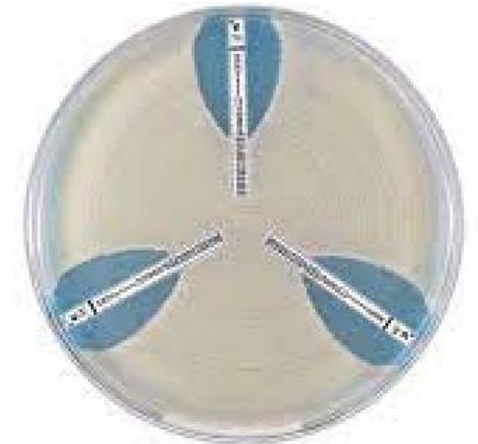
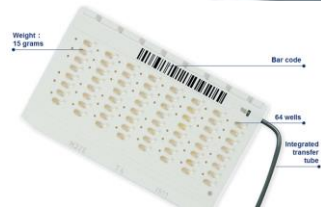


Aide du laboratoire de microbiologie pour le choix des antibiotiques



J Caillon MCU-PH Bactériologie, Nantes
DES-C Octobre 2023

Objectifs

- **Bonnes pratiques en antibiothérapie**
- **Interpréter un antibiogramme**
- **Comprendre**
 - **les mécanismes de résistance**
 - **leurs impacts sur le spectre d'activité des antibiotiques**

Méthodes d'étude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques

☞ **Antibiogramme: milieu gélosé**
(diffusion) avec mesure des diamètres



☞ **Automates (Vitek, Phoenix): milieu liquide**



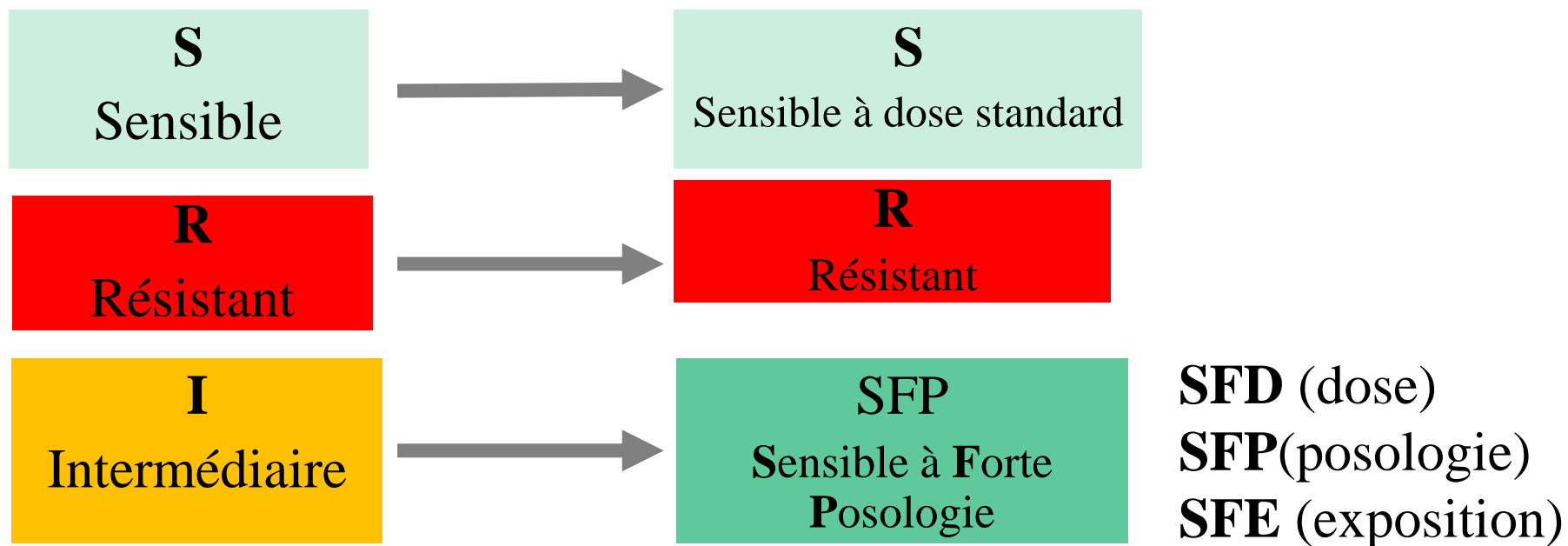
☞ **CMI: milieu gélosé**
Etest



☞ **CMI: Microdilution**
en milieu liquide



Modifications récentes du rendu des antibiogrammes (CASFM 2020-2021)



- **Notion : ZIT ou Zone d'Incertitude Technique** → variabilité des techniques (antibiogrammes et CMI)
- Concerne seulement de rares couples antibiotique-bactéries
- Ex: Pipéracilline/tazobactam et Ciprofloxacine

Résistance naturelle

Amoxicilline

Ticarcilline

Klebsielle

Achromobacter

- **Intrinsèque, innée**
- **Affecte toutes les souches d' une même espèce**
- **Chromosomique et constante**

« **Phénotype sauvage** »

Résistance acquise



E.coli



- Affecte une fraction des souches au sein d'une espèce bactérienne
« **Phénotype résistant** »
- **Résulte d'une modification génétique:**
 - Chromosomique **par mutation** (gène de régulation ou de structure)
 - **Extra-chromosomique = Acquisition** d'un gène de résistance

Résistances croisées

- Elles s'expriment au sein d'une **même classe** d'antibiotiques
- Elles sont dues au **même mécanisme** de résistance

Résistances associées

- Co-existence d' au moins 2 résistances qui touchent 2 classes d' antibiotiques
- Ce sont 2 mécanismes de résistance qui sont en cause



Antibiogramme d'un *E.coli* isolé dans les urines/contexte de pyélonéphrite

- Amoxicilline **R**
- Amoxicilline+ac clavulanique **S**
- Ticarcilline **R**
- Pipéracilline **S**
- Pipéracilline+tazobactam **S**
- Céfoxitine **S**
- Céfotaxime **S**
- Ceftazidime **S**
- Ertapénème **S**
- Imipénème **S**

Que pensez vous de cet antibiogramme? Correct?

Quel est le phénotype à votre avis?

E.coli

Phénotype Pénicillinase

- Amoxicilline **R**
- Amoxicilline+ac clavulanique **S**
- Ticarcilline **R**
- **Pipéracilline** ~~**S**~~ **R**
- Pipéracilline+tazobactam **S**
- Céfoxitine **S**
- Céfotaxime **S**
- Ceftazidime **S**
- Ertapénème **S**
- Imipénème **S**

Pénicillinase →
- Amoxicilline
- Ticarcilline
- Pipéracilline
 hydrolysées

Antibiogramme non correct

Antibiogramme d'un *E.coli* isolé d'hémoculture et dans les urines

• Amoxicilline	R	Quel Phénotype observez-vous ?
• Amoxicilline+ac clavulanique	S	
• Ticarcilline	R	
• Pipéracilline	R	
• Pipéracilline+tazobactam	S	Pénicillinase ?
• Céfoxitine	S	
• Céfotaxime	R	Autre?
• Ceftazidime	S	
• Ertapénème	S	
• Imipénème	S	

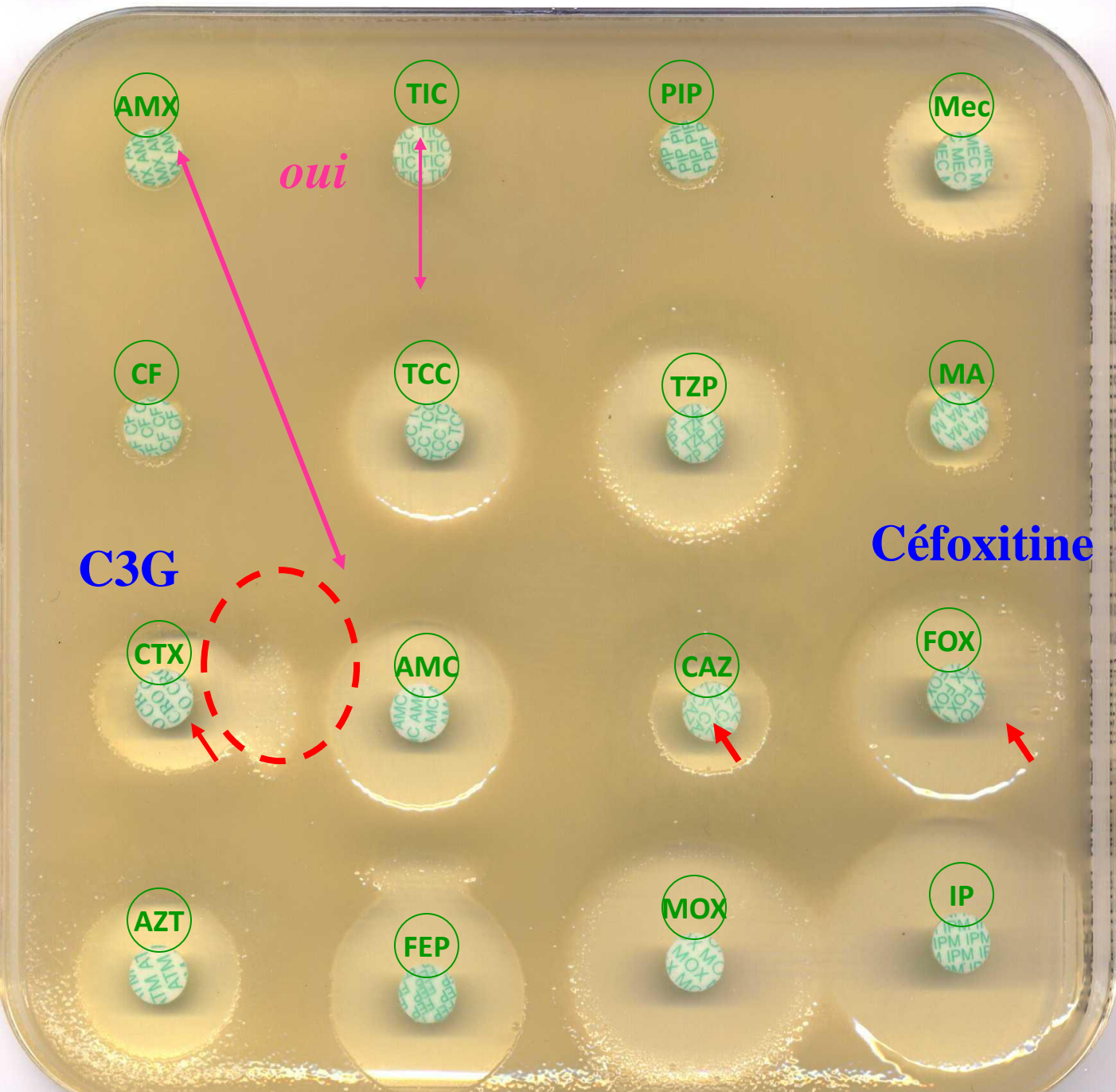
Antibiogramme d'un *E.coli* isolé d'hémoculture et dans les urines

• Amoxicilline	R	
• Amoxicilline+ac clavulanique	S	←
• Ticarcilline	R	
• Pipéracilline	R	BLSE
• Pipéracilline+tazobactam	S	
• Céfoxitine	S	
• Céfotaxime	R	
• Ceftazidime	S	
• Ertapénème	S	←
• Imipénème	S	

Phénotype BLSE

Phénotype BSLE

- **Mécanisme plasmidique** (transférable)
- **BMR +++**
- toutes les betalactamines sont +/- hydrolysées sauf la céfoxitine
- → CMI indispensables aux C3G et C4G qui restent sensibles
- Ne touche pas les carbapénèmes



Pénicillinase ?



BLSE

Céfoxitine

image en
bouchon de
champagne

Antibiogramme d'un *E.coli* isolé dans des urines

- Amoxicilline **R**
- Amoxicilline+ac clavulanique **R**
- Ticarcilline **R**
- Pipéracilline **R**
- Pipéracilline+tazobactam **R**
- Céfoxitine **R**
- Céfotaxime **R**
- Ceftazidime **R**
- Ertapénème **S**
- Imipénème **S**

**Quel Phénotype
observez-vous ?**

Pénicillinase?

BLSE?

Antibiogramme d'un *E.coli* isolé dans des urines

• Amoxicilline	R	
• Amoxicilline+ac clavulanique	R	←
• Ticarcilline	R	
• Pipéracilline	R	Céphalosporinase
• Pipéracilline+tazobactam	R	Haut niveau
• Céfoxitine	R	
• Céfotaxime	R	
• Ceftazidime	R	
• Ertapénème	S	←
• Imipénème	S	

Phénotype Céphalosporinase haut niveau

K.pneumoniae /urines

Que pensez vous de cet antibiogramme?

- Amoxicilline **R**
- Amoxicilline+ac clavulanique **S**
- Ticarcilline **S**
- Pipéracilline **S**
- Pipéracilline+tazobactam **S**
- Céfoxitine **S**
- Céfotaxime **S**
- Ceftazidime **S**
- Ertapénème **S**
- Imipénème **S**

Est-il correct?

K.pneumoniae Réponse : **NON**

- Amoxicilline **R**
- Amoxicilline+ac clavulanique **S**
- **Ticarcilline** ~~**S**~~ **R**
- **Pipéracilline** ~~**S**~~ **R**
- Pipéracilline+tazobactam **S**
- Céfoxitine **S**
- Céfotaxime **S**
- Ceftazidime **S**
- Ertapénème **S**
- Imipénème **S**

Résistance naturelle
Amoxicilline et
Ticarcilline

Pipéracilline
inactive aussi

Antibiogramme d'un *E.cloacae* isolé d'hémoculture

Que pensez vous de cet antibiogramme?

- Amoxicilline **R**
- Amoxicilline+ac clavulanique **R**
- Ticarcilline **S**
- Pipéracilline **S**
- Pipéracilline+tazobactam **S**
- Céfoxitine **R**
- Céfotaxime **S**
- Ceftazidime **S**
- Ertapénème **S**
- Imipénème **S**

Est-il correct?

OUI Phénotype sauvage

E.cloacae /ECBU

Que pensez vous de cet antibiogramme?

• Amoxicilline	R	
• Amoxicilline+ac clavulanique	R	
• Pipéracilline+tazobactam	R	Céphalosporinase
• Céfoxitine	R	Haut niveau
• Céfotaxime	R	
• Ceftazidime	R	Céphalosporinase
• Imipénème	S	Haut niveau
• Amkacine	S	
• Ac nalidixique	R	+
• Ciprofloxacine	S	BLSE

Pour différencier les 2 phénotypes il faut faire des tests complémentaires supplémentaires

Enterobactéries (Enterobacterales) et Quinolones

- Si R à l'acide nalidixique alors Ciprofloxacin peut être S?

OUI mais Attention augmentation de la CMI

- Si R Ciprofloxacin alors R à toutes les fluoroquinolones ?

OUI Résistance croisée

Antibiogramme d'une *K.pneumoniae* isolée dans des urines

Que pensez vous de cet antibiogramme?

- Amoxicilline **R**
- Amoxicilline+ac clavulanique **R**
- Ticarcilline **R**
- Pipéracilline+tazobactam **R**
- Céfoxitine **S**
- Céfotaxime **R**
- Ceftazidime **R**
- Ertapénème **R**
- Imipénème **S**

Antibiogramme d'une *K.pneumoniae* isolée dans des urines

Que pensez vous de cet antibiogramme?

- Amoxicilline **R**
- Amoxicilline+ac clavulanique **R**
- Ticarcilline **R**
- Pipéracilline+tazobactam **R**
- Céfoxitine **S**
- Céfotaxime **R**
- Ceftazidime **R**
- Ertapénème **R**
- Imipénème **S**

BLSE OUI
mais

Carbapénémase
Type OXA-48



Carbapénémase : EPC

- Si *E.coli* ou *Klebsielle* **Résistant** à Ertapénème et à Imipénème → Forte suspicion que la souche produise une carbapénémase **type KPC ou NDM**
- Si *Enterobacter* spp **Résistant** aux C3G et à Ertapénème et **Sensible** à Imipénème → Forte suspicion d'un mécanisme de résistance à l'ertapénème **par défaut de porine**

Pseudomonas aeruginosa



Phénotype sauvage

Résistance naturelle

- Amoxicilline (AMX)
- Augmentin® (AMC)
- CIG (CF), CIIG(Fox)
- Céfotaxime (CTX)
- Ceftriaxone
- Bactrim (SXT)

Sensibilité

- Ticarcilline (TIC)
- Pipéracilline (PIP)
- Ceftazidime (CAZ)
- Cefepime (FEP)
- Aztréonam (ATM)
- Imipenem (IPM)

Antibiogramme d'un *Pseudomonas aeruginosa* isolé dans un prélèvement respiratoire

•Ticarcilline	R	Quel phénotype évoquez-vous?
•Ticar+ac clavulanique	R	
•Pipe+tazobactam	R	
•Ceftazidime	R	
•Aztréonam	SFP	
•Imipénème	SFP	
•Tobramycine	S	
•Ciprofloxacine	SFP	

Hyperproduction de céphalosporinase (10% en France)

Isolement dans un lavage alvéolaire d'un *Pseudomonas aeruginosa* (PVAM)

Voici l'antibiogramme :

•Ticarcilline	R	Quel phénotype évoquez-vous?
•Ticar+ac clavulanique	R	
•Pipe+tazobactam	SFP	Céphalosporinase?
•Aztréonam	R	
•Ceftazidime	SFP	Efflux
•Ceftolozane-tazobactam	S	
•Imipénème	SFP	
•Amikacine	S	
•Ciprofloxacine	SFP	

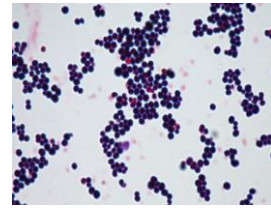
RÉPONSE : EFFLUX

- Ticar/ Ticar+ac clav/Aztréonam R → Efflux
- Hyperexpression du système d'efflux MexAB, OprM (résistances associées à d'autres antibiotiques (Ciprofloxacine))
- Ceftazidime / Pip+tazobactam : **SFP**
- Imipénème **SFP**

Pseudomonas aeruginosa principaux phénotypes

	Ticarcilline	Aztréonam	Ceftazidime	Imipenem
Sauvage	S (SFP)	S (SFP)	S (SFP)	S (SFP)
Céphalosporinase HN	R	R	R	S (SFP)
Efflux	R	R	S (SFP)	S (SFP)
Porine D2 (mutation)	S (SFP)	S (SFP)	S (SFP)	R

Que pensez vous de l'antibiogramme de *S.aureus* vis-à-vis des **Bêta-lactamines**?



- Pénicilline G **R**
- Oxacilline **S**
- Amoxicilline **S**
- Amox.+ac. clavulanique **S**
- Oracilline **S**
- Céfazoline **S**

Antibiogramme est il correct ?
Quel Phénotype évoquez-vous?

Antibiogramme correct: **NON**

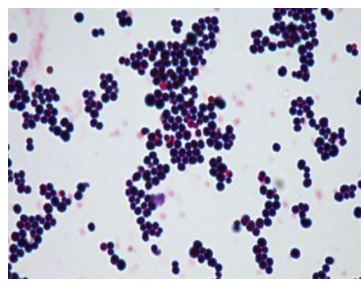
Phénotype « Pénicillinase » car Pénicilline G **R et Oxacilline **S****

- Pénicilline G **R**
- Oxacilline **S**
- **Amoxicilline** ~~**S**~~ **R**
- Amox.+ac. clavulanique **S**
- **Oracilline** ~~**S**~~ **R**
- Céfazoline **S**

Résistance par sécrétion de
Beta-lactamase (pénicillinase)

Résistance croisée aux

- pénicillines A (Amox),
- pénicillines V (Oracilline)
- carboxy (Ticar),
- uréidopenicillines (Pipéra)



Antibiogramme de *S.aureus*?

- Pénicilline G **R**
- Oxacilline **R**
- Amox.+ac. clavulanique **R**
- Imipénème **S → R**
- Vancomycine **S**
- Linézolide **S**

**Quel Phénotype
évoquez-vous?**

Phénotype « Méti-R → SARM

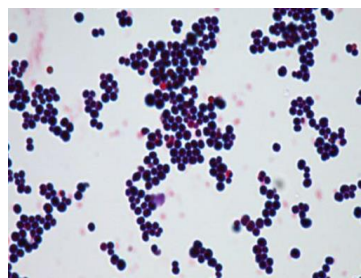
Modification de cible (PLP2a, gène *mecA* (additionnel))

Résistance croisée à toutes les bêtalactamines (pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes) sauf les 2 céphalo 4G (**Ceftaroline et Ceftobiprole**)

Mécanismes de résistance et Phénotypes de *S.aureus*/bêtalactamines

Mécanisme	Péniciline G, V, A, U	Amox/clavu Pip/Tazo	Oxacilline	Hopital
aucun	S	S	S	12%*
Pénicillinase	R	S	S	88%*
PLP2a	R	R	R	15,5%*

* Données réseau REUSSIR 2017



Aminosides / *S.aureus*

Que pensez vous de cet antibiogramme ?

- Pénicilline G **R**
- Oxacilline **R**
- Kanamycine **S**
- Tobramycine **R**
- Gentamicine **S**

Phénotype impossible :
Kana **S**
Tobra **R**
Genta **S**

Et l'amikacine ?

Activité **bactériostatique** conservée de l' amikacine

Mais **Perte de l'activité bactéricide**

	Kanamycine	Amikacine	Tobramycine	Gentamicine
Sauvage	S	S	S	S
K	R	R	S	S
KT	R	R	R	S
KTG	R	R	R	R

➔ **Lecture interprétative de l'antibiogramme**

➤ Quinolones

- Si **R** Levofloxacin alors **R** à toutes les fluoroquinolones
- **Résistance croisée** car même mécanisme

➤ Glycopeptides Vancomycine et Teicoplanine

☞ *S.aureus* Sensible

☞ CMI obligatoire (méthode en microdilution en milieu liquide (pas en E test)



➤ Dalbavancine

☞ *S.aureus* Sensible à vancomycine alors Sensible Dalbavancine

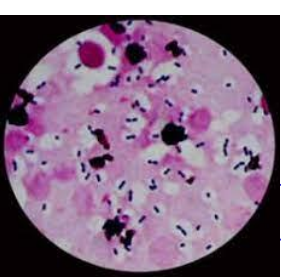


S.aureus et macrolides

Principaux phénotypes

		Erythro	Clinda	Pristina
Modification de la cible	MLS _b Inductible (antagonisme)	R	S	S
	MLS_b constitutif	R	R	S
Efflux	S _A (pas d'antagonisme)	R	S	S
Inactivation	L, LS _A	S	I/R	I

NB: En cas d'efflux rares échecs cliniques par sélection de mutants R



Pneumocoque

Patient avec une bactériémie et une pneumonie
à *Streptococcus pneumoniae*

Antibiogramme

- Pénicilline G **SFP** CMI = 1 mg/L
- Amoxicilline **SFP** CMI = 1,5 mg/L
- Céfotaxime **S** CMI = 0,5 mg/L
- Erythromycine **R**

Quel phénotype évoquez-vous ?
Quel mécanisme suspectez-vous?

Phénotype de Sensibilité Diminuée à la Pénicilline (PSDP)

Mécanisme d'acquisition de gènes mosaïques codant pour des PLP de faible affinité pour les B-lactamines

→ Résistance croisée

→ Expression à des niveaux différents/Antibiotiques

→ CMI

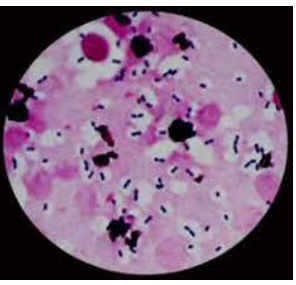
Interprétation selon le contexte clinique

*Pneumonie

- Amoxicilline: **S** CMI ≤ 1 mg/L
R CMI > 2 mg/L
- Céfotaxime : **S** CMI $\leq 0,5$ mg/L
R CMI > 2 mg/L

*Autres situations

- Amoxicilline: **S** CMI $\leq 0,5$ mg/L
R CMI $> 0,5$ mg/L
- Céfotaxime : **S** CMI $\leq 0,5$ mg/L
R CMI $> 0,5$ mg/L



Pneumocoque et Fluoroquinolones

- **Quels sont les fluoroquinolones actives sur *S.pneumoniae*?**

- Ofloxacin
- Ciprofloxacin
- Levofloxacin
- Moxifloxacin
- Norfloxacin

Levofloxacin (CMI 0,5)

Moxifloxacin (CMI 0,25)



Enterococcus faecalis

Quelles sont les bêtalactamines actives?

- Oxacilline **NON**
- Amoxicilline **OUI**
- Ticarcilline **NON**
- Pipéracilline **OUI**

- Ceftriaxone **NON**
- Imipénème **OUI**
- Ertapénème **NON**
- Aztréonam **NON**

Isolement d'un *Enterococcus faecium* dans une hémoculture

- Amoxicilline **R**
- Cefotaxime **R**
- Vancomycine **S**
- Erythromycine **R**
- Gentamicine absence de résistance de haut niveau
- Linézolide **S**

Quel Phénotype évoquez-vous?

Réponse

- **Phénotype de résistance acquise**
- Hyperproduction de la PLP5
- Résistance croisée à toutes les bêta-lactamines

ENTEROCOQUE

Glycopeptides (Vancomycine, Teicoplanine)

* Sensibles

* < 5 % *E.faecium* et *E.faecalis* résistants

Phénotype vanA ==> **R** Vanco et **R** Teico (inductible)

Phénotype vanB ==> **R** Vanco, **S** Teico (inductible)

Phénotype vanD ==> **R** Vanco, **S** Teico (constitutive)

QUIZZ

Parmi les propositions suivantes, laquelle ou lesquelles sont exactes?

Une Souche de *S.aureus* *R* pénicilline *G et S* oxacilline est

A) résistante à l'amoxicilline mais sensible à la pipéracilline

VRAI B) sensible aux associations bêtalactamines plus inhibiteurs

C) sensible à l'oracilline

VRAI D) sensible aux céphalosporines de première génération

VRAI E) résistante aux pénicillines par sécrétion de bêtalactamase

Parmi les propositions suivantes concernant *S.aureus* entourez la ou les réponses exactes?

Faux A) Toutes les bêta-lactamines sont inactives sur les souches de *S.aureus* résistantes à l'oxacilline

Faux B) Si *S.aureus* résistante à la tobramycine et à la gentamicine alors l'amikacine pourrait être associée à la vancomycine

Vrai C) Si *S.aureus* résistant à l'ofloxacinolone alors il est résistant à la levofloxacinolone

Faux D) Si *S.aureus* résistant à l'érythromycine, alors il ne faut jamais utiliser les autres macrolides et apparentés

Faux E) *S.aureus* est résistant à l'oxacilline par sécrétion de bêtalactamase

Parmi les propositions suivantes concernant *Streptococcus pneumoniae* entourez la ou les réponses exactes?

- Faux** A) Si *Streptococcus pneumoniae* résistant à la pénicilline G alors il ne faut jamais prescrire l'amoxicilline
- Vrai** B) Si *Streptococcus pneumoniae* résistant à la pénicilline G, les C3G sont très souvent actives sur le pneumocoque
- Vrai** C) *Enterococcus faecalis* est toujours sensible à l'amoxicilline
- Faux** D) *Enterococcus faecium* est résistant à l'amoxicilline par production de betalactamase
- Vrai** E) La gentamicine est l'aminoside le plus actif sur les Gram positif

Parmi les propositions suivantes concernant l'antibiogramme d'*Escherichia coli* entourez la ou les réponses exactes? ECBU (Pyélonéphrite)

• S céfoxitine R céfotaxime S imipénème
Quel est le mécanisme de résistance le plus probable ?

A1) Pénicillinase haut niveau

A2) BLSE

A3) Céphalosporinase de Haut niveau

Vrai

Parmi les antibiotiques ci-dessous lequel ou lesquels peuvent être prescrits ?

B1) Pivmécillinam S

→ B2) Cefoxitine S

B3) Ceftazidime I

B4) Ofloxacin I et Ac nalidixique R

→ B5) Imipénème S

Take home

Résistances naturelles : " liaisons fatales "

Gram positif et **Aztréonam** Ou.. **Gram positif** et **Colistine**

Entérocoque et *Listeria* et **Céphalosporines**.

Entérocoque et **Sulfamides**.

Listeria et **Fluoroquinolones**

Streptocoques et **Aminosides** seuls

Gram négatif et **Vancomycine**

Entérobactéries et **Pénicilline G, Oxacilline**

Entérobactéries et **les Macrolides et apparentés, Rifampicine**

Colistine et *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*, *Serratia*,

P.aeruginosa et **Céfotaxime/Ceftriaxone**

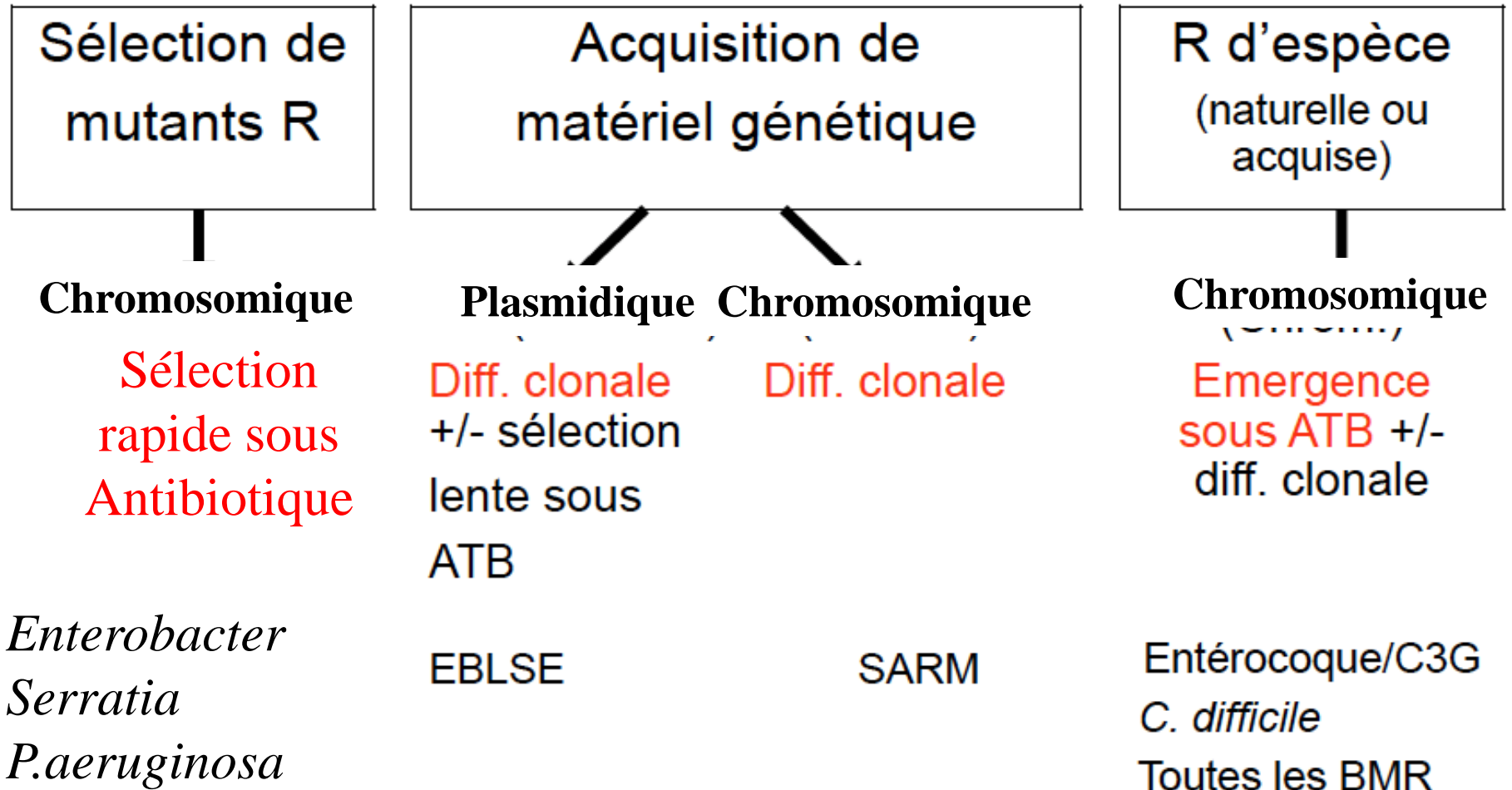
S. maltophilia et **carbapénème (Imipénème, Méropénème)**

Campylobacter et **Aztréonam**, ou **Synergistines (pristinamycine)**

Anaérobies et **Aminosides**

Propionibacterium, *Actinomyces* et **Métronidazole**

Mécanismes de la résistance aux antibiotiques



BONUS

Entérobactéries/ *Enterobacterales*

Groupe	Espèces	Enzyme chromosomique
0	<i>Proteus mirabilis, Salmonella</i>	Aucune
1	<i>E.coli, Shigella</i>	Céphalosporinase non inductible bas niveau
2	<i>Klebsielle, Citrobacter koseri</i>	Pénicillinase
3	<i>Enterobacter, Citrobacter freundii, Serratia, Morganella, Hafnia</i>	Céphalosporinase inductible Résistant aux inhibiteurs
4	<i>Yersinia</i>	Pase et Case
5	<i>Proteus vulgaris, P.penneri</i>	Céfuroximase Sensible aux inhibiteurs
6	<i>Kluyvera, Rhanella,</i>	BLSE chromosomique

Entérobactéries: Résistances naturelles

	Gpe 0 <i>P.mirabilis</i>	Gpe 1 <i>E.coli</i>	Gpe 2 <i>Klebsielle</i>	Gpe 3 <i>Enterobacter</i>	Gpe 4	Gpe 5
Amox	S	S	R	R	R	R
Amox+a c clav.	S	S	S	R	R	S
Ticar	S	S	R	S	R	S
Pipéra	S	S	I	S	R	S
C1G	S	S/I	S	R	R	R

Références

- CASFM 2023 : Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie 2023 (<https://www.sfm-microbiologie.org>)