

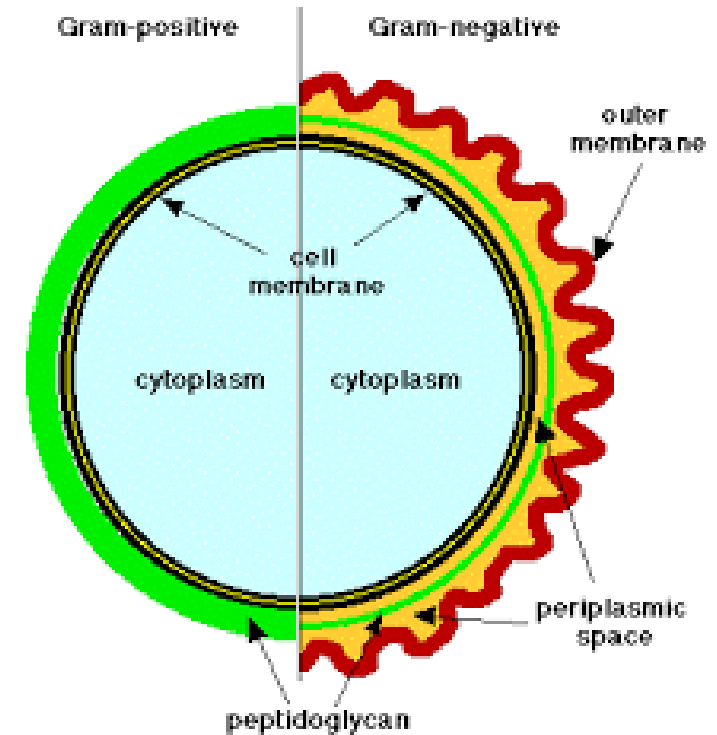
Résistances aux antibiotiques chez les bactéries à Gram positif

Dr Sandrine Boisset
Bactériologie, CHU Grenoble-Alpes

*Diplôme Universitaire de Thérapeutiques Anti-Infectieuses
Université Grenoble Alpes
1^{ère} session – Janvier 2024*

Bactéries à Gram positif

- *Staphylococcus aureus*
- *Streptococcus pneumoniae*
- *Enterococcus*



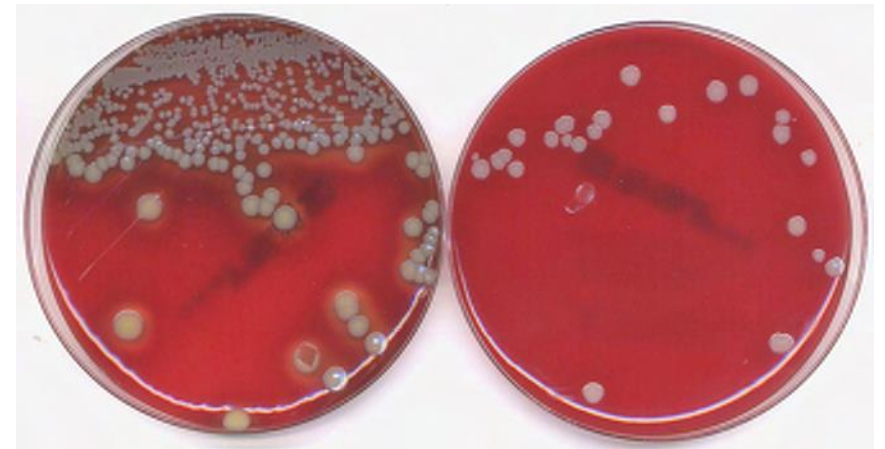
STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Staphylococcus aureus

- Résistances naturelles :
 - Acide nalidixique
 - Colistine
 - *S. saprophyticus* :
= R fosfomycine

S. aureus

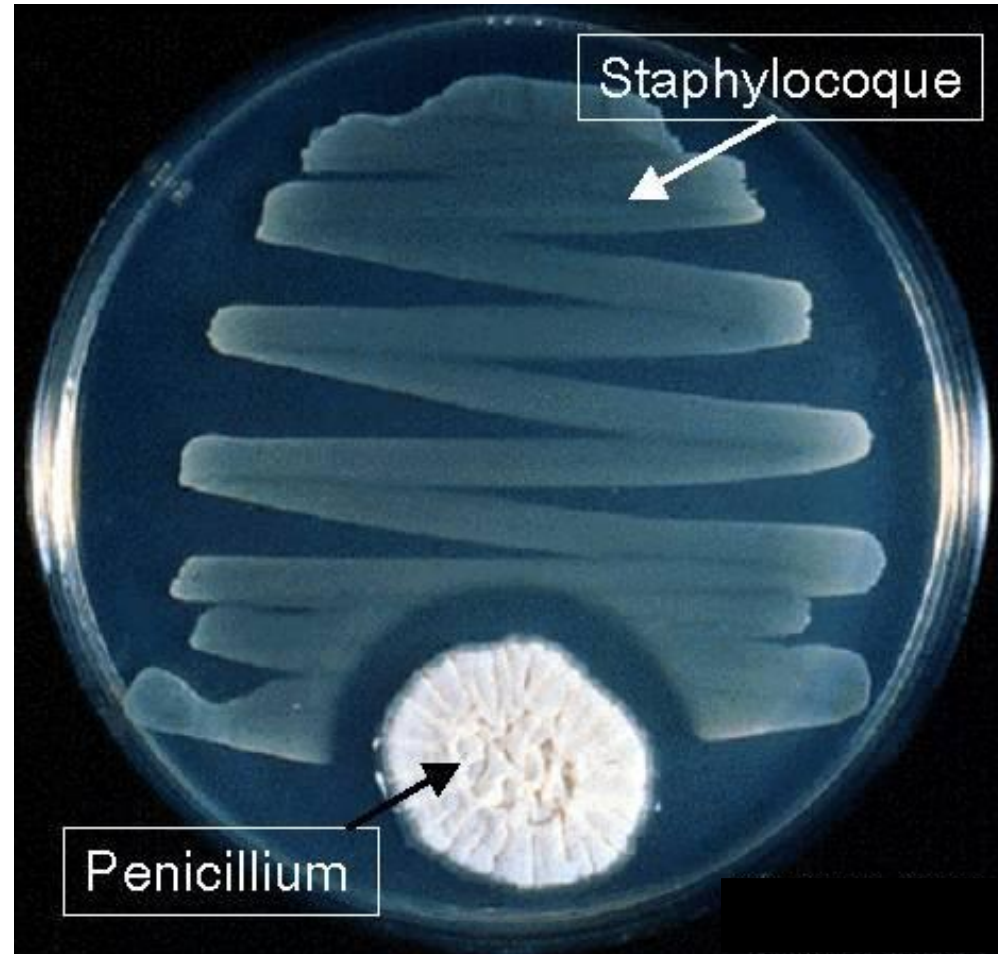
S. epidermidis



S. aureus sensible à la pénicilline



Alexander Fleming (1881 –1955)



3 Septembre 1928

Histoire des *S. aureus* résistants

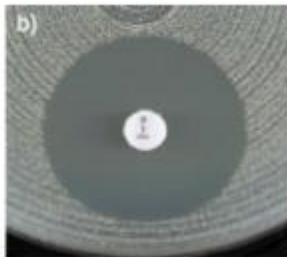
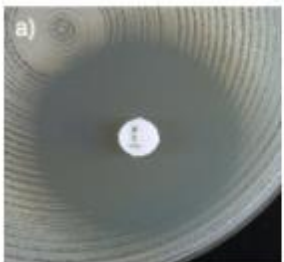
- **1944** → **pénicillinase** (actuellement 75% ville - **90%** hôpital)
- **1961** : commercialisation de la **méticilline**
Pénicilline M (oxacilline / cloxacilline)
- **1962** : apparition de la **résistance à la méticilline**
 - Codée par un gène porté par une cassette chromosomique (SCCmec)
 - Résistance à toutes les bêta-lactamines
- **1962-1993** : SARM confinés aux **structure de soins**
 - Emergence progressive, très liée à la consommation d'antibiotiques
 - Dissémination mondiale de 5 clones
 - Multi-résistance
- **1993-2000** : premières épidémies de **SARM communautaires**
 - Australie, Europe, Amérique du Nord
 - Clones indépendants entre eux et vis à vis des SARM hospitaliers
 - Multi-résistance rare

Résistance aux β -lactamines

Mécanisme	Pénicilline G, Pénicilline A, Carboxipénicilline Uréidopécilline	Antibiotique + Inhibiteur de Béta-Lactamase	Pénicilline M	Céphalosporines Carbapénèmes	Ceftaroline ceftobiprole (C5G)
Sauvage	S	S	S	S	S
Pénicillinase	R	S	S	S	S
Modification des PLP, gène mecA	R	R	R	R	S
BORSA (rare)	R	R/S	R	S	S
MODSA (rare)	S	S	R	S	S

Pénicillinase

- > 90% des *S. aureus* et des staphylocoques à coagulase négative (SCoN)
- **gène *blaZ***, transposon sur plasmide,
- plasmide de grande taille : autres gènes de résistance
- inactivation des pénicillines G, A, carboxy- et uréido-pénicillines
- sensibilité aux inhibiteurs de β -lactamases
- détection difficile :
 - Test à la nitrocéfine pendant longtemps, test peu fiable selon les dernières recommandations
 - Méthode de diffusion plus fiable que la détermination de la CMI (*)



a) Diamètre ≥ 26 mm avec une bordure floue. Souche sensible.
b) Diamètre ≥ 26 mm avec une bordure nette. Souche résistante.

BORSA & MODSA

- BORSA : borderline oxacillin *S. aureus*
 - Pénicillinase hyper produite capable d'hydrolyser partiellement les pénicillines M
 - Ces souches ne possèdent pas le gène *mecA*
 - Activité restaurée par les inhibiteurs de β - lactamases
- MODSA : (Modified *S. aureus*)
 - Ces souches ne possèdent pas le gène *mecA*
 - Bas niveau de résistance à la méticilline par modifications des PLP ayant une moindre affinité pour la méticilline
- Mécanismes rares !

Gène *mecA* et cassette SCCmec

1962

- gène *mecA* = fragment d'ADN de 2,1 kb codant une protéine liant la pénicilline additionnelle (PLP2a)
- Cette transpeptidase **PLP2a** a une **affinité faible** vis-à-vis des β -lactamines
→ **résistance à toute la famille** des β -lactamines, notamment à la méticilline ou à l'oxacilline.
- Exception : nouvelle céphalo anti-staph (ceftaroline, ceftobiprole)
- Le gène *mecA* est inclus dans un **élément génétique mobile** : la cassette staphylococcique (**SCCmec**, *staphylococcal cassette chromosome mec*).

mecC en France

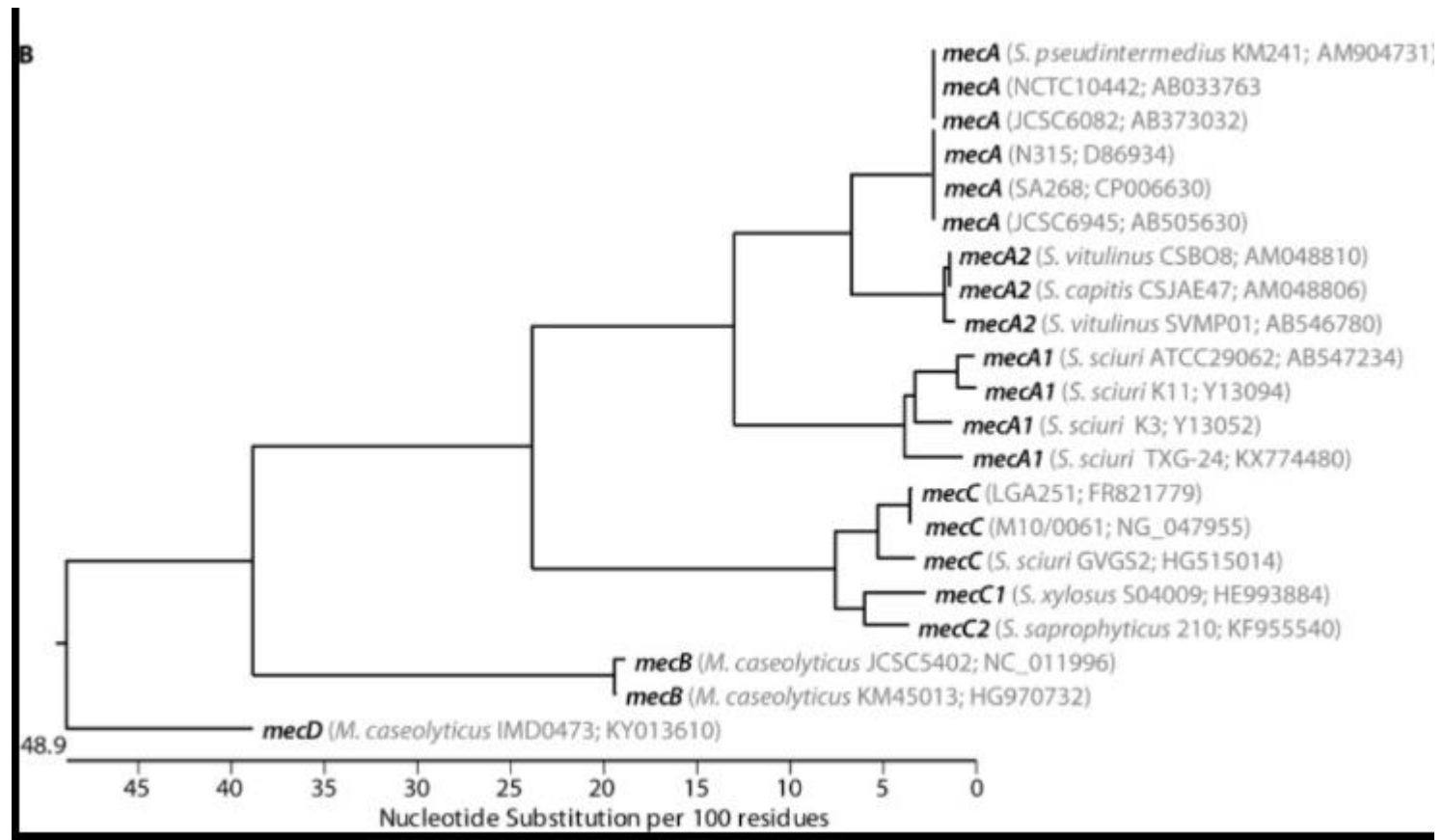
MRSA Harboring *mecA* Variant Gene *mecC*, France

**Frederic Laurent, Hubert Chardon,
Marisa Haenni, Michele Bes,
Marie-Elisabeth Reverdy, Jean-Yves Madec,
Evelyne Lagier, François Vandenesch,
and Anne Tristan**

Emerging Infectious Diseases •
www.cdc.gov/eid • Vol. 18, No. 9,
September 2012

- 1^{er} cas détecté : homme de 67 ans, hospitalisé à Aix-en-Provence en Novembre 2007, pour infection sur prothèse de genou gauche.
- 2nd cas chez 2 vaches avec des mammites dans la même ferme en Meurthe et Moselle en décembre 2008.

mecC, pourquoi pas mecB ?



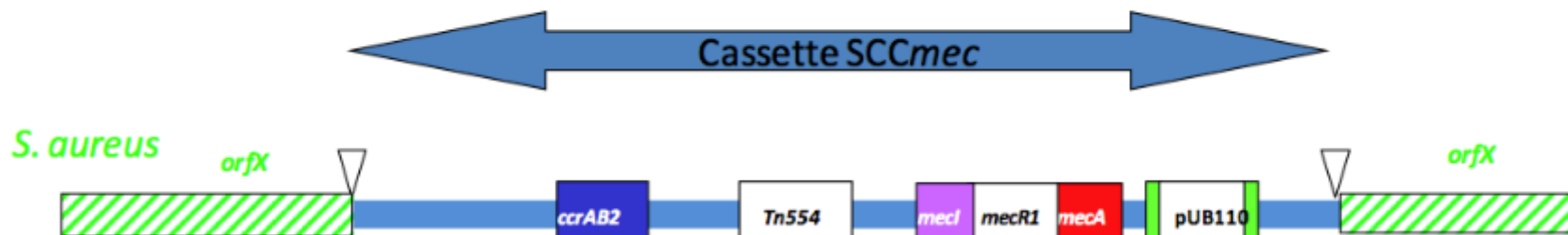
70%
similitude

SARM mecC

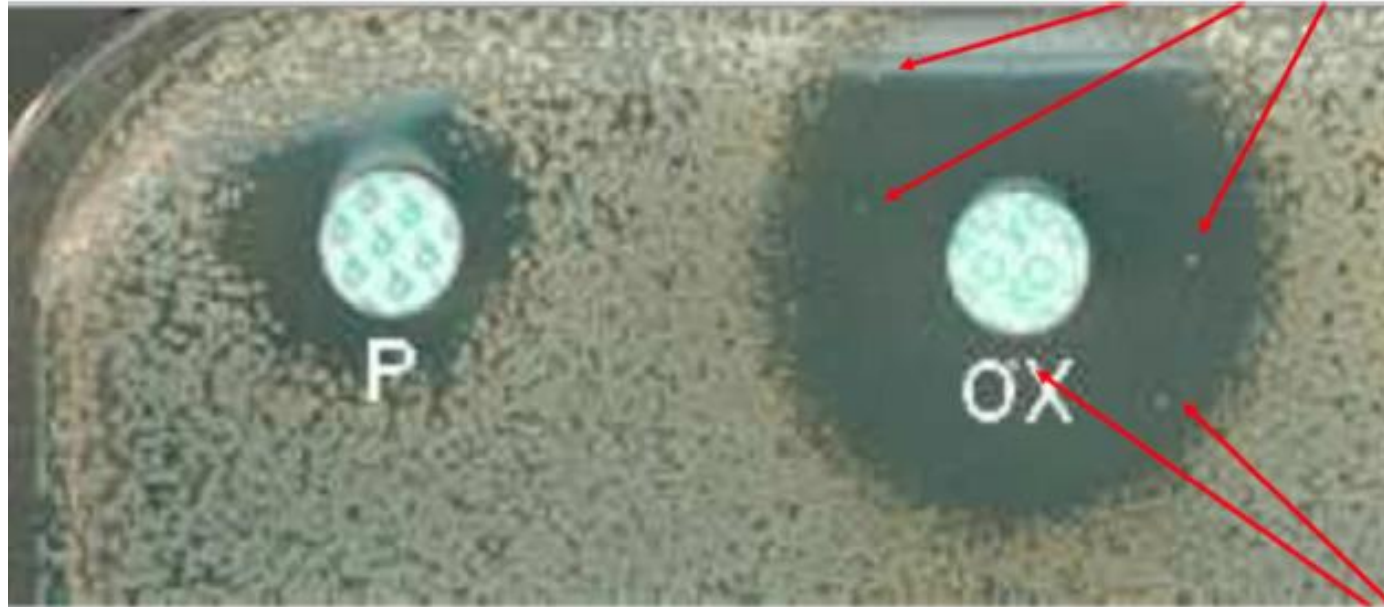
- Faible niveau de résistance à l'oxacilline, pas de résistance associée
- Efficacité probable des traitement par beta-lactamines
- Souches d'origine animale
- Prévalence faible (1% ?)
- 2018-2022 : 38 souches reçues au CNR (données CNR des Staphylocoques, Lyon)

Composition de la cassette SCCmec

- La cassette SCCmec comporte deux éléments essentiels :
 - le complexe du gène *mecA* ou *mecC*
 - gène *mecA* (*mecC*) et gènes régulateurs *mecI* et *mecR1*
 - 4 classes (A, B, C, D) décrites chez *S. aureus*
 - le complexe de gènes codant des recombinases *ccr* (cassette chromosome recombinase) qui assurent les phénomènes d'intégration et d'excision de la cassette
 - gènes *ccrA* et *ccrB* codant 2 recombinases → mobilité SCCmec
 - 5 types (1,2, 3, 4, 5)
 - + autres éléments mobiles (résistance à d'autres ATB).



Détection de la résistance à la méticilline



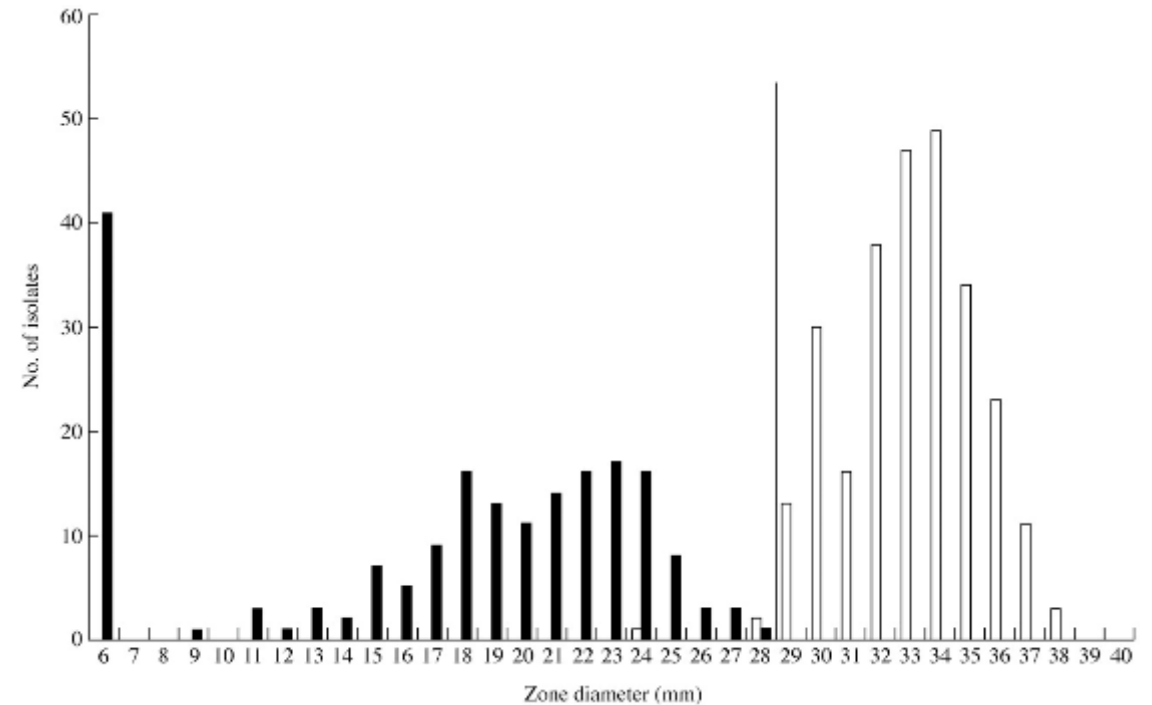
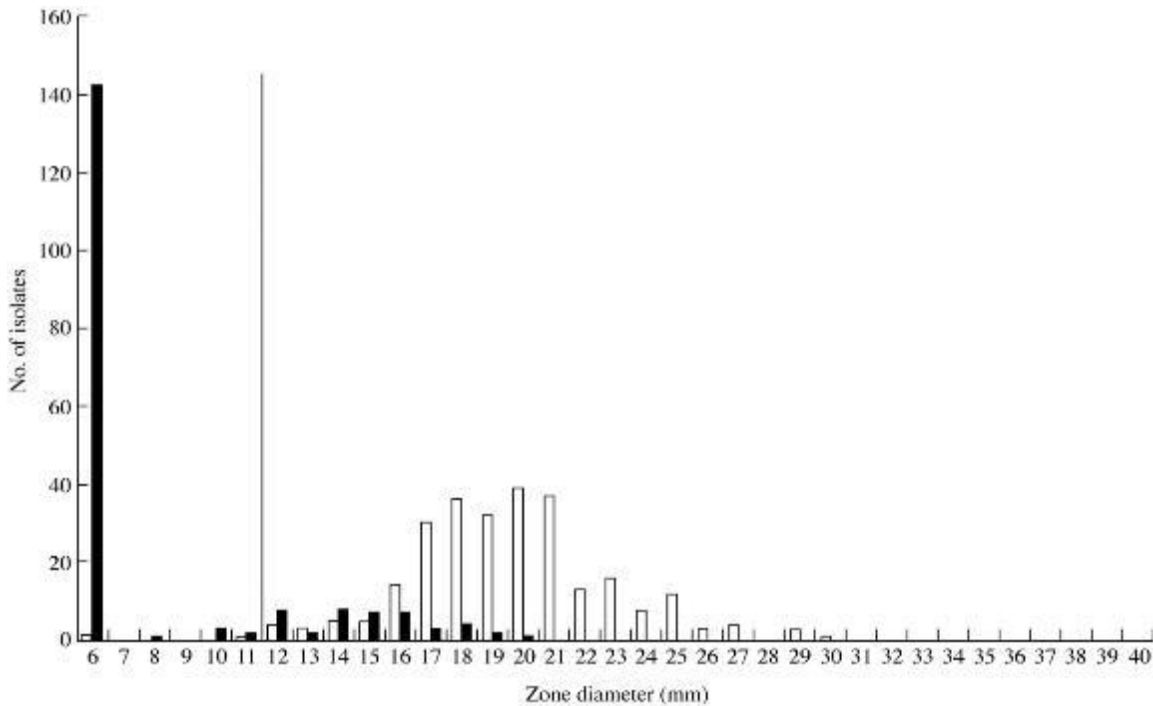
- Détection difficile car les souches peuvent présenter une expression hétérogène de la résistance

Evolution des recommandations

- Améliorer l'expression de la résistance à l'oxacilline *in vitro* :
 - Mueller-Hinton incubé à 30° C
 - Mueller-Hinton hypersalé à 37° C
- La présence du gène *mecA* s'est imposée comme référence pour la méticillino-résistance
- Marqueurs de substitution à l'oxacilline: céphamycines (corrélation avec absence/présence de *mecA* et aujourd'hui *mecC*)

Test cefoxitine

- ≥ 25 mm : S oxacilline
- 22 – 24 mm : ? \rightarrow PLP2a, PLP2C ou *mecA*, *mecC* = ZIT, zone d'incertitude technique
- <22 mm : R oxacilline



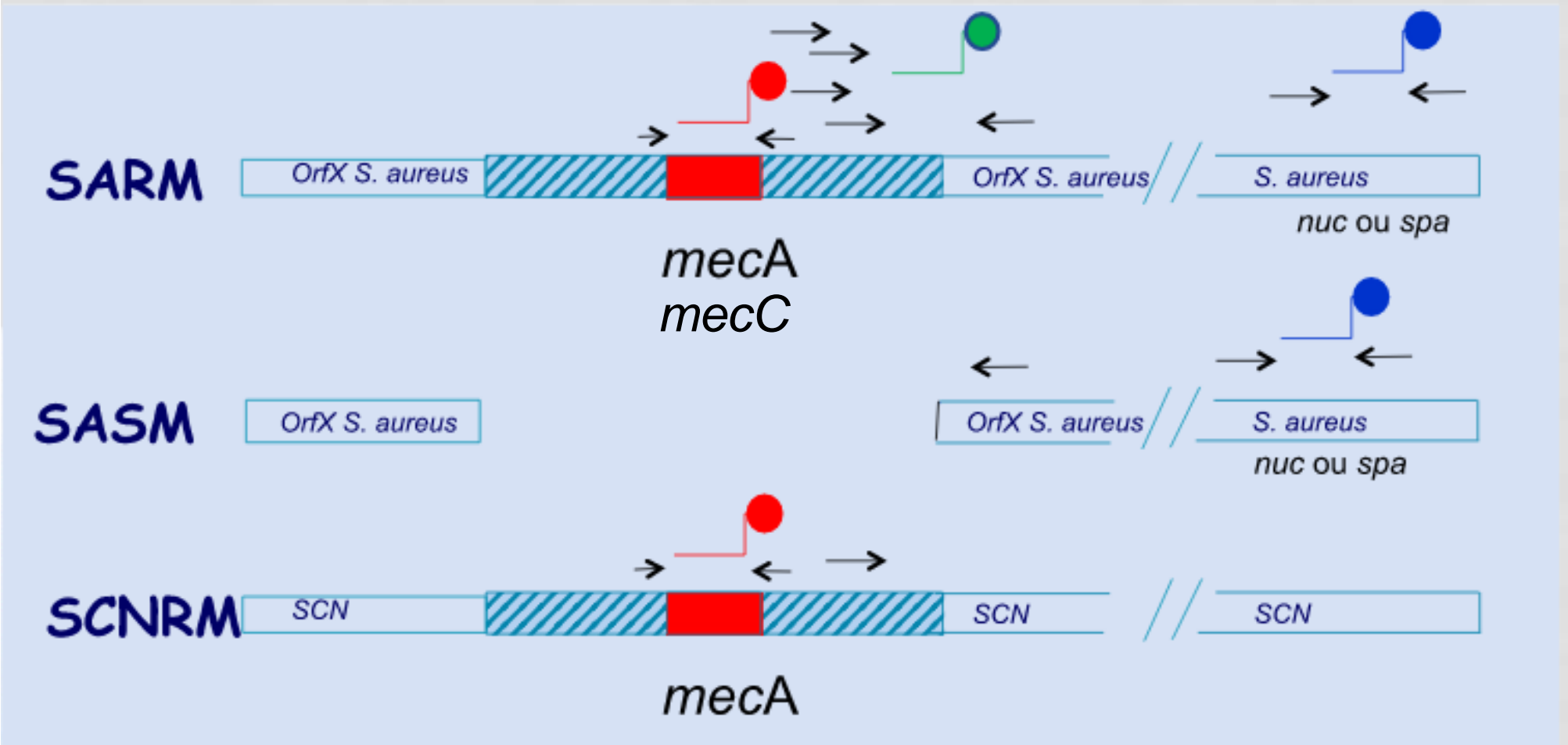
Détection de la PLP2a par immunochromatographie

- Clearview Exact PBP2a (Alere)



- A partir de l'isolement primaire
→ meilleure sensibilité après induction par une beta-lactamine
- La nature du milieu n'influence pas le résultat^{[L]_{SEP}}

Détection par biologie moléculaire



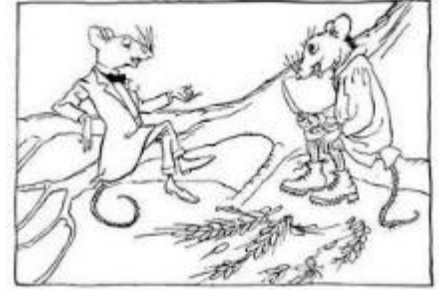
Règle d'interprétation

- Les souches de staphylocoques résistantes à la céfoxitine
- ou possédant un gène *mec* additionnel (*mecA*, *mecC*)
- ou exprimant une PLP2 additionnelle (PLP2a, PLP2c) après induction par une bêta-lactamine,
→ doivent être interprétées **résistantes à toutes les bêta-lactamines** (pénicillines associées ou non à un inhibiteur de bêta-lactamase, céphalosporines et carbapénèmes), **sauf à la ceftaroline et au ceftobiprole** qui possèdent une activité sur les staphylocoques résistants à l'oxacilline mais leur activité doit être testée séparément.

Sensibilité aux céphalosporines anti-SARM

Species (number of isolates) Antibacterial agent	MIC (mg/l)			% of susceptible isolates
	MIC ₅₀	MIC ₉₀	Range	
<i>S. aureus</i>				
All isolates (n = 100)				
Ceftaroline	0.25	0.5	0.06-1	100
Ceftobiprole	0.5	1	0.125-4	98
MSSA (n = 81)				
Ceftaroline	0.25	0.5	0.06-1	100
Ceftobiprole	0.5	1	0.125-4	99
MRSA (n = 19)				
Ceftaroline	0.5	1	0.25-1	100
Ceftobiprole	1	2	1-4	95
CoNS				
All isolates (n = 100)				
Ceftaroline	0.06	0.25	≤0.03-1	100
Ceftobiprole	0.25	1	≤0.03-2	100
MS-CoNS (n = 73)				
Ceftaroline	0.06	0.25	≤0.03-1	100
Ceftobiprole	0.125	0.5	≤0.03-1	100
MR-CoNS (n = 27)				
Ceftaroline	0.25	0.5	0.06-1	100
Ceftobiprole	0.5	1	0.125-2	100

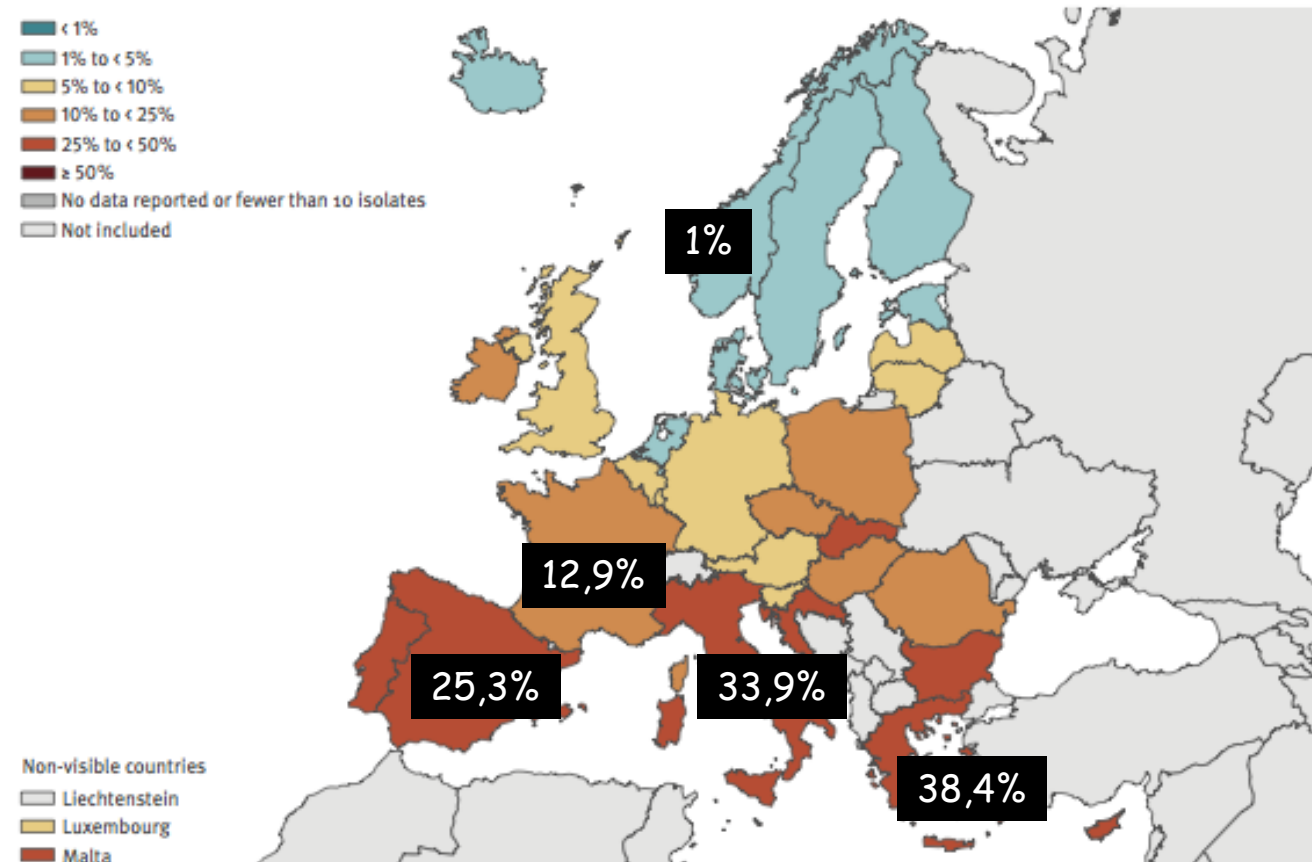
SARM de l'hôpital et SARM des villes



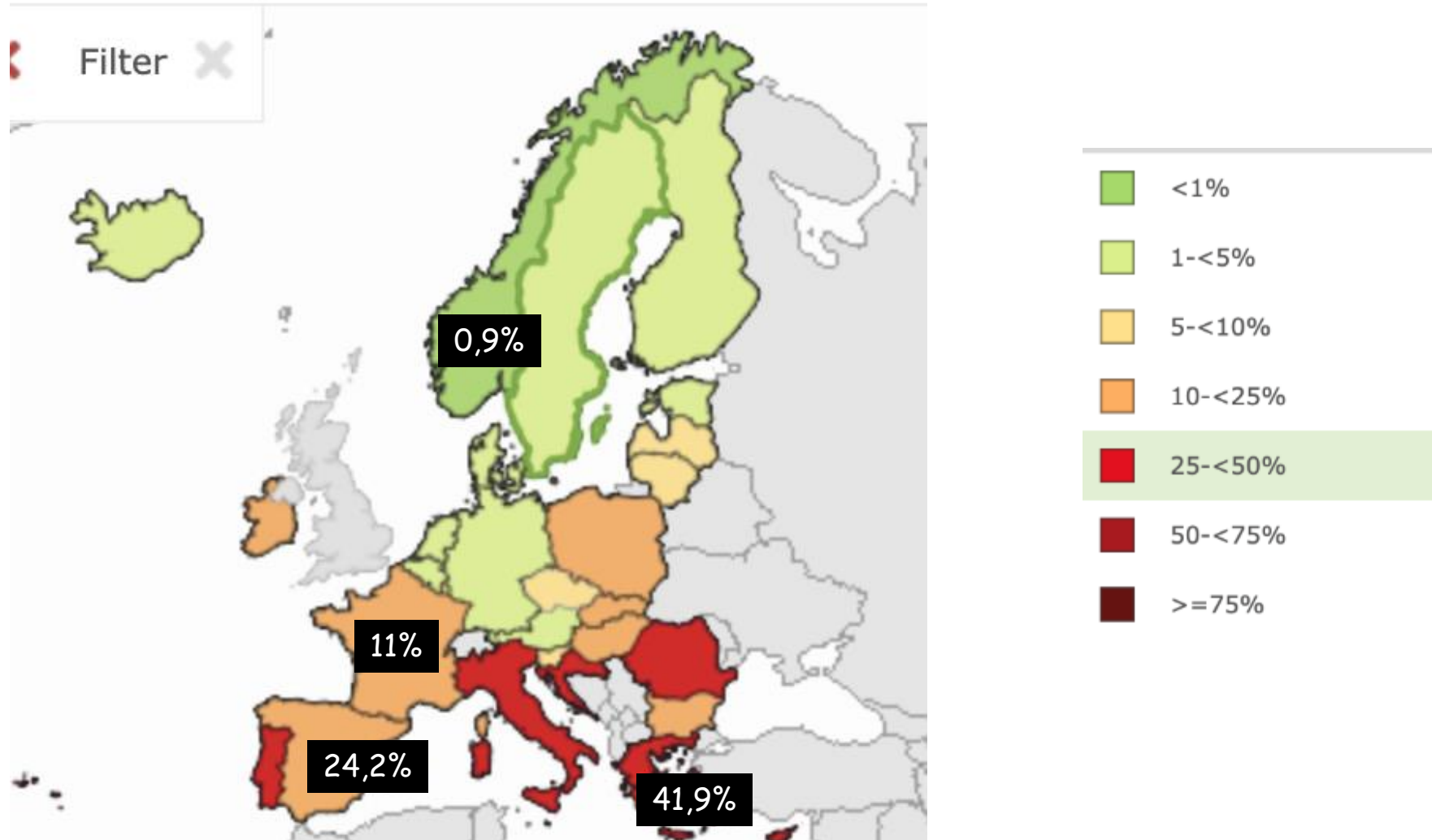
- SARM hospitaliers = HA-MRSA (Healthcare associated MRSA)
 - **très résistant +++**
 - aminosides, cyclines, quinolones, macrolides
 - Grosse cassette SCCmec → manque de fitness
 - Patients à risque : long séjour
- SARM communautaires = CA-MRSA (community-acquired MRSA)
 - Peu de résistance : Acide Fusidique \pm Kanamycine/Tobramycine
 - Casette SCCmec plus petite, pas de perte de fitness, diffusion rapide

Prevalence des SARM en Europe EARS-NeT 2017

Figure 3.25. *Staphylococcus aureus*. Percentage (%) of invasive isolates with resistance to meticillin (MRSA), by country, EU/EEA countries, 2017



Prevalence des SARM en Europe EARS-NeT 2021



Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2021

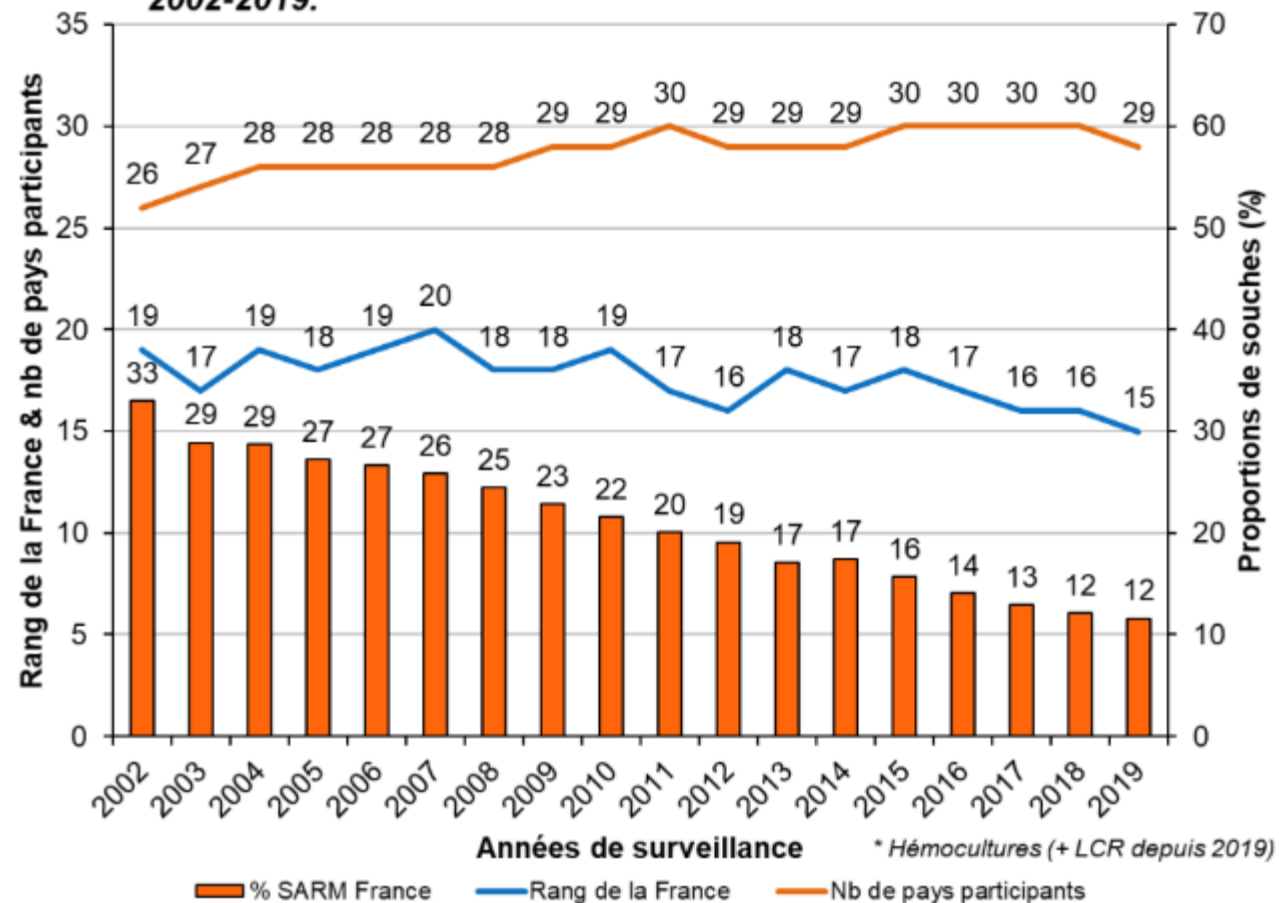
EARS-Net France, 2002-2019

Staphylococcus aureus

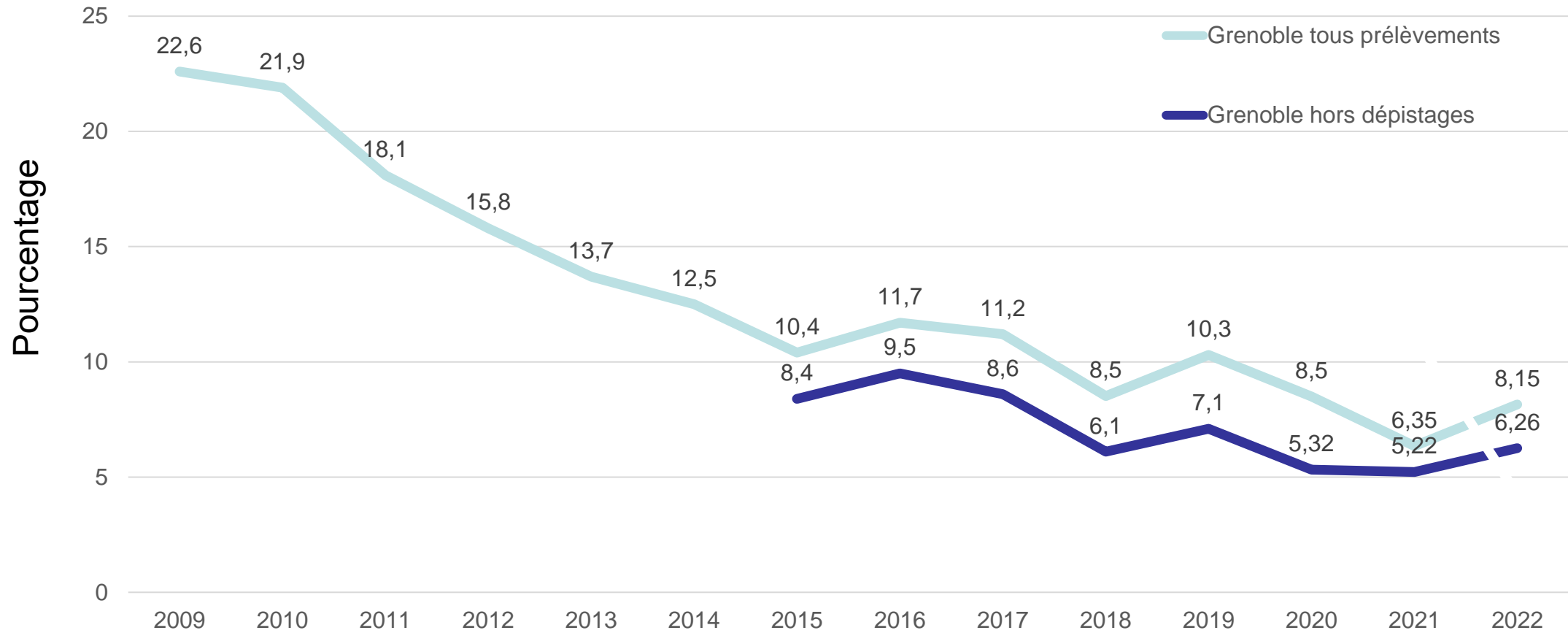
4 890 souches par an en moyenne, 6 723 souches en 2019

Staphylococcus aureus

Prélèvements d'infections invasives*, EARS-Net France
2002-2019.



Epidémiologie CHU Grenoble



Prévalence des SARM communautaires

- Bien que la diffusion des souches CA-MRSA soit mondiale, leur distribution n'est pas géographiquement uniforme.
 - Etats-Unis : 59% des *S. aureus* isolés des infections de la peau et de tissus mous d'origine communautaire. Situation alarmante !
 - Afrique du Nord, prévalence des CA-MRSA est de 48,8 %.
 - En Europe, la distribution n'est pas uniforme :
 - pays à faible diffusion : Royaume-Uni avec moins de 2 % de CA-MRSA
 - pays à forte diffusion telle la Grèce avec 75 % de souches CA-MRSA
 - En France, prévalence des CA-MRSA faible : 3,6 %

Quelques exemples de SARM communautaires en France

- Clone ST80
 - profil caractéristique de résistance aux antibiotiques
 - Résistant pénicilline, oxacilline, kanamycine, tétracycline
 - Intermédiaire acide fusidique
 - cassette SCCmec le plus souvent de type IV ou V
 - souvent présence de la Leucocidine de Panton Valentine (PVL)
- Clone Géraldine (clone communautaire et hospitalier)
 - Cassette SCCmec type I tronquée
 - phénotype de résistance aux antibiotiques caractéristique :
 - résistant pénicilline, oxacilline, kanamycine, tobramycine
 - Intermédiaire acide fusidique.
 - Présence du gène codant la toxine du choc toxique staphylococcique (TSST-1) et non pas la PVL.

Qu'est qu'un clone ?



- A l'intérieur d'une espèce bactérienne, les individus n'existent pas à l'unité car les bactéries se divisent en permanence : la descendance d'une même cellule bactérienne en se divisant forme un clone
- Clones = souches de *S. aureus* ayant un ancêtre commun

Caractérisation génétique des souches de *S. aureus*

L'appartenance d'une souche à **un clone** est démontrée en caractérisant la souche par :

- le séquençage de 7 gènes de ménages : **MLST** (multi-locus-sequence-typing). Un type de **séquence ST** est attribué à chaque souche analysée. Tous les ST ayant 5 des 7 gènes en commun sont regroupés dans un même **complexe clonal CC**.
- La caractérisation du nombre et la structure des répétitions dans la séquence codante pour la protéine A : **spa typing**. L'analyse de ces répétitions par PCR permet d'attribuer à chaque souche un profil « **spa type** » dont la définition et la nomenclature sont standardisées au niveau international.
- Le typage de la cassette SSCmec
- Caractérisation des souches complétée par le profil toxinique → aujourd'hui séquençage de génome complet

Staphylocoque et aminosides

- inactivation enzymatique :
 - ANT = aminosides nucléotidyltransférase
 - AAC = aminosides acétyltransférase
 - APH = aminosides phosphotransférase
- souvent plusieurs enzymes par souche
- gentamicine R \Rightarrow R à tous les aminosides

Phénotypes	Enzymes	Kanamycine Amikacine	Tobramycine	Gentamicine Netilmicine
Sauvage		S	S	S
K	APH(3') - III	R	S	S
KT	ANT-(4')-(4'')	R	R	S
KTG	AAC(6')-APH(2'')	R	R	R

Staphylocoque et macrolides

- Mécanisme le plus fréquent = Modification de la cible ARNr 23S par méthylation
- méthylation de l'adénine de l'ARNr 23S (A2058, A2059)
- gène *erm* (A, B ou C): erythromycin ribosome methylase
- phénotype **MLS_B** : macrolides, lincosamides, synergistine B
 - **inductible** : R érythromycine, clarithromycine, azithromycine (macrolides en C14 et C15)
 - **constitutif** : R à tous les macrolides, télithromycine, lincosamides, synergistine B

Génotype	Phénotype	M14 M15	M16	LIN	CLIN	PRI	KET
<i>erm</i>	MLS _B inductible	R	S	S	S	S	S
<i>erm</i>	MLS _B constitutif	R	R	R	R	S	R

M16 : Spiramycine, LIN : lincosamide, CLIN : clindamycine, PRI : pristinamycine, KET : kétolides

Staphylocoques et macrolides

- Devant une souche résistante à l'érythromycine et sensible à la clindamycine, rechercher le caractère inductible de cette résistance
 - Absence d'induction → sensible à la clindamycine, spiramycine et lincomycine.
 - Présence d'induction, → sensible à spiramycine, lincomycine et clindamycine avec le message suivant : **de rares échecs cliniques ont été rapportés par sélection de mutants constitutifs résistants.**
- En France, résistance de type MLS_B constitutive
 - dans 2/3 des cas chez les SARM
 - 1/3 chez les SASM
- Résistance par efflux peu fréquente chez *S. aureus* alors que 10% pour les SCN
- En 2008, ONERBA rapporte
 - 8% de résistance à l'érythromycine chez les SASM (en ↑)
 - 33% chez les SARM

Staphylocoque et autres ATB

- Fluoroquinolones :
 - résistances par mutation des cibles et/ou efflux
 - topoisomérases : ADN gyrase (*gyrA* et *gyrB*) et topoisomérase IV (*parC*, *parE*)
 - résistance croisée : R à toutes les FQ
- Tétracyclines :
 - efflux (tet K, tet L) et modification du ribosome (tet M)
- Rifampicine :
 - résistances par mutation de la cible ARN polymérase : *rpoB*
- Fosfomycine :
 - mutants du système de transport de la fosfomycine
- Acide fusidique :
 - mutants *fusA* codant pour EF-G (facteur d'élongation / ribosome)

Rifampicine, fosfomycine, acide fucidique → PAS de monothérapie

Staphylococcus et glycopeptides

3 catégories

- **GISA**

- Sensibilité diminuée, population homogène
- La majorité de la population est de sensibilité diminuée

- **hVISA**

- Sensibilité diminuée, population hétérogène
- Une fraction de la population (10^{-6} à 10^{-9}) exprime la résistance

- **VRSA**

- Résistance vraie
- Haut niveau de résistance, mécanisme différent



Souche de sensibilité diminuée aux glycopeptides

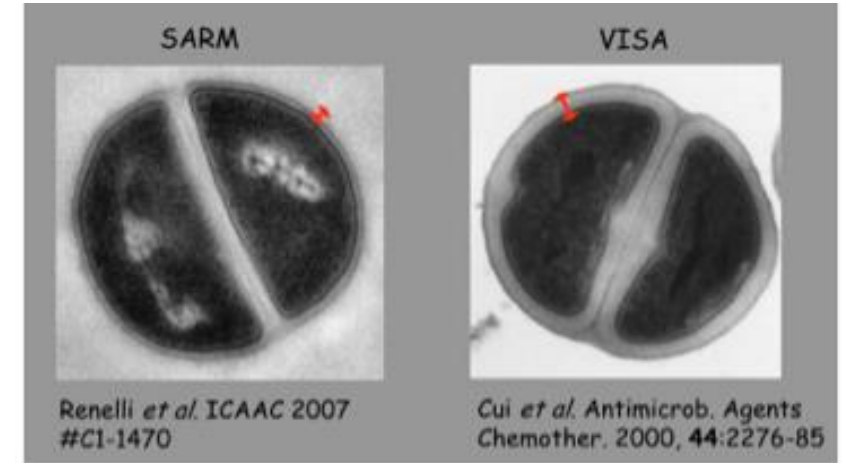
--> suppression de la catégorie intermédiaire

RECOMMANDATION du CA-SFM pour la détection

- Modification des concentrations critiques des glycopeptides pour les staphylocoques avec différence entre *S. aureus* et SCN en 2011
- Janvier 2019 (CA-SFM)
 - *S.aureus* et vancomycine/ teicoplanine : une seule concentration critique (2mg/L)
 - SCN : une seule concentration critique différente pour vancomycine (2mg/L) et teicoplanine (4mg/L)

Mécanisme de résistance des GISA et hGISA

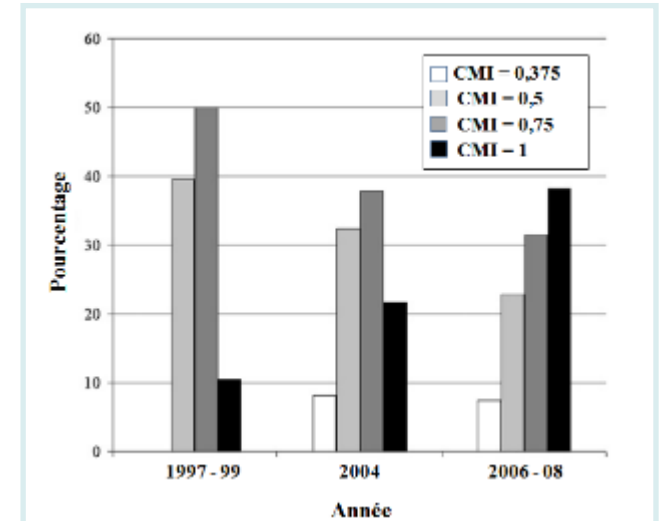
- **Epaississement de la paroi**
 - Biosynthèse du Peptidoglycane accrue
 - Augmentation des couches polysaccharidiques
- => Augmentation du nombre de cibles des Glycopeptides
- **Inductible par les Glycopeptides**
 - **Pas de support génétique connue**
 - **Résistance non transférable**



K Sieradzki and A Tomasz. J Bacteriol 1997

Epidémiologie des GISA

- Les souches GISA (homogènes) sont rares
 - Après exposition prolongée à la vancomycine +++
- Les souches hétérogènes (hGISA) sont plus fréquentes
 - 1 à 25 % des SARM selon les régions en France
 - Exceptionnellement SASM
 - Peuvent diffuser en l'absence de sélection par un GP
 - En augmentation = « **Vancomycin creep** »
 - 2000 à 2005 : ↑ de 1 mg/L des CMI vanco vis-à-vis des *S. aureus* catégorisés sensibles

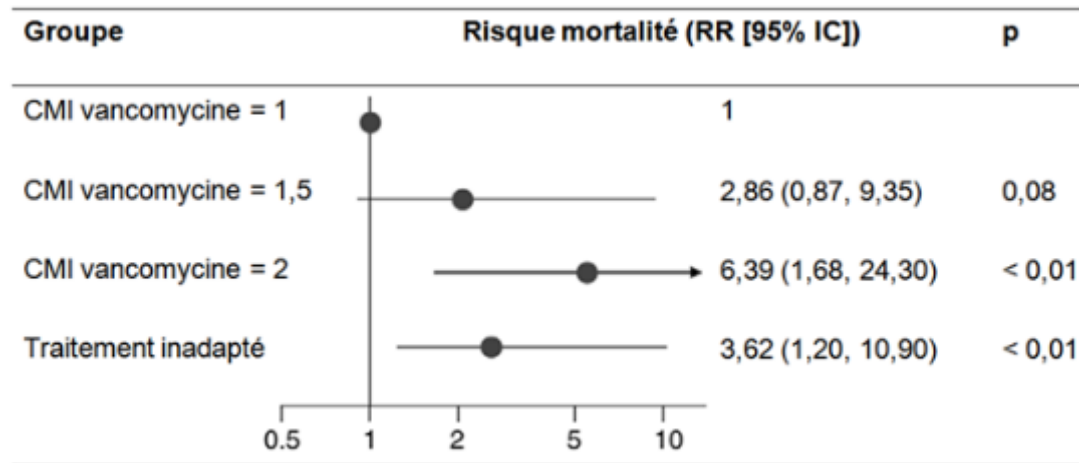


VISA et hvisa

	Category	Subcategory	No. Studies	No. Strains	Prevalence (%) (95% CI)
hVISA	Overall		76	99042	6.05 (4.78–7.48)
	Study period	Before 2006	42	40119	4.68 (3.19–6.41)
		2006–2009	10	6485	5.38 (2.40–9.48)
		2010–2014	5	680	7.01 (2.12–14.42)
	Continent	Asia	35	64692	6.81 (4.76–9.16)
		Europe-America	41	34350	5.60 (3.85–7.64)
	Clinical sample	Blood culture sample	21	5944	9.81 (6.71–13.42)
		All clinical sample	55	93098	4.68 (3.51–6.00)
VISA	Overall		38	68792	3.01 (1.62–4.83)
	Study period	Before 2006	20	13394	2.05 (0.95–3.55)
		2006–2009	4	5630	2.63 (0.29–7.22)
		2010–2014	2	2090	7.93 (0.06–26.67)
	Continent	Asia	18	55362	3.42 (1.10–6.99)
		Europe-America	20	13430	2.75 (1.19–4.91)
	Clinical sample	Blood culture samples	7	2542	2.00 (0.03–6.88)
		All clinical samples	31	66250	3.24 (1.67–5.29)

Importance clinique des GISA

- Apparition inquiétante car impasse thérapeutique
- Augmentation des CMI corrélée à une mauvaise évolution clinique



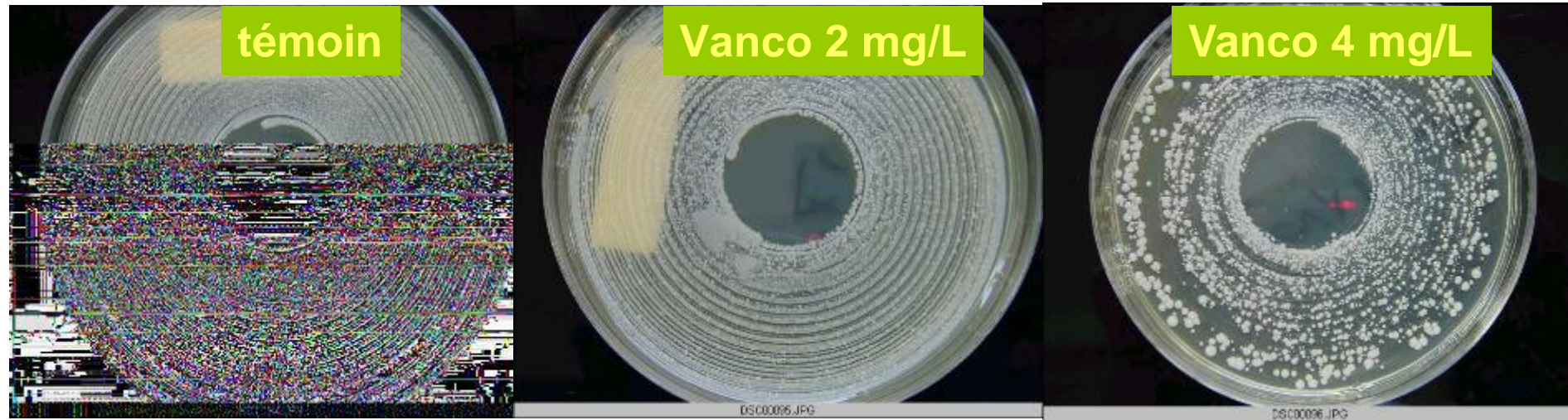
Corrélation entre la CMI vancomycine et le pronostic des infections à SARM

Source : Soriano A., *CID*, 2008

Commentaire laboratoire : Pour *S. aureus* avec CMI vanco > 1 mg/L, des échecs thérapeutiques ont été rapportés.

=> **Nécessaire de les détecter mais difficile**

Analyse de populations



Analyse de population : inoculum 2 McF, 50 μ l , cœur cervelle



VRSA

- 1ère description en 2002 (Michigan, EU)
- Nombre limité de souches cliniques (n = 35) :

Continent	Country	No.
North America	US	13
South America	Brazil	1
Asia	India	16
	Iran	3
	Pakistan	1
Europe	Portugal	1

- Acquisition de l'opéron VanA décrit chez les entérocoques : haut niveau de résistance
- Pas de problèmes de détection

Résistance aux oxazolidinones

Resistance to Linezolid Is Mediated by the *cfr* Gene in the First Report of an Outbreak of Linezolid- Resistant *Staphylococcus aureus* 2010

Gracia Morales,¹ Juan J. Picazo,¹ Elvira Baos,¹ Francisco J. Candel,¹ Ana Arribi,¹ Beatriz Peláez,² Raquel Andrade,²
María-Ángeles de la Torre,³ José Fereres,² and Miguel Sánchez-García³

¹Clinical Microbiology Service, ²Hospital Epidemiology Service, and ³Intensive Care Department, Hospital Clínico San Carlos, Madrid, Spain



2014

Linezolid-Resistant *Staphylococcus aureus* Strain 1128105, the First Known Clinical Isolate Possessing the *cfr* Multidrug Resistance Gene

Jeffrey B. Locke,^a Douglas E. Zull,^a Caitlyn R. Scharn,^c Jennifer Deane,^b Daniel F. Sahn,^b Gerald A. Denys,^d Richard V. Goering,^c
Karen J. Shaw^a

Trius Therapeutics, Inc., San Diego, California, USA^a; Eurofins Global Central Laboratory, Chantilly, Virginia, USA^b; Department of Medical Microbiology and Immunology,
Creighton University School of Medicine, Omaha, Nebraska, USA^c; Indiana University Health Pathology Laboratory, Indianapolis, Indiana, USA^d



2016



First Report of *cfr*-Carrying Plasmids in the Pandemic Sequence Type 22 Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* Type IV Clone

Anna C. Shore,^{a,b} Alexandros Lazaris,^a Peter M. Kinnevey,^a Orla M. Brennan,^a Gráinne I. Brennan,^{a,b} Brian O'Connell,^{b,c}
Andrea T. Feßler,^d Stefan Schwarz,^d David C. Coleman^a

Oxazolidinones

- Famille importante pour les Gram positifs multirésistants
- **Diversité** des mécanismes de résistances
 - Le plus fréquent : mutations de l'ARNr 23S, résistance de haut niveau, R croisée linezolide / tedizolide
 - Acquisition de gènes transférables :
 - Méthylase : gène *cfr*, résistance croisée phénicolés, lincosamides, oxazolidinone (LZD seulement), pleuromutilines, Streptogramines A
 - ABC transporteur : gène *optrA*, résistance exceptionnelle, R croisée phénicolés, LZD et TZD
 - Gène *poxTA*, résistance exceptionnelle, R croisée phénicolés, LZD et TZD
- Inquiétant :
 - **émergence** de clones résistants (notamment SCN)
 - **maintien** endémique de clones résistants
 - **diffusion** de clones résistants (échelle locale/nationale/internationale)
- Pression de sélection : rôle majeur = **surveillance des consommation**

Données antibiogramme *S. aureus* France

Antibiotique	Tous prélèvements confondus	
	Nb total de souches	% (R+I)
Kanamycine	38 408	1,9
Gentamicine	55 478	1,8
Tobramycine	46 945	2,6
Fluoroquinolones	56 098	6,1
Tétracycline	38 897	3,1
Erythromycine	51 847	28,3
Pristinamycine	43 476	0,7
Cotrimoxazole	52 025	1,7
Rifampicine	51 622	2,2
Fosfomycine	47 719	0,7
Acide fusidique	49 059	3,5
Vancomycine	38 583	<0,1
Linézolide	42 462	0,1
Daptomycine	4 672	0,6

Tableau 1. Résistance aux antibiotiques des SASM, réseau SPARES 2021.

Antibiotique	Tous prélèvements confondus	
	Nb total de souches	% (R+I)
Kanamycine	5 658	24,7
Gentamicine	7 674	8,2
Tobramycine	6 835	23,5
Fluoroquinolones	7 913	73,5
Tétracycline	5 831	10,1
Erythromycine	7 373	27,6
Pristinamycine	6 231	5,2
Cotrimoxazole	7 217	5,1
Rifampicine	7 163	4,8
Fosfomycine	6 807	6,1
Acide fusidique	7 066	16,2
Vancomycine	6 218	0,1
Linézolide	6 287	0,4
Daptomycine	864	1,0

Tableau 2. Résistance aux antibiotiques des SARM, réseau SPARES 2021.

STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE

Résistances naturelles

- Pénicillines M
- Aminosides (bas niveau)
- Acide nalidixique
- Fluoroquinolones (sauf lévofloxacine et moxifloxacine)
- Colistine

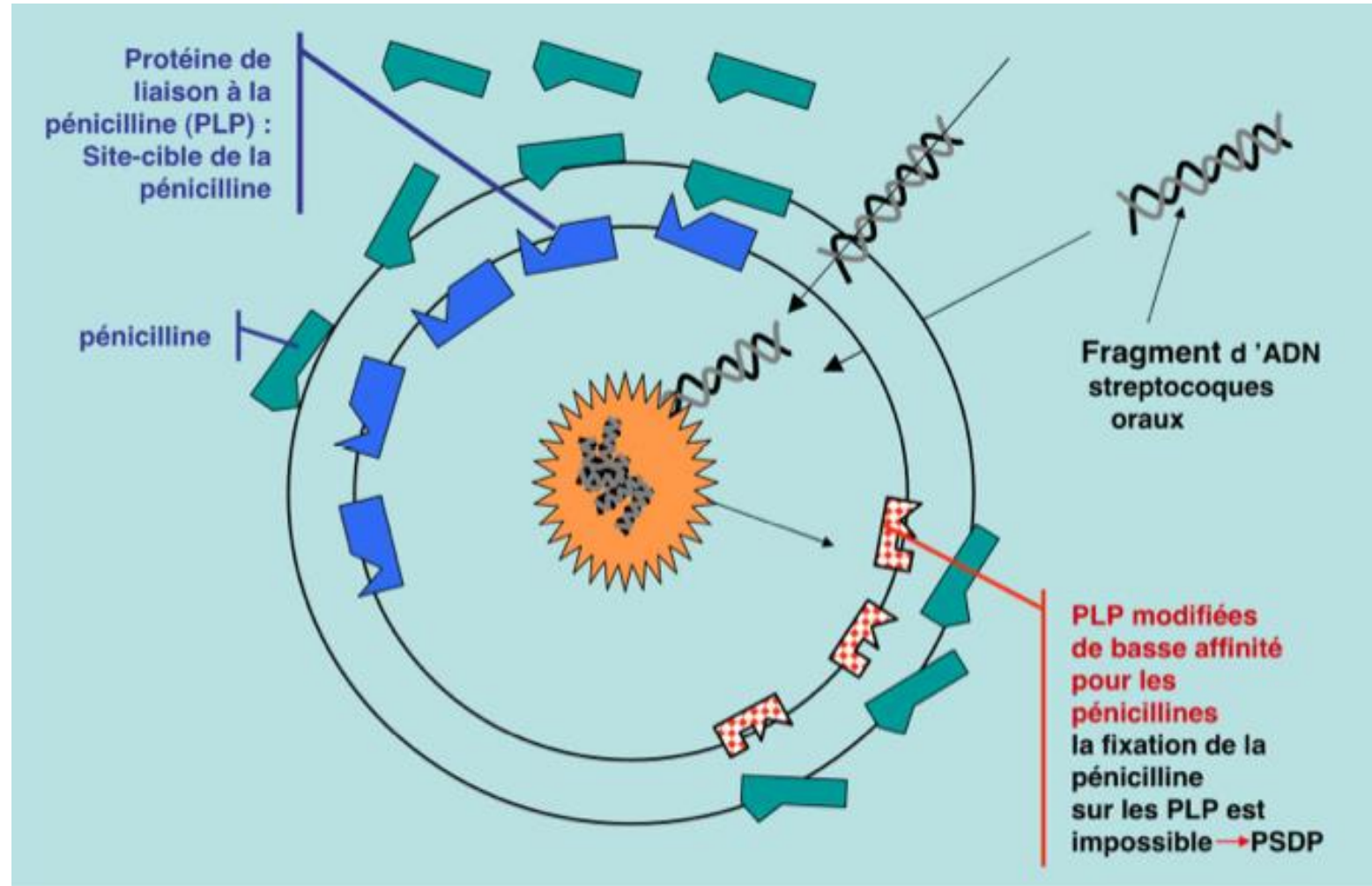
β -lactamines

- cibles = protéines de liaison à la pénicilline (PLP)
- Chez *S. pneumoniae*, six PLP :
 - 3 de classe A (transpeptidase et glycosyltransférase): PLP 1a, PLP1b, PLP2a
 - 2 de classe B PLP2x et PLP2b
 - et une PLP3 (carboxypeptidase)
- Résistance = résulte de modifications qualitatives et quantitatives des PLP

Résistance aux β -lactamines

- Résistance chromosomique → **gènes mosaïques**
 - recombinaison de séquences « résistantes » qui proviennent de gènes homologues d'espèces voisines (*S. mitis*, *S. sanguis*, *S. oralis*),
 - transferts entre pneumocoques sensibles et résistants
- Touche essentiellement : PLP1a, 2x, 2a, 2b
- Chaque β -lactamine semble agir par l'intermédiaire de plusieurs PLP préférentielles :
 - R variable et dissociée aux pénicillines G, A et dérivés, céphalosporines 3ème génération
 - **La CMI de chaque molécule ne peut être déduite de celle de la pénicilline G**
- Pas de test moléculaire prédictif de la résistance

Résistance par modification de la cible

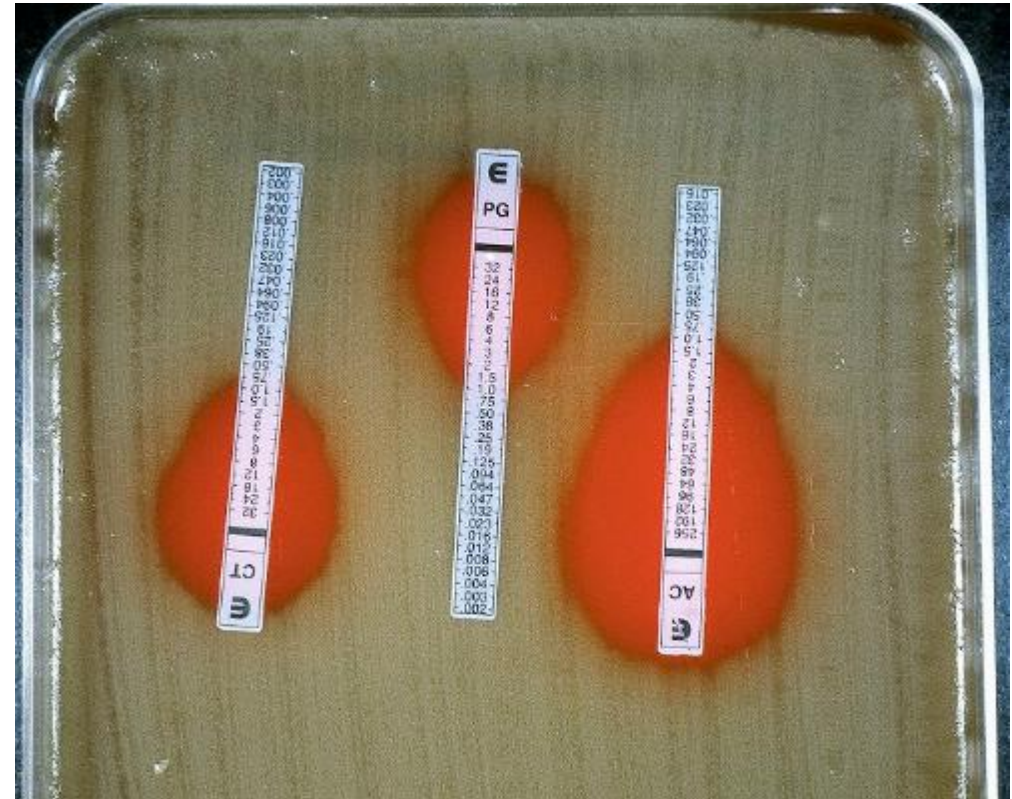


Détection des PSDP

- CASFM 2021
 - Méthode de diffusion en gélose; Disque d'oxacilline (μg)
 - Diamètre OXA-1
 - ≥ 20 mm: souche sensible à la pénicilline et aux autres β -lactamines
 - Diamètre OXA-1 < 20 mm \rightarrow **souche de sensibilité diminuée = PSDP** \rightarrow *mais n'apprécie pas le niveau de résistance*
 - **En cas de méningite : Peni G et Peni V rendues R**
 - **En dehors de méningite : Peni G et autres beta-lactamines** Déterminer la CMI de l'antibiotique et interpréter en fonction des concentrations critiques.
- Mesure la **CMI par E-test** à la pénicilline et autres β -lactamines utilisées en clinique

CMI β -lactamines

- CMI déterminées par E-test



Interprétation CA-SFM 2021

Pénicillines	Concentrations critiques (mg/L)			Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm)			Notes Chiffres arabes pour les commentaires portant sur les concentrations critiques (CMI) Lettres pour les commentaires portant sur les diamètres critiques d'inhibition
	S ≤	R >	ZIT		S ≥	R <	ZIT	
Les valeurs critiques pour les pénicillines autres que la pénicilline G et l'amoxicilline ne sont pas applicables en cas de méningite. Les souches sensibles à la pénicilline G (CMI ≤ 0,064 mg/L) et/ou présentant un diamètre ≥ 20 mm autour du disque d'oxacilline (1 µg) (cf note G) peuvent être rendues sensibles aux bêta-lactamines pour lesquelles les valeurs critiques sont listées (y compris celles qui ont une «Note»):								
Oxacilline (Test de dépistage)	NA	NA		1	20 ^A	Note ^A		<p>A. Pour l'interprétation du test de l'oxacilline, voir le tableau complémentaire ci-dessus. Ce test ne peut pas apprécier le niveau de résistance à la pénicilline G ou aux autres bêta-lactamines. L'utilisation d'autres disques de bêta-lactamines ne permet pas de déterminer le niveau de résistance à ces bêta-lactamines. En conséquence, notamment en cas d'infection grave, d'échec clinique ou devant toute souche de sensibilité diminuée (OXA-1 < 20 mm ou CMI de pénicilline G > 0.064 mg/L), il y a lieu de déterminer la CMI d'au moins une des bêta-lactamines dont les propriétés pharmacodynamiques sont compatibles avec une efficacité thérapeutique (amoxicilline, céfotaxime, ceftriaxone).</p> <p>1. En cas de pneumonie, cf. Annexe 7 pour l'adaptation de posologie en fonction de la CMI. si une dose de 1,2 g x 4 est utilisée, les souches ayant une CMI ≤ 0,5 mg/L peuvent être interprétées comme sensibles.</p> <p>En cas de pneumonie si une dose de 2,4 g x 4 ou 1,2 g x 6 est utilisée, les souches ayant une CMI ≤ 1 mg/L peuvent être interprétées comme sensibles.</p> <p>En cas de pneumonie, si une dose de 2,4 g x 6 est utilisée, les souches ayant une CMI ≤ 2 mg/L peuvent être interprétées comme sensibles.</p> <p>B. Une diminution de sensibilité aux bêta-lactamines doit être recherchée à l'aide d'un disque d'oxacilline chargé à 1 µg. Les souches sensibles à la pénicilline G (CMI ≤ 0,064 mg/L) et/ou présentant un diamètre ≥ 20 mm autour du disque d'oxacilline (1 µg) peuvent être rendues sensibles aux bêta-lactamines pour lesquelles les valeurs critiques sont listées (y compris celles qui ont une «Note») excepté pour le céfador qui, s'il est rendu, doit être catégorisé sensible à forte exposition (« I »).</p> <p>2/C. Sensibilité déduite de la CMI de l'ampicilline ou de l'amoxicilline dans les indications autres que les méningites.</p> <p>G. Sensibilité déduite de la CMI de l'ampicilline ou de l'amoxicilline.</p>
Pénicilline G (à l'exception des méningites)	0,064 ¹	2 ¹			Note ^B	Note ^B		
Pénicilline G (méningites)	0,064	0,064			-	-		
Ampicilline	0,5 ²	2 ²		2	22 ^B	16 ^B		
Ampicilline (pneumonie)	2	2			-	-		
Ampicilline (méningites)	0,5	0,5						
Amoxicilline	0,5 ²	2 ²			Note ^{B, C}	Note ^{B, C}		
Amoxicilline (IV, méningites)	0,5	0,5			-	-		
Amoxicilline (IV, pneumonie)	2	2			-	-		
Amoxicilline (<i>per os</i>)	0,5	1						
Pipéracilline	Note ²	Note ²			Note ^{B, C}	Note ^{B, G}		
Phénoxyethylpénicilline	Note ¹	Note ¹			Note ^B	Note ^B		

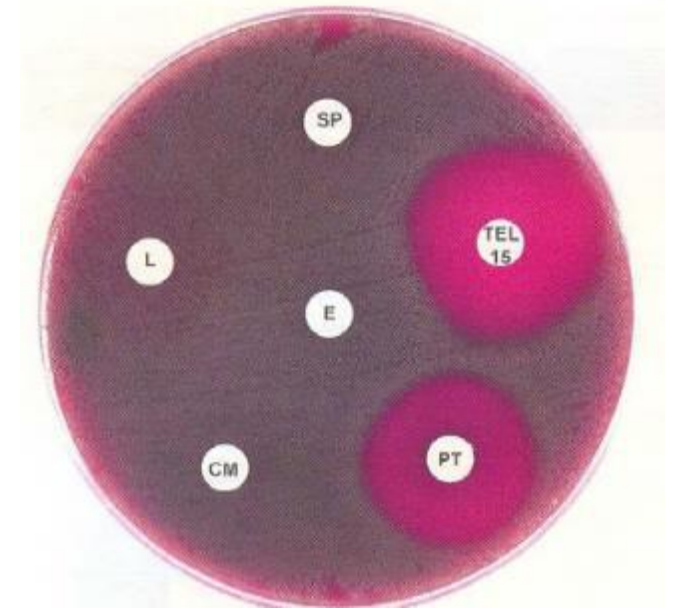
Résistances associées

- La résistance aux β -lactamines est associée dans plus de 50 % des cas à la résistance à une ou plusieurs familles d'antibiotiques : cyclines, macrolides, chloramphénicol ou triméthoprime-sulfaméthoxazole.

Résistance aux Macrolides

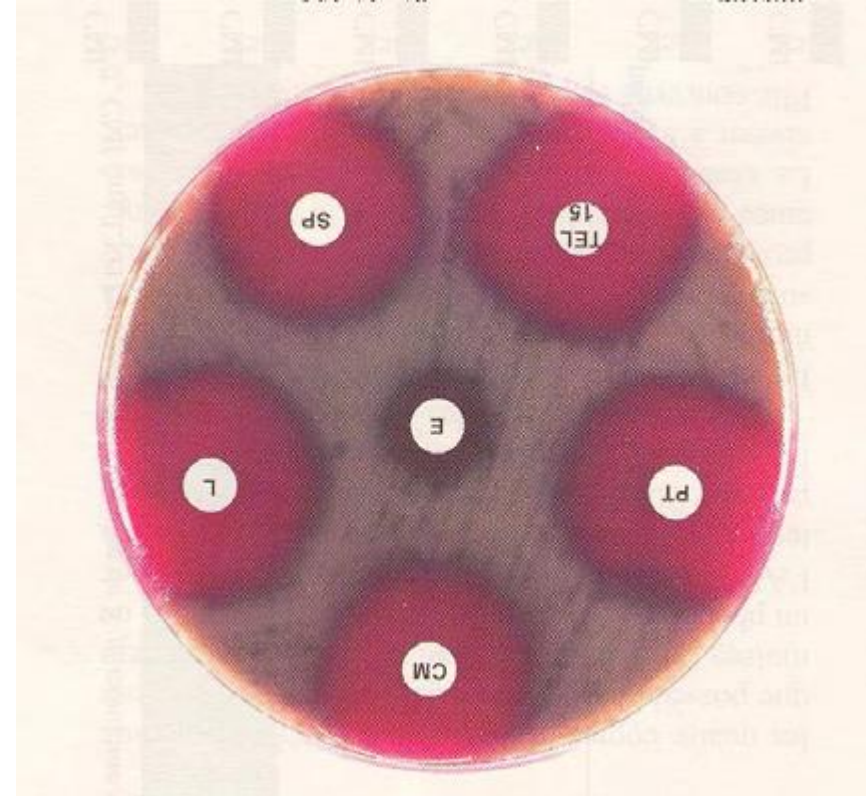
1. Modification de la cible ARNr 23S: méthylation

- méthylation de l'ARNr 23S (A 2058)
- gène *erm* (B): erythromycin ribosome methylase
- phénotype MLS_B: résistance croisée aux macrolides, lincosamides, synergistine B
- inductible : R à tous les macrolides, lincosamides, synergistine B, S télithromycine
- ou constitutive : idem + télithromycine
- Pristinamycine reste S



Résistance aux Macrolides

- Efflux : phénotype M
 - gène *mef* (A), système d'efflux MFS
 - R inducible aux macrolides en C14 (érythromycine) et C15 (azithromycine)
 - Spiramycine et télithromycine : Sensible



Fluoroquinolones

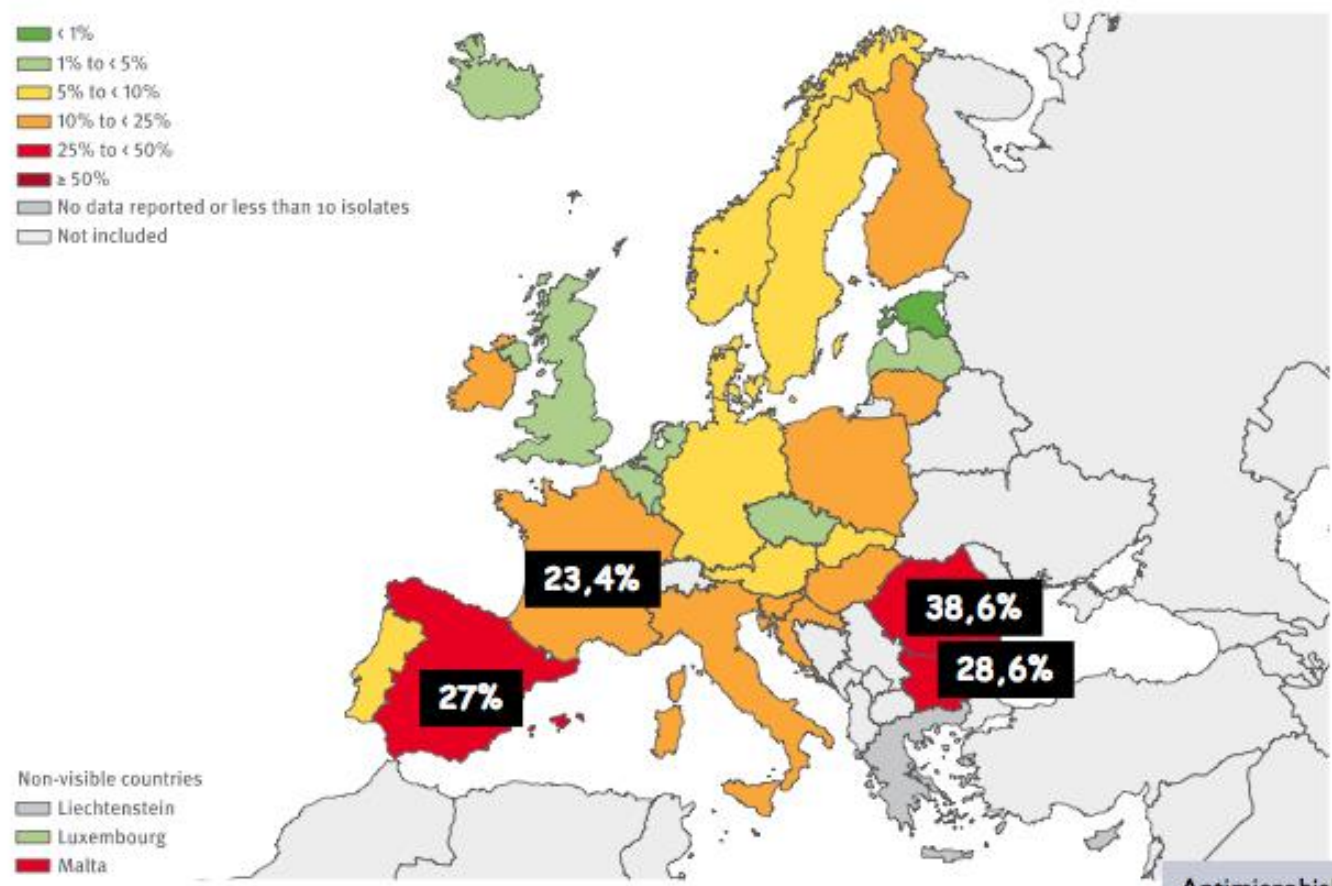
- Résistance naturelle aux quinolones de première génération
- Faible sensibilité à la péfloxacin, l'ofloxacin et la ciprofloxacine.
- Fluoroquinolones les plus actives :
 - **levofloxacin, moxifloxacin**
 - niveau de résistance observé est encore faible en France (< 2 %)
 - deux mécanismes de résistance majeurs :
 - la modification de leurs cibles naturelles, l'ADN gyrase et/ou la topo-isomérase IV,
 - l'augmentation de l'expression du mécanisme d'efflux actif qui empêche l'accumulation intrabactérienne des fluoroquinolones en les éjectant dès leur pénétration dans la bactérie.

Détection de la résistance aux fluoroquinolones

Fluoroquinolones	Concentrations critiques (mg/L)			Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm)			Notes Chiffres arabes pour les commentaires portant sur les concentrations critiques (CMI) Lettres pour les commentaires portant sur les diamètres critiques d'inhibition
	S ≤	R >	ZIT		S ≥	R <	ZIT	
Norfloxacine (dépistage)				10		10		<p>A. La recherche de la résistance aux fluoroquinolones peut se faire à l'aide de la norfloxacine. Si le diamètre autour du disque de norfloxacine (10 µg) est ≥ 10 mm, la souche peut être catégorisée sensible à forte exposition à la lévofloxacine et sensible à la moxifloxacine à posologie standard.</p> <p>Si le diamètre autour du disque de norfloxacine (10 µg) est inférieur à 10 mm, la sensibilité de la lévofloxacine et de la moxifloxacine doivent être mesurées. Si la lévofloxacine est catégorisée sensible à forte posologie ou la moxifloxacine sensible, il faut préciser qu'il existe un risque élevé de sélection <i>in vivo</i> de mutants résistants aux fluoroquinolones et d'échec clinique.</p>
Lévofloxacine	0,001	2		5	50 ^A	16 ^A		
Moxifloxacine	0,5	0,5		5	22 ^A	22 ^A		

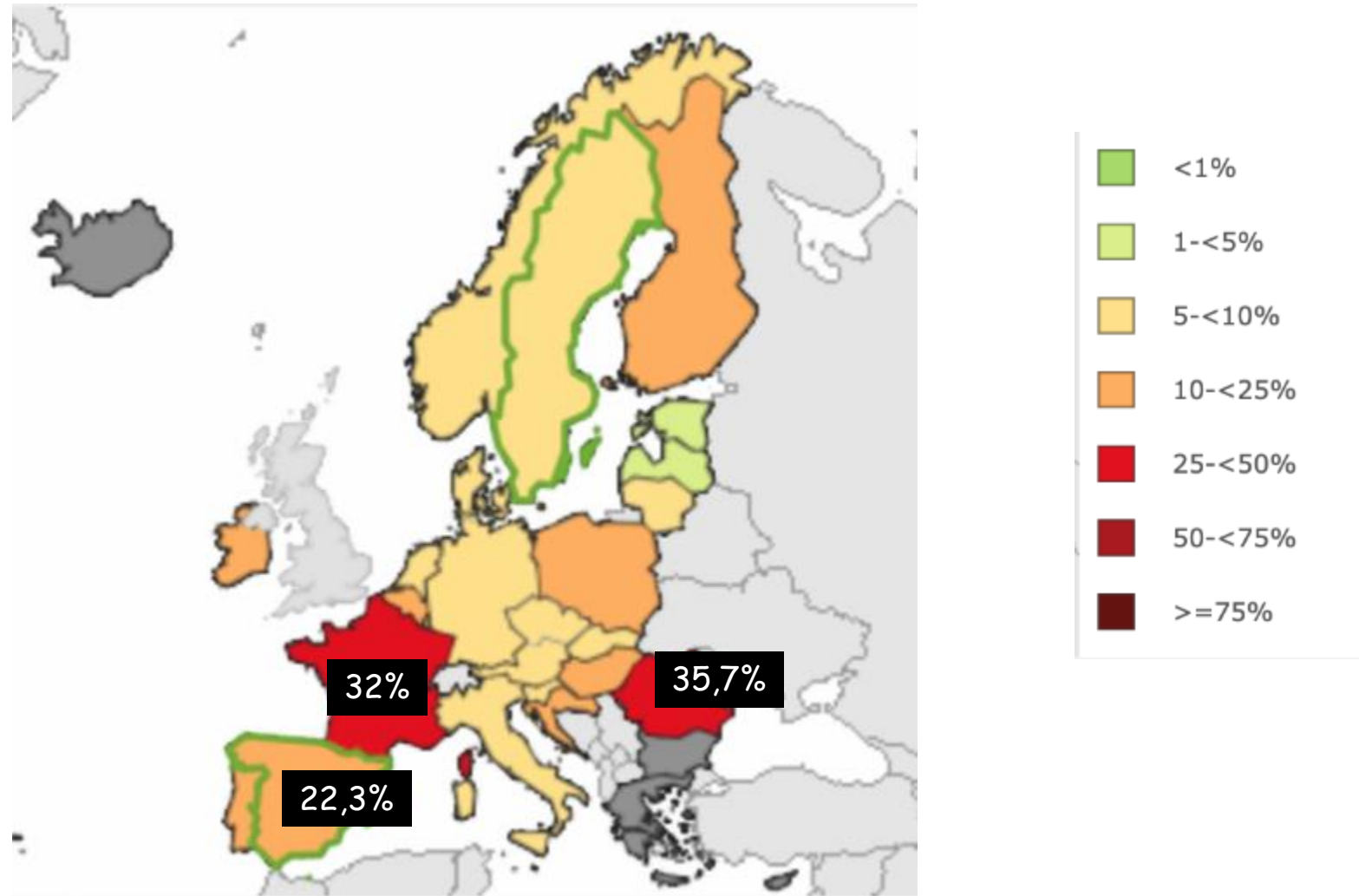
PSDP en Europe

Figure 3.36. *Streptococcus pneumoniae*. Percentage (%) of invasive isolates non-susceptible to penicillin (PNSP), by country, EU/EEA countries, 2012



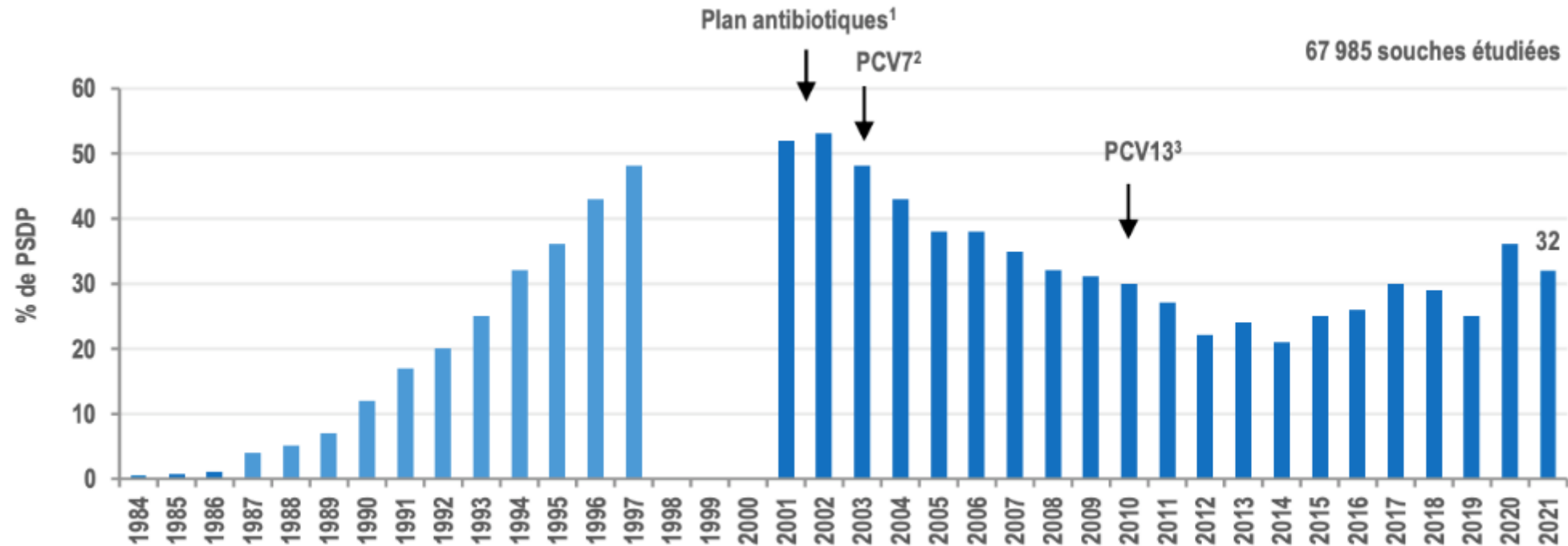
2017 : 25,9% pour la France

PSDP en Europe



Souches de sensibilité diminuée à la pénicilline en France

d'après données du CNR



35%
en 2022

¹Plan national pour préserver l'efficacité des antibiotiques, nov. 2001

http://www.sante.gouv.fr/htm/actu/34_01.htm;

²Introduction du vaccin anti-pneumococcique conjugué heptavalent (PCV7) ;

³Introduction du vaccin anti-pneumococcique conjugué 13-valent (PCV13).

Résistance aux bêta-lactamines 2021, données CNR

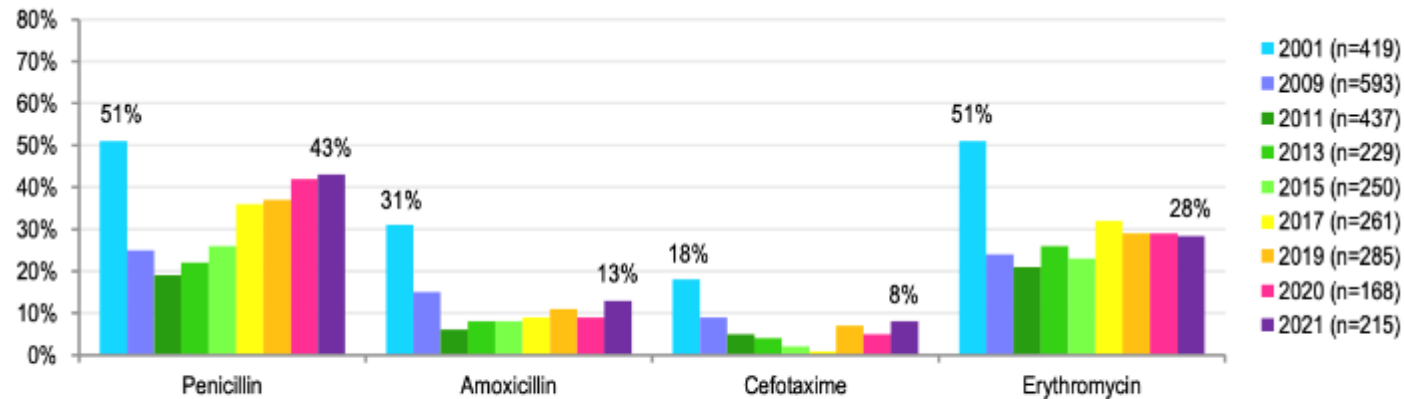


Figure 69 - Évolution de la résistance (I+R) aux bêta-lactamines et à l'érythromycine dans les infections invasives (méningites et bactériémies) de l'enfant de 2001 à 2021.

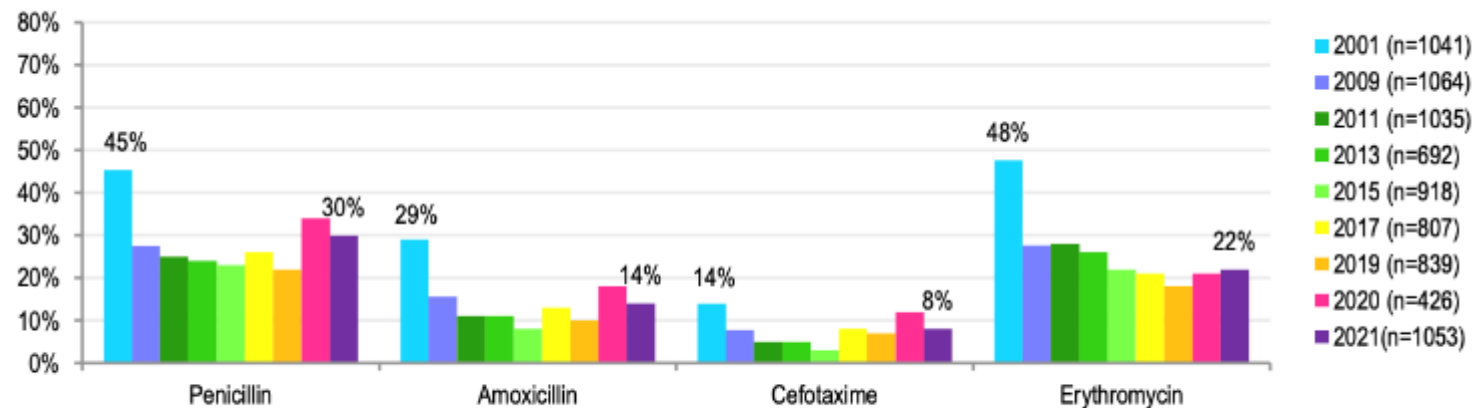


Figure 71 - Évolution de la résistance (I+R) aux bêta-lactamines et à l'érythromycine dans les infections invasives (méningites et bactériémies) de l'adulte de 2001 à 2021.

EARS-Net 2021

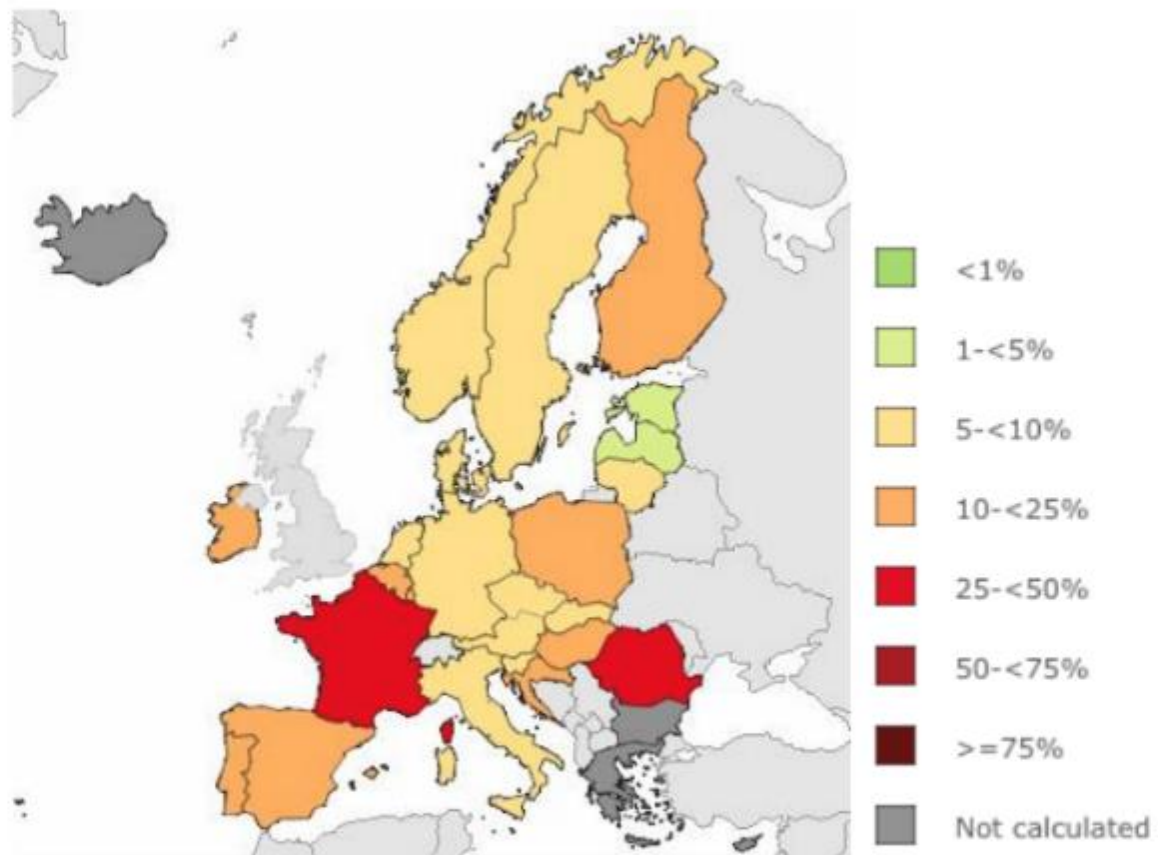


Figure 77 – Proportion de souches invasives de sensibilité diminuée à la pénicilline en Europe en 2021. European Centre for Disease Prevention and Control. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net).

Résistance au CHU de Grenoble

	Pénicilline	Amoxicilline	Céfotaxime	Erythro	Cyclines	Moxiflo	Linezolide	Cotrimoxazole
2011	38.8	15.2	4.4	38.2	23.5			16,7
2012	22,9	11,7	6,8	32,4	20,3			16,6
2013	27,3	13,7	6,9	35,8	21,7			17,1
2014	21	9,9	5,1	33,8	19,9			11,2
2015	22,2	10,7	2,3	40,6	20,4			13,7
2016	20,4	3,8	0	29,7	48,9			8,4
2017	21	8	1,5	26,8	20,4	0	0	9,3
2018	33,7	8,8	2,7	32,5	20,8	1,2	0	9,6
2019	37,7	13,1	3,7	35,4	24,4	1,8	0	18,7
2020	43,5	17,2	2,4	37,5	28,7	0,8	0	10,7
2021	35,2	9,4	2,4	35,2	28,1	2,4	0	4,2
2022	35,7	15,3	0,72	27,7	21,3	1,45	0	0,7

ENTEROCOCCUS

Résistance naturelle

- pénicillines (G), M, céphalosporines (C3G)
- aminosides (bas niveau)
- acide nalidixique
- Fluoroquinolones
- Phénicolés
- Macrolides
- Cotrimoxazole
- Colistine

Entérocoque et beta-lactamines

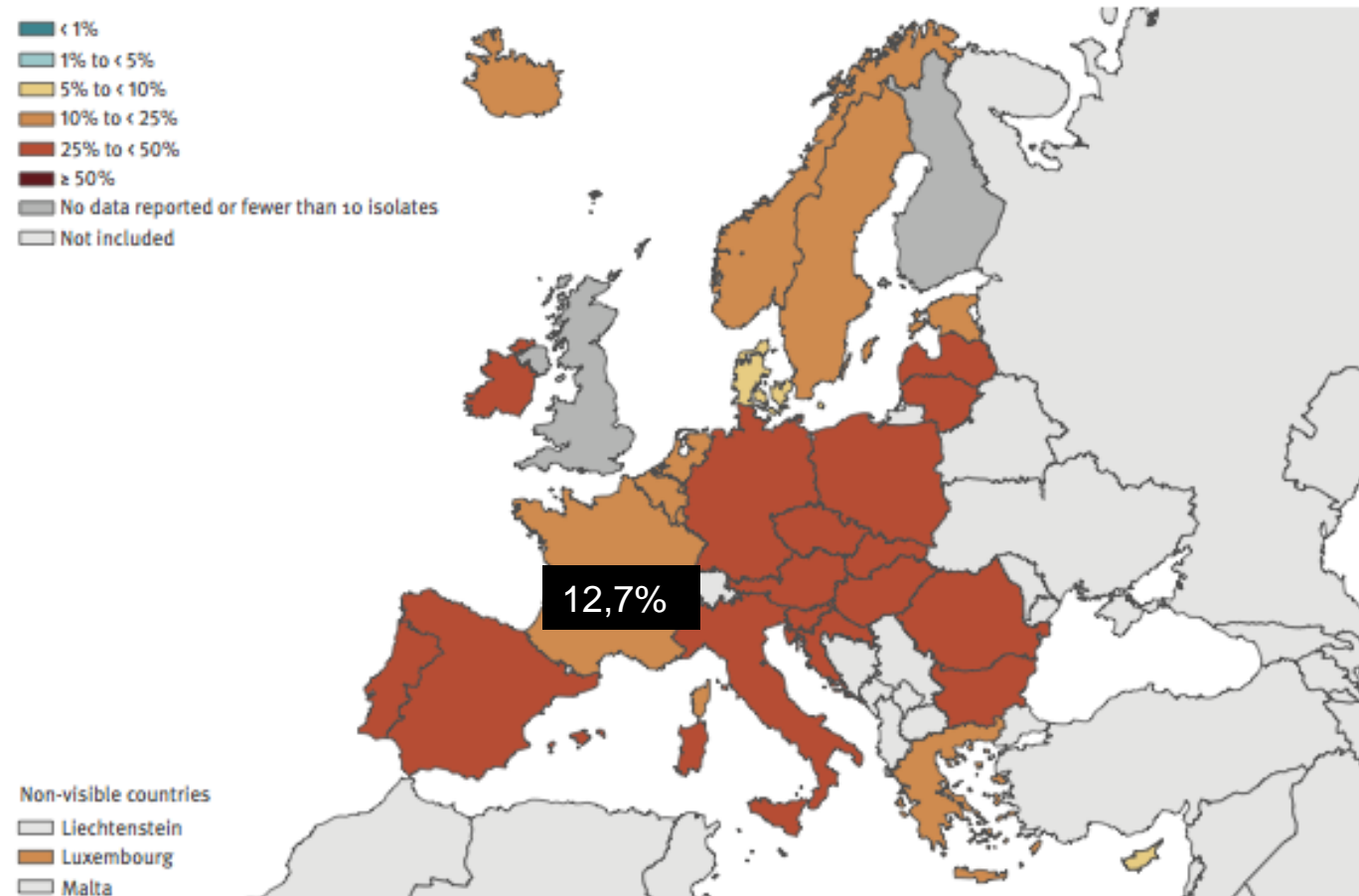
- Production d'une **PLP5** naturelle de **faible affinité pour les β -lactamines** → R naturelle de bas niveau
- Chez *E. faecalis*,
 - l'ampicilline a une relative affinité
 - Résistance par augmentation de la production de PLP5
 - <5% des souches
- Chez *E. faecium*
 - Résistance modérée par hyperproduction de PLP5 (CMI entre 4 et 16 mg/l)
 - R haut niveau : mutations au niveau du gène codant pour la PLP5 (CMI entre 16 et 256 mg/l)

Entérocoques et aminosides

- Résistance naturelle de bas niveau
 - CMI=4-256 mg/L
 - β -lactamine + aminoside : synergie bactéricide
- R de haut niveau
 - par acquisition d'un gène codant une enzyme modificatrice (CMI > 500mg/l)
 - perte de la synergie β -lactamine + aminoside
- EARSS 2017 → 30% des souches de *E. faecalis* présentait un haut niveau de résistance à la gentamicine (France, 12,7%)

EARSS 2017 : *E. faecalis* et aminosides

Figure 3.26. *Enterococcus faecalis*. Percentage (%) of invasive isolates with high-level resistance to gentamicin, by country, EU/EEA countries, 2017



Entérocoques et glycopeptides

- **Naturellement sensibles aux glycopeptides**

CMI modale à la vancomycine : 1 mg/L

CMI modale de la teicoplanine : 0,5 mg/L

- **Sauf *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*, *E. flavescens* (< 3% des entérocoques isolés)**

→ **Résistance naturelle de bas niveau à la vancomycine** (CMI 2-32 mg/L) avec une sensibilité conservée à la teicoplanine

- **1^{ers} à avoir acquis une résistance plasmidique acquise aux GP**

Apparition des VRE

- 1986 : premiers entérocoques résistants à la vancomycine
- Etats-Unis
 - Sélection par **surconsommation de vancomycine par voie orale**
 - **Epidémies liées à la diffusion de souches clonales** au sein d'un hôpital ou entre hôpitaux. **Portage extra-hospitalier faible.**
- Europe
 - **Rôle de la chaîne alimentaire ?**
 - Isolement de *E. faecium* VanA chez le bétail au Royaume-Uni, en Allemagne et au Danemark
 - Rôle de l'avoparcine utilisé comme facteur de croissance chez les animaux en Europe (interdit depuis 1997) ?
 - **Portage dans la population communautaire** (discuté)

Mécanisme de résistance

- Support génétique
 - Plusieurs gènes « Van » groupés en opérons
- Modification de la cible
 - **Acquisition de nouvelles enzymes synthétisant des précurseurs de faible affinité pour les GP**
 - **Remplacement du résidu D-Ala-D-Ala terminal par un D-Ala-D-Ser ou un D-Ala-D-Lac**
 - Élimination des précurseurs normaux de haute affinité
(synthétisés par les enzymes normales)

Phénotypes de résistance

Type	Résistance acquise					Résistance naturelle
	VanA	VanB	VanD	VanG	VanE	
Niveau	Haut	Variable	Modéré		Faible	VanC1/C2/C3 Bas niveau
CMI-Van	64->1024	4-1024	64-128	16	8-32	2-32
CMI-Tei	16-512	0,5-1	4-64	0,5	0,5	0,5-1
Expression	Inductible	Inductible	Constitutive	Inductible	Inductible	Constitutive inductible
Localisation	Plasmide	Chromosome plasmide	Chromosome	Chromosome	Chromosome	Chromosome
Transférable	Tn1546	Tn1547 ou Tn1549
Cible modifiée	D-Ala-D-Lac	D-Ala-D-Lac	D-Ala-D-Lac	D-Ala-D-Ser	D-Ala-D-Ser	D-Ala-D-Ser
Espèces	E. faecium E. faecalis E. avium E. durans ...	E. faecium E. faecalis	E. faecium	E. faecium	E. faecalis	E. gallinarum E.casseliflavus E.flavescens

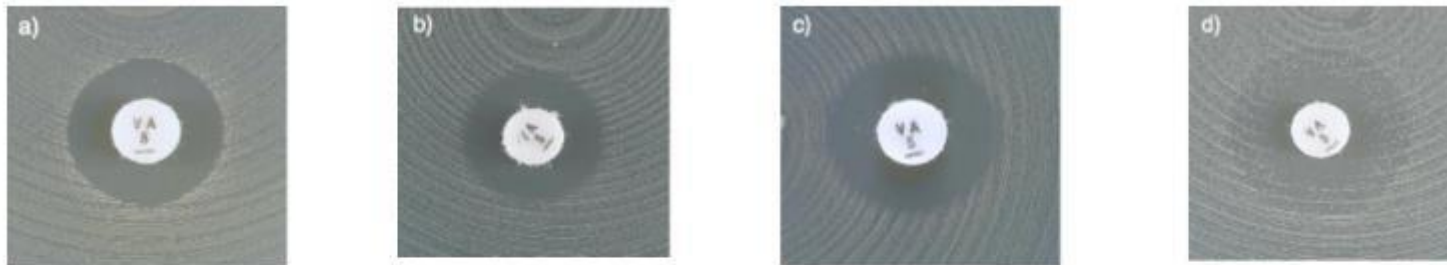
Détection des souches ERV

- Détermination des CMI

- Lorsque par la méthode de diffusion en gélose, après 24h d'incubation :

- Diamètre de la zone d'inhibition autour d'un disque < 16 ou 12 mm
- Contour flou ou présence de colonies dans la zone d'inhibition de l'un des deux glycopeptides

- Lorsque les souches sont catégorisés I ou R à l'un des deux GP par les méthodes automatisées



Exemples de zones d'inhibition de souches d'*Enterococcus* spp. avec la vancomycine (disque chargé à 5 µg).
 a) Bord à contours nets et diamètre d'inhibition ≥ 12 mm. Rendre sensible.
 b-d) Bord à contours flous ou présence de colonies dans la zone d'inhibition. Rendre résistant même si la zone d'inhibition est ≥ 12 mm.

ATB	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)	
		S	R	S	R
Vancomycine	5 µg	≤ 4	> 4	≥ 12	-
Teicoplanine	30 µg	≤ 2	> 2	≥ 16	-

Important : Identification de l'espèce

- *E. faecium*/*E. faecalis* : risque d'épidémies
- *E. casseliflavus*/*E. gallinarum*/*E. flavescens* : pas de risque

Galleries d'identification : confusion fréquente *E. faecium* et *E. gallinarum* !!

Détection par biologie moléculaire

- PCR + Hybridation GenoType[®] Enterococcus (Hain – Lifescience)

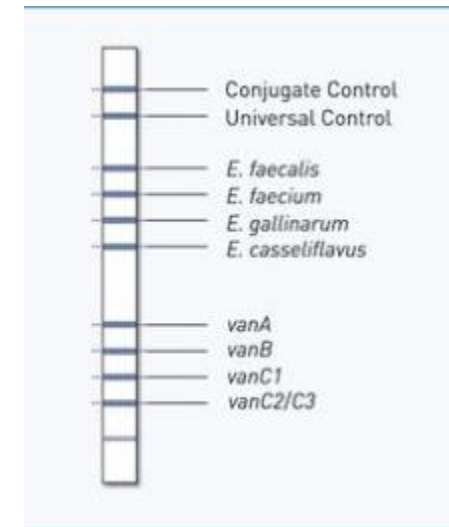
- **Principe**

- Extraction de l'ADN à partir de la culture
- Amplification de l'ADN par PCR (amorces biotinylées) + Hybridation des amplicons sur bandelettes (sondes) + Révélation chromogénique (streptavidine-PAL + substrat)

- Délai < 5h

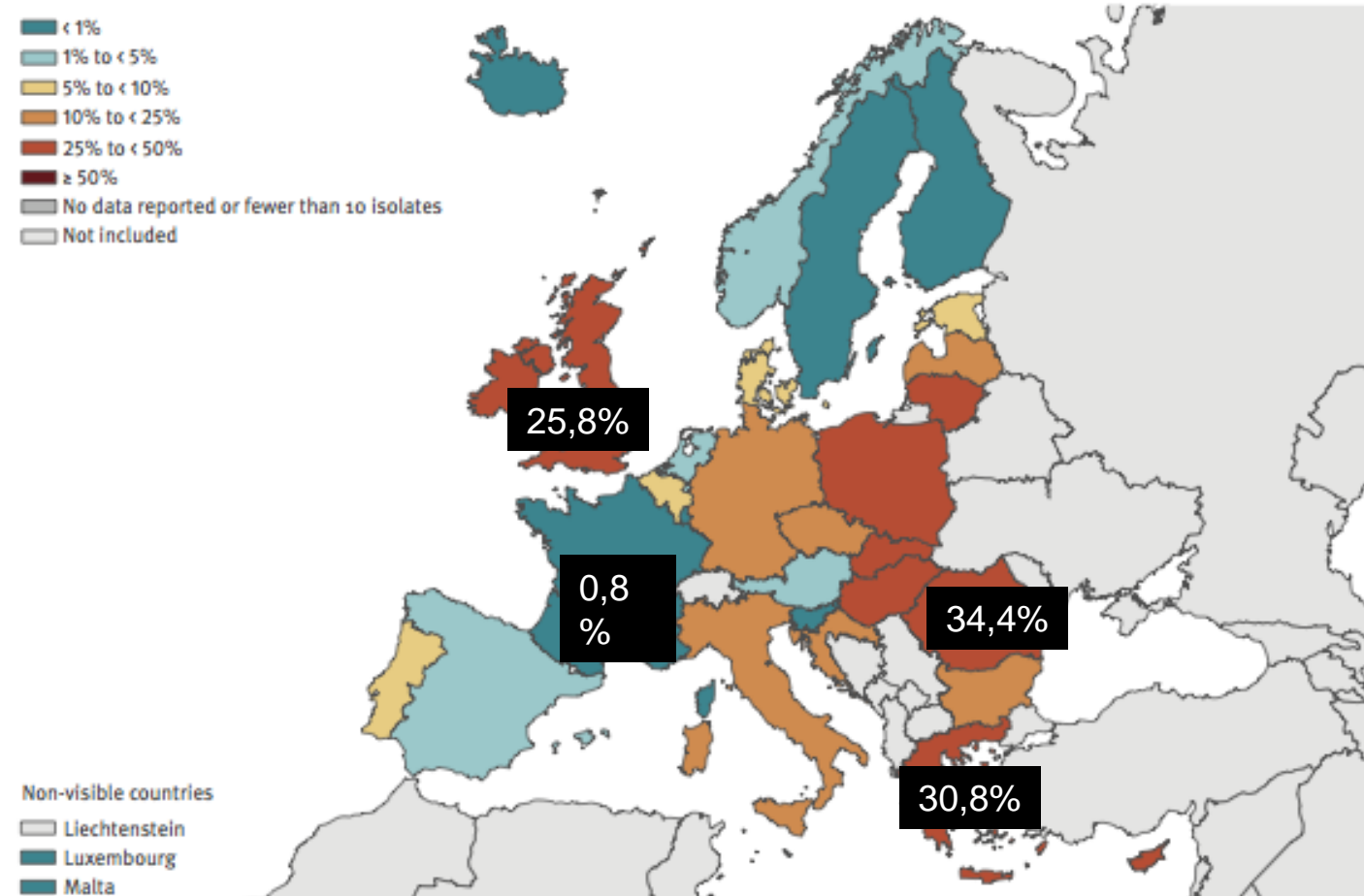
- GenXpert (Cepheid)

- VanA/VanB
- Pas d'identification



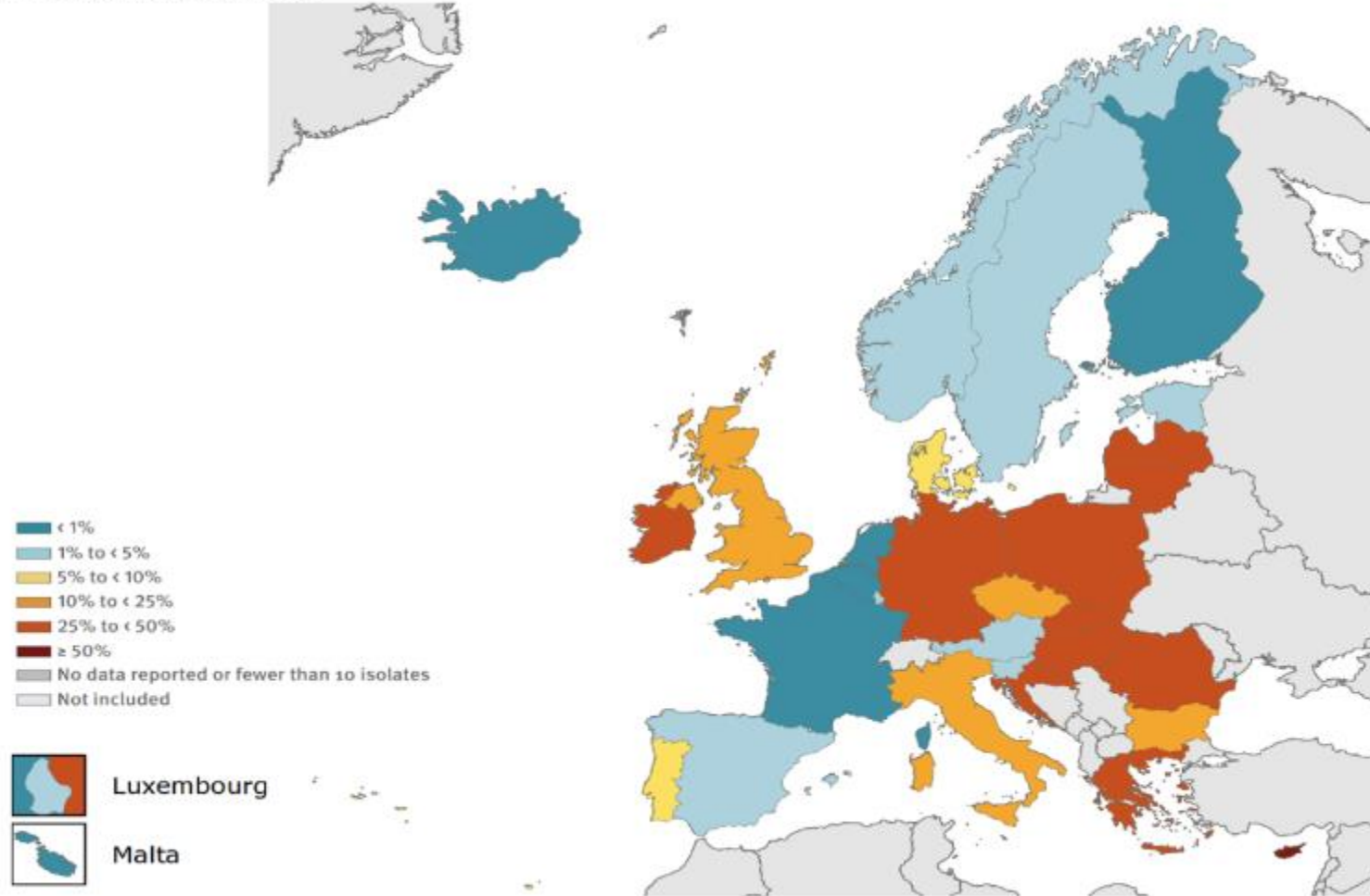
EARSS 2017 : *E. faecium* et vancomycine

Figure 3.27. *Enterococcus faecium*. Percentage (%) of invasive isolates with resistance to vancomycin, by country, EU/EEA countries, 2017



E. faecium et vancomycine

Figure 10. *Enterococcus faecium*. Percentage of invasive isolates resistant to vancomycin, by country, EU/EEA, 2019



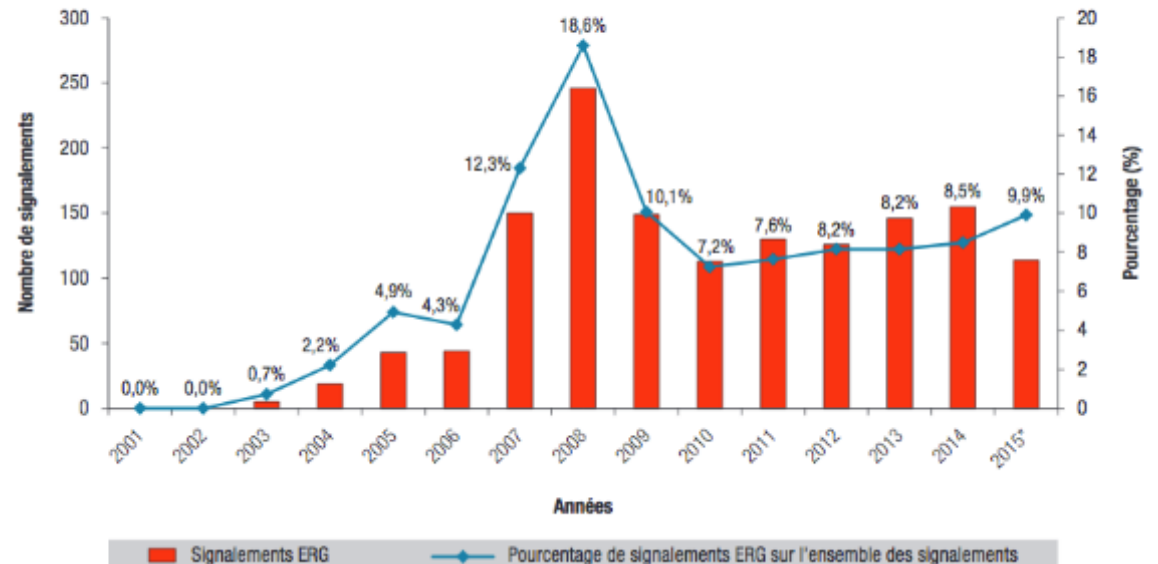
EPIDEMIOLOGIE France

- **Jusqu'en 2003 : proportion de VRE stable (< 2%)** avec de rares épidémies de diffusion limitée
- **Emergence en 2004** : ↑ signalements d'infections nosocomiales à ERG et survenue d'épidémies hospitalières d'ampleur inhabituelle

- **Enjeu :**
 - Evolution vers un état endémique comme aux États-Unis*
 - Risque de transfert des plasmides de résistance aux SARM !

Figure 1

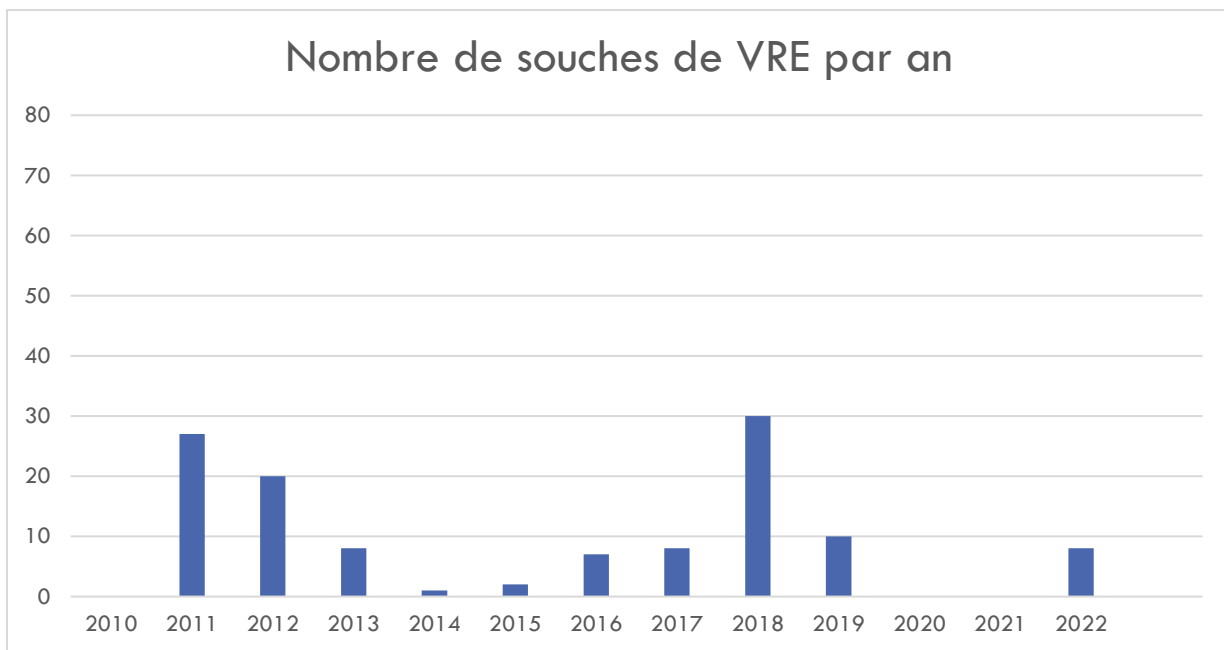
Signalements d'entérocoques résistants aux glycopeptides (N=1 440) et proportion de signalements rapportée à l'ensemble des signalements pour infection associée aux soins reçus via le dispositif de SIN, France, 2001-2015



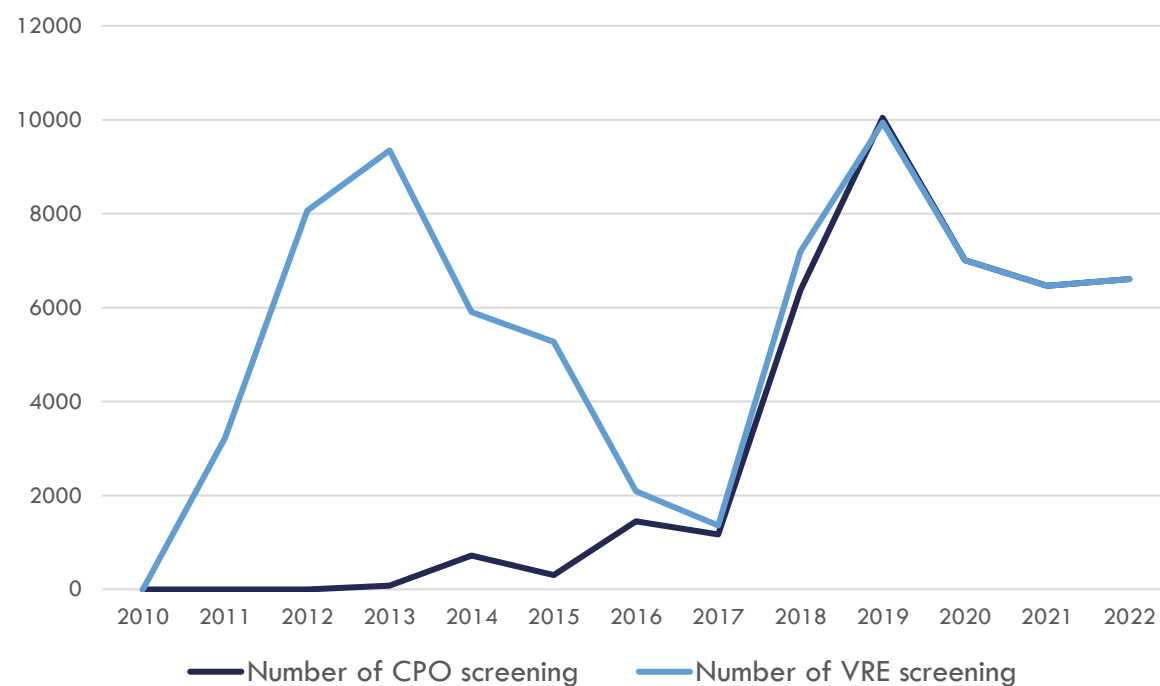
*35.5% of enterococcal hospital-associated infections were resistant to vancomycin

VRE au CHU de Grenoble

Nombre de souches de VRE par an

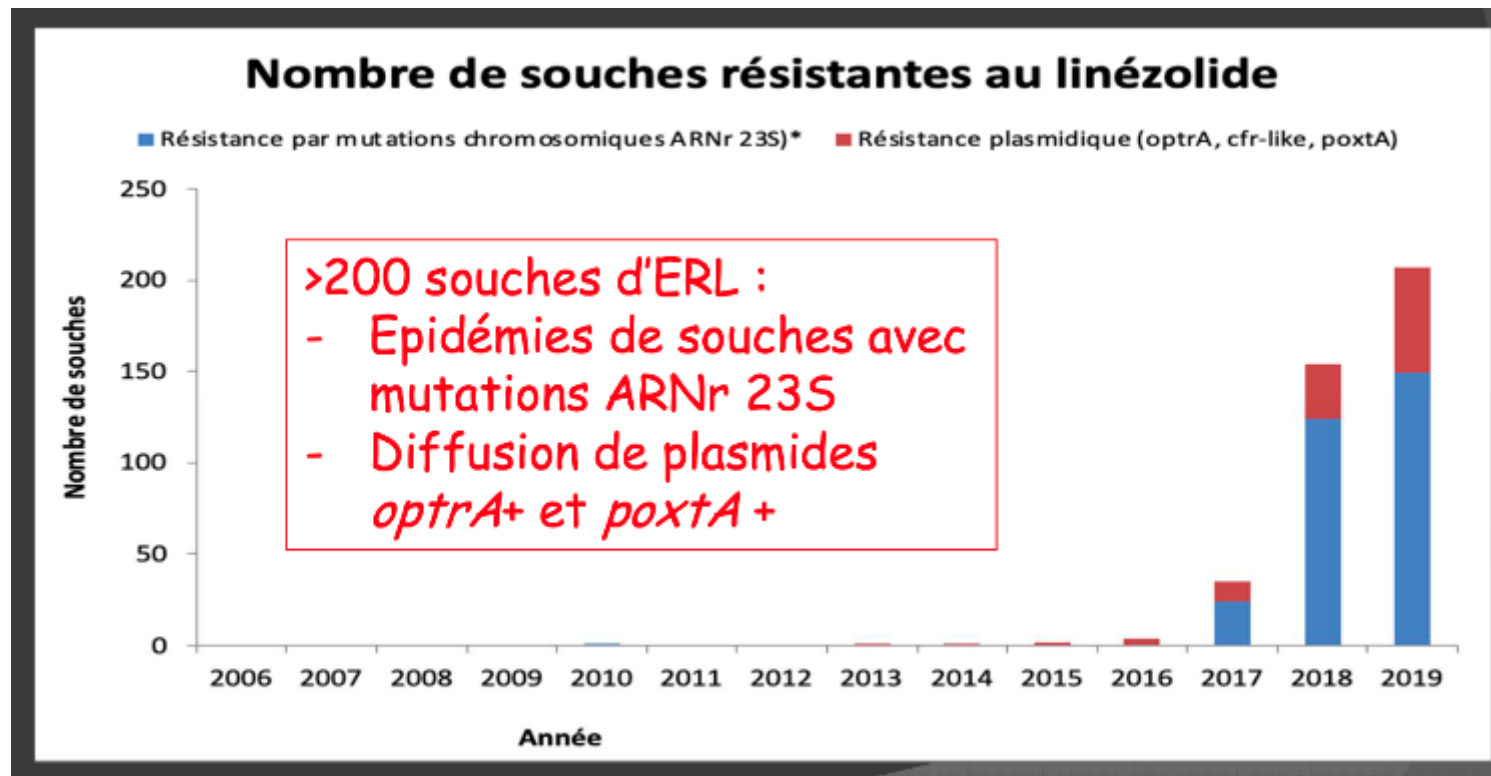


Nombre de dépistages BHRé par an



Oxazolidinones

- Augmentation de la prévalence des Entérocoques Résistants au Linézolide (ERL), notamment depuis 2017



Résistance au Linezolide - CNR

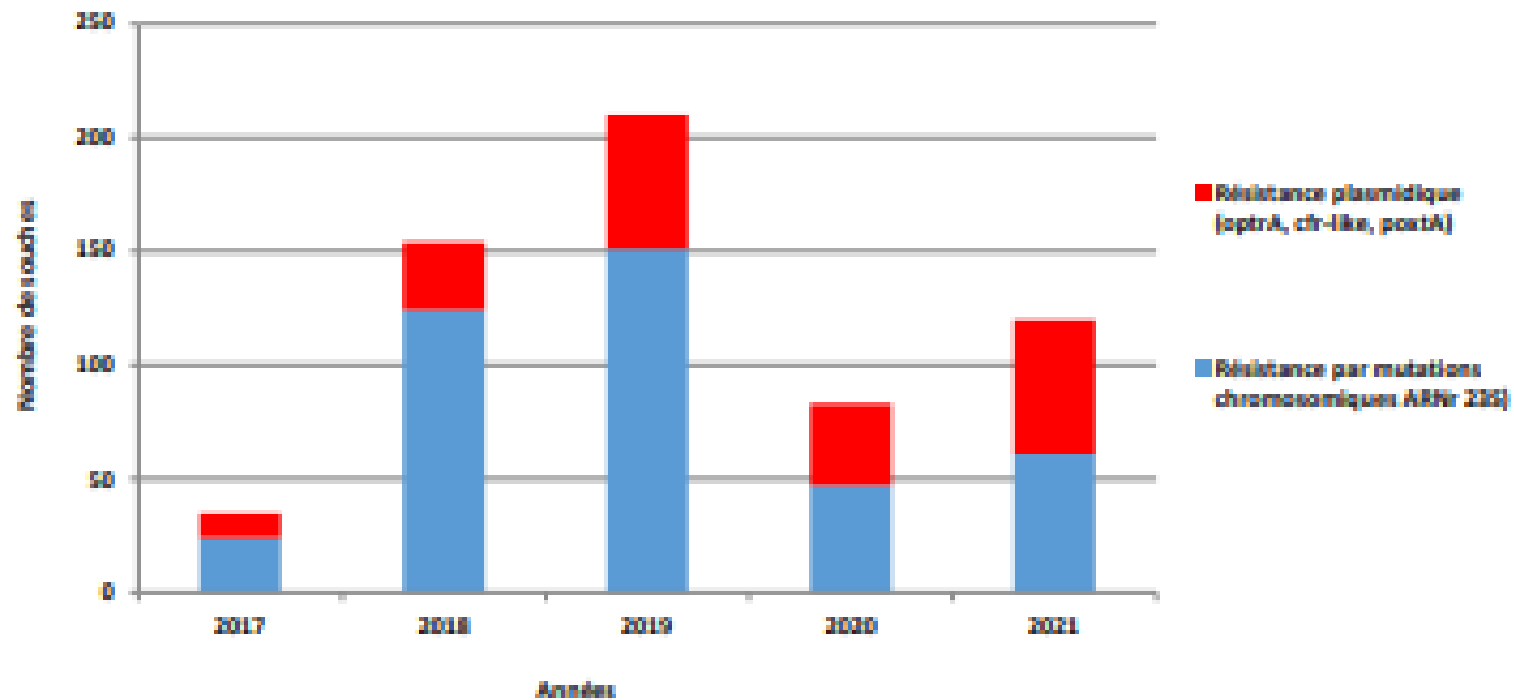


Figure 63: Nombre de souches résistantes au linézolide reçues entre 2017 et 2021.

BMR ou BHRe ?

- *S. aureus* Résistant à la Méricilline (SARM) BMR
- *S. aureus* R aux Glycopeptides (GISA) BMR
- *Enterococcus faecalis* résistant aux glycopeptides (rarement impliqué dans les épidémies) BMR
- *Enterococcus faecium* résistant aux glycopeptides : BHRe

Messages essentiels du cours

- SARM : décroissance
- PSDP : tendance à ré-augmenter, point de vigilance
- Entérocoques :
 - ERV peut fréquent en France mais épidémies nosocomiales
 - Augmentation de la prévalence des Entérocoques Résistants au Linézolide
- Faible prévalence de la résistance aux nouveaux ATB anti-Gram + (ceftaroline, delafloxacin, dalbavancine, eravacycline)

Mentions légales

L'ensemble de ce document relève des législations française et internationale sur le droit d'auteur et la propriété intellectuelle. Tous les droits de reproduction de tout ou partie sont réservés pour les textes ainsi que pour l'ensemble des documents iconographiques, photographiques, vidéos et sonores.

Ce document est interdit à la vente ou à la location. Sa diffusion, duplication, mise à disposition du public (sous quelque forme ou support que ce soit), mise en réseau, partielles ou totales, sont strictement réservées à l'Université Grenoble Alpes (UGA).

L'utilisation de ce document est strictement réservée à l'usage privé des étudiants inscrits à l'Université Grenoble Alpes (UGA), et non destinée à une utilisation collective, gratuite ou payante.