

LECTURE INTERPRETATIVE DE L'ANTIBIOGRAMME

Dr Monique CHOMARAT

CHLS Pierre-Bénite

France

tel : 04 78 86 12 34

fax : 04 78 86 32 80

e-mail : monique.chomarat@chu-lyon.fr

ANTIBIOGRAMME : GENERALITES

- POURQUOI?

prédire la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques dans un but **EPIDEMIOLOGIQUE** ou **THERAPEUTIQUE**

- COMMENT?

- * tests in vitro : diffusion, automates

- * interprétation des phénotypes de résistance

ANTIBIOGRAMME : DIALOGUE BIOLOGISTE - CLINICIEN

- **AIDE À L'ANTIBIOTHERAPIE :**
complexité du fait :
 - du peu de molécules en développement
 - de l'évolution importante des résistances
- **INFORMATIONS EPIDEMIOLOGIQUES**
meilleure connaissance de l'environnement
local pour une antibiothérapie probabiliste
optimisée

DETERMINATION DE LA SENSIBILITE

- **La SENSIBILITE n'est pas une valeur quantifiable**
- **La valeur mesurable, de référence est la CMI**

DEFINITION DE LA RESISTANCE

- **CATEGORIES THERAPEUTIQUES S, I, R**
- **CONCENTRATIONS CRITIQUES : définies grâce à des données bactériologiques, pharmacologiques et cliniques.**

RESISTANCE NATURELLE

- = **Caractéristique propre à une ESPECE bactérienne**
- = **Résistance de toutes les souches de cette espèce**
- = **Définit le phénotype SAUVAGE ou SENSIBLE de l'espèce**

RESISTANCE ACQUISE

- = Caractéristique de certaines **SOUCHES** au sein d'une espèce bactérienne
- = Résulte d'une modification génétique :
 - * mutation
 - * plasmide
- = Définit des phénotypes « **RESISTANTS** »

LE CHOIX DES MOLECULES

- MARQUEUR :

= molécule qui, au sein d'un groupe d'antibiotiques est le plus régulièrement touchée

- EQUIVALENCE :

= ATB testé permettant d'étendre le résultat à d'autres molécules

Résistances croisées

- **Elles s'expriment au sein d'une même classe d'antibiotiques**
- **Elles sont dues au même mécanisme de résistance**
 - **Notion d'équivalence des antibiotiques**
 - **Notion de phénotypes impossibles**

Résistances associées

- **Co-existence d'au moins 2 résistances qui, le plus souvent, touchent deux classes d'antibiotiques.**
- **Ce sont deux mécanismes de résistance qui sont en cause**

→ phénotypes possibles mais rares

VALIDATION DES RESULTATS

repose sur :

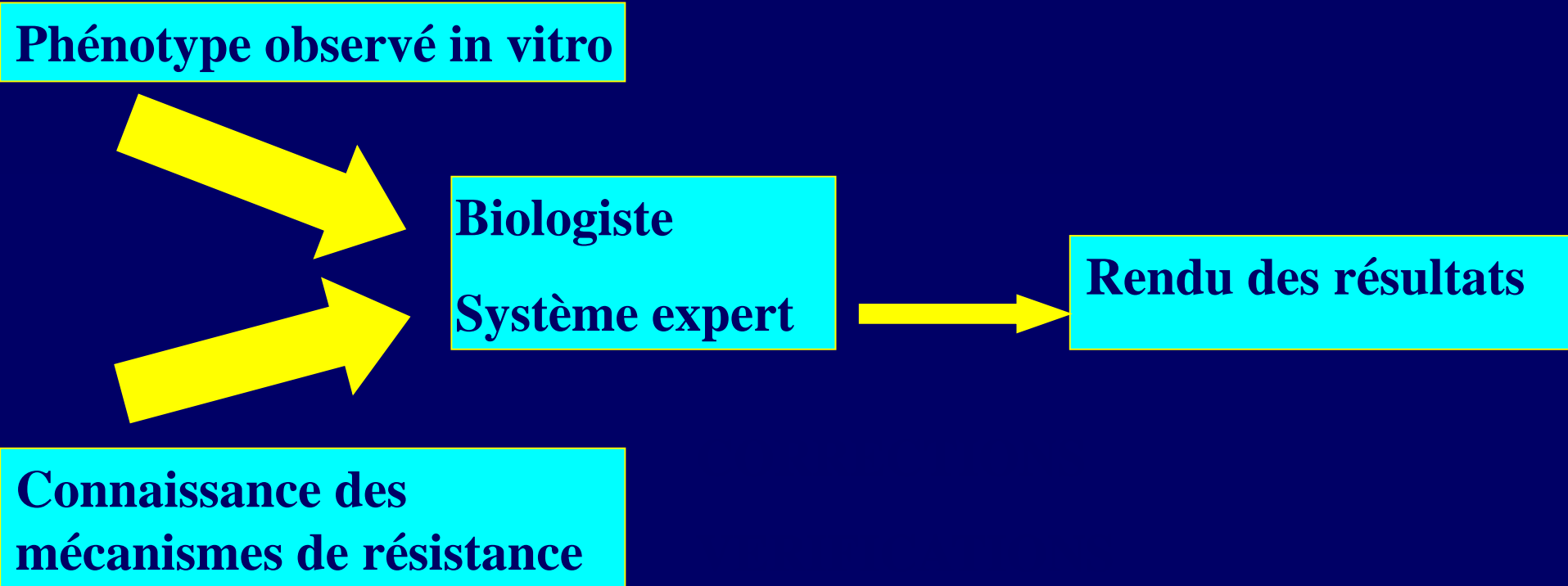
- **1. la COHERENCE** entre antibiogramme et identification du germe
- **2. la DETECTION** des phénotypes de résistance impossibles
- **3. la détection de L'ABSENCE** d'une résistance associée
- **4. la RECHERCHE** de résistances insuffisamment exprimées.

SYSTEME EXPERT

- **RECHERCHE DE RESULTATS ANORMAUX**
 - *vérifier la cohérence antibiogramme/identification du germe
 - *détecter les phénotypes de résistance impossibles
 - *détecter l'absence d'une résistance associée
- **RECHERCHE DE RESISTANCES INSUFFISAMMENT EXPRIMEES ET CORRECTION DES RESULTATS**

ex : Klebsiella avec BLSE, correction C3G-R

LECTURE INTERPRETATIVE



Résistances Bactériennes

➤ Mutations : *Spontanées*

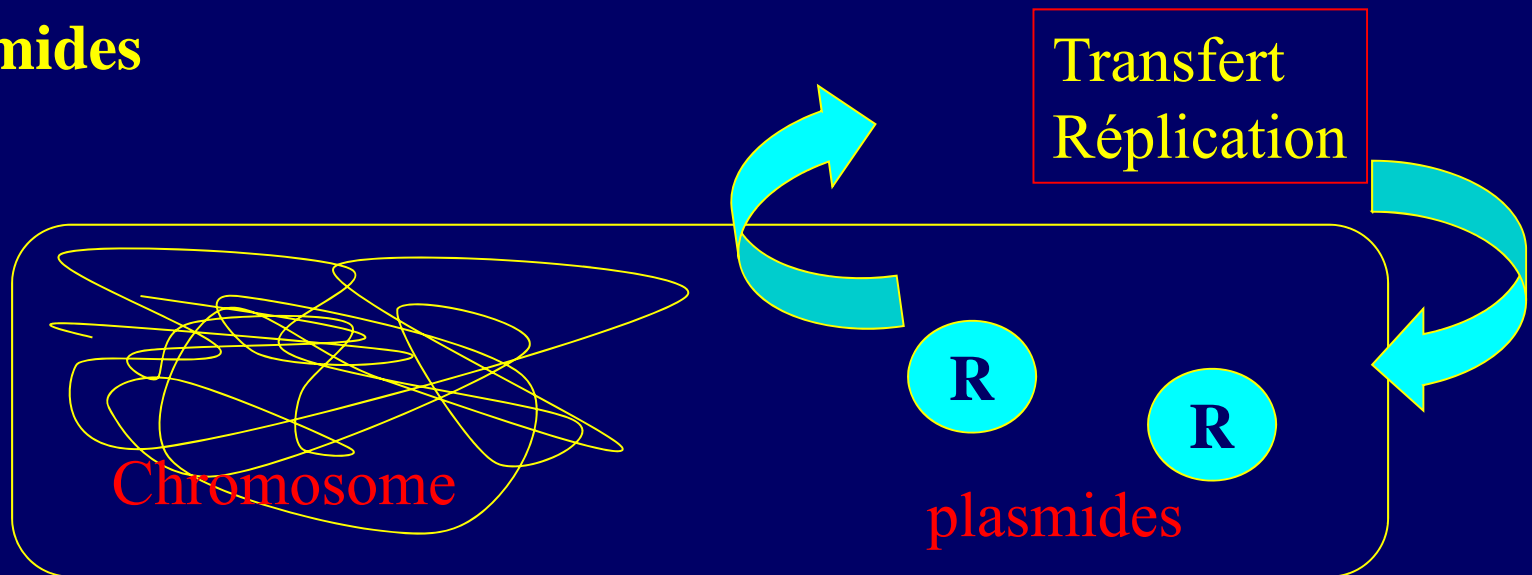
Rares

Stables

Spécifiques

Indépendantes

➤ Plasmides



Support génétique de la résistance

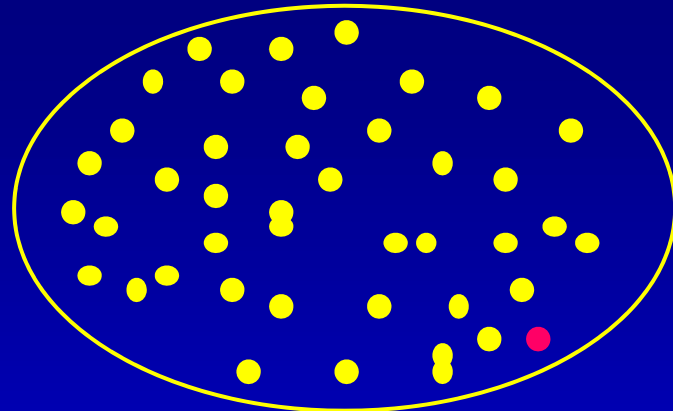
- **Chromosomique:**
 - mutation d'un gène de régulation ou d'un gène de structure
 - insertion de séquences
- **Extra-chromosomique : plasmides, transposons**

Mécanismes d'action

- 1. Inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne**
- 2. Inhibiteurs du fonctionnement des membranes**
- 3. Inhibiteurs de la synthèse des protéines**
- 4. Inhibiteurs de la synthèse ou des fonctions des acides nucléiques**

Sélection de mutants résistants pour un antibiotique donné

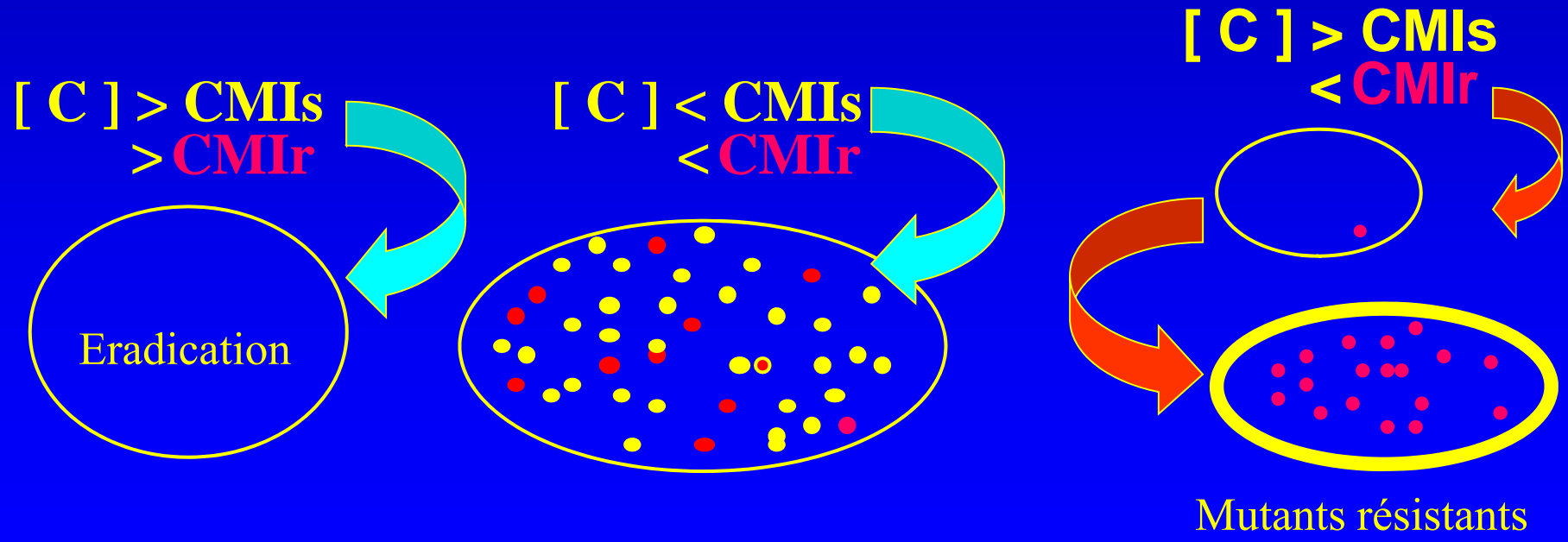
Inoculum bactérien
- foyer infectieux
- *in vitro*
- biotope
- autres...

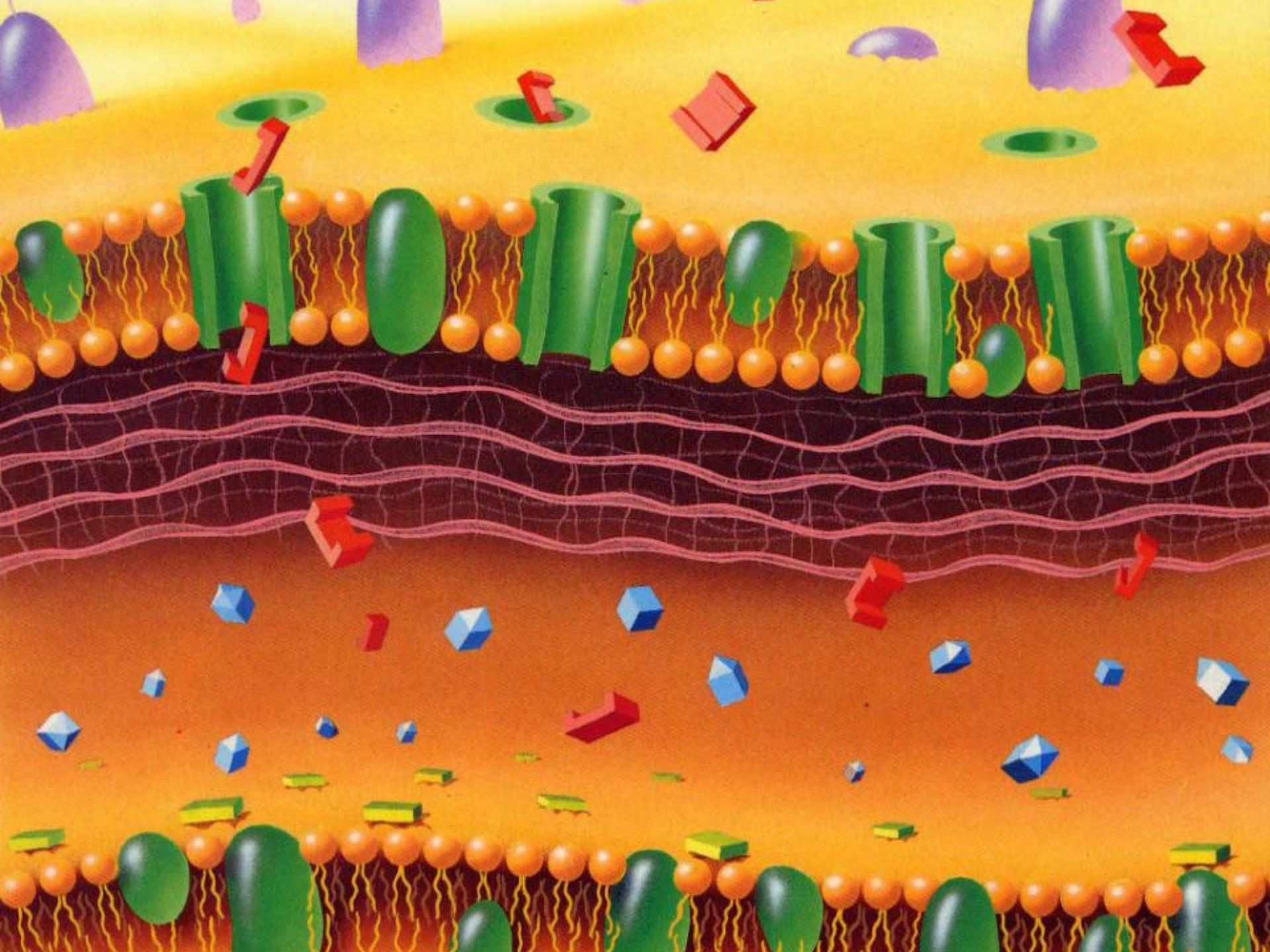


- bactéries sensibles
- mutants résistants

$$CMI_s < CMI_r$$

Si concentration [C] en présence des bactéries :





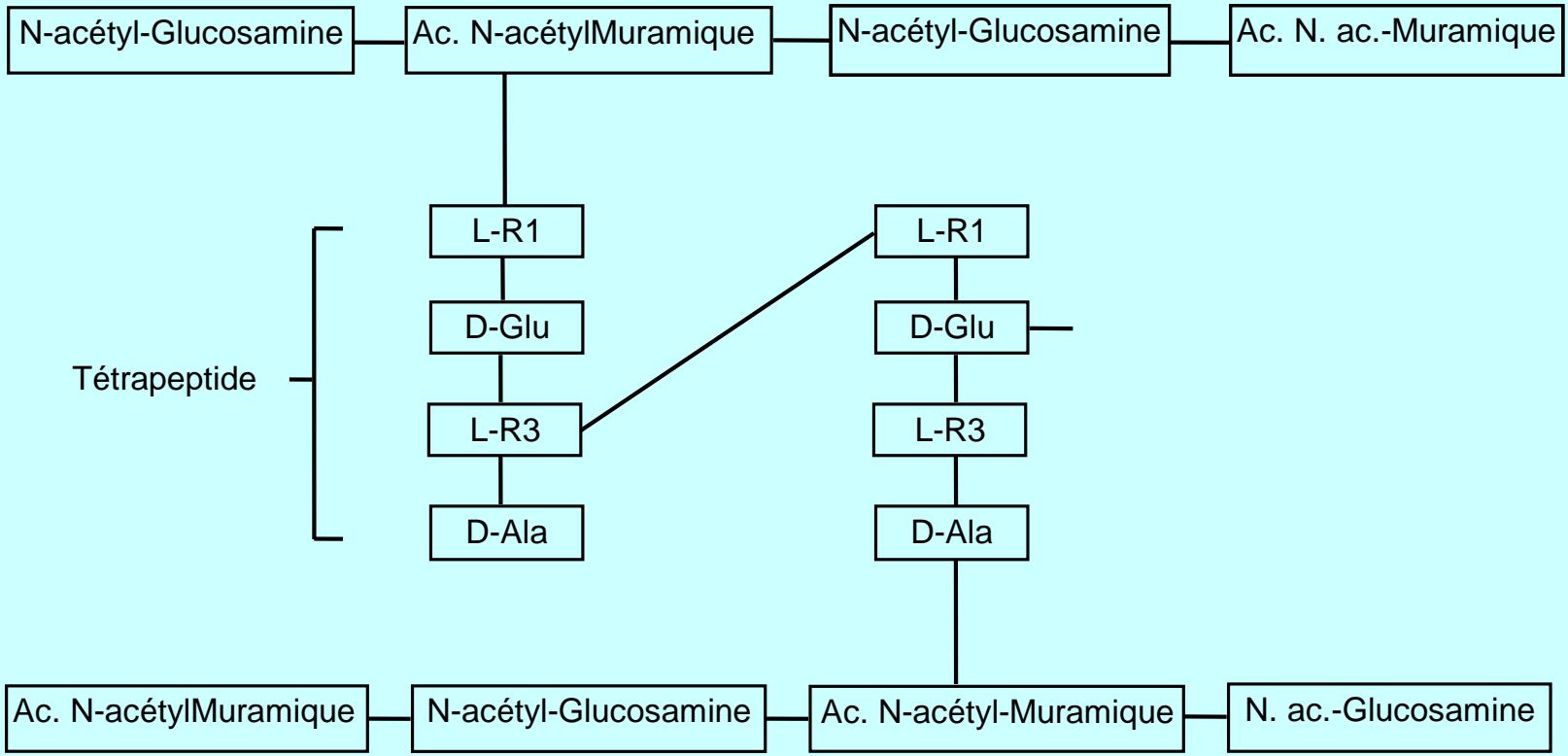
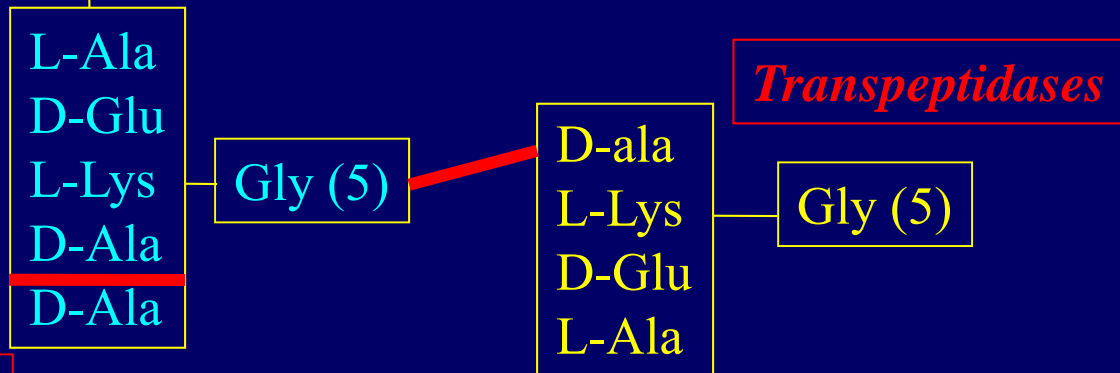
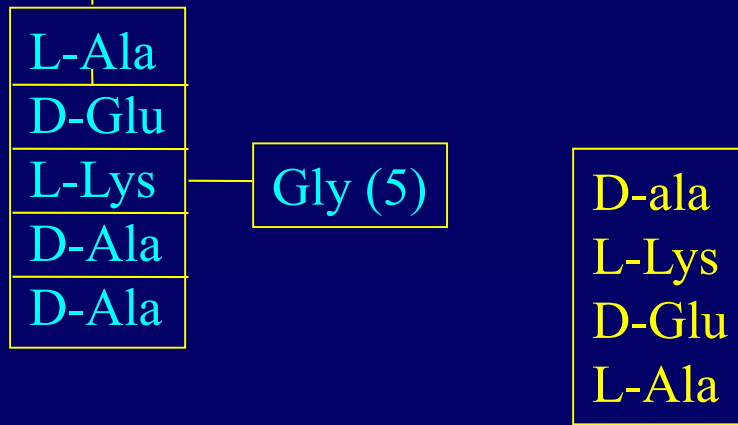


Figure 1 : Structure générale du peptidoglycane

PAROI

Glycosyltransférases

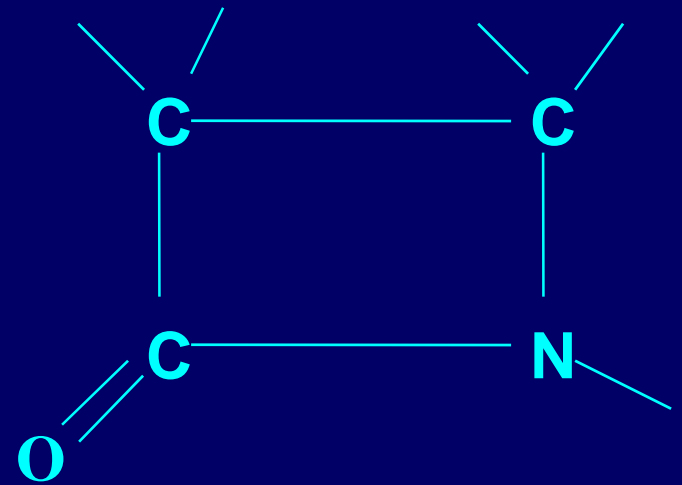


Carboxypeptidases



Les β -lactamines

- **Différentes familles :**
 - » **Les pénicillines**
 - » **Les céphalosporines**
 - » **Les pénèmes**
 - » **Les monobactames**
- **Une même structure**
- **Un même mécanisme**



Les β -lactamines

□ Mécanisme :

» fixation sur les PLP:

- ▣ transglycosylases

- ▣ transpeptidases

» inhibition des fonctions de ces PLP

» arrêt de la synthèse du peptidoglycane

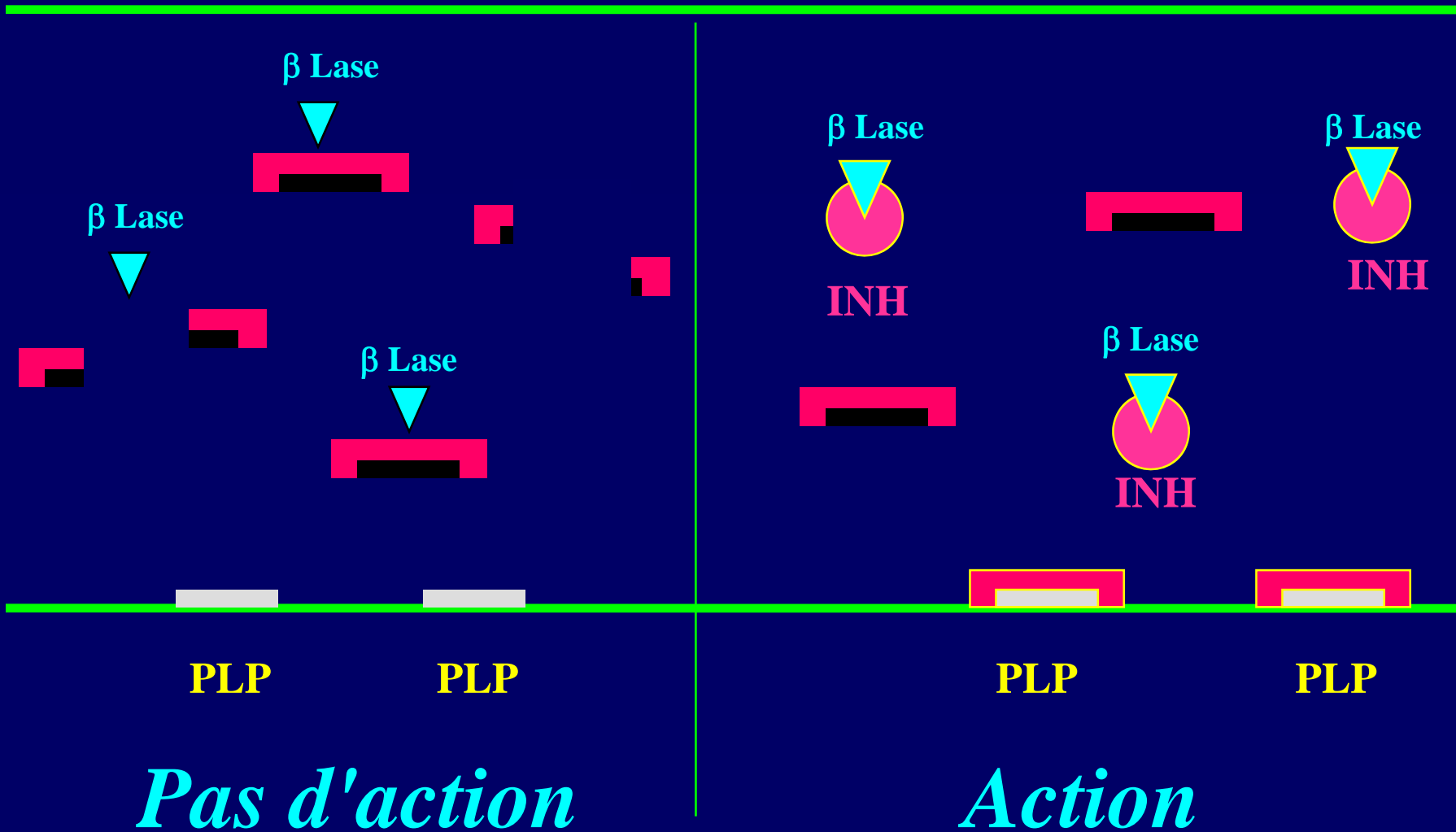
» lyse secondaire de la bactérie

Principe d'action

sans inhibiteur

avec inhibiteur

espace périplasmique



Pas d'action

Action

RESISTANCE NATURELLE

Pénicillines A	<i>Klebsiella, Citrobacter koseri</i>
Céfalotine	<i>Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Pseudomonas, Providencia, P. vulgaris, M. morgani</i>
Imipénème	<i>S. maltophilia, B. cepacia</i>
Aminosides	<i>Streptocoques, Entérocoques, anaérobies, Providencia*</i>
Colistine	<i>Proteus, Serratia</i>
Glycopeptides	<i>Bactéries Gram -, Pediococcus, Leuconostoc, Erysipelothrix, Nocardia, certains Lactobacillus, E. gallinarum, E. flavescens, E. casseliflavus</i>

Les mécanismes de résistance

- 1. Imperméabilité**
- 2. Sécrétion d'enzymes inactivatrices**
- 3. Modification de la cible**
- 4. Phénomènes d'efflux actif**

ENTEROBACTERIES

Groupe 0

Salmonella spp, P. mirabilis

Groupe 1

E. coli, Shigella spp

Groupe 2

Klebsiella, Citrobacter koseri

Groupe 3

Enterobacter, Citrobacter freundii, M. morgani, H. alvei, Providencia stuartii, P. rettgeri, ...

Groupe 4

Yersinia enterocolitica, Serratia fonticola

Groupe 5

Proteus vulgaris, P. penneri

Groupe 6

Kluyvera ascorbata, cryocrescens, Rahnella aquatilis, Citrobacter sedlakii

BETA-LACTAMINES et ENTEROBACTERIES

Antibiotique	Pase	Pase haut niveau	BLSE	Case	HyperCase
Pénicillines					
amino	I/R	R	R	R	R
carboxi	I/R	R	R	S	R
uréido	I/R	I/R	R	S	R
Céphalo.					
C1G	S	S/I	R	R	R
C2G	S	S	R	S/I/R	R
C3G	S	S	I/R	S	R
IBL	S	S/I	S/I/R	R	R
Imipénème	S	S	S	S	S

Escherichia coli et bêta-lactamines

Amoxicilline	Sensible
AMX + Clav.	Sensible
Ticarcilline	Sensible
Pipéracilline	Sensible
Cefalotine	Sensible
Cefotaxime	Sensible
Ceftazidime	Sensible
Imipénème	Sensible

Klebsiella pneumoniae et bêta-lactamines

Amoxicilline	Résistant
AMX + Clav.	Sensible
Ticarcilline	Résistant
Pipéracilline	Intermédiaire
Cefalotine	Sensible
Cefotaxime	Sensible
Ceftazidime	Sensible
Imipénème	Sensible

Enterobacter cloacae et bêta-lactamines

Amoxicilline	Résistant
AMX + Clav.	Résistant
Ticarcilline	Sensible
Pipéracilline	Sensible
Cefalotine	Résistant
Cefotaxime	Sensible
Ceftazidime	Sensible
Imipénème	Sensible

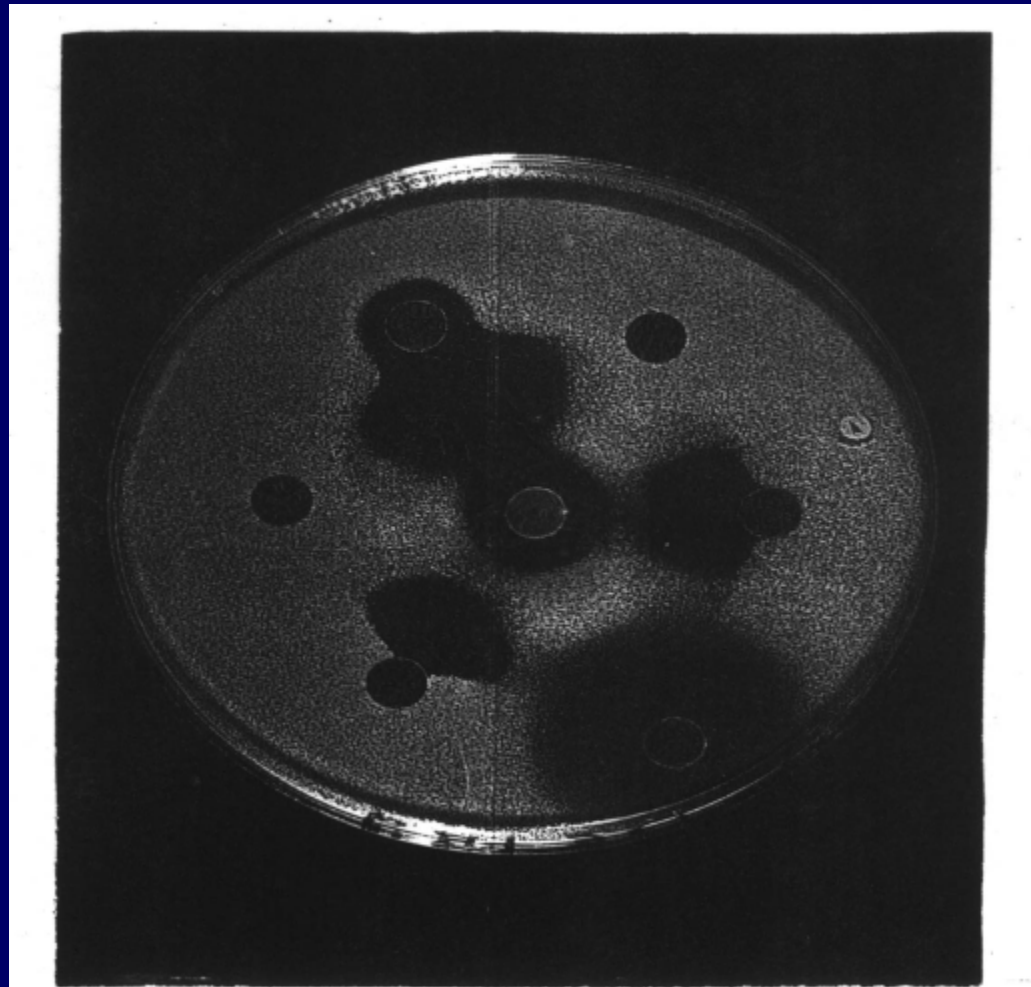
Yersinia enterocolitica et bêta-lactamines

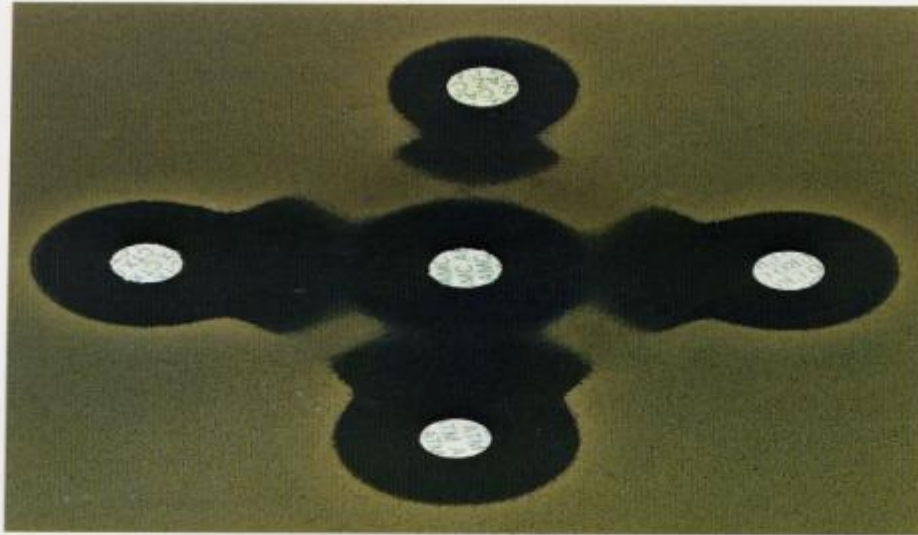
Amoxicilline	Résistant
AMX + Clav.	Résistant
Ticarcilline	Résistant
Pipéracilline	Résistant
Cefalotine	Résistant
Cefotaxime	Sensible
Ceftazidime	Sensible
Céfépime	Sensible
Imipénème	Sensible

TRI

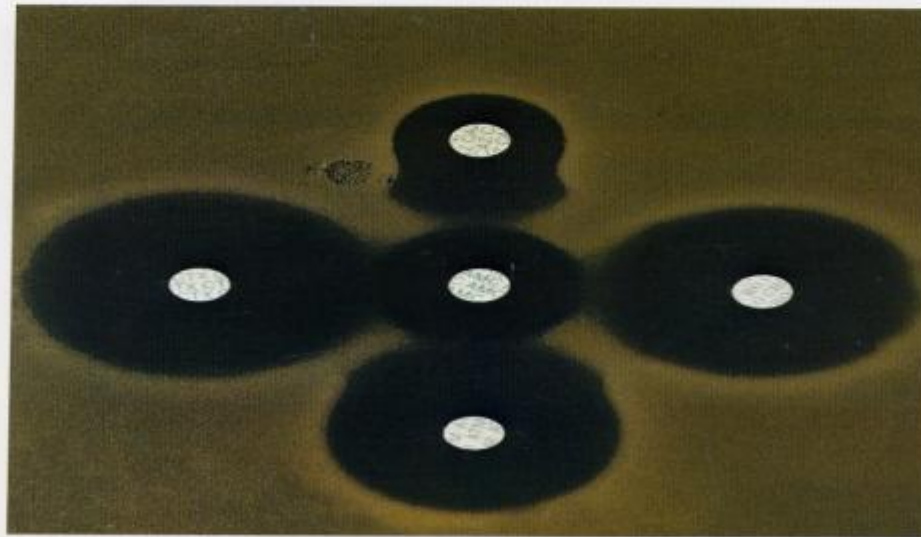
Antibiotique	TEM surproduit	TRI
Amox	R	R
AMX / Ac Clav	R	R
Ticar	R	R
TIC + Ac Clav	R	R
Pipéracilline	I/R	R
Céfalotine	I/R	S
Céfamandole	I/R	S

Test du bouchon de champagne





Photographie N° 1 **phénotype CTX**
(*Escherichia coli* produisant une BSE TEM-3).



Photographie N° 2 **phénotype CAZa**
(*Escherichia coli* produisant une BSE TEM-12).

céfotaxime

amoxicilline-acide clavulanique

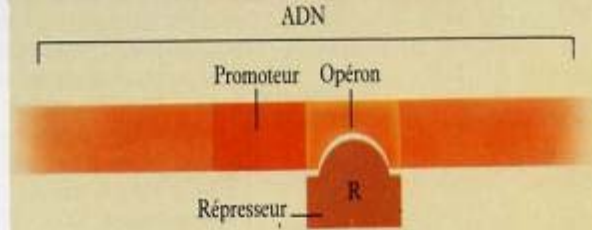
ceftriaxone

ceftazidime

aztréonam

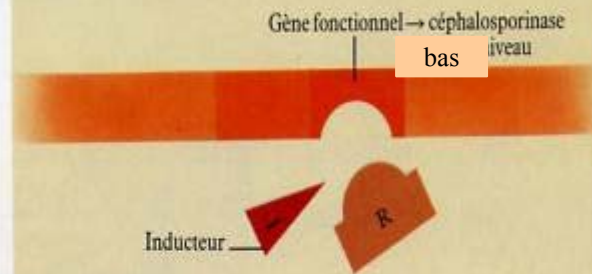
SYNTHÈSE
DE CÉPHALOSPORINASE
À BAS NIVEAU

Le gène codant la synthèse
de céphalosporinase est réprimé.



SYNTHÈSE
DE CÉPHALOSPORINASE
À HAUT NIVEAU

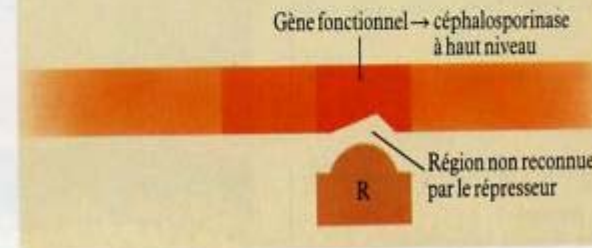
- Par un inducteur



Réversible en l'absence d'inducteur



- Par mutant (10^{-7}) déréprimé stable



Escherichia coli et bêta-lactamines

Amoxicilline	Résistant	
AMX + Clav.	Résistant	
Ticarcilline	Résistant	
Pipéracilline	Intermédiaire	
Cefalotine	Sensible	
Cefotaxime	Sensible	TRI
Ceftazidime	Sensible	
Céfépime	Sensible	
Imipénème	Sensible	

Klebsiella pneumoniae et bêta-lactamines

Amoxicilline

AMX + Clav.

Ticarcilline

Pipêracilline

Cefalotine

Cefotaxime

Ceftazidime

Céfépime

Imipénème

Résistant

Intermédiaire

Résistant

Résistant

Résistant

Intermédiaire

Intermédiaire

Intermédiaire

Sensible

BLSE

Serratia marcescens et bêta-lactamines

Amoxicilline

Résistant

AMX + Clav.

Intermédiaire

Ticarcilline

Résistant

Pipéracilline

Résistant

Cefalotine

Résistant

HCase

Cefotaxime

Résistant

Ceftazidime

Résistant

Céfépime

Sensible

Imipénème

Sensible

Enterobacter aerogenes et bêta-lactamines

Amoxicilline

Résistant

AMX + Clav.

Résistant

Ticarcilline

Résistant

Pipéracilline

Résistant

**BLSE +
imperméabilité**

Cefalotine

Résistant

Cefotaxime

Intermédiaire

Ceftazidime

Intermédiaire

Céfépime

Intermédiaire

Imipénème

Résistant

Haemophilus et bêta-lactamines

Deux mécanismes possibles de résistance :

✓ Présence d'une pénicillinase plasmidique dans 30 à 35% des souches d '*H. influenzae*

✓ Modification des PLP dans < 1% des cas

ampicilline 2 µg diamètre < 20 mm

ou à défaut

céfalotine 30 µg diamètre < 17 mm

Haemophilus influenzae

	1	2	3	
Amoxicilline	S	R	R	1: sauvage
AMX + Clav.	S	S	R	2: Pase
Céfalotine	S	S	R	
Céfotaxime	S	S	S	3: PLP

Staphylocoques et bêta-lactamines

- **Production d'une pénicillinase plasmidique:**
Péni G, Péni A, carboxi, uréido
- **Modification de la cible, PLP 2a**
 - Résistance homogène ou hétérogène
 - MH hypersalé ou à 30° C
- **Border line : BORSA (- de 5%)**
- **MODSA : rare**

Staphylococcus aureus

	1	2	3
Péni, AMX	S	R	R
AMC	S	S	R
OXA	S	S	R

1: Sensible

2: Pase

3: *mecA*

MECANISMES DE RESISTANCE - PNEUMO

- **Résistance :**
 - chromosomique**
 - non transférable**
 - non liée à la production d'une bêta- lactamase**
- **parait étroitement liée à l'usage de bêta- lactamines**
- **altérations séquentielles et cumulatives des PBP 1 et surtout PBP 2**

MECANISMES DE RESISTANCE - PNEUMO

- Possibilité d'un phénomène de transformation
- Travaux in vitro sur des souches "tolérantes"
- Comportement anormal vis-à-vis de l'ensemble des bêta-lactamines

S. pneumoniae : Détection des souches de sensibilité diminuée à la pénicilline G

- **TEST PRESOMPTIF :**

Diffusion en gélose avec les disques oxacilline :

OXA 5 µg diamètre \leq 25 mm

OXA 1 µg diamètre \leq 19 mm

- **TEST DE CONFIRMATION : CMI À PENI G**

SENSIBLE CMI \leq 0,06 mg/l

INTERMEDIAIRE 0,06 mg/l < CMI \leq 1 mg/l

RESISTANTE CMI > 1 mg/l

Neisseria

1. *Neisseria meningitidis* :

Pas de pénicillinase en France

Modification des PLP: CMI systématique

Toujours sensible aux C3G

2. *Neisseria gonorrhoeae* :

Présence de pénicillinase : 15-20 %

Modification des PLP

Toujours sensible aux C3G

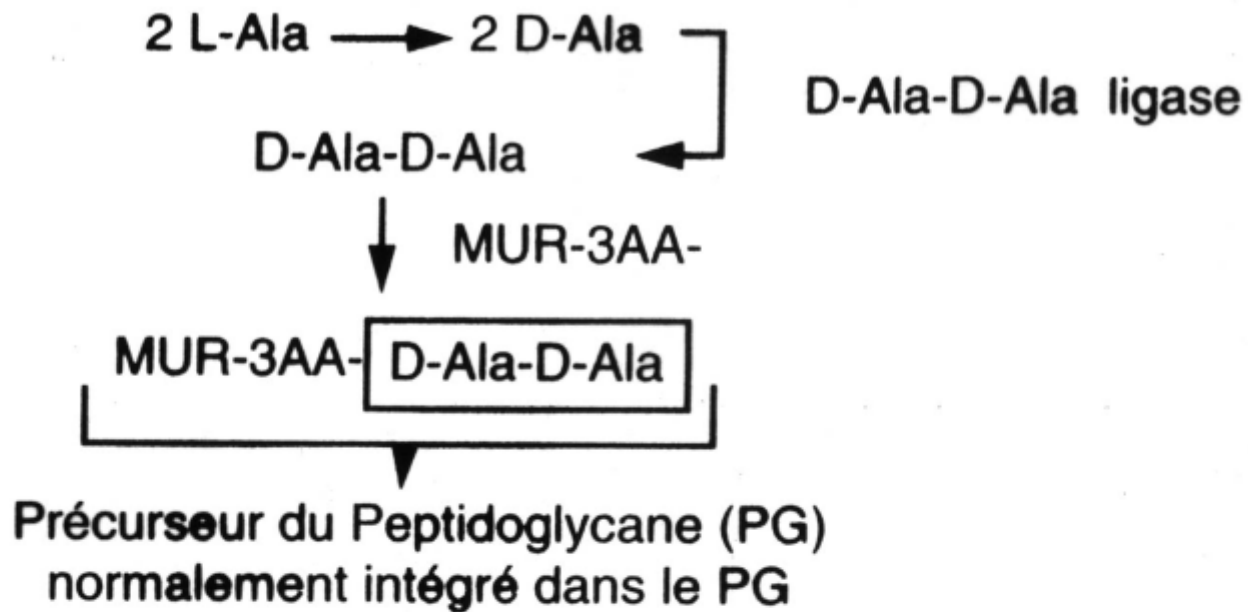
Pas d'utilisation des fluoroquinolones sans documentation car environ 1/2 souches sont résistantes

Phénotypes de résistance de *P. aeruginosa* aux bêta-lactamines

Abtique	PS	Pase	Hypercase	BLSE		Pénèmases	Efflux			D2
				OXA	PER		OprM	OprJ	OprN	
ticarcilline	S	R	R	R	R	R	R	S	S	S
ticar-AC	S	S	R	R	S	R	R	S	S	S
pipéracilline	S	R	R	R	R	S	S-	S	S	S
piper-tazo	S	S	R	R	S	S	S-	S	S	S
cefopérazone	S	R	R	R	R	R	S-	S	S	S
ceftazidime	S	S	R	R	R	R	S-	S	S	S
céfépime	S	S	SIR	R	R	R	S-	R	S	S
cefpirome	S	S	SIR	R	R	R	S-	R	S	S
aztréonam	S	S	R	R	R	S	S-	S	S	S
imipénème	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R
Fréquence		+	+				+			+

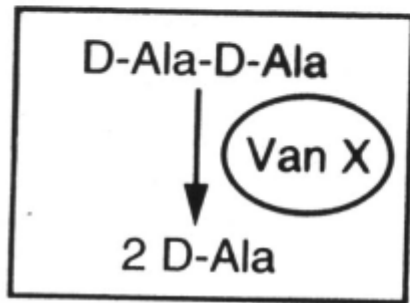
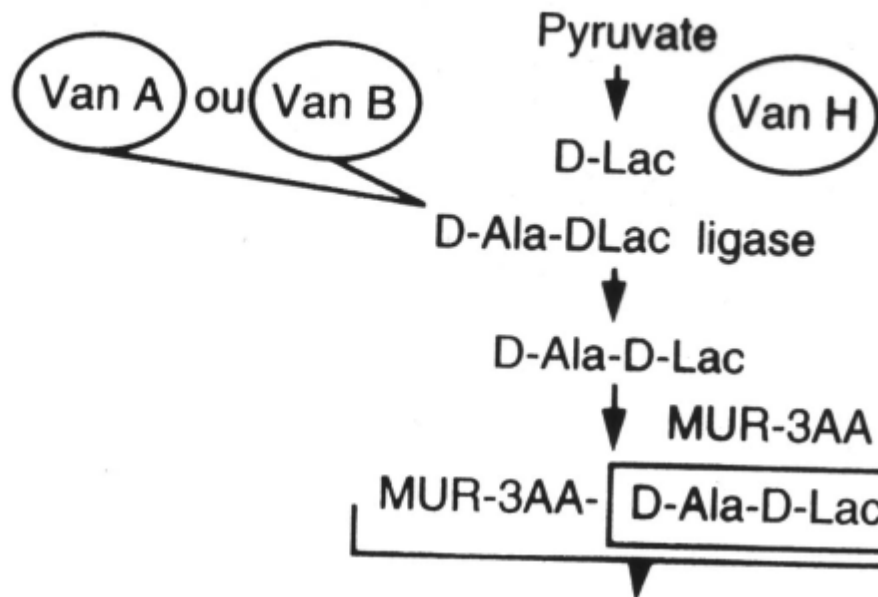
Les glycopeptides : mécanisme d'action

- **Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne :**
 - » **fixation sur des précurseurs de la paroi**
 - » **liaison au dipeptide D alanyl-D alanine (modèle clé - serrure)**
 - » **encombrement stérique important**
 - » **action des transglycosylases et transpeptidases inhibée**
 - » **arrêt de l'élongation de la paroi**
 - » **inhibition de la croissance bactérienne**

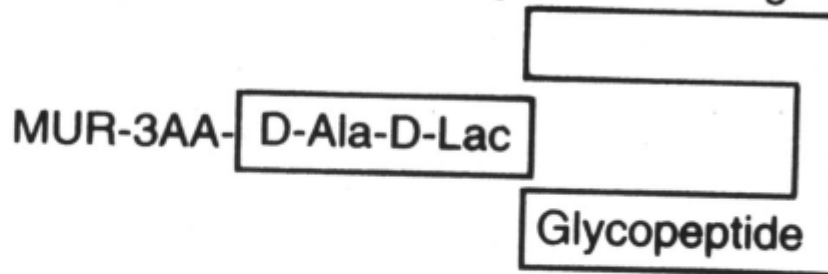
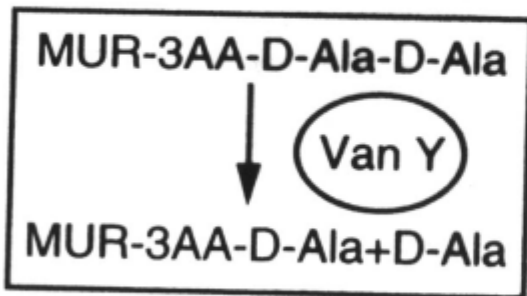


Le glycopeptide empêche cette intégration

ACTION



Néo-précurseur du PG, également intégré dans le PG



Le glycopeptide ne reconnaît pas le motif

RESISTANCE

GLYCOPEPTIDES - ENTEROCOQUES

	Résistance acquise		Résistance naturelle	
Génotype	<i>van A</i>	<i>van B</i>	<i>van C</i>	<i>van C</i>
Phénotype	van A	van B	van C	van C
CMI vanco	64 - 1000	4 - 1000	2 - 32	
CMI teico	16 - 512	0,5 - 1	0,5 - 1	
Expression	inductible	inductible	constitutive	constitutive
Support	plasmidique	transposon	chromosome	chromosome
Espèces	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i> <i>E. avium</i> <i>E. durans</i>	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	<i>E.gallina- rum</i> <i>E.flavescens</i>	<i>E.casseli- flavus</i>

d'après R. Leclercq

Enterococcus

	1	2	3	4
Vanco	S	R	R	R
Teico	S	R	S	S

1: E. faecalis

2: E. faecium

3: E. faecium

4: E. gallinarum

1 : sauvage

2 : Van A

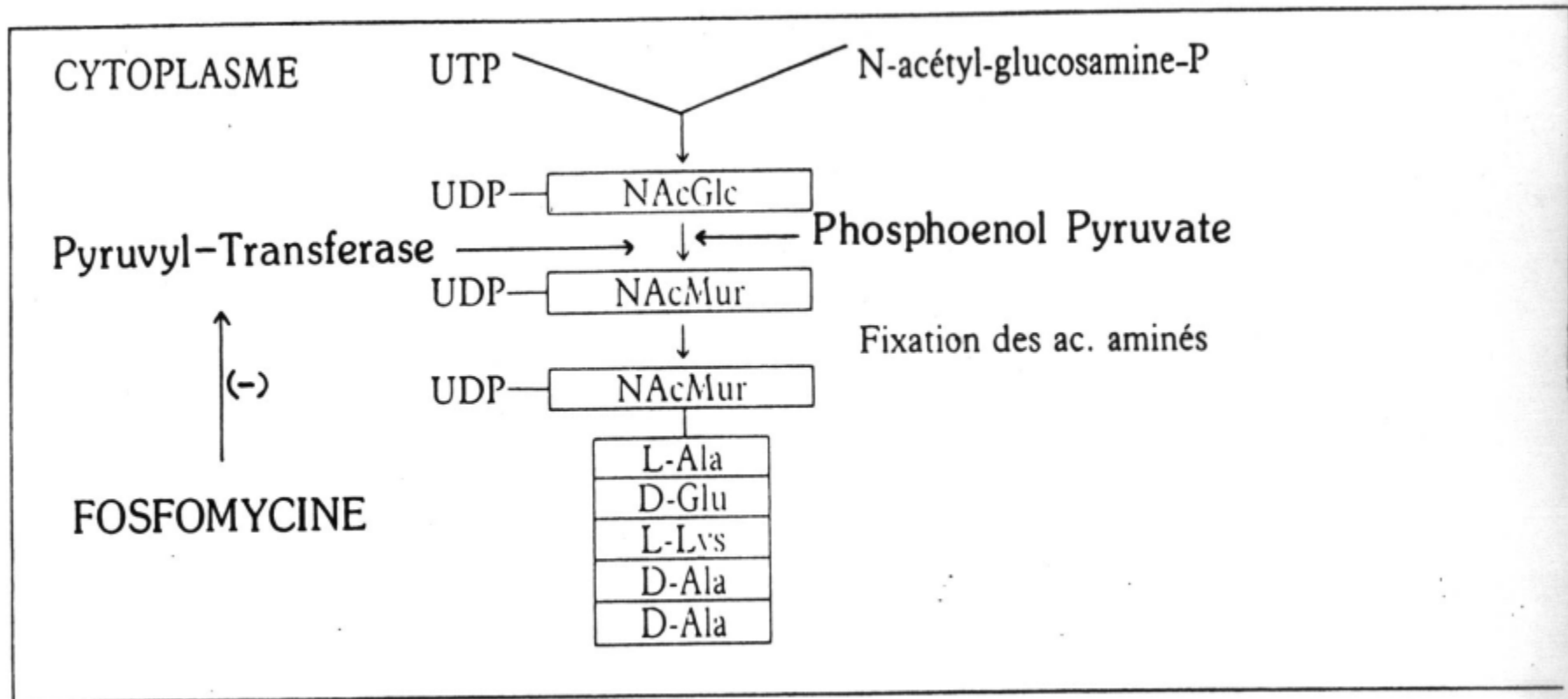
3 : Van B

4 : Van C

La fosfomycine

- **seul représentant de sa classe**
- **mécanisme d'action :**
 - ⊗ **inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne**
 - » **après pénétration dans le cytoplasme**
 - » **liaison dans le cytoplasme à la pyruvyl-transférase**
 - » **la formation du précurseur pentapeptidique est inhibée**
 - » **par conséquent : arrêt de la synthèse du peptidoglycane**

Mécanismes d'action et de résistance de la fosfomycine



Résistance aux aminosides

• Pénétration : membrane externe

- *P. aeruginosa*

• Pénétration membrane cytoplasmique

- Résistance naturelle
- Résistance acquise : *P. aeruginosa*, *S. aureus*

• Mutation cible ribosomale : rare

• Enzymes d'inactivation :

- Phosphotransférases : APH
- Nucléotidyltransférases : ANT
- Acétyltransférases : AAC

RESISTANCE NATURELLE AUX AMINOSIDES

- **1. Défaut de pénétration par absence de système actif du transport membranaire**
 - * anaérobies
 - * résistance à bas niveau des streptocoques
- **2. Synthèse naturelle d'enzymes inactivatrices : *Providencia stuartii***

AMINOSIDES - ENTEROBACTERIES

Entérobactéries naturellement sensibles sauf *Providencia*

4 mécanismes de résistance :

- * mutation des porines entravant la diffusion passive à travers la membrane externe**
- * mutation affectant le transport actif**
- * diminution de l'affinité**
- * sécrétion d'enzymes inactivatrices**

RESISTANCE AUX AMINOSIDES ACQUISE PAR INACTIVATION

- **Enzymes d'origine plasmidique**
- **3 CLASSES D'ENZYMES :**
 - * **acétylation d'un groupement aminé : AAC**
 - * **phosphorylation d'un groupement hydroxylé :
APH**
 - * **adénylylation d'un groupement hydroxylé : ANT**
- **PHENOTYPES DE RESISTANCE**

Aminosides et entérobactéries

ENZYMES	GENTA	TOBRA	NETRO	AMIKA
AAC 2'- I	R	R	R	S
AAC 3 - I	R	S	S	S
AAC 3 - II	R	R	R	S
AAC 6'- I	S	R	R	R
AAC 6'- II	R	R	R	S
ANT 2'- I	R	R	S	S
APH 3'- VI	S	S	S	R

AMINOSIDES ET STAPHYLOCOQUES

ENZYME	KANA = AMIKA	TOBRA	GENTA
APH 3'	R	S	S
ANT 4'	R	R	S
APH 2'' - AAC 6'	R	R	R

GENTA – R = AMINOSIDES - R

STREPTOCOQUES et AMINOSIDES

- *** BAS NIVEAU DE RESISTANCE**
dû à un transport actif inefficace à travers la membrane
- *** HAUT NIVEAU DE RESISTANCE**
 - rarement une mutation
 - acquisition d'enzymes inactivatrices

AMINOSIDES et STREPTOCOQUES

Haut niveau de résistance entraîne la perte de synergie avec les :

- **bêta-lactamines**
- **glycopeptides**

Tests avec des concentrations de 500 ou 1000 mg/l

Fluoroquinolones : mode d'action

- **1. Pénétration intracellulaire**
- **2. Concentration intrabactérienne**
- **3. Formation d'un complexe d'inhibition ADN – ADN gyrase – FQ**
- **4. Bactéricidie : arrêt de la réplication et de la synthèse de l'ARN**

Fluoroquinolones : résistance

1. Modification de la cible : chromosomique

- *GyrA* ou *ParC*
- 2 mutations = R_{sc}e à haut niveau

2. Diminution de la concentration intracellulaire

- Imperméabilité
- Efflux actif +++

3. Protection de la topoisomérase par une protéine « qnr » plasmidique

- FQ : CMI x 16-32
- Augmentation de la MPC x 10 !!!

4. Aminoside acétyltransférase AAC 6' :

RS bas niveau à NOR et CIP mais MPC x 10 !!

5. Pompe à efflux plasmidique : CMI NOR et CIP x 32-64

QUINOLONONES ET ENTEROBACTERIES

NAL	PEF	OFX	CIP	Mécanismes probables
S	S	S	S	phénotype normal
I	S	S	S	imper. modif. porine
R	S	S	S	
R	I	S	S	affin. ADN gyrase
R	R	S	S	assoc. de mécanismes
R	R	I	S	«
R	R	R	I	«
R	R	R	R	«

QUINOLONES ET STAPHYLOCOQUES

- **Résistance naturelle des staphylocoques aux quinolones de 1ère génération.**
- **Equivalence entre toutes les molécules de fluoroquinolones**
- **1 = TOUTES**

QUINOLONES ET PNEUMOCOQUES

- **Naturellement résistants aux :**
 - quinolones de 1ère génération
- **Peu sensibles aux fluoroquinolones**
 - comme Péflo, Oflo et Cipro
- **Sensibles aux quinolones de 3ème génération:**
 - lévoflo, moxiflo