

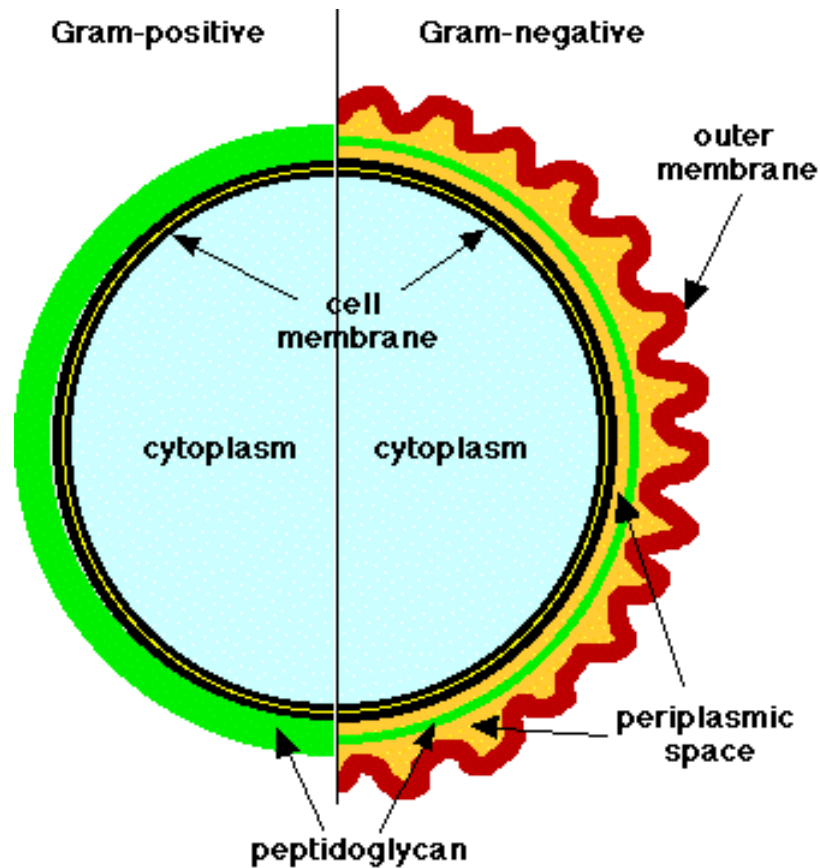
Mécanismes et épidémiologie des résistances aux antibiotiques chez les bactéries à gram positif

Pr. M. Maurin

**DU Thérapeutiques anti-infectieuses
CHU de Grenoble, Université Joseph Fourier**



Bactéries à Gram positif



- *Staphylococcus*
- *Streptococcus*
- *Enterococcus*
- *Corynebacterium*
- *Listeria monocytogenes*

Epidémiologie des résistances

- CHUG : CHU de Grenoble
- EARSS : European Antibiotic Resistance Surveillance System

■ Participating countries
□ Non participating countries



AT Austria
BE Belgium
BG Bulgaria
CY Cyprus
CZ Czech Republic
DE Germany
DK Denmark
EE Estonia
ES Spain
FI Finland

FR France
GR Greece
HU Hungary
IE Ireland
IS Iceland
IT Italy
LT Lithuania
LU Luxembourg
LV Latvia
MT Malta

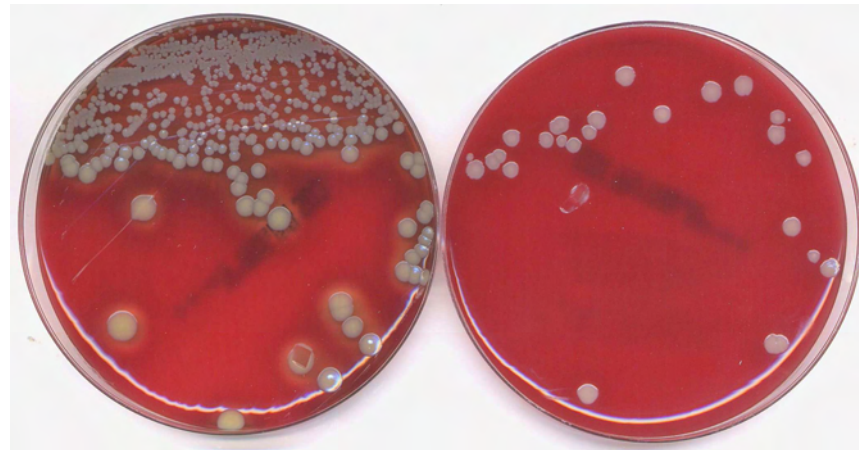
NL Netherlands
NO Norway
PL Poland
PT Portugal
RO Romania
SE Sweden
SI Slovenia
UK United Kingdom

***Staphylococcus* :** **résistances naturelles**

S. aureus

S. epidermidis

- colistine
- ac. nalidixique



***Staphylococcus* et β -lactamines**

1. Pénicillinase

- > 90% des *S. aureus* et des staphylocoques à coagulase négative (SCoN)
- gène *blaZ*, transposon sur plasmide,
- plasmide de grande taille : autres gènes de R
- inactivation des pénicillines G, A, carboxy- et uréido-pénicillines, céfazoline
- sensibilité aux inhibiteurs de β -lactamases
- détection difficile : test à la nitrocéfine

***Staphylococcus* et β -lactamines**

2. Souches BORSA: pénicillinase haut niveau

- *S. aureus* hyper-sécréteur de pénicillinase
- R de bas niveau à l'oxacilline (CMI~2mg/L)



***Staphylococcus* et β -lactamines**

3. Souches MODSA

- modification des PLP naturelles (PLP1, PLP2, rarement PLP4)
- absence du gène *mecA*, de la PLP2a
- R bas niveau à l'oxacilline (CMI=1-4mg/L)
- mise en évidence difficile (spectre variable en fonction de la PLP modifiée)

***Staphylococcus* et β -lactamines**

4. Résistance à la méticilline : PLP2a

- 25 à 35% des *S. aureus* (SARM) à l'hôpital
- > 50% des SCoN à l'hôpital
(% variable en fonction de l'espèce)
- résistance à toutes les β -lactamines +++
- émergence de SARM communautaires (C-SARM)
et diffusion des SARM hospitaliers (H-SARM) dans
la communauté

***Staphylococcus* et β -lactamines**

4. Résistance à la méticilline : PLP2a (suite)

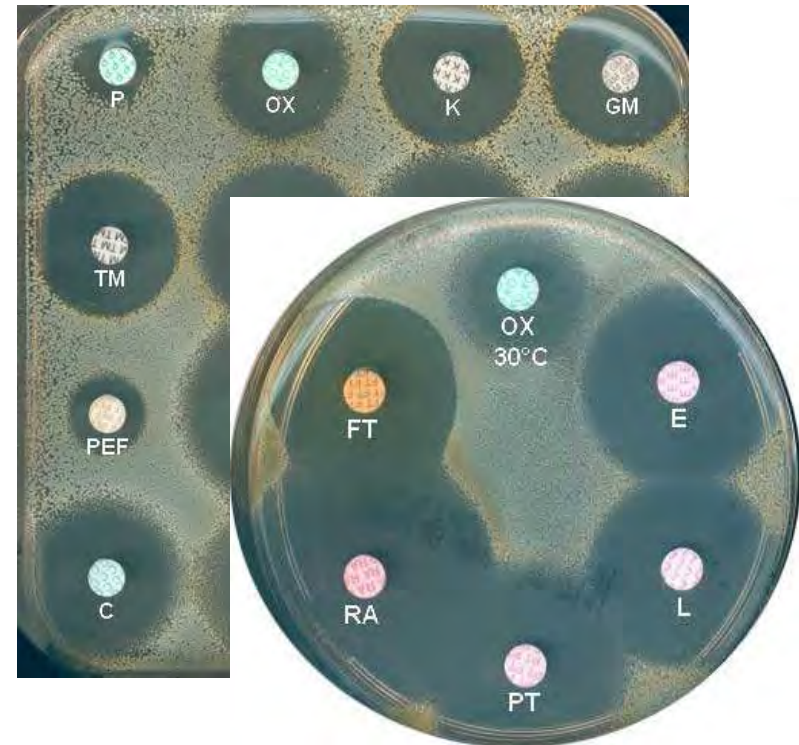
- gène *mecA* (2.1kb) codant une PLP2a moins affine
- Situé sur un élément génétique mobile complexe : « staphylococcal cassette chromosome » ou SCCmec (21 à 67Kb, I-VIII)
- R inductible / constitutive : nombreux gènes régulateurs (*fem*, *fmt*, *sarA*, *agr*...)
- R inductible : détection par le test à la céfoxitine (moxalactam), PCR *mecA*, recherche de la PLP2a

***Staphylococcus* et β -lactamines**

Résistances acquises : PLP2a



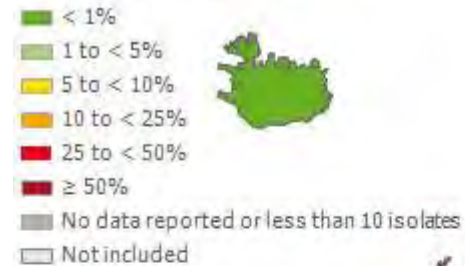
R homogène



R hétérogène

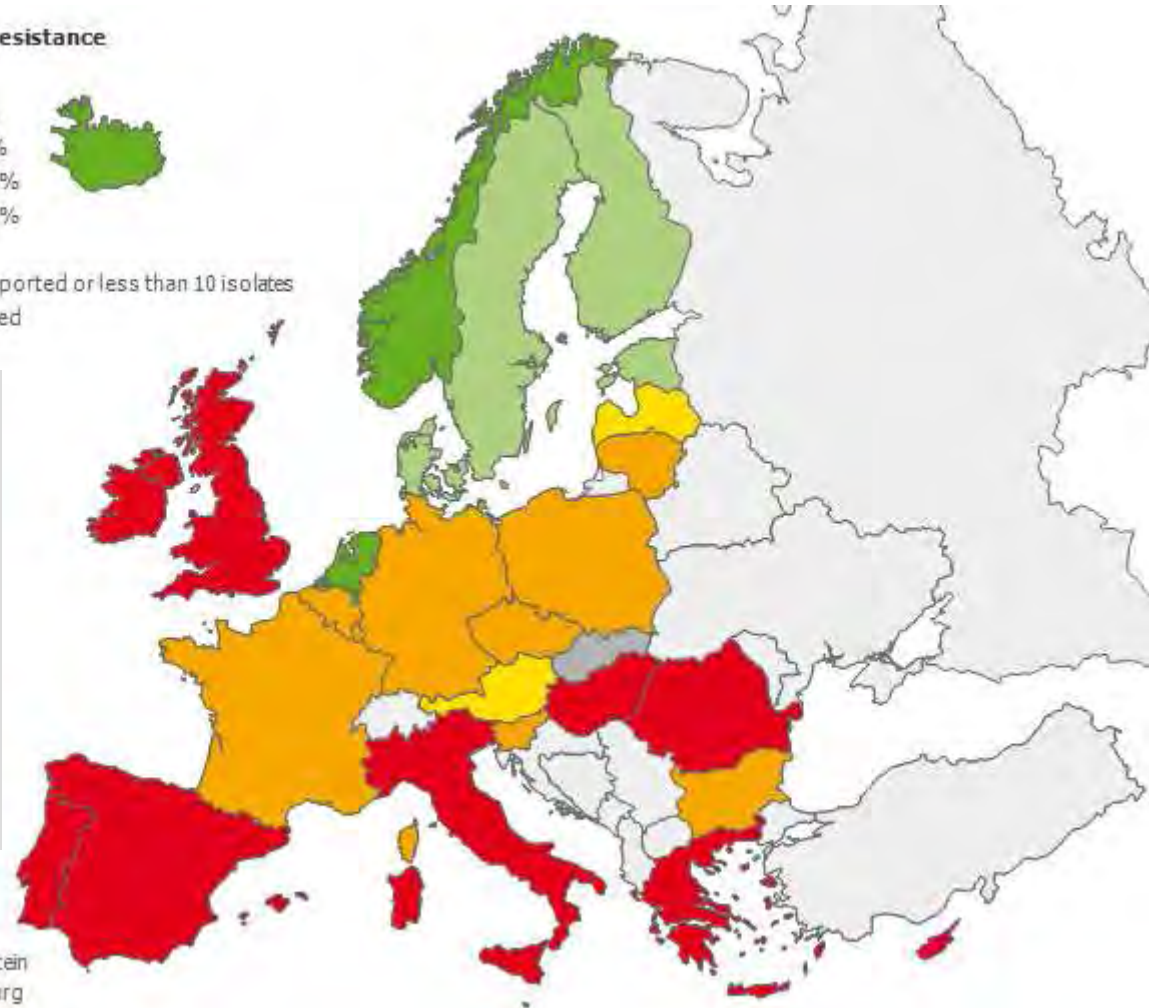
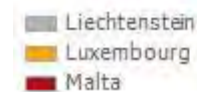
Staphylococcus et β -lactamines

Percentage resistance



CHUG en 2009

- 22.6% SARM sur ~ 2152 souches SA
- 11.5% SARM sur 140 souches SA d'hémocultures



(C) ECDC/Dundes/TESSy

SARM, EARSS 2009

***Staphylococcus* et aminosides**

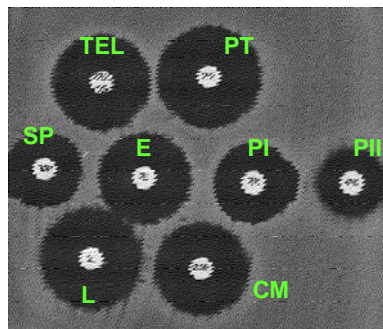
- inactivation enzymatique : ANT, AAC, APH
- souvent plusieurs enzymes par souche
- phénotypes « purs » : Sm, KNm, KT, KTG
- gentamicine R \Rightarrow R à tous les aminosides
- < 1% des SASM sont genta-R au CHUG
- < 3% des SARM sont genta-R au CHUG

Staphylococcus et macrolides

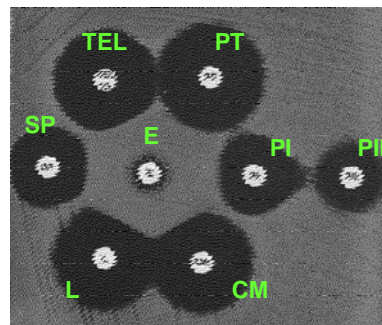
1. Modification de la cible ARNr 23S: méthylation

- méthylation de l'ARNr 23S (A 2058, A2059)
- gène *erm* (A): erythromycin ribosome methylase
- phénotype MLS_B: macrolides, lincosamides, synergistine B
- inducible : R érythromycine, clarithromycine, azithromycine (macrolides en C14)
- constitutif : R à tous les macrolides, télithromycine, lincosamides, synergistine B
- 20-25% des SASM, 30-40% des SARM au CHUG

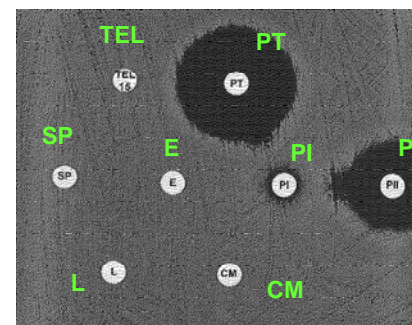
sensible



inductible



constitutif



***Staphylococcus* et macrolides**

2. Modification de la cible : mutation ADN_r23S

- rare, souches de mucoviscidose
- Mutations au niveau des gènes codant :
 - l'ARN_r 23S (A 2058 et A 2059)
 - les protéines ribosomales (L4, L22)
- phénotypes variables : MLS_b ou plus complexes

***Staphylococcus* et fluoroquinolones**

- résistances par mutation des cibles et/ou efflux
- topoisomérase : ADN gyrase (*gyrA* et *gyrB*) et topoisomérase IV (*parC*, *parE*)
- résistance croisée : R à toutes les FQ
- 5-10% des SASM, 90-95% des SARM au CHUG

Pas de monothérapie +++

***Staphylococcus* et rifampicine**

- résistances par mutation de la cible
- ARN polymérase : *rpoB*
- 1-2% des SASM, 5-10% des SARM au CHUG

Pas de monothérapie +++

***S. aureus* et glycopeptides**

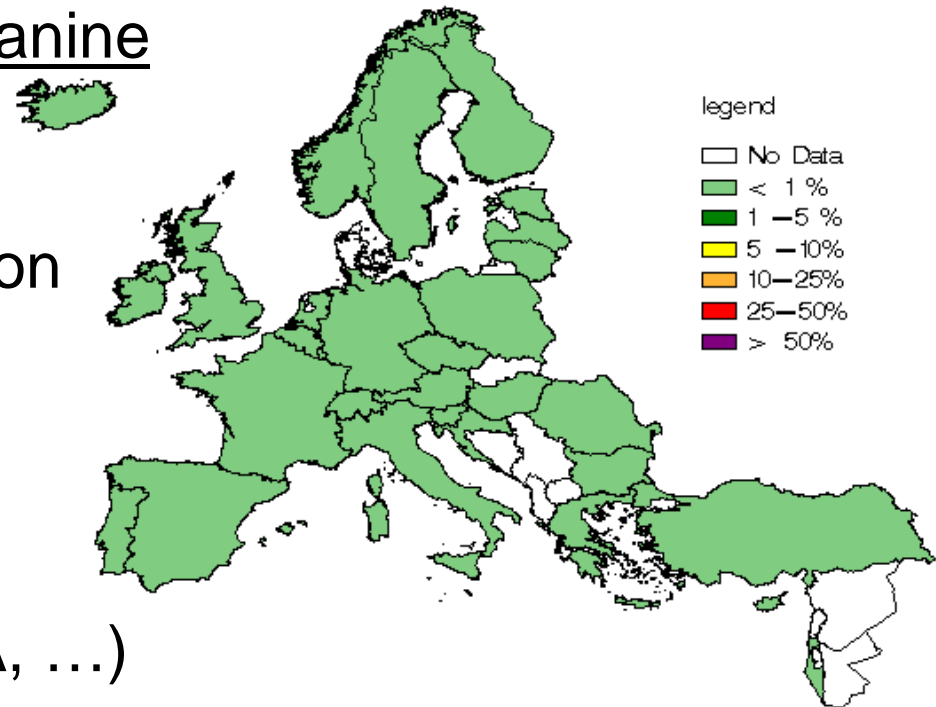
1. VRSA : SA résistants de haut niveau à la vancomycine

- CMI > 16 mg/L
- acquisition de l'opéron *vanA*
(transposon sur plasmide conjugatif)
- rares souches isolées aux USA
- Résistance croisée à la teicoplanine

S. aureus et glycopeptides

2.GISA (initialement VISA) : SA intermédiaires à la vancomycine et à la teicoplanine

- CMI ~ 8 mg/L
- mécanisme complexe : paroi épaissie, réorganisation du métabolisme du, peptidoglycane empêchant l'accès des glycopeptides à leur cible D-Ala-D-Ala
- rares souches (Japon, USA, ...)



SA de sensibilité diminuée à la vancomycine, EARSS 2009

***S. aureus* et glycopeptides**

3. Hétéro-VISA

- sensibilité à la vancomycine (CMI=2-4mg/L)
- Mais sous-populations (I) à la vancomycine (CMI=6-8 mg/L)
- résistance intermédiaire à la teicoplanine (CMI~8 mg/L)
- souches initialement décrites au Japon
- détection difficile (inoculum fort), pas de test moléculaire de référence
- impact clinique non démontré

***Staphylococcus* à coagulase négative et glycopeptides**

- ***S. haemolyticus*** : R naturelle à la teicoplanine
- R acquises rares chez les autres espèces
- Nombreuses fausses résistances à la teicoplanine not. chez *S. epidermidis*

***S. aureus* et autres résistances**

- tétracyclines : efflux (tet K, tet L) et modification du ribosome (tet M)
- phénicolés : enzyme (cat)
- fosfomycine : mutants du système de transport de la fosfomycine
- acide fusidique : mutants *fusA* codant pour EF-G (facteur d'élongation / ribosome)
- cotrimoxazole : mutants DHPS

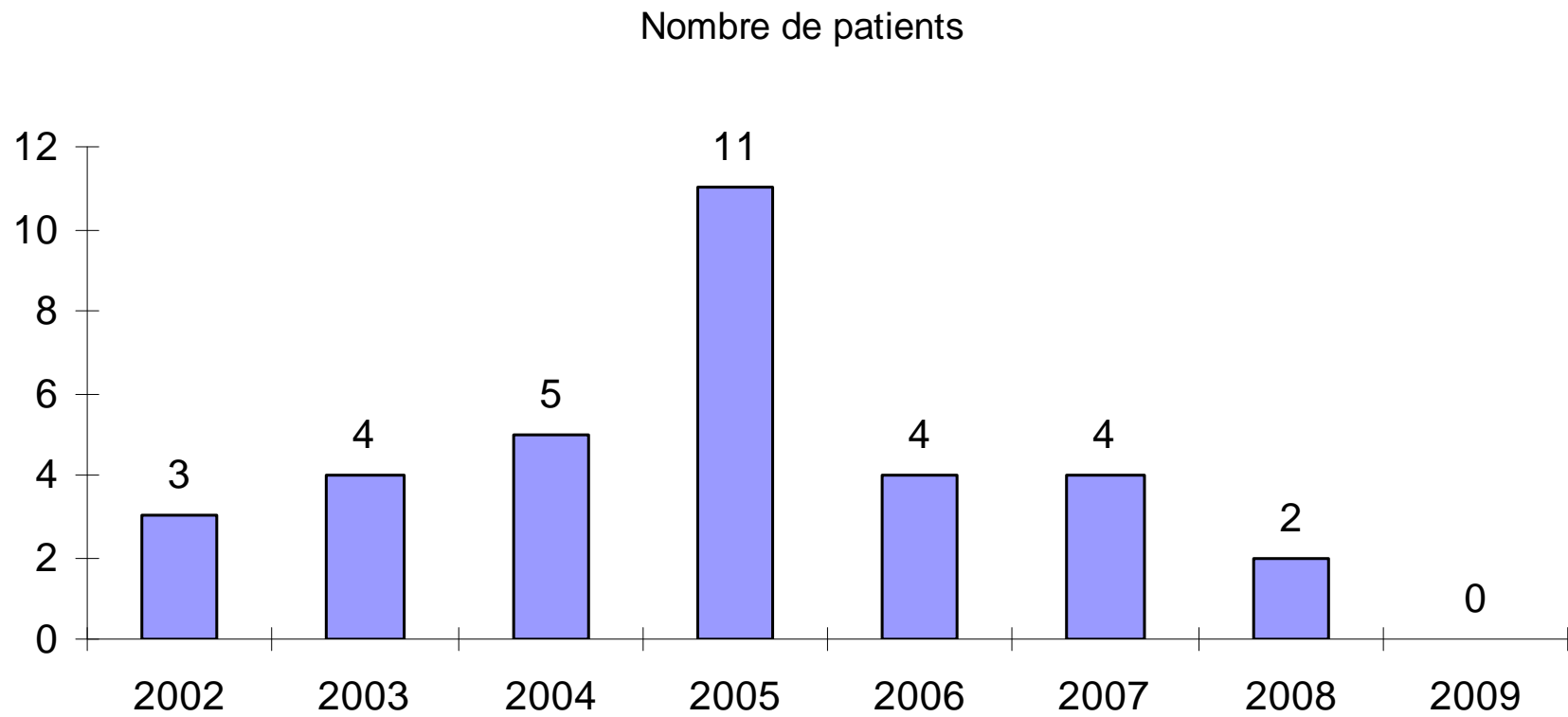
SASM au CHUG de 2006-2009 (% I+R)

	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
Gentamicine	0.3	0.3	0.6	0.3	0.4	0.5	0.4
Tobramycine	2	2	1.3	0.8	1.3	1.6	1.5
Erythomycine	17	17	19	20	22.1	18.5	23.7
Pristinamycine	0.8	1	1	0.9	0.9	1	0.4
Fosfomycine	0.6	2	1	1	1.6	0.9	0.7
Rifampicine	2.5	0	2	0.8	1.1	1.2	1.4
Fluoroquinolones	11	10	4	4.4	6	4.9	7
Fucidine	3.8	5	5	4.5	4.2	4.2	4.5
Cotrimoxazole	0.3	2.7	0.5	1.1	0.5	1.2	1.3
Glycopeptides	0	0	0.1	0	0	0	0

SARM au CHUG de 2006-2009 (% I+R)

	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
Gentamicine	3.4	6	2	1.2	2.8	2.3	1.5
Tobramycine	75	86	70	64	63.7	60.6	61.7
Erythomycine	48	47	48	37	36.1	33.5	35.9
Pristinamycine	4.6	6	15	6.3	10	5.8	4.3
Fosfomycine	12	10	11	8.8	9.5	8.9	8.3
Rifampicine	6	7	10	5.2	10.7	8.2	8.5
Fluoroquinolones	93	94	94	91	94.1	90.8	93.2
Fucidine	11	16	11	13.8	16.8	16.7	13.8
Cotrimoxazole	0.9	0.5	0.8	0.2	2	1.5	0.2
GISA (nombre de souches)	4	5	11	4	4	2	0

GISA au CHUG de 2002-2009



(100% SARM)

***Streptococcus* :** **résistances naturelles**

- pénicillines M
- aminosides (bas niveau)
- acide nalidixique
- fluoroquinolones
(sauf lévofloxacine
et moxifloxacine)
- colistine

S. pneumoniae

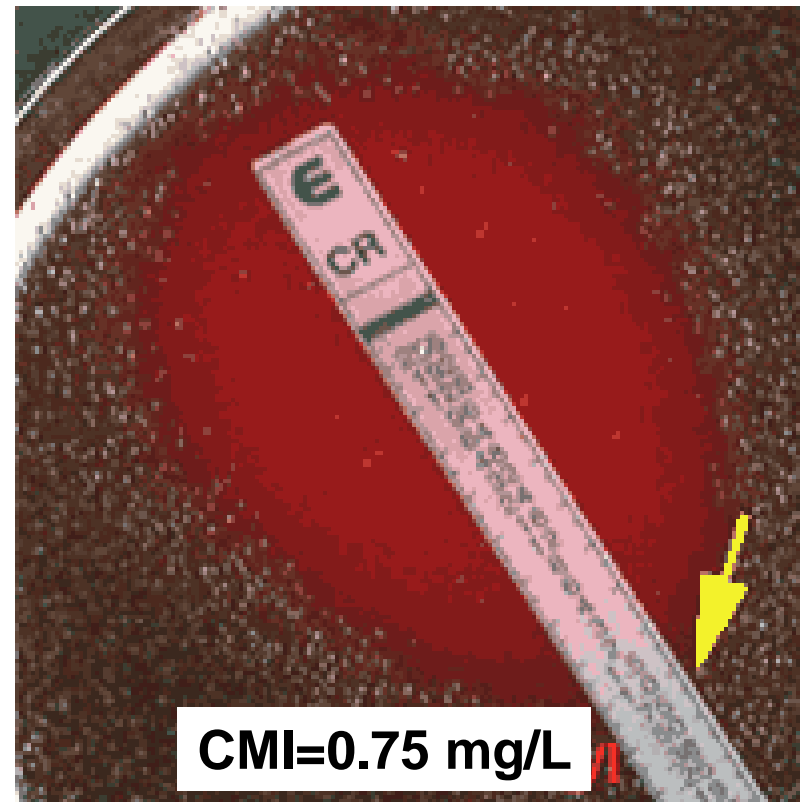


***S. pneumoniae* et β -lactamines**

- résistance chromosomique, transformation
- diminution d'affinité des PLP naturelles
- gènes mosaïques : PLP1a, 2x, 2a, 2b
- augmentation progressive des CMI
- R variable et dissociée aux pénicillines G, A et dérivés, céphalosporines 3ème génération
- Pas de test moléculaire prédictif de la résistance

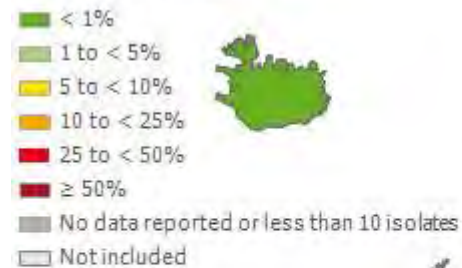
S. pneumoniae et β -lactamines

CMI déterminées
par E-tests



S. pneumoniae et β -lactamines

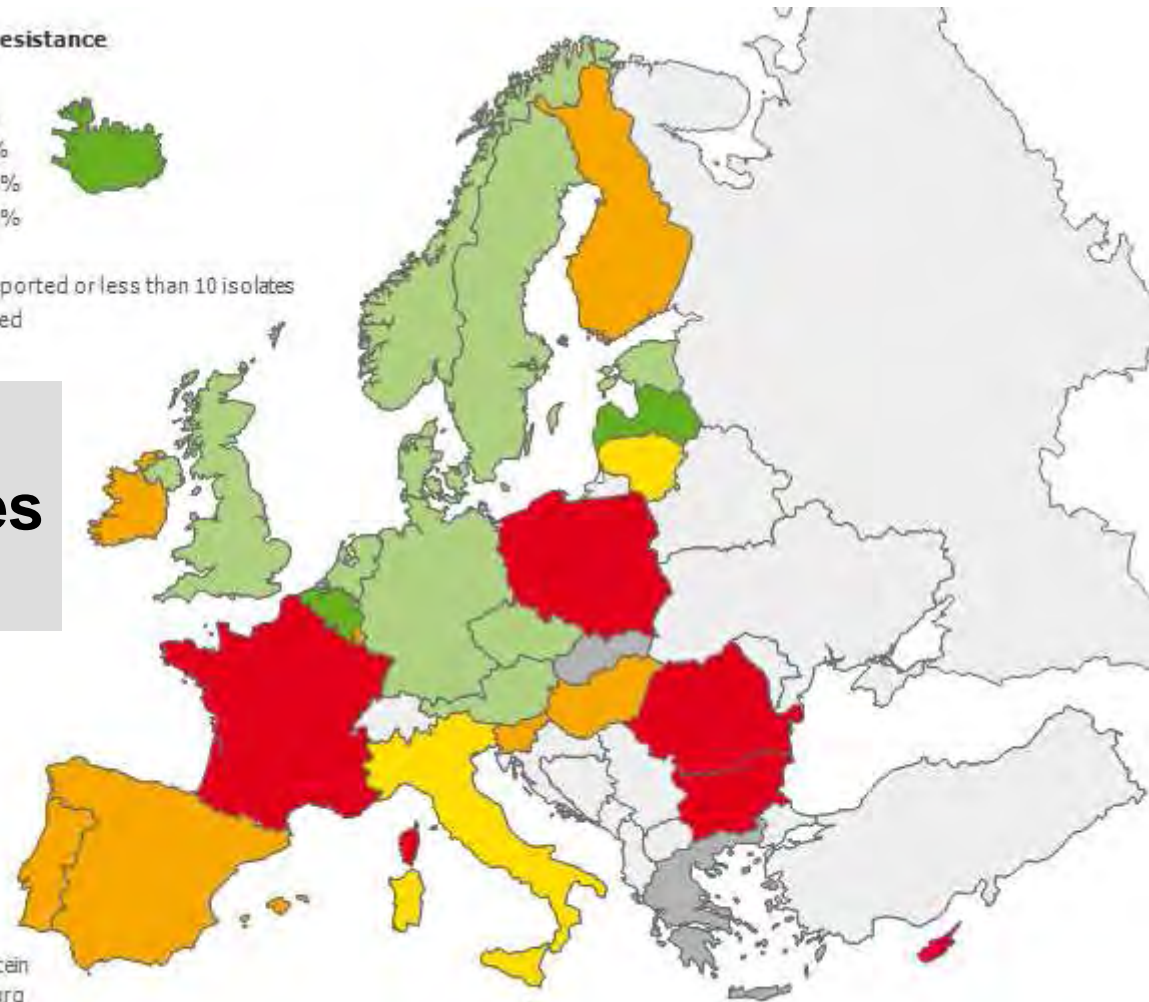
Percentage resistance



CHUG 2009

**~200 souches isolées
dont PNSP = 39%**

■ Liechtenstein
■ Luxembourg
■ Malta



(C) ECDC/Dundes/TESSy

PNSP, EARSS 2009

***Streptococcus* et 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: macrolides, lincosamides, synergistine B
- souvent inductible mais R à tous les macrolides, lincosamides, synergistine B
- constitutive : idem + télithromycine (peu inductible)

***Streptococcus* et macrolides**

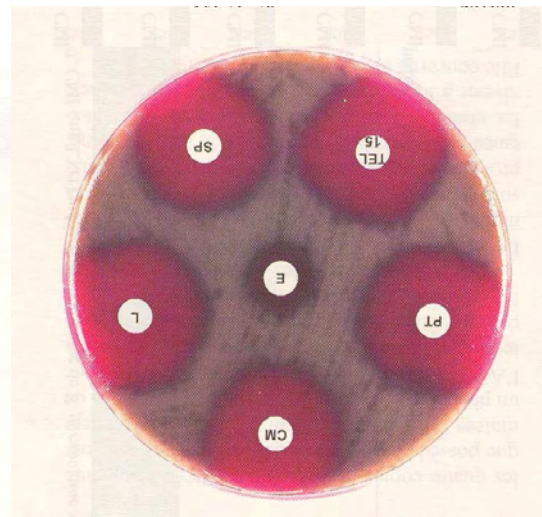
2. Efflux : phénotype M

- gène *mef* (A), système d'efflux MFS
- *S. pneumoniae*, *S. pyogenes* (A)
- R inductible aux macrolides en C14 (érythromycine) et C15 (azithromycine)
- spiramycine et télithromycine: Sensible

***erm* (B)**



***mef* (A)**



***Streptococcus* et macrolides**

S. pneumoniae

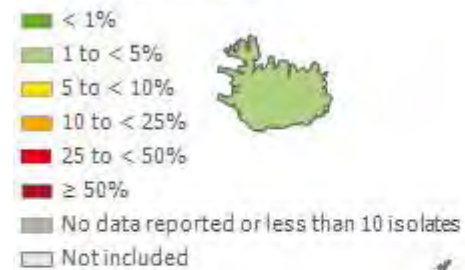
- R érythromycine : ~50% des souches isolées de bactériémies communautaires
- R télithromycine rare
- R pristinamycine exceptionnelle

S. pyogenes (A)

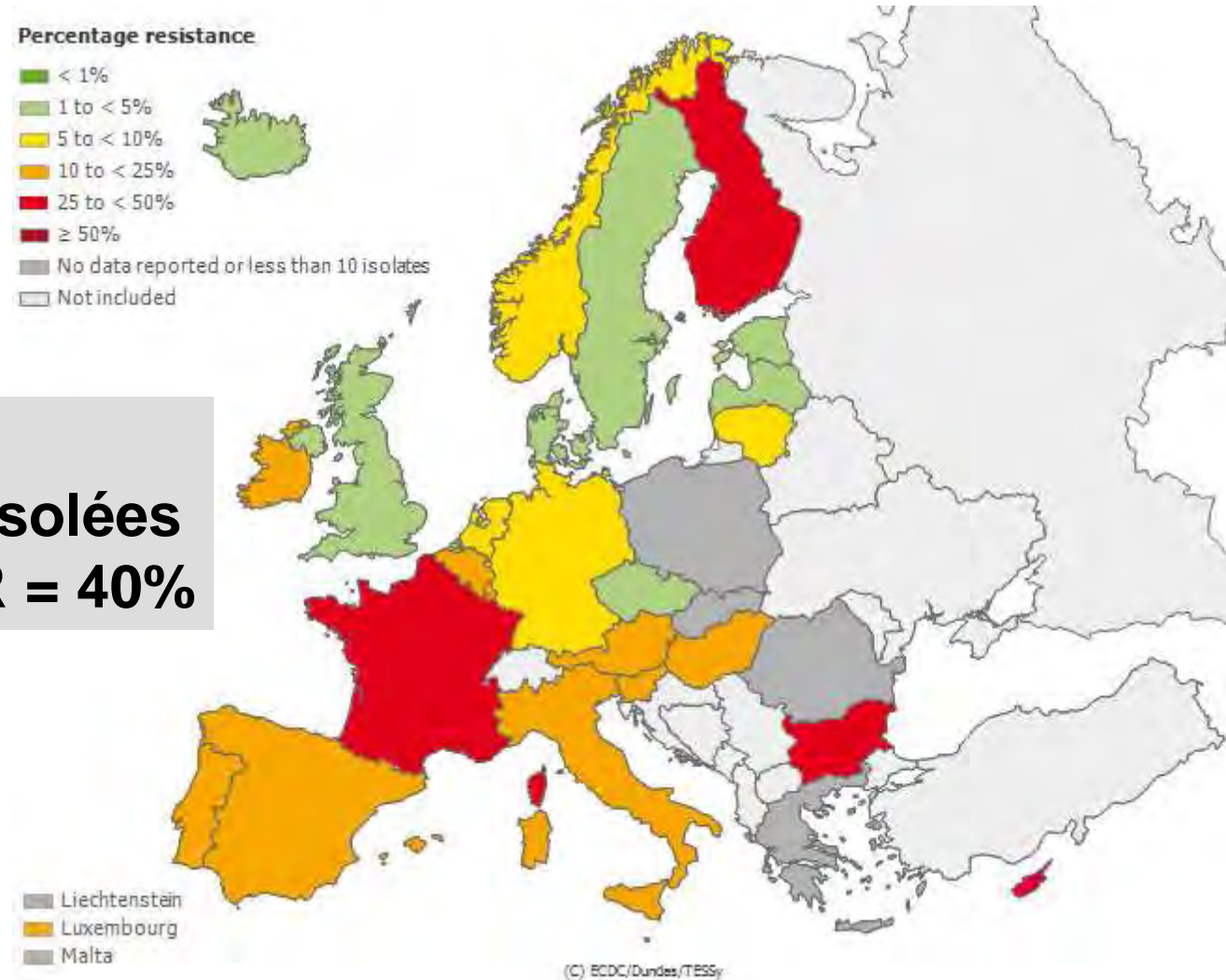
- R érythromycine en augmentation
- environ 15-25%
- clone emm(28) porteur de *erm* (B)

S. pneumoniae et macrolides

Percentage resistance



CHUG 2009
~200 souches isolées
dont éythro I+R = 40%



***S. pneumoniae* érythromycine I+R, EARSS 2009**

***S. pneumoniae*, *S. pyogenes* et autres antibiotiques**

- tétracyclines : efflux (tet K, tet L...) et modification du ribosome (tet M...)
- phénicolés : enzyme (cat)
- fosfomycine : mutants du système de transport de la fosfomycine
- cotrimoxazole : mutants DHPS

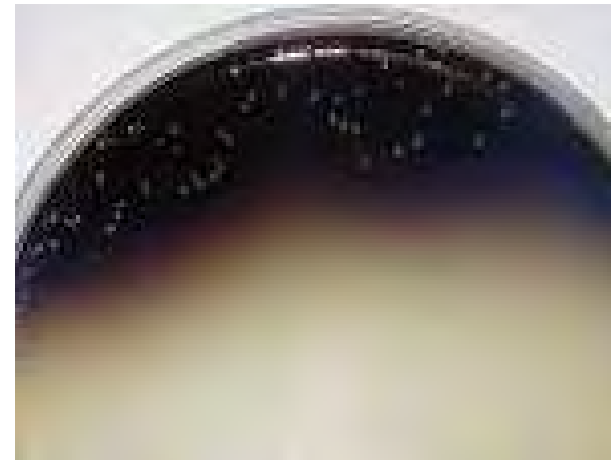
S. pneumoniae au CHUG (% I+R)

	Pénicilline	Amoxicilline	Céfotaxime	Erythromycine	Cyclines
2001	42	15	10.6	48	14
2002	42	14.8	13	49	22
2003	41	12	10.8	52	21
2004	39.6	10.8	4.6	48	32.5
2005	34	9.2	5.7	44	26.6
2006	38.5	10.4	5.3	36.8	20.7
2007	37.6	10.4	15.2	39.9	22.6
2008	40	14	15	37	28
2009	39	14	3.3	40	32

***Enterococcus* :** **résistances naturelles**

- pénicillines (G), M,
céphalosporines (C3G)
- aminosides (bas niveau)
- acide nalidixique
- fluoroquinolones
- phénicolés,
- macrolides
- cotrimoxazole
- colistine

E. faecalis : milieu bile-esculine



***Enterococcus* et β -lactamines**

- PLP5 naturelle peu affine pour les β -lactamines (R naturelle de bas niveau)
- R de bas niveau : augmentation de la production de PLP5
- R haut niveau : mutations au niveau du gène codant pour la PLP5

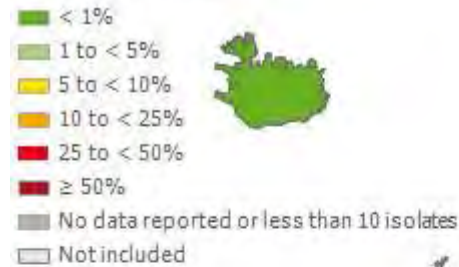
Enterococcus et β -lactamines

R haut niveau :
mutations géniques
affectant la PLP5



E. faecalis et β -lactamines

Percentage resistance



CHUG 2009
~1000 souches isolées
83% *E. faecalis*
0% de R à Peni-A

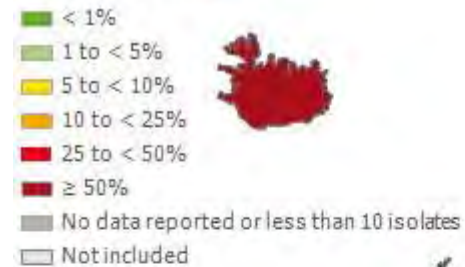
Liechtenstein
Luxembourg
Malta

(C) ECDC/Dundes/TESSy

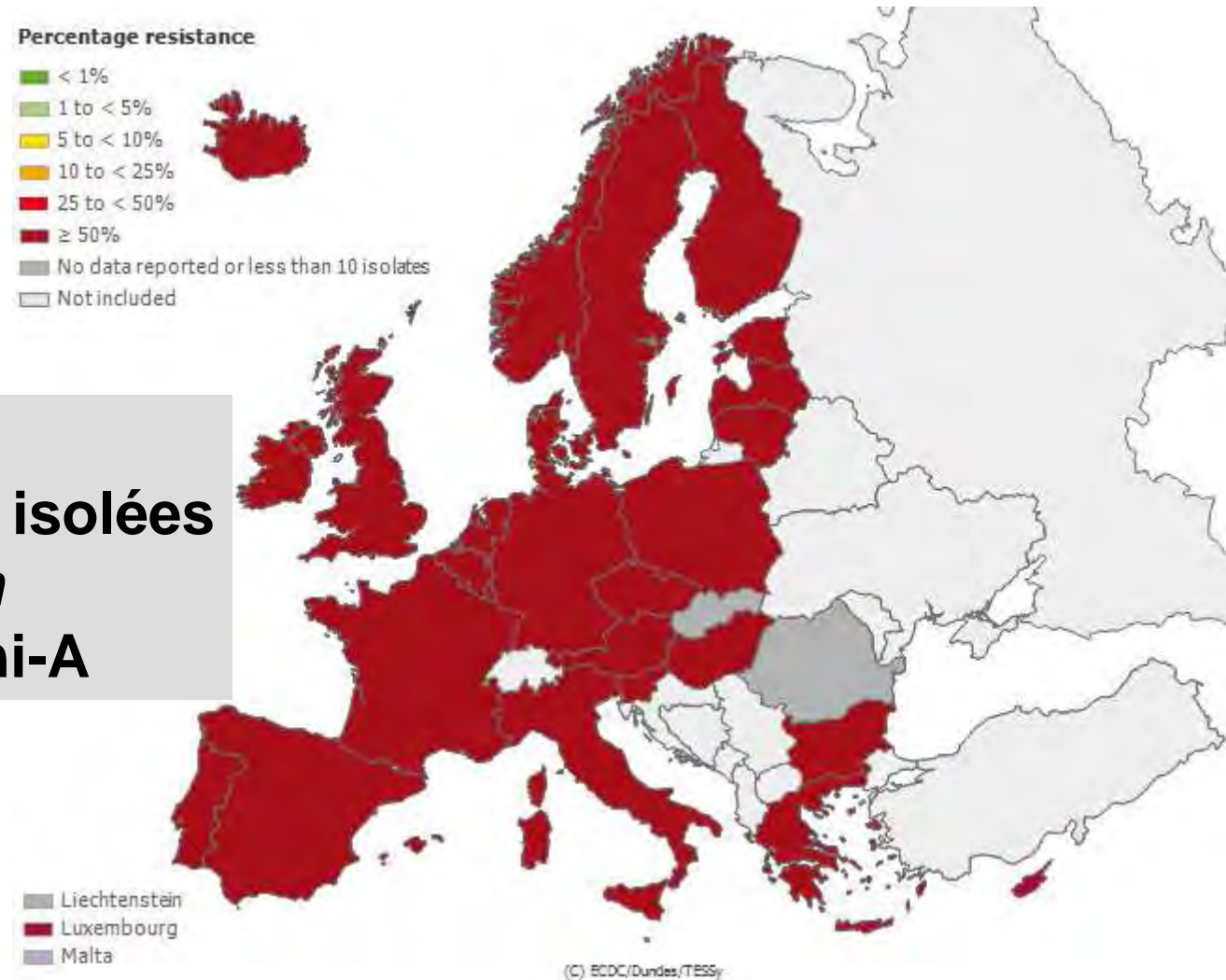
***E. faecalis* pénicilline A (I+R), EARSS 2009**

E. faecium et β -lactamines

Percentage resistance



CHUG 2009
~1000 souches isolées
14% *E. faecium*
84% de R à Peni-A



***E. faecium* pénicilline A (I+R), EARSS 2009**

***Enterococcus* 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 pour une enzyme modificatrice (CMI > 500mg/L)
- perte de la synergie β -lactamine + aminoside
- Au CHUG en 2009 :
 - *E. faecalis*: 6.2% R haut niveau
 - *E. faecium*: 67% de R haut niveau

Enterococcus et glycopeptides

GRE: glycopeptide resistant *Enterococcus*

1. Modification de la cible: VanA

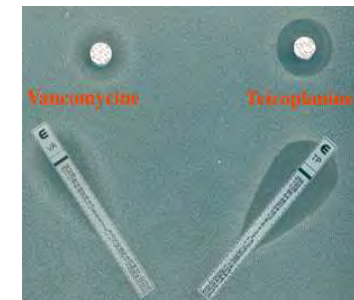
- déshydrogénase vanH
- pyruvate → D-lactate → D-Ala-D-Lac
- diminution de la fixation des glycopeptides à leur cible naturelle D-Ala-D-Ala
- résistance croisée vancomycine et teicoplanine
- prévalence élevée aux USA +++ (30-50%)
- rare en France : < 2%
- mais > 10% : Portugal, Italie, Grèce, Irlande

Enterococcus et glycopeptides

2. Modification de la cible: VanB

- résistance inductible
- dissociée : vancomycine R, teicoplanine S
- D-Ala-D-Ala → D-Ala-D-Lac
- diminution de la fixation des glycopeptides à leur cible naturelle D-Ala-D-Ala
- rare en France : < 2%

intérêt des E-tests



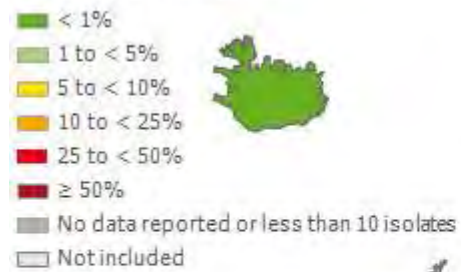
Enterococcus et glycopeptides

3. Modification de la cible: VanC

- sérine racémase
- pyruvate → D-sérine → D-Ala-D-Ser
- diminution de la fixation de la vancomycine à sa cible naturelle D-Ala-D-Ala
- sensibilité conservée à la teicoplanine
- R naturelle chez *E. gallinarum* et *E. casseliflavus* (bactéries aviaires, portage digestif chez l'homme)

E. faecalis et glycopeptides

Percentage resistance



Legend for specific countries:

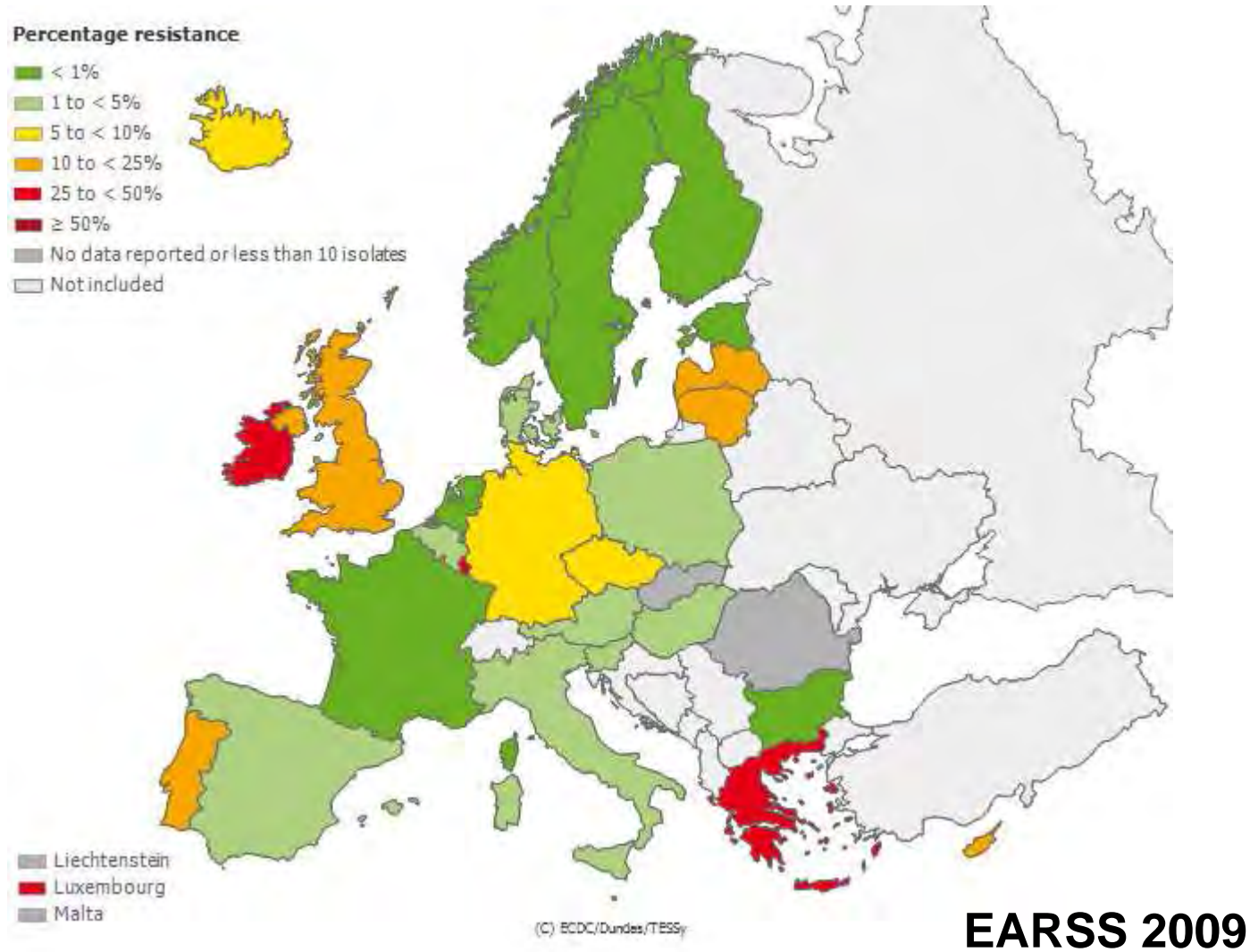
- Liechtenstein (Grey)
- Luxembourg (Orange)
- Malta (Dark Green)



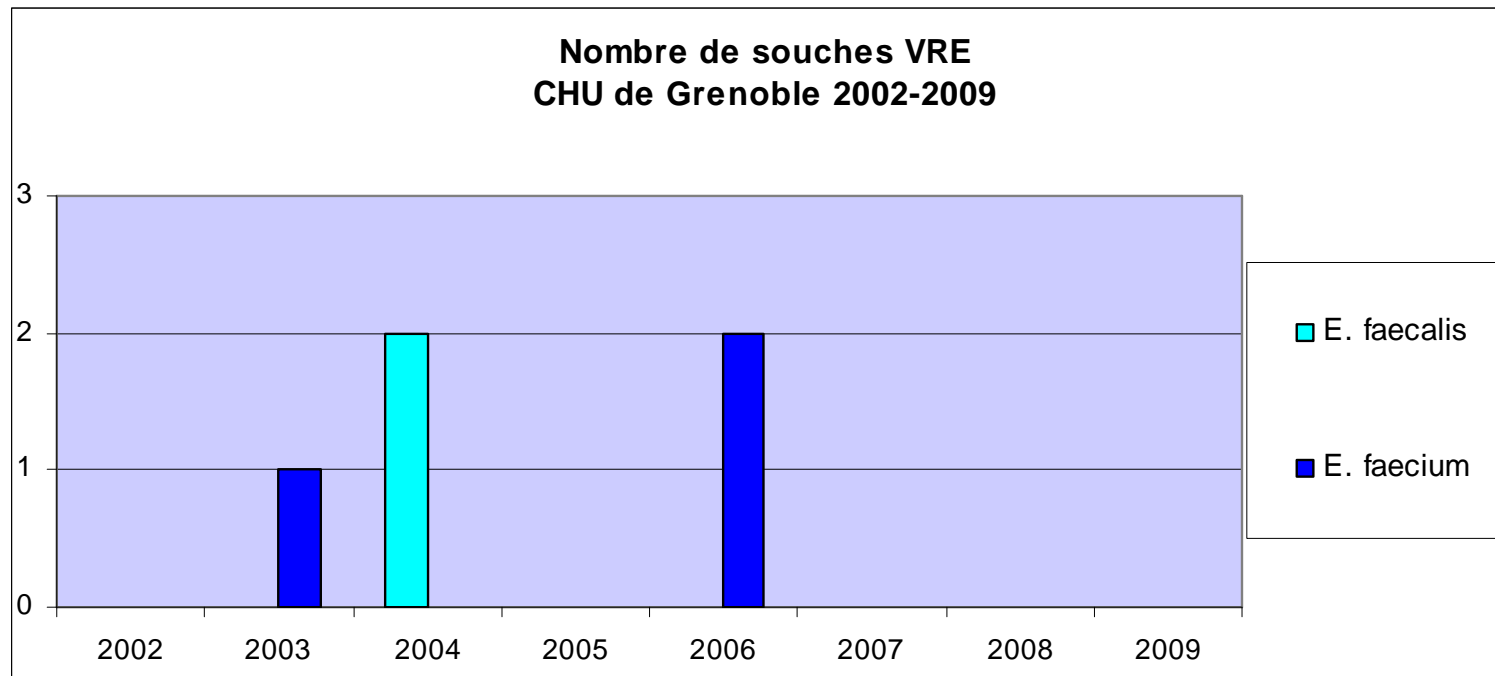
(C) ECDC/Dundes/TESSy

EARSS 2009

E. faecium et glycopeptides



Enterococcus et glycopeptides au CHUG (2002-2009)



***Corynebacterium* et R naturelles**

- peu de résistances naturelles
- sauf fosfomycine, imidazolés, pénicilline M, aztréonam, ceftazidime
- sauf ***C. jeikeium***, et ***C. urealyticum*** : fréquence des R acquises, modifiant le phénotype de base

C. jeikeium, C. urealyticum **et R acquises**

- résistance > 80% acquise aux β -lactamines, aminosides, macrolides, fluoroquinolones
- absence de pénicillinases ou céphalosporinases
- R souvent croisée aux β -lactamines par modification des PLP
- sensibilité habituelle à la pristinamycine
- sensibilité constante aux glycopeptides

Les lipopeptides: la daptomycine

- Composé semi-synthétique: *Streptomyces roseosporus*
- Action Ca^{++} -dépendante sur la membrane plasmique (dépoléarisation et effet bactéricide)
- Spectre limité aux bactéries à Gram positif aérobies ou anaérobies
- Cibles: SARM, GISA, GRE
- Fréquence de mutants spontanés $< 10^{-10}$
- Mécanismes de R complexes (mutations *mprF*: régulation de la charge membranaire bactérienne)
- Détection phénotypique difficile (Ca^{++})

Les oxazolidinones: le linézolide

- Composé synthétique
- Inhibition de la synthèse protéique (inhibition de l'initiation par action au niveau du site P de l'ARNr23S)
- Action limitée aux bactéries à Gram positif (résistance naturelle par efflux chez les bactéries à Gram négatif)
- Spectre: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Corynebacterium*, Anaérobies à Gram positif, *Mycobacterium* sp. (not. MTB), *Nocardia* sp.
- Résistance par mutations du ribosome 23S
positions 2505, 2447, 2500, 2576, fréquence faible (10^{-9} à 10^{-10})
rarement décrites chez *Enterococcus*, *S. aureus*, *S. epidermidis*
- Résistance par méthylation ribosomale
gène *cfr* chez *S. aureus* et *S. sciuri*, méthylation de A2503

Les glycylicyclines: la tigécycline

- Composé dérivé de la minocycline (formulation IV)
- Inhibition de la synthèse protéique au site A du ribosome 30S (bloque l'attachement de l'aminocyl ARNt)
- Spectre large: *Staphylococcus* (SARM, GISA)
Streptococcus, *Enterococcus* (GRE), *Campylobacter*,
Haemophilus, *Moraxella*, *Neisseria*, *Pasteurella*,
certaines entérobactéries, *Acinetobacter*,
Stenotrophomonas, Anaérobies, etc.
- Activité conservée vis-à-vis des souches R aux tétracyclines par efflux ou protection ribosomale
- Résistance par efflux possible chez *S. aureus* (MepRAB)