires, de pili, et augmentation des fractures, a pour conséquence une altération de l'adhésion et de l'hémagglutination [85].

3. Métronidazole

Le métronidazole est un antibiotique bactéricide actif sur les anaérobies, qui empêche la synthèse d'acides nucléiques en créant des cassures dans l'ADN bactérien.

Dans les articles étudies, l'activité est mesurée sur *C. difficile* uniquement. Les effets constatés ont tendance à augmenter la pathogénicité de la bactérie, avec une stimulation de l'adhésion et du biofilm [86], et une amplification de l'expression des gènes des deux principales toxines (A et B) de ce microorganisme [39].

D. Les inhibiteurs de la transcription

1. Rifampicine

La rifampicine est un antibiotique bactéricide qui bloque la transcription en inhibant l'action de l'ARN polymérase ADN-dépendante.

À concentrations subinhibitrices, cette molécule provoque une baisse dose dépendante de l'adhésion chez *S. sanguis* et *E. faecalis* [36].
Chez *Salmonella enterica*, il y a modulation dose dépendante de l'activité des promoteurs. Ainsi, les promoteurs de virulence, de l'invasion, et de la chélation du fer sont stimulés. Mais par opposition, d'autres promoteurs de virulence, du métabolisme du carbone, et de l'ARN, sont eux inhibés [87].
Un autre effet notable est l'inhibition des facteurs de virulence et de la réponse au stress chez *L. monocytogenes* [12].

VII. Effets des antibiotiques à concentrations subinhibitrices sur les bactéries

A. La morphologie

La forme et l'aspect des bactéries sont les principaux caractères phénotypiques qui sont rapportés comme étant sensibles à l'action des antibiotiques à doses subinhibitrices. La morphologie en tant que telle (forme, dimension, élongation) mais aussi l'épaisseur, la porosité, la présence ou l'absence d'éléments de la paroi bactérienne sont sujettes à des modifications plus ou moins importantes.

Le polymorphisme, c'est-à-dire la présence de bactéries de formes différentes observables dans le milieu de culture, est l'effet le plus décrit, mais il est très peu spécifique car obtenu avec la plupart des familles d'antibiotiques testées (§VI). Cependant, de nombreuses études s'attardent plus précisément sur l'origine de cet impact morphologique. Ainsi, l'encapsulation de certaines bactéries, comme *E. coli*, peut être réduite [29], [30], diminuant ainsi sa ténacité à l'encontre du système immunitaire de l'hôte.

B. Le biofilm

1. Définition et formation

Le biofilm est un agrégat de bactéries enchâssées dans une matrice extracellulaire. Cette matrice est composée d'exopolymères constitués de polysaccharides (EPS), de lipides, de protéines, de débris cellulaires (ADN, *etc.*), d'ions et d'eau. Cette accrétion confère un effet de masse protecteur face aux agressions du système immunitaire de l'hôte, et y diminue la diffusion des antibiotiques [88], ce qui peut induire une augmentation jusqu'à 1000 fois de la CMI [89]. Malgré cette densité, la transmission d'informations, de signaux (type *quorum sensing*), mais également la diffusion de métabolites y sont facilités [89]. Ainsi, une infection par une bactérie sous forme de biofilm peut se développer et persister, puisque celles-ci sont plus enclines à vivre durablement dans un milieu hostile (avec du stress) comme lorsqu'elles sont exposées aux antibiotiques. La Figure 26 décrit les étapes de la formation d'un biofilm.

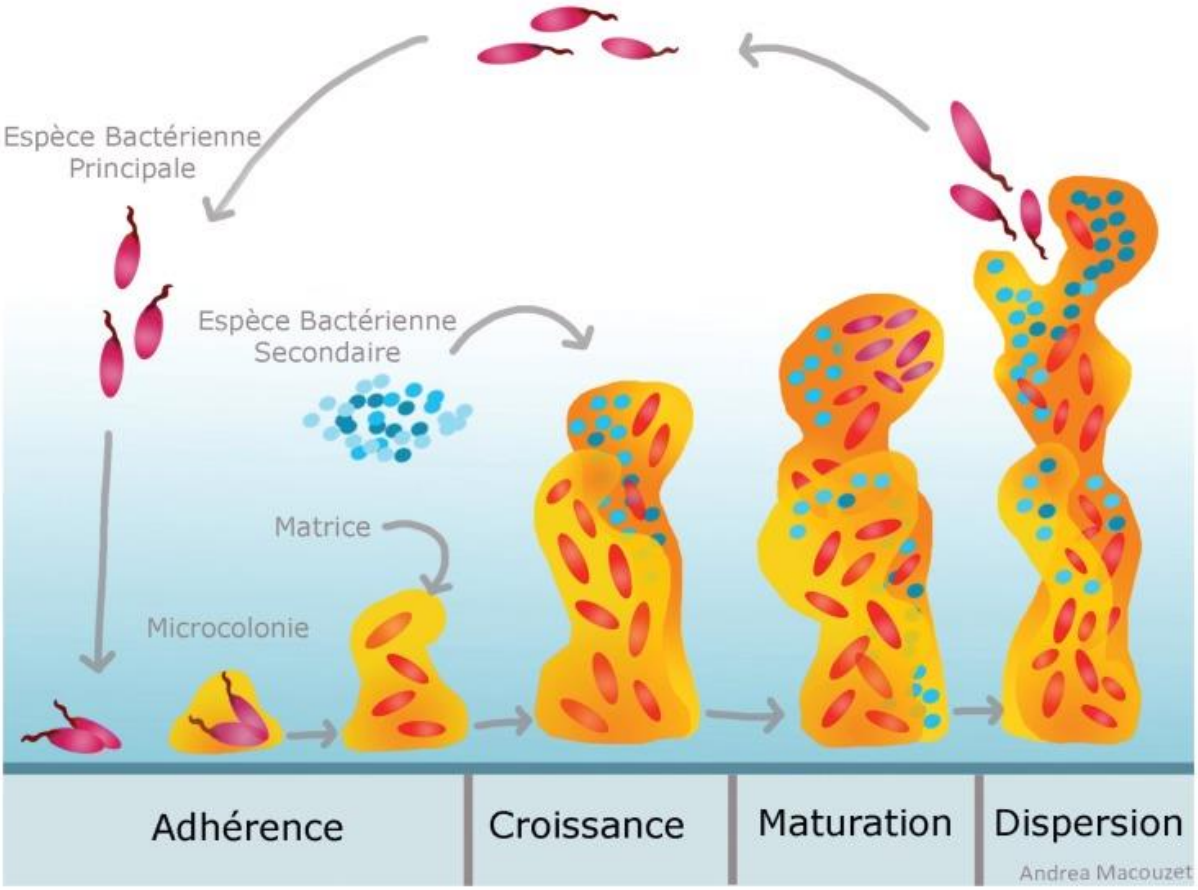

Figure 26 - Étapes de la formation d'un biofilm

Dans le domaine de l'infectiologie, ces caractères de résistance favorables à la pathogénicité peuvent se retrouver *in vivo* dans des tissus ou des cavités (comme la vessie) ou sur des dispositifs médicaux, responsables d'infections systémiques (cathéter, prothèse, *etc.*) [89]. D'un point de vue thérapeutique, la formation d'un biofilm est donc une chose à éviter.

2. Les antibiotiques influant la formation du biofilm

Les familles d'antibiotiques les plus susceptibles d'influencer la formation de biofilm sont listées dans la Figure 27 ci-dessous.

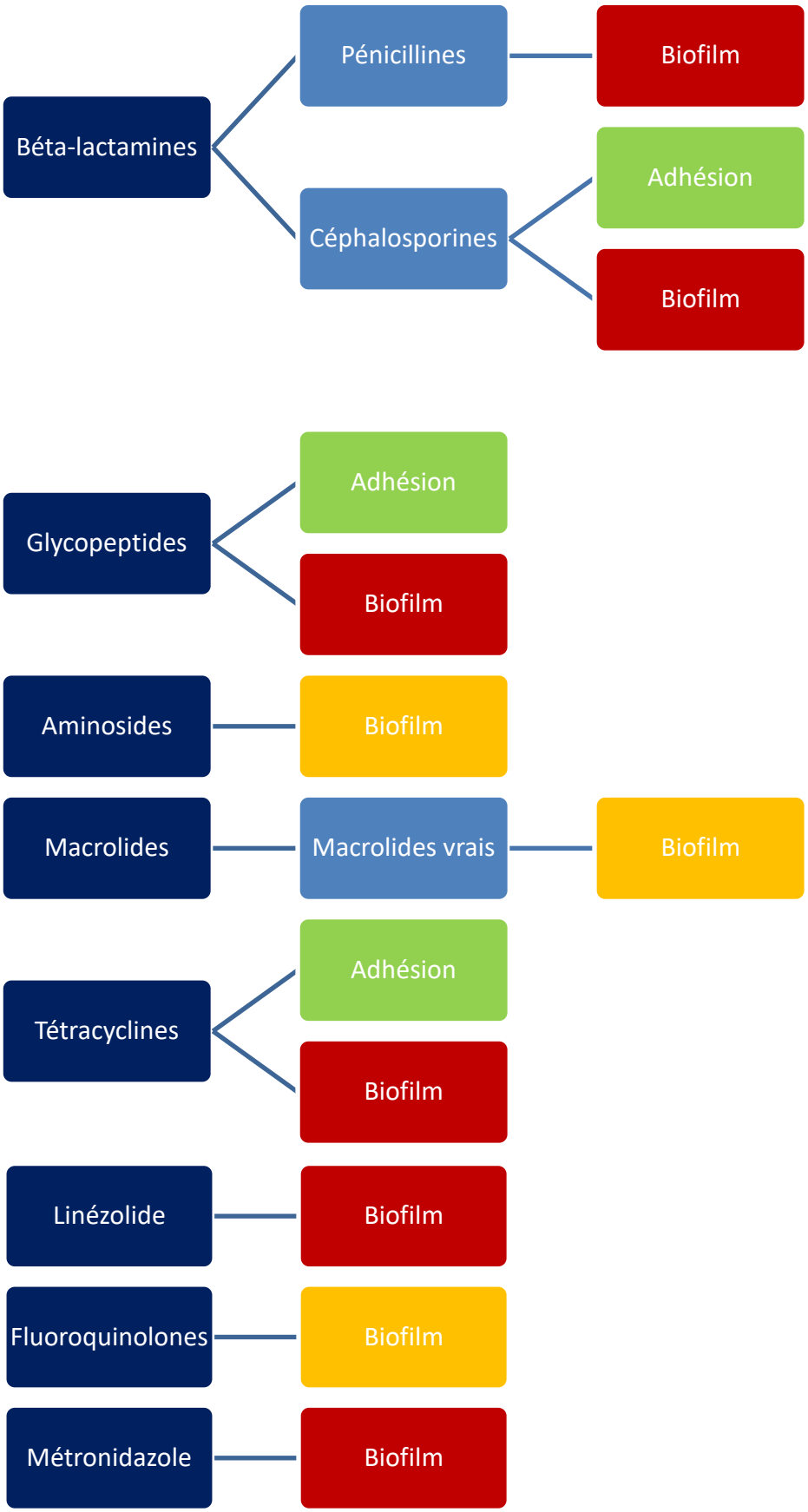

Figure 27 - Familles d'antibiotiques influant la formation du biofilm : la couleur bleue représente les familles d'antibiotique, la couleur rouge une stimulation de la formation du biofilm, la couleur verte une inhibition de cette formation, et la couleur orange témoigne de résultats partagés entre stimulation et inhibition.

C. La régulation des gènes

À doses subinhibitrices, le caractère bactéricide ou bactériostatique des antibiotiques est diminué. Cela étant, la diversité et l'intensité des différents effets qu'ils provoquent suggèrent qu'ils agissent comme des messagers [47], dont les signaux reçus par les bactéries sont essentiellement orientés vers une modulation de l'expression des gènes.

La modulation créée par l'exposition aux antibiotiques a pour conséquence l'excitation ou l'inhibition de l'expression de gènes plus ou moins nombreux, et plus ou moins intéressants pour ce qui est de la pathogénicité de la souche en question.

Un raccourci maladroit voudrait que les molécules ayant un mécanisme d'action ciblant les constituants du patrimoine génétique au sens large tels les aminosides, les macrolides (fixation à la sous-unité 50S des ribosomes), les fluoroquinolones (fixation à la sous-unité A de l'ADN gyrase) ou encore les tétracyclines (fixation à la sous-unité 30S des ribosomes) auraient une tendance plus forte que les autres antibiotiques à agir au niveau de la régulation des gènes. Cependant ce n'est pas totalement vrai. En témoigne la forte propension des béta-lactamines (§VI.A.1), inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne, à influencer l'expression de nombreux gènes : 72 effets ont été relevés, dont la plupart stimulateurs. Il en est de même pour les glycopeptides (§VI.A.2).

Parmi cet ensemble de gènes stimulés ou inhibés, les plus intéressants du point de vue médical sont ceux qui codent pour les facteurs de virulence, pour le développement de résistances et pour le déclenchement de mécanismes de réponse au stress.

D. La mortalité bactérienne

Bien qu'étant en concentration subinhibitrice, c'est-à-dire sans effet bactéricide ou bactériostatique, certains antibiotiques ont la capacité d'accroitre la mortalité des bactéries lorsqu'elles sont exposées au système immunitaire. Cette conséquence est étroitement liée à l'impact des biocides sur la composition de la paroi et la morphologie des bactéries. Ainsi certaines espèces deviennent plus sensibles aux défenses du système immunitaire et cela malgré la présence de capsules, comme pour *E. coli* exposée à la nétilmicine, la ceftriaxone [29], [30] et la ciprofloxacine [29], où la phagocytose et la mortalité des bacilles est fortement augmentée. Un autre exemple est l'effet de la clindamycine qui stimule l'opsonisation et la phagocytose de *S. pyogenes* [66].

VIII. Les trois espèces les plus importantes

Parmi tous les articles étudiés, et également sur MedLine, comme vu précédemment (§V), les trois espèces sur lesquelles il est intéressant de s'attarder sont : *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*.

A. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est un cocci gram positif, ayant un métabolisme à la fois aérobie et anaérobie, et immobile. Il appartient à la flore commensale de l'Homme. Cette bactérie opportuniste a un pouvoir pathogène se traduisant notamment par la synthèse de nombreuses exotoxines. De plus, *S. aureus* peut se décliner en souches possédant certaines résistances, telles que les SARM (*S. aureus* résistant à la méticilline), ou les SARV (*S. aureus* résistant à la vancomycine) [90].

Au total 21 articles étudiés traitent cette espèce.

Le tableau suivant (Tableau XIII) représente la synthèse du nombre de références décrivant les principaux effets et leurs tendances (stimulation ou inhibition) concernant *Staphylococcus aureus* :

Tableau XIII – Détail du nombre de stimulation et d'inhibition pour chacun des effets chez S. aureus en présence d'antibiotique à concentration subinhibitrice

Effets	Stimulation	Inhibition
Adhésion	3	3
Formation du biofilm	4	2
Réponse au stress	4	
Résistances	2	
Expression de gènes	6	3
Transcription	5	2
Facteurs de virulence	8	7

En regroupant ces effets, on obtient le tableau suivant (Tableau XIV) :

Tableau XIV - Synthèse par groupe d'effets des stimulations et des inhibitions chez S. aureus

Groupe d'effets	Stimulation	Inhibition
Biofilm	6	5
Régulation des gènes	14	8

1. Le biofilm

La formation du biofilm est un caractère essentiel à la pathogénicité de *S. aureus*. L'action des céphalosporines sur ce caractère est indéniable mais partagée entre stimulation de sa formation et inhibition de l'adhésion. D'une manière dose dépendante, la céfotaxime, la céfodizime, et la céftriaxone réduisent la capacité d'adhérence de *S. aureus* [6]. Néanmoins, la céftaroline chez certaines souches [26], la céfalotine [21] et la céfalexine [25] ont tendance à infléchir la production de biofilm. Parmi les nombreuses conséquences de l'exposition à la ciprofloxacine, l'expression de gènes d'adhésion et de colonisation (*fnbB* et *fnbA*) a été décrite chez une souche résistante à cette fluoroquinolone [84].

2. La morphologie

S. aureus n'est sensible à des modifications morphologiques qu'en étant exposé aux céphalosporines. En leur présence, les bactéries sont élargies, semblent endommagées et perforées (Figure 12, §VI.A.1.b) [6]. La céftazidime provoque l'épaississement de la membrane bactérienne, diminuant la pénétration des antibiotiques et de ce fait développant ce phénotype résistant (Figure 28) [32].

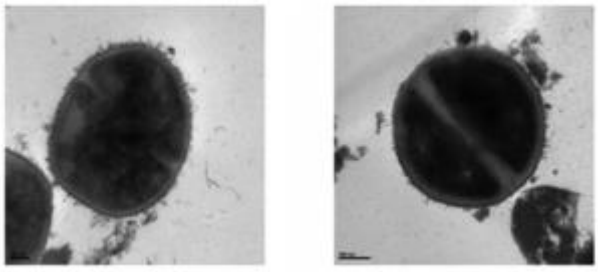

Figure 28 - Aspect de la membrane de S. aureus en l'absence d'antibiotique (à gauche) et après 18 heures d'incubation en présence de céftazidime à concentration subinhibitrice [32]

La céftaroline déclenche également diverses déformations de la paroi visibles sur les figures suivantes (Figure 29, Figure 30, Figure 31) [26]. Les cellules deviennent irrégulières, anguleuses, et le biofilm est désorganisé, comprenant des structures bourgeonnantes.

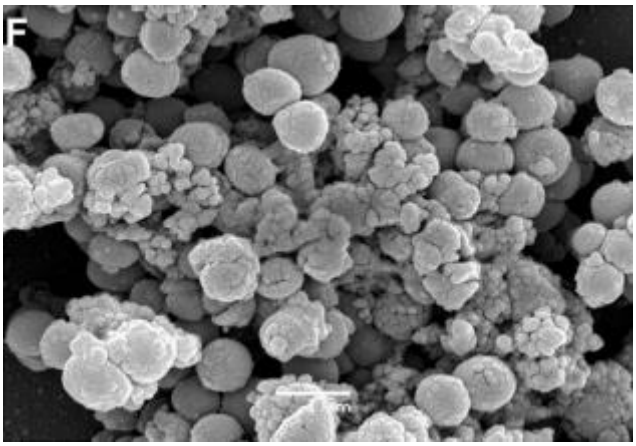

Figure 29 - Aspect du biofilm après exposition à 1/2 CMI céftaroline [26]

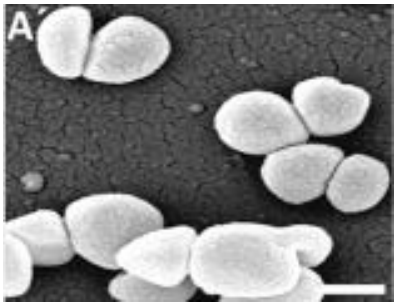

Figure 30 - Après exposition à 1/2 CMI de céftaroline [26]

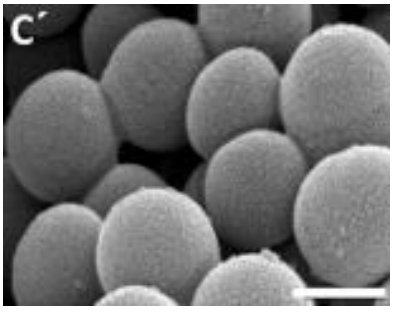

Figure 31 - Sans antibiotique [26]

3. La virulence

Les gènes des facteurs de virulence de *S. aureus* sont fortement modulés par l'exposition à des doses subinhibitrices d'antibiotiques dont toutes les familles ont un impact. Parmi les plus notables, les aminosides réduisent l'expression de *hla* (gène de l'alpha-toxine) [3] à

l'inverse des béta-lactamines qui contribuent à l'induire [3]. L'affaiblissement de la virulence est également la conséquence de la présence de macrolides [3], [25], mais surtout des lincosamides. En effet, la clindamycine atténue la majorité des facteurs de virulence de *S. aureus* : l'alpha-toxine (jusqu'à 98 %) [3], [63], les exoprotéines (alpha et delta hémolysines, lipases, DNases, TSST-1) [64], la Leukocidine de Panton-Valentine [23], [63] et le gène *spa* [63]. À l'opposé de cet effet positif du point de vue médical, les béta-lactamines ont pour répercussion de dynamiser la pathogénicité de *S. aureus*. Ces inhibiteurs de la paroi activent un régulon et un phage SOS-dépendant provoquant le transfert horizontal de nombreux gènes de virulence [9]. Les macrolides, les aminosides et les tétracyclines n'ont quant à eux aucun impact sur la stimulation de la pathogénicité. La plupart des gènes de facteurs de virulence sont activés par les pénicillines, les céphalosporines et l'imipénème, tels *hla* (gène de l'alpha toxine) [3], la Leukocidine de Panton-Valentine [10], [23], la TSST-1 [10], *spa* [21] et *saeS* (système de régulation des gènes de virulence) [4]. La dernière molécule à mentionner est le linézolide. Cet inhibiteur de la synthèse des protéines a l'aptitude de réduire le pouvoir pathogène de *S. aureus* en diminuant l'expression et la sécrétion de protéines et de facteurs de virulence [74], tels la PVL [23], [63], l'alpha toxine [3], [73], *spa* [63], les hémolysines et la coagulase [73]. La figure suivante (Figure 32) synthétise l'impact des principales familles d'antibiotiques qui modulent la virulence chez *S. aureus*.

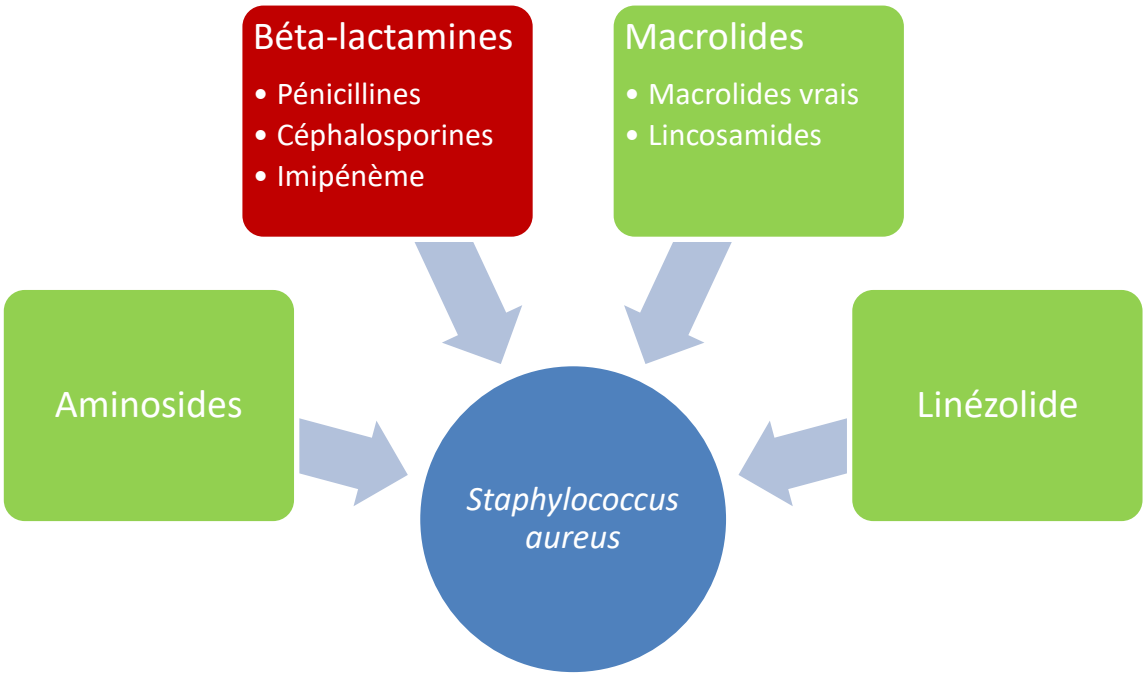

Figure 32 - Synthèse des stimulateurs (rouge) ou des inhibiteurs (verts) des facteurs de virulence chez S. aureus

4. Bilan

Les tableaux suivants classent, en fonction des effets observés, les principales familles d'antibiotiques responsables de stimulation (Tableau XV) et d'inhibition (Tableau XVI) chez *S. aureus*.

Tableau XV - Synthèse des effets de stimulation chez S. aureus

Effets	Antibiotique[a]		Référence
Biofilm	Pénicillines		[11], [16]
	Céphalosporines ++		[21], [25], [26]
	Vancomycine		[16]
	Linézolide		[11]
	Fluoroquinolones		[84]
Changements morphologiques	Céphalosporines ++		[6], [26], [32]
Expression de gènes de virulence	Triméthoprime (modérée)		[3]
	Béta-lactamines	Pénicillines ++	[3], [9], [10], [21], [23]
		Céphalosporines ++	[3], [4], [21], [26]
		Imipénème	[3]
	Fluoroquinolones		[84]
Induction de phages	Triméthoprime		[40]
	Pénicillines		[9]
	Fluoroquinolones		[40]
Réponse au stress	Béta-lactamines	Pénicillines	[9]
		Céphalosporines	[32]
		Imipénème	[32]
	Fluoroquinolones		[40], [83]
Résistances	Céphalosporines		[32]
	Imipénème		[32]
	Fluoroquinolones		[76]

[a] : Les deux plus « ++ » révèlent une activité intense et globale de la classe d'antibiotique pour l'effet concerné.

Tableau XVI - Synthèse des effets d'inhibition chez S. aureus

Effets	Antibiotique[a]	Référence
Biofilm	Céphalosporines	[6], [26]
	Macrolides	[25]
Adhésion	Rifampicine	[11]
	Céphalosporines ++	[6]
	Vancomycine	[37]
Expression de gènes de virulence	Aminosides ++	[3]
	Linézolide ++	[23], [63], [73], [74]
	Acide fusidique	[23]
	Macrolides	[3], [25]
	Lincosamides ++	[3], [23], [63], [64]
	Tétracyclines	[63]

[a] : Les deux plus « ++ » révèlent une activité intense et globale de la classe d'antibiotique pour l'effet concerné.

B. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est un bacille gram négatif, de métabolisme aérobie strict. Il est mobile, ubiquitaire, et possède une grande capacité d'adaptation. Son pouvoir pathogène est lié à la production de nombreux facteurs de virulence, *via quorum sensing* notamment [52]. Cette bactérie opportuniste est à la source du développement de nombreuses résistances et résistances croisées [91]. Ainsi, les problématiques qu'elle cause en thérapeutique ont conduit à des études nombreuses [92].

Le tableau (Tableau XVII) suivant représente la synthèse du nombre de références décrivant les principaux effets et leurs tendances (stimulation ou inhibition) concernant *Pseudomonas aeruginosa* :

Tableau XVII - Détail du nombre de stimulation et d'inhibition pour chacun des effets chez P. aeruginosa en présence d'antibiotique à concentration subinhibitrice

Effets	Stimulation	Inhibition
Motilité	2	1
Formation du biofilm	4	4
Réponse au stress	2	
Résistances	8	
Expression de gènes	5	2
Facteurs de virulence	2	2

De ces observations, il semblerait que cette bactérie soit plutôt stimulée par les antibiotiques en doses subinhibitrices.

En regroupant ces effets, on obtient le tableau suivant (Tableau XVIII) :

Tableau XVIII - Synthèse par groupe d'effets des stimulations et des inhibitions chez P. aeruginosa

Groupe d'effets	Stimulation	Inhibition
Biofilm	5	5
Régulation des gènes	11	4

1. Le biofilm

La tendance à la formation de biofilm par *P. aeruginosa* est augmentée en présence d'aminosides, notamment la tobramycine [48], [47]. Quant aux béta-lactamines, leur conséquence sur le biofilm est à signaler [14], avec production de rhamnolipides servant la motilité [18], tandis que l'imipénème accroit considérablement la production d'alginates dans la matrice du biofilm (par 20 fois) avec un effet retardé (18 à 37 heures) sur la densité et l'épaisseur de l'agrégat bactérien [33]. Cependant, la molécule ayant l'effet le plus remarquable est l'azithromycine. Unique représentante des macrolides à 15 C, les réponses de *P. aeruginosa* en sa présence sont variables et aléatoires. Chez deux souches sensibles, une stimulation de la formation de biofilm [14] est accompagnée d'une hausse de production des rhamnolipides, de la motilité et de la formation d'essaim [18]. Pourtant, chez une souche résistante (CMI > 256 µg/mL) le *quorum sensing* est nettement affaibli, engendrant ainsi une diminution de la production d'alginate dans la matrice et donc la réduction du biofilm [52]. Cet effet aléatoire de la formation de biofilm en présence d'azithromycine est admis dans le travail de Gillis & Iglewski, 2004 [54] où l'antibiotique inhibe la formation du biofilm jusqu'à 48 heures d'exposition, suite à quoi le développement de résistances provoque l'épaississement et la robustesse du biofilm en formation. De plus, il n'y a pas d'effet constaté sur le biofilm mature. La figure suivante (Figure 33) synthétise l'impact des principales familles qui modulent la formation de biofilm chez *P. aeruginosa.*

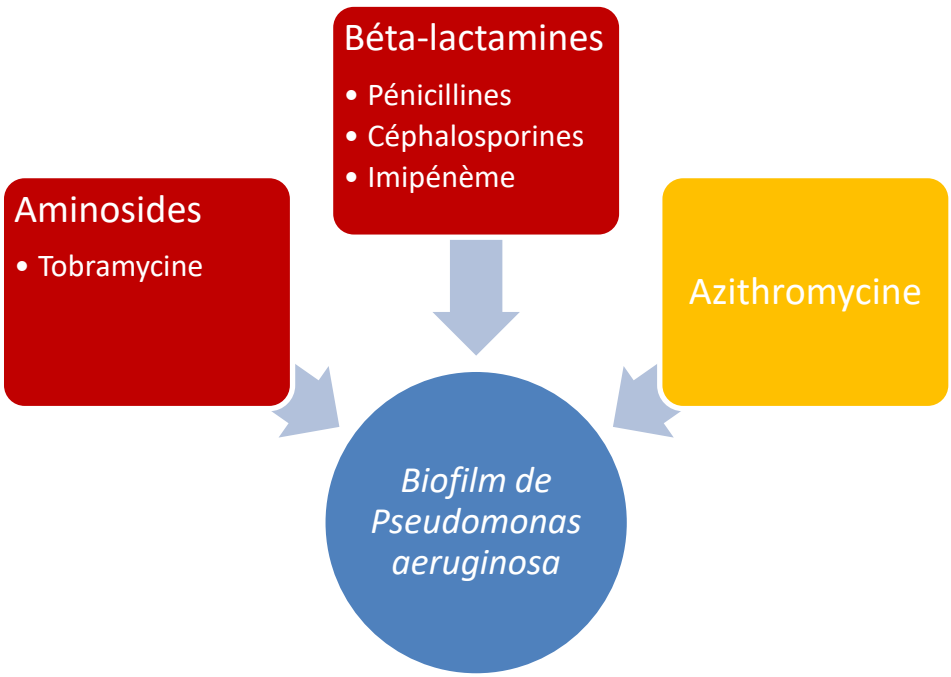

Figure 33 - Synthèse des stimulateurs (rouge) et des molécules ayant des effets contrastés (orange) sur la formation de biofilm chez P. aeruginosa

2. La virulence

Parmi les expérimentations étudiées, la famille d'antibiotique ayant le plus d'impact sur la virulence de *P. aeruginosa* sont les tétracyclines. Elles déclenchent la surexpression de 6 gènes de virulence et de formation de biofilm [18] ainsi que du système de sécrétion de type III (T3SS) multipliant la cytotoxicité par 4 [47]. L'imipénème quant à lui provoque à diverses concentrations l'augmentation de la production de béta-lactamases [33], conséquence d'une sur-stimulation du gène *ampC*.

Dans une seule étude *in vivo*, la ciprofloxacine et la tobramycine, après 10 jours de traitement chez un groupe de rats infectés par *P. aeruginosa* au niveau des poumons, réduisent l'invasion et la pathogénicité de la bactérie, avec respectivement 2,1 et 4,9 % du tissu infecté. En comparaison, l'effet de la céftazidime est moindre avec 14,5 % du poumon touché, tandis que chez les rats témoins, une moyenne de 31,6 % de l'organe est contaminé (Figure 34) [45].

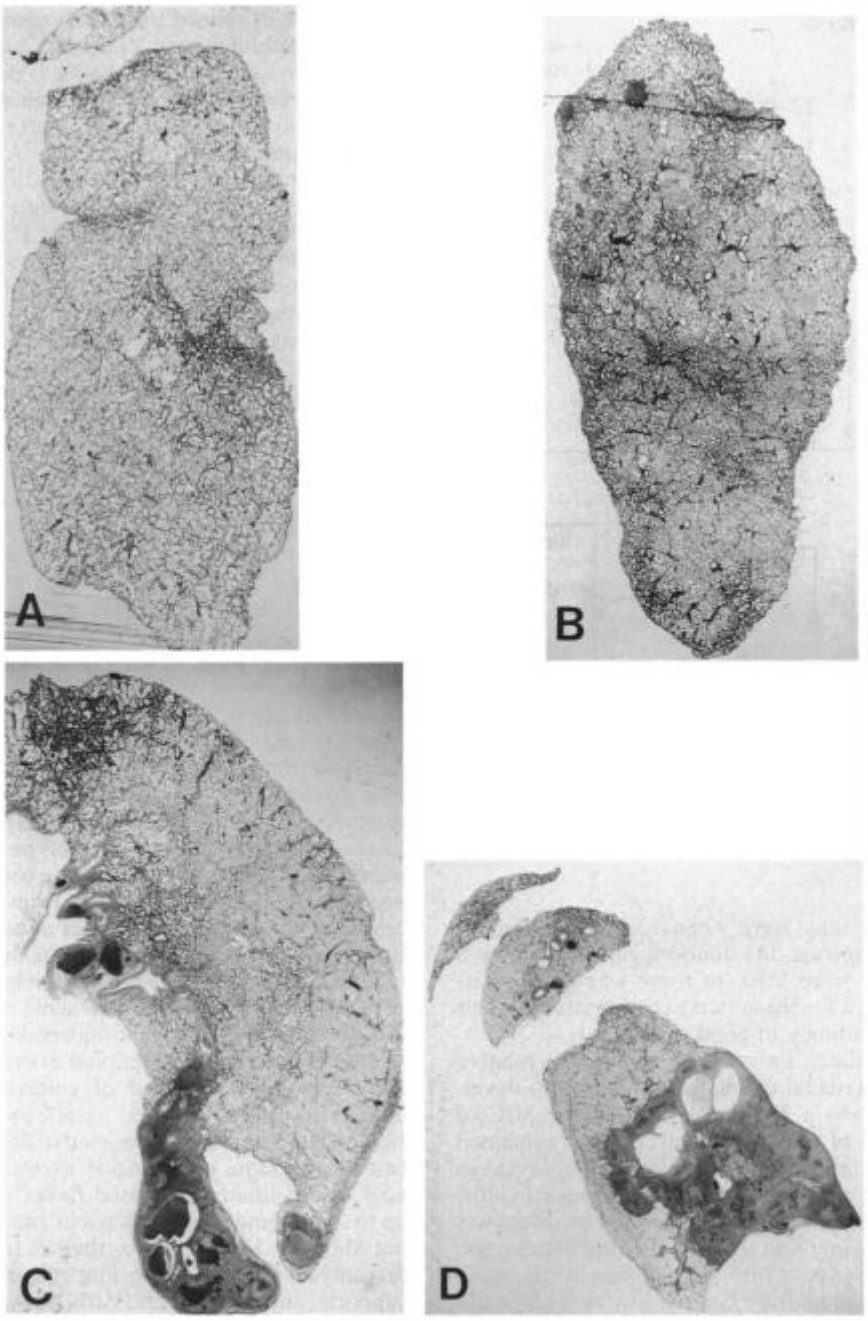

Figure 34 - Coupes transversales de poumon de rats infectés par P. aeruginosa après 10 jours de traitement par des concentrations subinhibitrices de ciprofloxacine (A), tobramycine (B), céftazidime (C) et non traité (contrôle) (D) [45]

3. La réponse au stress

La réponse au stress est un ensemble de mécanismes codés par le génome d'une bactérie et pouvant être activés par de nombreux phénomènes de stress comme un changement de température, de pH du milieu, la présence de biocides tel l'alcool ou l'eau oxygénée, et l'exposition aux antibiotiques. Les conséquences de la mise en route de ces mécanismes sont la modulation de l'expression de nombreux gènes. Ainsi la virulence, la formation de biofilm, la mutation, la transcription, le transfert de phages, et la résistance sont fortement stimulés, tandis que les caractères moins essentiels comme le métabolisme de certaines protéines, la formation de flagelles ou de pili par exemple, peuvent être réprimés. La réponse au stress est un engrenage très important à surveiller et à éviter en thérapeutique.

Chez *P. aeruginosa*, ce sont les fluoroquinolones qui provoquent la stimulation de la réponse au stress. Ainsi, la ciprofloxacine augmente l'expression de gènes de pyocine, caractéristiques de l'activation de la réponse au stress [47], [75].

4. Les résistances

L'apparition de résistances aux antibiotiques chez *P. aeruginosa* est souvent liée à l'activation de la réponse au stress par ces molécules. Par conséquent, la famille la plus incriminée dans ce domaine sont les fluoroquinolones. La ciprofloxacine à 3/10 de la CMI module l'expression de nombreux gènes, activant un facteur déterminant de sensibilité, qui conduit à l'apparition de résistances aux fluoroquinolones [75]. Sur une gamme de concentrations plus étendue, de 1/5 à 1/20 de la CMI, l'effet observé est semblable, car, après 3 jours d'exposition, la CMI de la ciprofloxacine est multipliée par 32. La souche devient donc résistante à cette molécule [45].

Mais le phénomène le plus imprévisible de l'exposition aux fluoroquinolones est le développement de résistances croisées. La formation de mutants résistants à d'autres antibiotiques se manifeste en présence de ciprofloxacine de 1/2 à 1/8 de la CMI. Cette mutation impacte l'efficacité de nombreux antibiotiques sauf l'imipénème [76]. Paradoxalement, dans une seconde étude, c'est la sélection de mutants résistants qui s'étendent aux autres fluoroquinolones, accompagnant ainsi une forte résistance à l'imipénème qui touche 8 souches sur les 13 exposées [34].

5. Bilan

Les tableaux suivants classent, en fonction des effets observés, les principales familles d'antibiotiques responsables de stimulation (Tableau XIX) et d'inhibition (Tableau XX) chez *P. aeruginosa*.

Tableau XIX - Synthèse des effets de stimulation chez P. aeruginosa

Effets	Antibiotique[a]		Référence
Biofilm	Tobramycine		[47], [48]
	Béta-lactamines	Céphalosporines	[14]
		Pénicillines	[14], [18]
		Imipénème	[33]
	Azithromycine		[14], [54]
Motilité	Ampicilline		[18]
	Vancomycine		[18]
	Azithromycine		[18]
	Tétracycline		[18]
Changements morphologiques	Kanamycine		[43]
	Fluoroquinolones		[43]
	Tétracycline		[43]
Expression de gènes de virulence	Ampicilline		[18]
	Imipénème		[33]
	Vancomycine		[18]
	Azithromycine		[18]
	Tétracycline ++		[18], [47]
Réponse au stress	Fluoroquinolones ++		[47], [75]
Résistances	Aminosides		[44]
	Imipénème		[34]
	Fluoroquinolones ++		[34], [45], [75], [76]

[a] : Les deux plus « ++ » révèlent une activité intense et globale de la classe d'antibiotique pour l'effet concerné.

Tableau XX - Synthèse des effets d'inhibition chez P. aeruginosa

Effets	Antibiotique	Référence
Biofilm	Azithromycine	[52], [54]
Motilité	Fluoroquinolones	[47]
Expression de gènes de virulence	Tobramycine	[45]
	Céftazidime	[45]
	Fluoroquinolones	[45]
	Azithromycine	[52]
Quorum sensing	Azithromycine	[52]

C. *Escherichia coli*

Escherichia coli est un bacille gram négatif, de métabolisme aérobie. Il est mobile et appartient à la flore commensale de l'Homme. Certaines souches sont pathogènes (telle O157:H7) grâce à la sécrétion d'exotoxines notamment [93].

Le tableau (Tableau XXI) suivant représente la synthèse du nombre de références décrivant les principaux effets et leurs tendances (stimulation ou inhibition) concernant *Escherichia coli :*

Tableau XXI - Détail du nombre de stimulation et d'inhibition pour chacun des effets chez E. coli en présence d'antibiotique à concentration subinhibitrice

Effets	Stimulation	Inhibition
Morphologie	4	6
Motilité		2
Formation du biofilm	2	
Adhésion	1	4
Réponse au stress	3	
Expression de gènes	1	1
Transcription	1	1
Facteurs de virulence	2	3
Mortalité bactérienne	5	

En regroupant les effets, on obtient le tableau suivant (Tableau XXII) :

Tableau XXII - Synthèse par groupe d'effets des stimulations et des inhibitions chez E. coli

Groupe d'effets	Stimulation	Inhibition
Morphologie	4	5
Biofilm	2	5
Régulation des gènes	4	4
Mortalité bactérienne	5	

1. Le biofilm

Le pouvoir de formation de biofilm par *E. coli* en présence de concentrations subinhibitrices d'antibiotiques n'est pas très marqué comparativement aux deux autres bactéries précitées. Le colibacille est d'ailleurs plutôt sensible à une baisse de sa capacité d'adhésion lorsqu'il est exposé à diverses familles d'antibiotiques.

La tobramycine et la gentamicine augmentent la production de biofilm par *E. coli* [15], [48], même si cette dernière diminue la motilité de la bactérie [15]. Il est par ailleurs estimé que les aminosides activent une voie de signalisation chez les bactéries à gram négatif [48].

Plusieurs antibiotiques ont pour effet de réduire l'adhésion d'*E. coli* à doses subinhibitrices. En thérapeutique, c'est une conséquence qui est recherchée, car la diminution de l'adhésion d'une bactérie à un tissu ou un dispositif médical réduit son développement dans ce milieu et favorise son élimination. Le triméthoprime et les sulfamides (donc par extension le cotrimoxazole) entrainent une diminution du nombre de pili à la surface de la bactérie, et de ce fait la capacité d'adhésion et d'hémagglutination, et cela de manière dose dépendante (de 1/8 à 1/2 de la CMI, l'effet étant plus important à mesure que la concentration se rapproche de la CMI) [85]. Parmi les fluoroquinolones, la rufloxacine provoque des modifications surprenantes des caractères physico-chimiques d'*E. coli*. L'hydrophobicité des bactéries est réduite, ce qui a pour conséquence de repousser les bactéries entre elles, diminuant l'adhérence et l'hémagglutination [81]. Mais les antibiotiques ayant le plus d'influence sur la baisse de l'adhésion d'*E. coli* sont les céphalosporines. Ainsi, la céfotaxime, la céfodizime et la céftriaxone, réduisent cet effet pathogène du bacille de façon dose dépendante de 1/64 à 1/2 de leur CMI [6]. La céfodizime peut également affecter l'adhésion mais aussi l'agrégation, l'hémagglutination et la motilité électrophorétique, toujours en fonction de la concentration à laquelle *E. coli* est exposée [5].

2. La morphologie

La propension d'*E. coli* à subir des modifications morphologiques en présence d'antibiotiques à doses subinhibitrices est très élevée. En témoignent les nombreux effets causés par les béta-lactamines (céphalosporines essentiellement) et les fluoroquinolones notamment. Les différentes céphalosporines étudiées ont une forte propension à affecter l'aspect morphologique de certaines bactéries dont *E. coli*. Ainsi la bactérie filamente et s'allonge en présence de concentrations subinhibitrices de céfodizime [5], [6], céfotaxime [6]

et céftriaxone [6], [29] (Figure 13, §VI.A.1.b). Ces altérations de la forme de la bactérie provoquent des modulations de la réponse immunitaire de l'hôte. Ainsi, le système du complément ou les polynucléaires doivent se réadapter à la morphologie du pathogène. Les fluoroquinolones telles la ciprofloxacine [15], la norfloxacine [80] (Figure 35) et la rufloxacine [81] ont également la conséquence d'augmenter la filamentation d'*E. coli*.

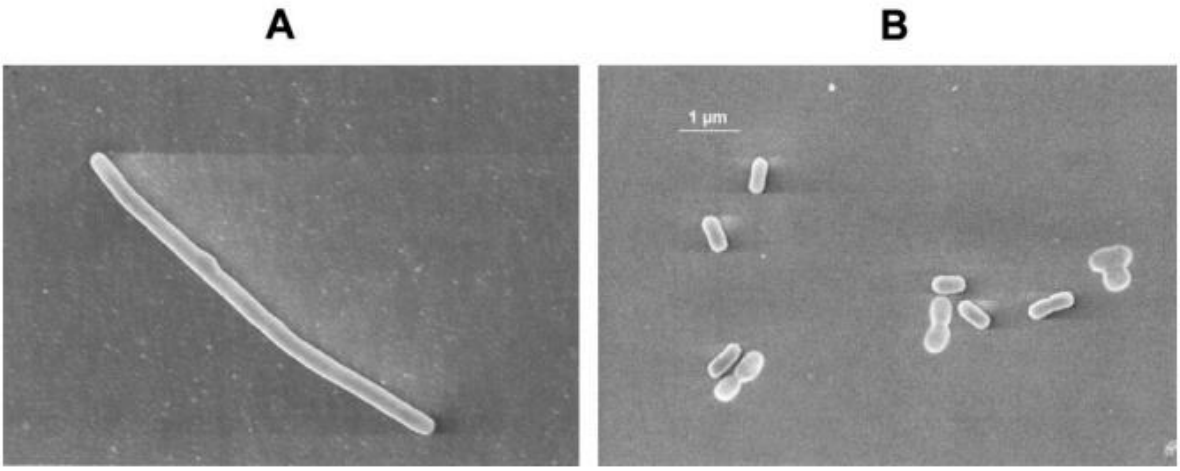

Figure 35 - Filamentation de E. coli après 120 minutes d'exposition à la norfloxacine à 4/5 de la CMI (A) et le contrôle sans antibiotique (B) [80]

3. La virulence

La surexpression de gènes de virulence chez *E. coli* est activée principalement par les fluoroquinolones. La ciprofloxacine sur une gamme de 1/2 à 1/16 de la CMI provoque de manière dose dépendante l'induction en cascade du prophage *stx2,* puis la transcription du gène *stx2,* et la production et la sécrétion de la protéine correspondante, la shiga toxine 2 (SHU) [71]. Un même effet a été rapporté suite à une exposition à la norfloxacine [80]. Cependant, deux familles d'antibiotiques ont la capacité de réduire la pathogénicité d'*E. coli*. Ainsi, à l'inverse de la ciprofloxacine, le chloramphénicol et la tigécycline limitent l'induction du prophage *stx2*, atténuant de ce fait la virulence *via* une baisse de la sécrétion de la shiga toxine [71].

4. La réponse au stress

L'engrenage de la réponse au stress chez *E. coli* est typiquement une répercussion de l'exposition à des doses subinhibitrices de fluoroquinolones, comme chez *P. aeruginosa*. La ciprofloxacine [15], [82] et la norfloxacine [80] stimulent l'expression de gènes de la réponse

au stress, conduisant notamment à des transferts d'éléments génétiques mobiles comme l'ICE SXT et à la promotion de résistances [82].

5. Sensibilité vis-à-vis du système immunitaire

Les variations morphologiques que subit *E. coli* en présence de certains antibiotiques à doses subinhibitrices sont étroitement liées à un accroissement de l'efficacité des différents mécanismes de défense du système immunitaire de l'hôte. Mais en aucun cas les molécules vont interagir avec celui-ci, car c'est uniquement leur impact sur les bactéries qui vont moduler cette sensibilité.

Les fluoroquinolones, comme la ciprofloxacine ou la rufloxacine, augmentent la mortalité bactérienne [35], [81], par stimulation de la phagocytose par les polynucléaires et l'activation du complément, couplées à la baisse de l'encapsulation des bacilles [29]. Chez les aminosides, la nétilmicine à 1/2 de la CMI a les mêmes effets sur la sollicitation des cellules du système immunitaire et sur l'encapsulation d'*E. coli* [29], [30]. De leur côté, les béta-lactamines ne sont pas les moins génératrices d'effets. La piperacilline et l'imipénème provoquent un taux surélevé de la mortalité après seulement 3 minutes d'exposition [35]. Enfin, les céphalosporines, par leur comportement sur la morphologie d'*E. coli*, induisent à doses subinhibitrices une surmortalité lorsque les bactéries sont au contact des polynucléaires. Malgré une diminution de leur possibilité à être phagocytés, les bacilles ayant filamentés sont plus sensibles au système immunitaire et leur survie est réduite [5]. L'encapsulation est également altérée, et ce faisant, les colibacilles non encapsulés résistent moins aux défenses de l'hôte en présence de céftriaxone à 1/2 de la CMI [29], [30].

6. Bilan

Les tableaux suivants classent, en fonction des effets observés, les principales familles d'antibiotiques responsables de stimulation (Tableau XXIII) et d'inhibition (Tableau XXIV) chez *E. coli*.

Tableau XXIII - Synthèse des effets de stimulation chez E. coli

Effets	Antibiotique[a]	Référence
Biofilm	Aminosides ++	[15], [48]
	Ampicilline	[15]
	Ciprofloxacine	[15]
Changements morphologiques	Cotrimoxazole	[85]
	Ampicilline	[19]
	Céphalosporines ++	[5], [6], [29]
	Fluoroquinolones ++	[15], [80], [81]
Expression de gènes de virulence	Fluoroquinolones ++	[71], [80]
Réponse au stress	Fluoroquinolones ++	[15], [80], [82]
Résistances	Fluoroquinolones	[82]
Mortalité	Nétilmicine	[29], [30]
	Piperacilline	[35]
	Céphalosporines ++	[5], [29], [30]
	Imipénème	[35]
	Fluoroquinolones ++	[29], [35], [81]

[a] : Les deux plus « ++ » révèlent une activité intense et globale de la classe d'antibiotique pour l'effet concerné.

Tableau XXIV - Synthèse des effets d'inhibition chez E. coli

Effets	Antibiotique[a]	Référence
Adhésion	Cotrimoxazole	[85]
	Ampicilline	[19]
	Céphalosporines ++	[5], [6]
	Rufloxacine	[81]
Expression de gènes de virulence	Chloramphénicol	[71]
	Tigécycline	[71]

[a] : Les deux plus « ++ » révèlent une activité intense et globale de la classe d'antibiotique pour l'effet concerné.

IX. Conclusion et associations fortes

Certaines combinaisons d'exposition d'un antibiotique avec une bactérie sont frappantes dans leur production d'effets intenses et constants. Ces associations sont les plus évidentes qui découlent de toutes les publications étudiées ici. Elles sont retenues dans leur caractère récidivant (à chaque exposition, l'effet est retrouvé), mais également dans leur intérêt en thérapeutique (action sur la pathogénicité, le développement de résistances, l'attrait au système immunitaire). Ainsi, elles sont schématisées dans les paragraphes qui suivent pour ce qui concerne notamment *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *E. coli*. La couleur rouge décrit un effet défavorable à l'hôte d'un point de vue thérapeutique, la couleur orange décrit un effet ni favorable, ni défavorable (principalement ici, un impact sur la morphologie), et la couleur verte décrit un effet favorable à l'hôte.

1. *Staphylococcus aureus*

La morphologie et la pathogénicité de *S. aureus* sont les principaux caractères altérés par les antibiotiques (§VIII.A). Le tableau suivant (Tableau XXV) résume les interactions fortes de cette espèce avec différentes familles d'antibiotiques et leurs conséquences en matière d'effets récurrents et intenses.

Tableau XXV - Résumé des interactions entre S. aureus et les familles d'antibiotiques provoquant des effets intenses et récurrents

		Famille d'antibiotique		**Effet récurrent**
S. aureus	+	Béta-lactamines	=	Stimulation de la virulence
S. aureus	+	Céphalosporines	=	Modification de la morphologie
S. aureus	+	Linézolide	=	Inhibition de la virulence
S. aureus	+	Macrolides (clindamycine)	=	Inhibition de la virulence
S. aureus	+	Fluoroquinolones	=	Réponse au stress

2. *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa a plutôt tendance à être stimulé par une exposition à un antibiotique à des doses subinhibitrices (§VIII.B), provoquant notamment la formation de biofilm, l'augmentation de la pathogénicité et une réponse accrue au stress. Le tableau suivant (Tableau XXVI) résume les interactions fortes de cette espèce avec différentes familles d'antibiotiques et leurs conséquences en matière d'effets récurrents et intenses.

Tableau XXVI - Résumé des interactions entre P. aeruginosa et les familles d'antibiotiques provoquant des effets intenses et récurrents

		Famille d'antibiotique		**Effet récurrent**
P. aeruginosa	+	Tétracyclines	=	Stimulation de la virulence
P. aeruginosa	+	Fluoroquinolones	=	Réponse au stress

3. *Escherichia coli*

Suivant la famille d'antibiotique à laquelle *E. coli* est exposée, les effets observés sont parfois opposés (d'une forte stimulation à une forte inhibition) ou bien similaires (atteintes morphologiques). Le tableau suivant (Tableau XXVII) résume les interactions fortes de cette espèce avec différentes familles d'antibiotiques et leurs conséquences en matière d'effets récurrents et intenses.

Tableau XXVII - Résumé des interactions entre E. coli et les familles d'antibiotiques provoquant des effets intenses et récurrents

		Famille d'antibiotique		**Effet récurrent**
E. coli	+	Céphalosporines	=	Modification de la morphologie
			=	Inhibition de l'adhésion
			=	Mortalité des germes
E. coli	+	Fluoroquinolones	=	Modification de la morphologie
			=	Stimulation de la virulence
			=	Réponse au stress
			=	Mortalité des germes

4. Autres associations

Le tableau suivant (Tableau XXVIII) résume les interactions fortes des principales bactéries pathogènes présentées tout au long des articles étudiés avec différentes familles d'antibiotiques et leurs conséquences en matière d'effets récurrents et intenses.

Tableau XXVIII - Résumé des interactions entre ces principales bactéries pathogènes et les familles d'antibiotiques provoquant des effets intenses et récurrents

		Famille d'antibiotique		Effet récurrent
L. monocytogenes	+	Béta-lactamines	=	Stimulation de la virulence
			=	Réponse au stress
L. monocytogenes	+	Glycopeptides	=	Stimulation de la virulence
			=	Réponse au stress
K. pneumoniae	+	Céphalosporines	=	Modification de la morphologie (filamentation)
K. pneumoniae	+	Fluoroquinolones	=	Modification de la morphologie (filamentation)
Chlamydia spp.	+	Fluoroquinolones	=	Augmentation des résistances

X. Discussions

Les paragraphes suivants vont traiter des problèmes rencontrés lors de ce travail de recherche, des limites de cette étude, et des commentaires personnels de l'auteur la concernant.

A. La quantité d'information

Au total, 102 articles ont été étudiés. Ce nombre peut être comparé avec le grand nombre de publications disponibles sur internet, dont les valeurs sont les suivantes, mesurées en Juillet 2017 avec les mots-clés « *subinhibitory concentrations* » (Tableau XXIX) et « *subinhibitory antibiotic concentrations* » (Tableau XXX) :

Tableau XXIX - Nombre de références collectées par les moteurs de recherche scientifiques pour les mots-clés "subinhibitory concentrations"

Moteur de recherche	Nombre de références (07/2017)
Google Scholar	22800
PubMed - MedLine	1869

Tableau XXX - Nombre de références collectées par les moteurs de recherche scientifiques pour les mots-clés "subinhibitory antibiotic concentrations"

Moteur de recherche	Nombre de références (07/2017)
Google Scholar	22000
PubMed - MedLine	1160

On est donc loin de compiler dans ce manuscrit toutes les données potentiellement utilisables. Cela étant, ce serait un travail titanesque de recenser toutes les informations de toutes les publications qui existent sur ce sujet. C'est pourquoi, malgré le faible nombre de lectures effectuées, on arrive à une vue d'ensemble assez intéressante, faisant ressortir certains points nettement, et d'autres moins.

Pour donner une idée du temps de travail effectué à ces lectures, l'extraction d'informations d'une publication en anglais prend entre 30 minutes et une heure. Pour une moyenne de 10

pages par article, et pour une centaine d'articles étudiés, on atteindrait un millier de pages de résultats, de graphiques, d'images et de discussions scientifiques à analyser.

B. La pertinence de l'information

C'est une notion sur laquelle il a fallu être très pointilleux. Comment juger qu'un article certifie des résultats qui tendent, si l'on peut dire, vers la « vérité ». C'est-à-dire, qui soient reproductibles, et représentatifs de telle ou telle expérimentation. Il y a cette part de confiance à accorder aux lignes qu'on lit. C'est l'apanage de tous les travaux bibliographiques.

Pour pouvoir juger de la qualité d'une publication, à force de lectures et d'analyses, on finit par trouver quelques points pour être assuré de sa pertinence :

- La revue dans laquelle l'article est publié : certaines reviennent sans cesse, et sont gages de références solides (*Microbiology*, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *Journal of Bacteriology*, pour ne citer qu'eux)
- Les noms des chercheurs participants à l'étude : sans connaitre aucun d'entre eux ni leurs qualités intrinsèques, certains chercheurs apparaissent régulièrement, spécialistes de l'étude des antibiotiques en concentrations subinhibitrices. C'est une source fiable.
- La cohérence des résultats : c'est une notion plutôt subjective, qui permet de remettre en cause les méthodes expérimentales plus que les résultats. On y reviendra.
- Le nombre de citations de l'article : plus un article est cité, plus il est à priori de qualité et a été utilisé comme source pour de nombreux autres travaux. On ne s'y trompe pas. Google Scholar a cela d'intéressant qu'il permet de connaitre le nombre de citations dont dispose un article. Comme critère de sélection pour ces lectures, les articles ayant moins de vingt citations ont été ignorés sauf cas exceptionnel. Pour exemple, ceux les plus repris peuvent cumuler à plus de 400 citations.

C. Les méthodes expérimentales

Les méthodes employées dans chaque étude sont toujours distinctement décrites. En y faisant attention, on peut comparer des résultats de plusieurs travaux ayant utilisé le même antibiotique, la même souche bactérienne, et les mêmes conditions expérimentales. Souvent on retrouve des résultats très proches, pour la valeur d'une CMI par exemple, ou la

cohérence de l'expression d'un gène donné. Quelquefois, il y a des divergences assez surprenantes, et souvent mises en avant par les chercheurs eux-mêmes dans leur propre article.

Ce qu'il faut retirer de cela, c'est que chaque expérience est unique, et ses résultats sont propres à elle. Il faut donc prendre les informations avec du recul, et même si elles se recoupent entre elles, ne pas oublier qu'on est dans l'expérimental, et qui plus est, dans la majorité des cas : *IN VITRO*.

À part quelques expériences qui se sont ouvertes à étudier des effets *in vivo*, parfois chez l'homme, souvent chez l'animal (souris, lapins), la grande majorité des travaux ont été effectués *in vitro*. Simplicité de travail, échantillonnage plus important, absence de maltraitance, sont parmi les raisons de ce choix expérimental.

Chaque résultat peut donc être remis en question dans le cas de sa reproductibilité ou non *in vivo*.

XI. Références

[1] F. Silva, O. Lourenço, J. A. Queiroz, and F. C. Domingues, "Bacteriostatic versus bactericidal activity of ciprofloxacin in Escherichia coli assessed by flow cytometry using a novel far-red dye," *J. Antibiot. (Tokyo)*, vol. 64, no. 4, pp. 321–325, Apr. 2011.

[2] G. S. Bbosa, N. Mwebaza, J. Odda, D. B. Kyegombe, and M. Ntale, "Antibiotics/antibacterial drug use, their marketing and promotion during the post-antibiotic golden age and their role in emergence of bacterial resistance," *Health (N. Y.)*, vol. 2014, Feb. 2014.

[3] K. Ohlsen, W. Ziebuhr, K. P. Koller, W. Hell, T. A. Wichelhaus, and J. Hacker, "Effects of subinhibitory concentrations of antibiotics on alpha-toxin (hla) gene expression of methicillin-sensitive and methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolates," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 42, no. 11, pp. 2817–2823, Nov. 1998.

[4] H. Kuroda, M. Kuroda, L. Cui, and K. Hiramatsu, "Subinhibitory concentrations of beta-lactam induce haemolytic activity in Staphylococcus aureus through the SaeRS two-component system," *FEMS Microbiol. Lett.*, vol. 268, no. 1, pp. 98–105, Mar. 2007.

[5] P. C. Braga, M. D. Sasso, and M. T. Sala, "Sub-MIC concentrations of cefodizime interfere with various factors affecting bacterial virulence," *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 45, no. 1, pp. 15–25, Jan. 2000.

[6] P. C. Braga, M. Dal Sasso, and S. Maci, "Cefodizime: effects of sub-inhibitory concentrations on adhesiveness and bacterial morphology of Staphylococcus aureus and Escherichia coli: comparison with cefotaxime and ceftriaxone," *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 39, no. 1, pp. 79–84, Jan. 1997.

[7] F. Van Bambeke, D. Tyteca, Y. Ouadhriri, and P. M. Tulkens, "Optimisation des traitements antibactériens sur base des propriétés pharmacodynamiques des antibiotiques," *Louvain Med*, vol. 118, no. 43–63, 1999.

[8] Réseau d'alerte, d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales (Raisin), "Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, France, mai-juin 2012 / 2013 / Maladies infectieuses / Rapports et synthèses / Publications et outils / Accueil." [Online]. Available: http://invs.santepubliquefrance.fr/Publications-et-outils/Rapports-et-syntheses/Maladies-infectieuses/2013/Enquete-nationale-de-prevalence-des-infections-nosocomiales-et-des-traitements-anti-infectieux-en-etablissements-de-sante-France-mai-juin-2012. [Accessed: 13-Jul-2017].

[9] E. Maiques *et al.*, "beta-lactam antibiotics induce the SOS response and horizontal transfer of virulence factors in Staphylococcus aureus," *J. Bacteriol.*, vol. 188, no. 7, pp. 2726–2729, Apr. 2006.

[10] D. L. Stevens, Y. Ma, D. B. Salmi, E. McIndoo, R. J. Wallace, and A. E. Bryant, "Impact of antibiotics on expression of virulence-associated exotoxin genes in methicillin-sensitive and methicillin-resistant Staphylococcus aureus," *J. Infect. Dis.*, vol. 195, no. 2, pp. 202–211, Jan. 2007.

[11] J. P. Rasigade *et al.*, "Impact of sub-inhibitory antibiotics on fibronectin-mediated host cell adhesion and invasion by Staphylococcus aureus," *BMC Microbiol.*, vol. 11, p. 263, Dec. 2011.

[12] G. M. Knudsen, A. Holch, and L. Gram, "Subinhibitory concentrations of antibiotics affect stress and virulence gene expression in Listeria monocytogenes and cause enhanced stress sensitivity but do not affect Caco-2 cell invasion," *J. Appl. Microbiol.*, vol. 113, no. 5, pp. 1273–1286, Nov. 2012.

[13] P. D. Rogers *et al.*, "Gene expression profiling of the response of Streptococcus pneumoniae to penicillin," *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 59, no. 4, pp. 616–626, Apr. 2007.

[14] S. T. Aka and S. H. Haji, “Sub-MIC of antibiotics induced biofilm formation of Pseudomonas aeruginosa in the presence of chlorhexidine,” *Braz. J. Microbiol. Publ. Braz. Soc. Microbiol.*, vol. 46, no. 1, pp. 149–154, Mar. 2015.
[15] L. W. Goneau *et al.*, “Subinhibitory antibiotic therapy alters recurrent urinary tract infection pathogenesis through modulation of bacterial virulence and host immunity,” *mBio*, vol. 6, no. 2, Mar. 2015.
[16] Z. A. Mirani and N. Jamil, “Effect of sub-lethal doses of vancomycin and oxacillin on biofilm formation by vancomycin intermediate resistant Staphylococcus aureus,” *J. Basic Microbiol.*, vol. 51, no. 2, pp. 191–195, Apr. 2011.
[17] B. Haas and D. Grenier, “Impact of Sub-Inhibitory Concentrations of Amoxicillin on Streptococcus suis Capsule Gene Expression and Inflammatory Potential,” *Pathog. Basel Switz.*, vol. 5, no. 2, Apr. 2016.
[18] L. Shen, Y. Shi, D. Zhang, J. Wei, M. G. Surette, and K. Duan, “Modulation of secreted virulence factor genes by subinhibitory concentrations of antibiotics in Pseudomonas aeruginosa,” *J. Microbiol. Seoul Korea*, vol. 46, no. 4, pp. 441–447, Aug. 2008.
[19] S. B. Redjeb, A. Slim, A. Horchani, S. Zmerilli, A. Boujnah, and V. Lorian, “Effects of ten milligrams of ampicillin per day on urinary tract infections,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 22, no. 6, pp. 1084–1086, Dec. 1982.
[20] N. A. Ahmed, F. C. Petersen, and A. A. Scheie, “AI-2/LuxS is involved in increased biofilm formation by Streptococcus intermedius in the presence of antibiotics,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 53, no. 10, pp. 4258–4263, Oct. 2009.
[21] N. Subrt, L. R. Mesak, and J. Davies, “Modulation of virulence gene expression by cell wall active antibiotics in Staphylococcus aureus,” *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 66, no. 5, pp. 979–984, May 2011.
[22] D. S. Stephens, J. W. Krebs, and Z. A. McGee, “Loss of pili and decreased attachment to human cells by Neisseria meningitidis and Neisseria gonorrhoeae exposed to subinhibitory concentrations of antibiotics,” *Infect. Immun.*, vol. 46, no. 2, pp. 507–513, Nov. 1984.
[23] O. Dumitrescu *et al.*, “Effect of antibiotics on Staphylococcus aureus producing Panton-Valentine leukocidin,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 51, no. 4, pp. 1515–1519, Apr. 2007.
[24] J. Majtán, L. Majtánová, M. Xu, and V. Majtán, “In vitro effect of subinhibitory concentrations of antibiotics on biofilm formation by clinical strains of Salmonella enterica serovar Typhimurium isolated in Slovakia,” *J. Appl. Microbiol.*, vol. 104, no. 5, pp. 1294–1301, May 2008.
[25] R. N. S. Haddadin, S. Saleh, I. S. I. Al-Adham, T. E. J. Buultjens, and P. J. Collier, “The effect of subminimal inhibitory concentrations of antibiotics on virulence factors expressed by Staphylococcus aureus biofilms,” *J. Appl. Microbiol.*, vol. 108, no. 4, pp. 1281–1291, Apr. 2010.
[26] M. Lázaro-Díez *et al.*, “Effects of Subinhibitory Concentrations of Ceftaroline on Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Biofilms,” *PloS One*, vol. 11, no. 1, p. e0147569, 2016.
[27] T. K. Held, C. Adamczik, M. Trautmann, and A. S. Cross, “Effects of MICs and sub-MICs of antibiotics on production of capsular polysaccharide of Klebsiella pneumoniae,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 39, no. 5, pp. 1093–1096, May 1995.
[28] P. Williams, “Sub-MICs of cefuroxime and ciprofloxacin influence interaction of complement and immunoglobulins with Klebsiella pneumoniae,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 31, no. 5, pp. 758–762, May 1987.
[29] G. Raponi, N. Keller, B. P. Overbeek, M. Rozenberg-Arska, K. P. van Kessel, and J. Verhoef, “Enhanced phagocytosis of encapsulated Escherichia coli strains after exposure to sub-MICs of antibiotics is correlated to changes of the bacterial cell surface,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 34, no. 2, pp. 332–336, Feb. 1990.
[30] G. Raponi, R. W. Vreede, M. Rozenberg-Arska, I. M. Hoepelman, N. Keller, and J. Verhoef, “The influence of subminimal inhibitory concentrations of netilmicin and ceftriaxone on the interaction of Escherichia coli with host defences,” *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 23, no. 4, pp. 565–576, Apr. 1989.

[31] R. C. Molina-Quiroz *et al.*, "Exposure to sub-inhibitory concentrations of cefotaxime enhances the systemic colonization of Salmonella Typhimurium in BALB/c mice," *Open Biol.*, vol. 5, no. 10, Oct. 2015.
[32] M. Roch *et al.*, "Exposure of Staphylococcus aureus to subinhibitory concentrations of β-lactam antibiotics induces heterogeneous vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 58, no. 9, pp. 5306–5314, Sep. 2014.
[33] N. Bagge *et al.*, "Pseudomonas aeruginosa biofilms exposed to imipenem exhibit changes in global gene expression and beta-lactamase and alginate production," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 48, no. 4, pp. 1175–1187, Apr. 2004.
[34] G. Rådberg, L. E. Nilsson, and S. Svensson, "Development of quinolone-imipenem cross resistance in Pseudomonas aeruginosa during exposure to ciprofloxacin," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 34, no. 11, pp. 2142–2147, Nov. 1990.
[35] L. A. Mandell and M. Afnan, "Mechanisms of interaction among subinhibitory concentrations of antibiotics, human polymorphonuclear neutrophils, and gram-negative bacilli," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 35, no. 7, pp. 1291–1297, Jul. 1991.
[36] W. M. Scheld, O. Zak, K. Vosbeck, and M. A. Sande, "Bacterial adhesion in the pathogenesis of infective endocarditis. Effect of subinhibitory antibiotic concentrations on streptococcal adhesion in vitro and the development of endocarditis in rabbits.," *J. Clin. Invest.*, vol. 68, no. 5, pp. 1381–1384, Nov. 1981.
[37] H. Carsenti-Etesse *et al.*, "Effects of subinhibitory concentrations of vancomycin and teicoplanin on adherence of staphylococci to tissue culture plates," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 37, no. 4, pp. 921–923, Apr. 1993.
[38] T. M. de Moura *et al.*, "Influence of a subinhibitory concentration of vancomycin on the in vitro expression of virulence-related genes in the vancomycin-resistant Enterococcus faecalis," *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, vol. 48, no. 5, pp. 617–621, Oct. 2015.
[39] M. Gerber, C. Walch, B. Löffler, K. Tischendorf, U. Reischl, and G. Ackermann, "Effect of sub-MIC concentrations of metronidazole, vancomycin, clindamycin and linezolid on toxin gene transcription and production in Clostridium difficile," *J. Med. Microbiol.*, vol. 57, no. Pt 6, pp. 776–783, Jun. 2008.
[40] C. Goerke, J. Köller, and C. Wolz, "Ciprofloxacin and trimethoprim cause phage induction and virulence modulation in Staphylococcus aureus," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 50, no. 1, pp. 171–177, Jan. 2006.
[41] M. E. Rupp and K. E. Hamer, "Effect of subinhibitory concentrations of vancomycin, cefazolin, ofloxacin, L-ofloxacin and D-ofloxacin on adherence to intravascular catheters and biofilm formation by Staphylococcus epidermidis," *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 41, no. 2, pp. 155–161, Feb. 1998.
[42] J. B. Kaplan, S. Jabbouri, and I. Sadovskaya, "Extracellular DNA-dependent biofilm formation by Staphylococcus epidermidis RP62A in response to subminimal inhibitory concentrations of antibiotics," *Res. Microbiol.*, vol. 162, no. 5, pp. 535–541, Jun. 2011.
[43] L. Chow, L. Waldron, and M. Gillings, "Potential impacts of aquatic pollutants: sub-clinical antibiotic concentrations induce genome changes and promote antibiotic resistance," *Front. Microbiol.*, vol. 6, 2015.
[44] G. L. Daikos, G. G. Jackson, V. T. Lolans, and D. M. Livermore, "Adaptive Resistance to Aminoglycoside Antibiotics from First-Exposure Down-Regulation," *J. Infect. Dis.*, vol. 162, no. 2, pp. 414–420, Aug. 1990.
[45] K. Grimwood, M. To, H. R. Rabin, and D. E. Woods, "Inhibition of Pseudomonas aeruginosa exoenzyme expression by subinhibitory antibiotic concentrations," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 33, no. 1, pp. 41–47, Jan. 1989.
[46] J. T. Lin, M. B. Connelly, C. Amolo, S. Otani, and D. S. Yaver, "Global Transcriptional Response of Bacillus subtilis to Treatment with Subinhibitory Concentrations of Antibiotics That Inhibit Protein Synthesis," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 49, no. 5, p. 1915, May 2005.

[47] J. F. Linares, I. Gustafsson, F. Baquero, and J. L. Martinez, “Antibiotics as intermicrobial signaling agents instead of weapons,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 103, no. 51, pp. 19484–19489, Dec. 2006.
[48] L. R. Hoffman, D. A. D’Argenio, M. J. MacCoss, Z. Zhang, R. A. Jones, and S. I. Miller, “Aminoglycoside antibiotics induce bacterial biofilm formation,” *Nature*, vol. 436, no. 7054, pp. 1171–1175, Aug. 2005.
[49] S.-H. Tsai, H.-C. Lai, and S.-T. Hu, “Subinhibitory Doses of Aminoglycoside Antibiotics Induce Changes in the Phenotype of Mycobacterium abscessus,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 59, no. 10, pp. 6161–6169, Oct. 2015.
[50] A. K. Marr, J. Overhage, M. Bains, and R. E. W. Hancock, “The Lon protease of Pseudomonas aeruginosa is induced by aminoglycosides and is involved in biofilm formation and motility,” *Microbiology*, vol. 153, no. 2, pp. 474–482, 2007.
[51] S. K. Henderson-Begg, D. M. Livermore, and L. M. C. Hall, “Effect of subinhibitory concentrations of antibiotics on mutation frequency in Streptococcus pneumoniae,” *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 57, no. 5, pp. 849–854, 2006.
[52] N. Hoffmann *et al.*, “Azithromycin blocks quorum sensing and alginate polymer formation and increases the sensitivity to serum and stationary-growth-phase killing of Pseudomonas aeruginosa and attenuates chronic P. aeruginosa lung infection in Cftr(-/-) mice,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 51, no. 10, pp. 3677–3687, Oct. 2007.
[53] T. D. Starner, J. D. Shrout, M. R. Parsek, P. C. Appelbaum, and G. Kim, “Subinhibitory concentrations of azithromycin decrease nontypeable Haemophilus influenzae biofilm formation and Diminish established biofilms,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 52, no. 1, pp. 137–145, Jan. 2008.
[54] R. J. Gillis and B. H. Iglewski, “Azithromycin retards Pseudomonas aeruginosa biofilm formation,” *J. Clin. Microbiol.*, vol. 42, no. 12, pp. 5842–5845, Dec. 2004.
[55] Q. Wang, F.-J. Sun, Y. Liu, L.-R. Xiong, L.-L. Xie, and P.-Y. Xia, “Enhancement of biofilm formation by subinhibitory concentrations of macrolides in icaADBC-positive and -negative clinical isolates of Staphylococcus epidermidis,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 54, no. 6, pp. 2707–2711, Jun. 2010.
[56] Y.-L. Zhao *et al.*, “Quantitative proteomic analysis of sub-MIC erythromycin inhibiting biofilm formation of S. suis in vitro,” *J. Proteomics*, vol. 116, pp. 1–14, Feb. 2015.
[57] H. Yasuda, Y. Ajiki, T. Koga, and T. Yokota, “Interaction between clarithromycin and biofilms formed by Staphylococcus epidermidis,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 38, no. 1, pp. 138–141, Jan. 1994.
[58] G. Carter, L. S. Young, and L. E. Bermudez, “A subinhibitory concentration of clarithromycin inhibits Mycobacterium avium biofilm formation,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 48, no. 12, pp. 4907–4910, Dec. 2004.
[59] S. Rachid, K. Ohlsen, W. Witte, J. Hacker, and W. Ziebuhr, “Effect of subinhibitory antibiotic concentrations on polysaccharide intercellular adhesin expression in biofilm-forming Staphylococcus epidermidis,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 44, no. 12, pp. 3357–3363, Dec. 2000.
[60] W.-L. Ng, K. M. Kazmierczak, G. T. Robertson, R. Gilmour, and M. E. Winkler, “Transcriptional Regulation and Signature Patterns Revealed by Microarray Analyses of Streptococcus pneumoniae R6 Challenged with Sublethal Concentrations of Translation Inhibitors,” *J. Bacteriol.*, vol. 185, no. 1, pp. 359–370, Jan. 2003.
[61] E.-B. Goh, G. Yim, W. Tsui, J. McClure, M. G. Surette, and J. Davies, “Transcriptional modulation of bacterial gene expression by subinhibitory concentrations of antibiotics,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 99, no. 26, pp. 17025–17030, Dec. 2002.
[62] P. B. Fernandes, W. R. Baker, L. A. Freiberg, D. J. Hardy, and E. J. McDonald, “New macrolides active against Streptococcus pyogenes with inducible or constitutive type of macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 33, no. 1, pp. 78–81, Jan. 1989.

[63] M. P. Otto *et al.*, “Effects of subinhibitory concentrations of antibiotics on virulence factor expression by community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus,” *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 68, no. 7, pp. 1524–1532, Jul. 2013.
[64] S. Herbert, P. Barry, and R. P. Novick, “Subinhibitory clindamycin differentially inhibits transcription of exoprotein genes in Staphylococcus aureus,” *Infect. Immun.*, vol. 69, no. 5, pp. 2996–3003, May 2001.
[65] J. Sawai *et al.*, “Growth phase-dependent effect of clindamycin on production of exoproteins by Streptococcus pyogenes,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 51, no. 2, pp. 461–467, Feb. 2007.
[66] C. G. Gemmell *et al.*, “Potentiation of opsonization and phagocytosis of Streptococcus pyogenes following growth in the presence of clindamycin,” *J. Clin. Invest.*, vol. 67, no. 5, pp. 1249–1256, May 1981.
[67] S. E. Unkles and C. G. Gemmell, “Effect of clindamycin, erythromycin, lincomycin, and tetracycline on growth and extracellular lipase production by propionibacteria in vitro,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 21, no. 1, pp. 39–43, Jan. 1982.
[68] Y. Imai, S. Sato, Y. Tanaka, K. Ochi, and T. Hosaka, “Lincomycin at Subinhibitory Concentrations Potentiates Secondary Metabolite Production by Streptomyces spp,” *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 81, no. 11, pp. 3869–3879, Jun. 2015.
[69] J. Gieffers, J. Rupp, A. Gebert, W. Solbach, and M. Klinger, “First-choice antibiotics at subinhibitory concentrations induce persistence of Chlamydia pneumoniae,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 48, no. 4, pp. 1402–1405, Apr. 2004.
[70] E. K. Weir, L. C. Martin, C. Poppe, B. K. Coombes, and P. Boerlin, “Subinhibitory concentrations of tetracycline affect virulence gene expression in a multi-resistant Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium DT104,” *Microbes Infect.*, vol. 10, no. 8, pp. 901–907, Jul. 2008.
[71] M. Bielaszewska *et al.*, “Effects of antibiotics on Shiga toxin 2 production and bacteriophage induction by epidemic Escherichia coli O104:H4 strain,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 56, no. 6, pp. 3277–3282, Jun. 2012.
[72] J. R. Maestre *et al.*, “In vitro interference of tigecycline at subinhibitory concentrations on biofilm development by Enterococcus faecalis,” *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 67, no. 5, pp. 1155–1158, May 2012.
[73] C. G. Gemmell and C. W. Ford, “Virulence factor expression by Gram-positive cocci exposed to subinhibitory concentrations of linezolid,” *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 50, no. 5, pp. 665–672, Nov. 2002.
[74] K. Bernardo *et al.*, “Subinhibitory concentrations of linezolid reduce Staphylococcus aureus virulence factor expression,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 48, no. 2, pp. 546–555, Feb. 2004.
[75] M. D. Brazas and R. E. W. Hancock, “Ciprofloxacin induction of a susceptibility determinant in Pseudomonas aeruginosa,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 49, no. 8, pp. 3222–3227, Aug. 2005.
[76] J. Fung-Tomc, B. Kolek, and D. P. Bonner, “Ciprofloxacin-induced, low-level resistance to structurally unrelated antibiotics in Pseudomonas aeruginosa and methicillin-resistant Staphylococcus aureus,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 37, no. 6, pp. 1289–1296, Jun. 1993.
[77] I. Morrissey, H. Salman, S. Bakker, D. Farrell, C. M. Bébéar, and G. Ridgway, “Serial passage of Chlamydia spp. in sub-inhibitory fluoroquinolone concentrations,” *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 49, no. 5, pp. 757–761, May 2002.
[78] C. Denève, S. Bouttier, B. Dupuy, F. Barbut, A. Collignon, and C. Janoir, “Effects of subinhibitory concentrations of antibiotics on colonization factor expression by moxifloxacin-susceptible and moxifloxacin-resistant Clostridium difficile strains,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 53, no. 12, pp. 5155–5162, Dec. 2009.
[79] S. Dessus-Babus, C. M. Bébéar, A. Charron, C. Bébéar, and B. de Barbeyrac, “Sequencing of gyrase and topoisomerase IV quinolone-resistance-determining regions of Chlamydia

trachomatis and characterization of quinolone-resistant mutants obtained In vitro," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 42, no. 10, pp. 2474–2481, Oct. 1998.
[80] S. Herold, J. Siebert, A. Huber, and H. Schmidt, "Global expression of prophage genes in Escherichia coli O157:H7 strain EDL933 in response to norfloxacin," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 49, no. 3, pp. 931–944, Mar. 2005.
[81] P. C. Braga, M. T. Sala, and M. Dal Sasso, "Pharmacodynamic effects of subinhibitory concentrations of rufloxacin on bacterial virulence factors," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 43, no. 5, pp. 1013–1019, May 1999.
[82] J. W. Beaber, B. Hochhut, and M. K. Waldor, "SOS response promotes horizontal dissemination of antibiotic resistance genes," *Nature*, vol. 427, no. 6969, pp. 72–74, Jan. 2004.
[83] L. R. Mesak, V. Miao, and J. Davies, "Effects of subinhibitory concentrations of antibiotics on SOS and DNA repair gene expression in Staphylococcus aureus," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 52, no. 9, pp. 3394–3397, Sep. 2008.
[84] D. Li *et al.*, "Induction of fibronectin adhesins in quinolone-resistant Staphylococcus aureus by subinhibitory levels of ciprofloxacin or by sigma B transcription factor activity is mediated by two separate pathways," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 49, no. 3, pp. 916–924, Mar. 2005.
[85] V. Väisänen, K. Lounatmaa, and T. K. Korhonen, "Effects of sublethal concentrations of antimicrobial agents on the hemagglutination, adhesion, and ultrastructure of pyelonephritogenic Escherichia coli strains," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 22, no. 1, pp. 120–127, Jul. 1982.
[86] C. Vuotto, I. Moura, F. Barbanti, G. Donelli, and P. Spigaglia, "Subinhibitory concentrations of metronidazole increase biofilm formation in Clostridium difficile strains," *Pathog. Dis.*, vol. 74, no. 2, Mar. 2016.
[87] G. Yim, F. de la Cruz, G. B. Spiegelman, and J. Davies, "Transcription modulation of Salmonella enterica serovar Typhimurium promoters by sub-MIC levels of rifampin," *J. Bacteriol.*, vol. 188, no. 22, pp. 7988–7991, Nov. 2006.
[88] Y. D. N. Tremblay, S. Hathroubi, and M. Jacques, "Les biofilms bactériens : leur importance en santé animale et en santé publique," *Can. J. Vet. Res.*, vol. 78, no. 2, pp. 110–116, Apr. 2014.
[89] A. ROUX and J.-M. GHIGO, "Bacterial biofilms," 2006. [Online]. Available: http://hdl.handle.net/2042/47842.
[90] A. de la santé publique du C. Gouvernement du Canada, "Staphylococcus aureus - Fiches techniques santé-sécurité: agents pathogènes - Agence de la santé publique du Canada," 30-Apr-2012. [Online]. Available: http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/staphylococcus-aureus-fra.php. [Accessed: 14-Jul-2017].
[91] A. de la santé publique du C. Gouvernement du Canada, "Pseudomonas spp. - Fiches techniques santé-sécurité: agents pathogènes - Agence de la santé publique du Canada," 30-Apr-2012. [Online]. Available: http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/pseudomonas-spp-fra.php. [Accessed: 14-Jul-2017].
[92] N. Mesaros *et al.*, "Pseudomonas aeruginosa : résistance et options thérapeutiques à l'aube du deuxième millénaire 1," */data/revues/12945501/00090003/189/*, Mar. 2008.
[93] A. de la santé publique du C. Gouvernement du Canada, "Escherichia coli - Fiches techniques santé-sécurité: agents pathogènes - Agence de la santé publique du Canada," 30-Apr-2012. [Online]. Available: http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/escherichia-coli-tox-fra.php. [Accessed: 14-Jul-2017].

N° d'identification :

TITRE

EFFETS DE CONCENTRATIONS SUBINHIBITRICES D'ANTIBIOTIQUES SUR LES BACTÉRIES

Thèse soutenue le JEUDI 12 JUILLET 2018

Par MAXIME LENCLEN

RESUME :

Les antibiotiques utilisés à concentrations subinhibitrices provoquent sur les bactéries des effets diversifiés sur leur phénotype et leur génotype. À ces faibles doses, ces molécules agissent comme des messagers et engendrent des réactions favorables ou défavorables pour la survie et le développement des bactéries.

Chaque famille d'antibiotique provoque des effets qui lui sont propres ou non, et qui peuvent être récurrents, intenses, parfois rares mais notables, ou alors très différents d'une molécule à l'autre.

Les modifications phénotypiques observées concernent notamment le métabolisme, l'expression de gènes, la formation de biofilm ou encore la morphologie des bactéries.

Les trois bactéries les plus étudiées sur cette thématique, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus,* réagissent de manières différentes à une exposition à des concentrations subinhibitrices d'antibiotique. Cela permet de mettre en évidence des associations fortes antibiotique-bactérie se traduisant par des effets intenses et récurrents.

MOTS CLES :

ANTIBIOTIQUES – CONCENTRATION SUBINHIBITRICE – ENVIRONNEMENT – BACTÉRIES – EXPRESSION DE GÈNES - MÉTABOLISME

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
Mr XAVIER BELLANGER	LCPME - UMR 7564 CNRS - Université de Lorraine Institut Jean Barriol	Expérimentale ☐ Bibliographique ☒ Thème ☐

Thèmes 1 – Sciences fondamentales ☐ 2 – Hygiène/Environnement ☐ 3 – Médicament ☐ 4 – Alimentation – Nutrition ☐ 5 - Biologie ☐ 6 – Pratique professionnelle ☐

FACULTE DE PHARMACIE UNIVERSITE DE LORRAINE

DEMANDE D'IMPRIMATUR

Date de soutenance : 12 juillet 2018

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présenté par : Maxime LENCLEN

Sujet : EFFETS DE CONCENTRATIONS SUBINHIBITRICES D'ANTIBIOTIQUES SUR LES BACTERIES

Jury :

Président : M. Frédéric JORAND, Professeur
Directeur : M. Xavier BELLANGER, Maître de Conférences
Juges : Mme Corentine ALAUZET, Maître de Conférences
M. Edouard COUROT, Pharmacien

Vu,

Nancy, le 15 juin 2018

Le Président du Jury — M. JORAND

Directeur de Thèse — M. BELLANGER

Vu et approuvé,

Nancy, le 18.06.2018

Doyen de la Faculté de Pharmacie
de l'Université de Lorraine,

Pr. Raphaël DUVAL

Vu,

Nancy, le - 2 JUIL. 2018

Le Président de l'Université de Lorraine,

Pierre MUTZENHARDT

N° d'enregistrement : 10344