

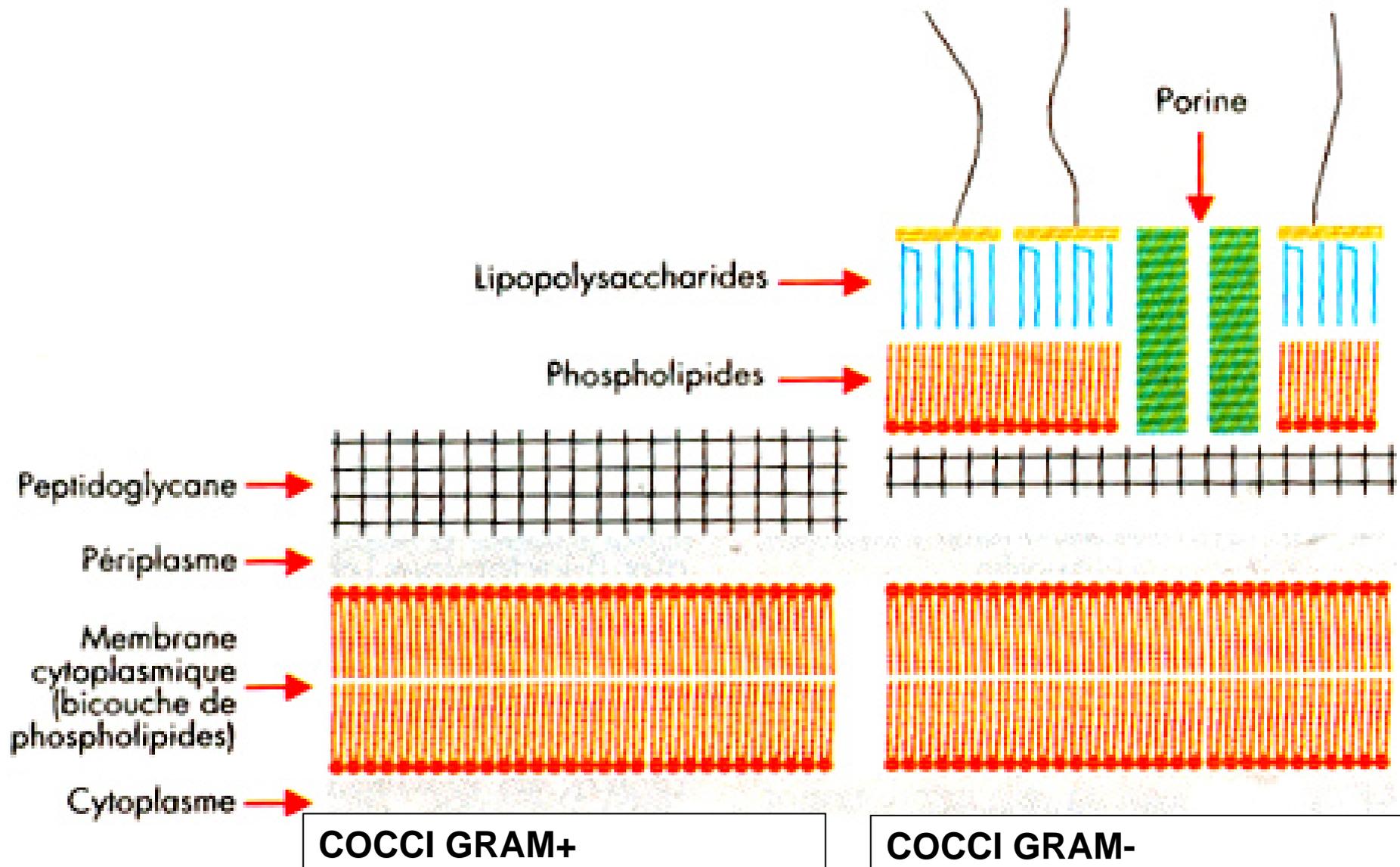
# Mécanismes de résistance bactérienne aux:

Aminosides

Fluoroquinolones

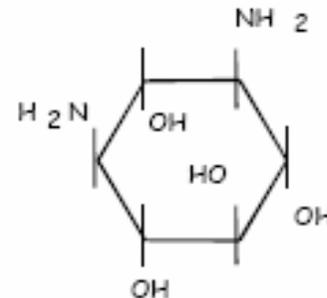
Glycopeptides

# STRUCTURE PARIETALE



# Aminosides: Structure

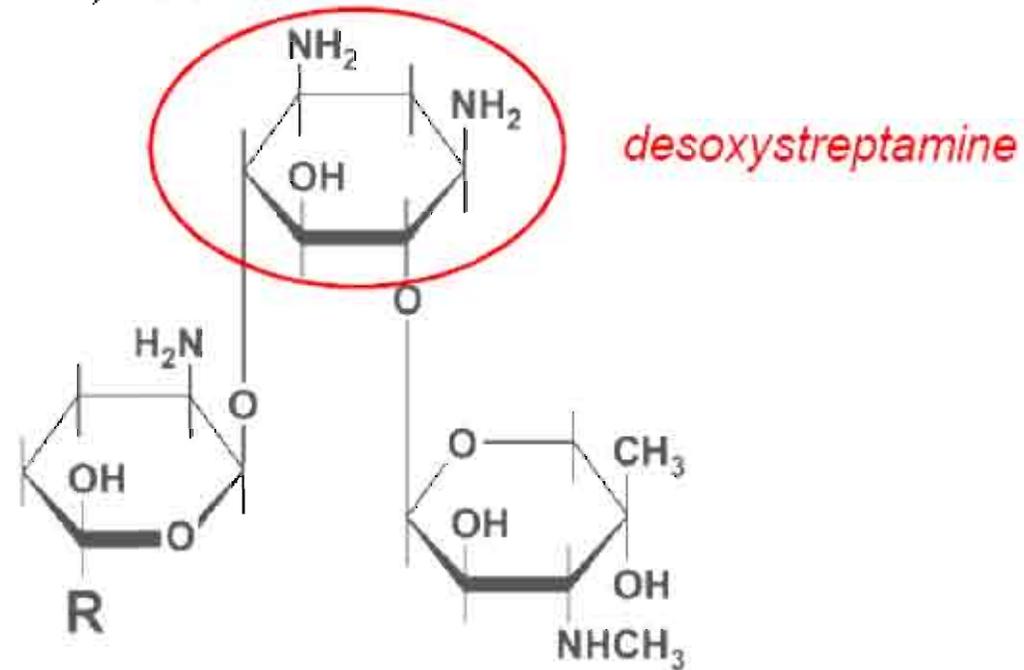
Aminoglycosides = sucres aminés liés par des ponts glycosidiques à un noyau central aminocyclitol (streptamine).



De ce noyau dérivent deux grands groupes:

<p>Groupe streptidine</p>	<p>Groupe desoxy-streptamine</p>
<p>Streptomycine</p>	<p><i>Substitués en 4, 5: gp néomycine</i> Néomycine, Soframycine</p>
	<p><i>Substitués en 4, 6: gp kanamycine</i> Kanamycine, Amikacine, Tobramycine, Gentamicine</p>

Exemple de la Gentamicine: origine naturelle. Utilisée sous forme de mélange: molécules C1a, C1 et C2



gentamicine :

R :

C1A

—CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>

C2

—CH(CH<sub>3</sub>)NH<sub>2</sub>

C1

—CH(CH<sub>3</sub>)NHCH<sub>3</sub>



# Classification des Aminosides

## Naturels

- Streptomycine (anti-tuberculeux) IV
- Kanamycine (réservé à l'exportation) IV
- **Gentamicine** (H) IV
- Néomycine (trop toxique par voie orale ou parentérale) local
- **Tobramycine** IV ou nébulisation
- Micronomicine collyre
- Soframycine local

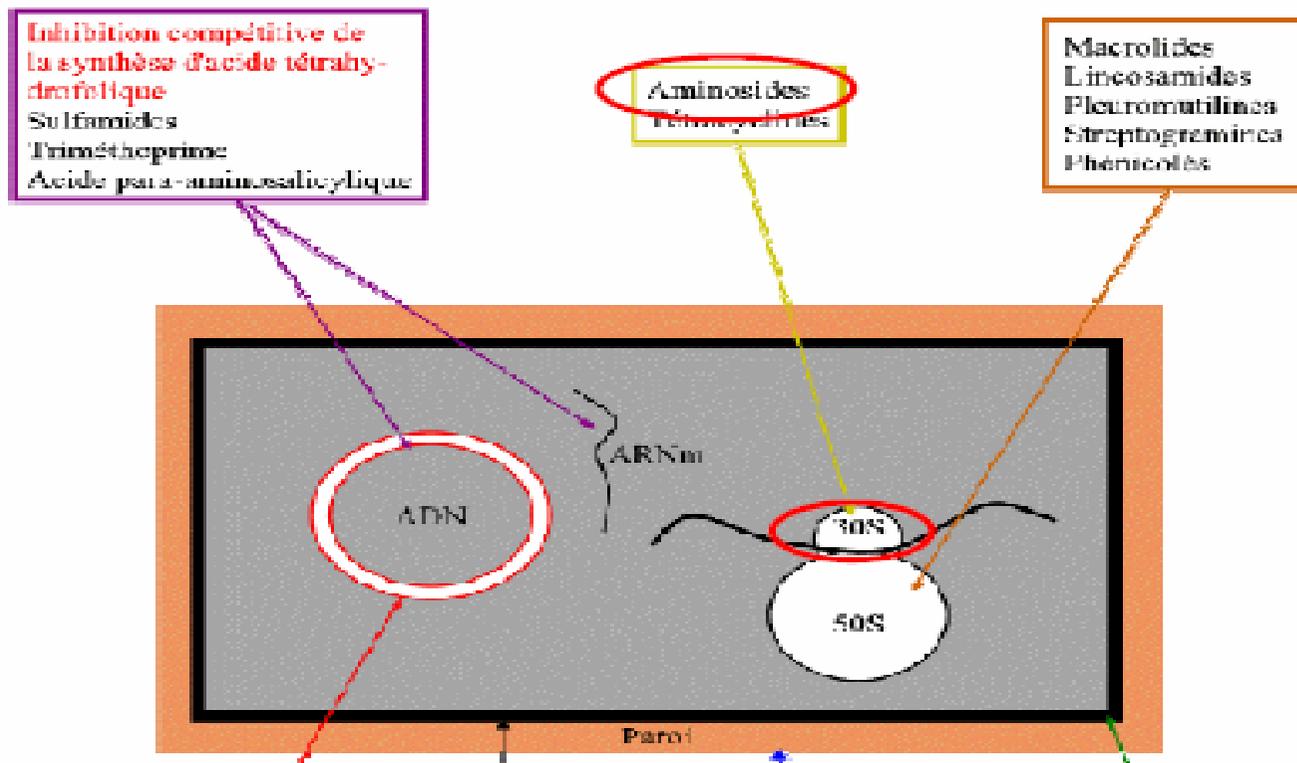
## Hémisynthétiques

- **Amikacine** IV
  - Netilmicine IV
  - Isépamycine IV
  - Spectinomycine (apparenté aux aminosides → ttt des gonococcies) IM
-

# Aminosides: mode d'action

- Cible: ribosome, mais effets pléiotropes s'exerçant :
  - - Membrane externe (ME)
  - - Membrane cytoplasmique (MC)
  - - Complexe d'initiation de la réplication de l'ADN
- **1<sup>er</sup> obstacle: Pénétration à travers ME**
  - - Porines
  - - De par leur caractère polycationique, aminosides déplaceraient les ions  $Mg^{++}$  assurant le pontage des groupements phosphate du LPS de la ME
  - En perturbant l'intégrité du LPS seraient capables d'auto-amorcer leur passage de la ME
- **2<sup>ème</sup> obstacle: Pénétration à travers Membrane cytoplasmique**
  - Antibiotiques très hydrophiles, ne peuvent traverser la MC par diffusion passive
  - Mais par un processus requérant de **l'énergie**
  - 2 phases énergies –dépendantes sont individualisées, elles sont conditionnées par la composante électrique de la force proton-motrice, celle-ci dépendant de du fonctionnement de **la chaîne respiratoire et de l'ATPase translocatrice de proton  $-(H^+)$**
  - → Ce mécanisme actif de pénétration explique pourquoi les bactéries dépourvues des enzymes de la chaîne respiratoire sont pas ou peu sensibles aux aminosides:
    - anaérobies strictes (*Clostridium*), anaérobies tolérant l'O<sub>2</sub> (streptocoque)

- **Streptomycine** : site fixation unique ; protéine S12
- **Les autres aminosides** : plusieurs sites de fixation ribosomiaux
- Inhibiteurs de la  $\Sigma$  protéines:
- Inhibent la traduction aux stades d'initiation, élongation et de terminaison



# Aminosides: spectre

- large spectre anti-bactérien: BGP et BGN, seules les bactéries **anaérobies strictes** échappent naturellement à leur activité
- Bactéricides à large spectre sauf spectinomycine (gonocoque)

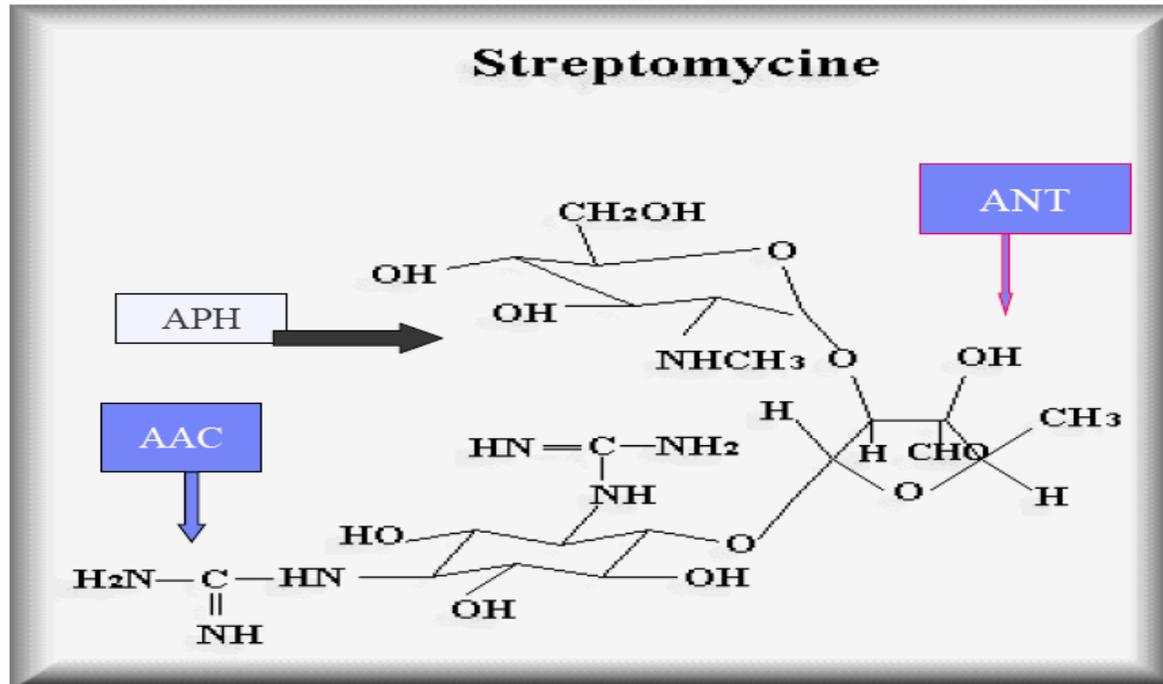
# Mécanismes de résistance

- Modification enzymatique
- Réduction de l'accumulation intracytoplasmique
  - imperméabilité
  - export
- Altération de la cible

# 1- Modification enzymatique +++

- enzymes codées par des plasmide ou transposons
- 3 classes enzymatiques /fonction de la réaction catalysée:
  - Aminoside N-acétyltransférase (AAC) → acétylation d'un groupement NH<sub>2</sub>
  - Aminoside O-phosphotransférase (APH) → phosphorylation d'un groupement OH
  - Aminoside O-nucléotidyltransférase (ANT) → nucléotidylation d'un groupement OH

Sites de modification d'aminosides par les enzymes: AAC ,  
ANT et APH



AAC=Aminoside acétyl  
Transférase

APH = Aminoside  
phosphotransférase

ANT= Aminoside  
nucléotidyltransférase

- Plusieurs sous-classes : selon site atteint
- Lorsqu'un aminoside est modifié par des enzymes → sa fixation sur l'ARN16S peut être affectée et se traduire par la perte de son activité
- Chaque enzyme reconnaît un certain nombre d'aminosides qu'elle modifie  
⇒ profil de substrat ⇒ phénotype de résistance
- un même aminoside peut être modifié par des enzymes distinctes

👉 Le niveau de résistance qui en résulte varie selon:

- classe d'enzymes (les APH → haut niveau R % ANT et AAC)
- bactérie hôte: une enzyme peut conférer une résistance faible dans une espèce et plus aisément détectable dans une autre
- aminoside: CMI de l'amikacine sont nettement plus basses que celles de la nétilmicine ou tobramycine pour les souches produisant AAC(6')

Expression faible ⇒ risque erreurs interprétation

- Une souche : produire une enzyme ou plus
- Si une seule enzyme : déduire génotype du phénotype
- 2 enzymes ou plus : phénotypes composites  
⇒ génotype ? ?

**Profil des résistances enzymatiques plasmidiques aux aminoglycosides.**

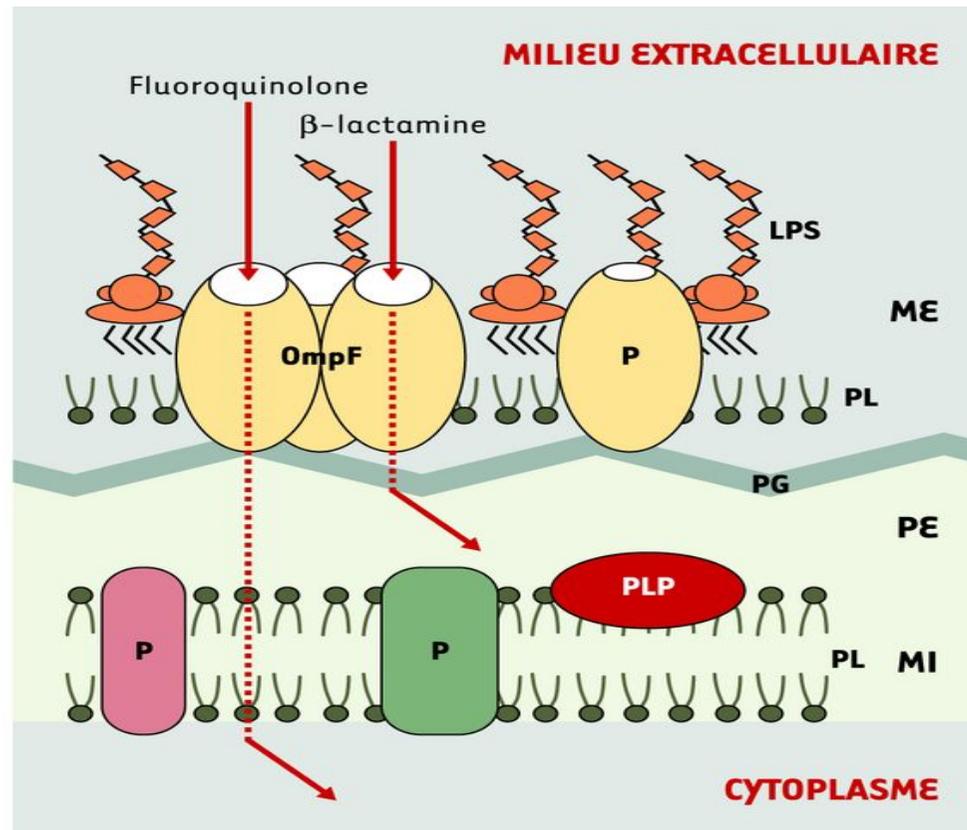
Aminoglycosides	Phosphotransférase (APH)					Nucléotidyltransférase (ANT)					Acétyltransférase (AAC)		
	(6)	(3')	(2'')	(3''')	(5''')	(6)	(9)	(2'')	(3''')	(4')	(3)	(2')	(6')
Néomycine B	-	+	-	-	±	-	-	-	-	+	±	±	+
Paromycine	-	+	-	-	±	-	-	-	-	+	-	±	+
Butirosine	-	±	-	-	±	-	-	-	-	+	±	-	+
Kanamycine A	-	+	±	-	±	-	-	+	-	+	+	±	±
Kanamycine B	+	+	±	-	-	+	-	+	-	+	+	±	+
Kanamycine C	+	+	±	-	-	+	-	+	-	+	+	±	+
Gentamicine C1a	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+
Gentamicine C1	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	-
Gentamicine C2	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+
Sisomicine	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	±	+	+
Tobramycine	+	-	±	-	-	+	-	+	-	+	+	±	+
Amikacine	+	±	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+
Dibékacine	+	-	±	-	-	+	-	+	-	-	+	±	+
Nétilmicine	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	±	+	+
Streptomycine	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-
Spectinomycine	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-

+ : souche résistante ; ± : résistance variable, de niveau habituellement faible ; - : souche sensible

## 2- Réduction de l'accumulation intra- cytoplasmique :

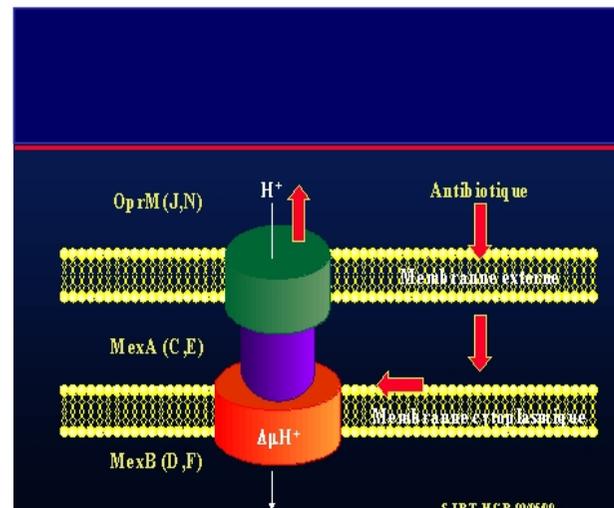
### A- Altération de la pénétration à travers les porines

- Réduction des  $\phi$  inhibition de tous aminosides (bas niveau)
- Mutations affectent :
  - Porines : *Serratia* ; OmpF
  - Structure LPS : *P aeruginosa*
- $\Rightarrow$  généralement : R croisées  $\beta$ -lactamines



## B- Transport actif : mutations

- $\Rightarrow \downarrow$ ° accumulation ATB  $\not\subset$
- $\Rightarrow$  R croisée tous aminosides (*P. aeruginosa* et *E. coli*)
- pompes d'efflux ubiquistes cependant les aminosides sont rarement substrats de ces pompes
- identifiées chez *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *Burkholderia*
- Sont strictement régulés et confèrent un bas niveau de résistance, si mutation surexpression et augmentation du niveau de résistance



### 3- Modification de la cible (ARN 16S): mutations rares

☞ Restreint par l'existence de plusieurs copies de l'opéron ARN ribosomal par bactérie: *E.coli* héberge 7 copies de cet opéron

- Ce mécanisme concerne

❖ bactéries possédant un faible Nb de copies de l'opéron ARNr  
(*M.tuberculosis*, 1 seule copie)

❖ streptomycine: site de fixation unique ( protéine ribosomale S12)  
Mutation S12 → R isolée streptomycine

❖ Autres aminosides : plusieurs sites de fixation non chevauchants →  
mutants résistants sont rares car leur sélection implique des mutations  
multiples

⇒ rares, ⇒ HNR, pas de R croisées

• La résistance à la spectinomycine chez *N.gonorrhoeae*

# Phénotypes de résistance chez les Staphylocoques

Molécules à tester: Km, Tm, Gm, Am, Net

K→Am, Gm → Nét

5 phénotypes pures	5 phénotypes composites
<b>Phénotype sauvage ou sensible</b>	Sm + KmNm+ KmGmTm,
<b>Phénotype Sm</b> APH(3'') ou ANT(3'')	Sm + KmNm
<b>Phénotype KmNm (Am-Is)</b> APH(3')-III	Sm+ KmTm
<b>Phénotype KmTm (Nm-Am- Is)</b> ANT(4')(4'')-I	Sm + KmGmTm
<b>Phénotype KmGmTm</b> APH(2'')-I	KmNm+ KmGmTm

# Streptocoques, Pneumocoque et Entérocoques

- résistance naturelle de bas niveau (**BNR**) à tous les aminoglycosides (CMI de 4 à 256mg/l)
- sensibles à de hautes concentrations d'aminosides ( $\geq 1000$  mg/l)
- ☞ qui n'empêche pas d'obtenir un effet synergique bactéricide entre un aminoglycoside et un ATB qui inhibe la  $\Sigma$  de la paroi bactérienne
- L'acquisition d'un haut niveau de résistance (**HNR**) (CMI  $> 1000$ mg/l):
  - - altération de la cible ribosomale: (rare, lié à des mutations)
  - soit par l'acquisition de gènes plasmidiques ou transposables codant pour la synthèse d'enzymes modificatrices:
- ☞ suppression de la synergie entre les pénicillines ou les glycopeptides avec les aminosides

- HNR → détecté par disques fortement chargés:
  - streptomycine (500 µg)
  - kanamycine (1000 µg)
  - gentamicine (500 µg),

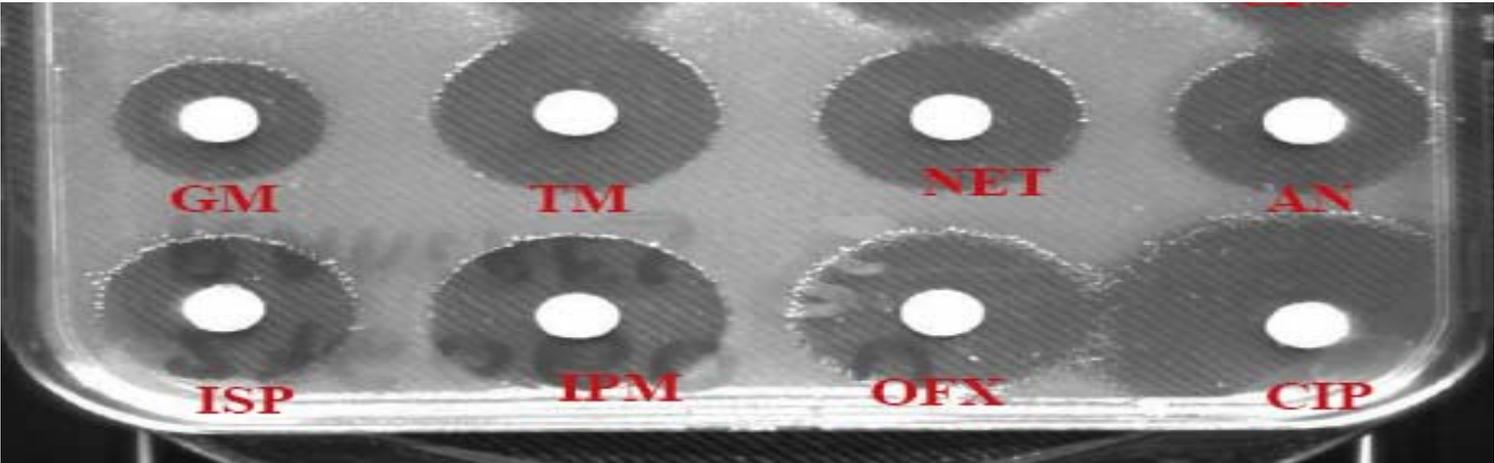
### Interprétation des résultats :

- SBNR, KBNR et GBNR : synergie possible avec les pénicillines ou les glycopeptides en cas de sensibilité à ces ATB
- **SHNR**: streptomycine ne peut être utilisée.
- **KHNR**: Kanamycine, Amikacine , et isépamicine ne peuvent être utilisées.
- **GHNR**:résistance croisée à tous les aminosides:
- Les combinaisons SHNR + KHNR, KHNR + GHNR et SHNR + KHNR + GHNR sont possibles.

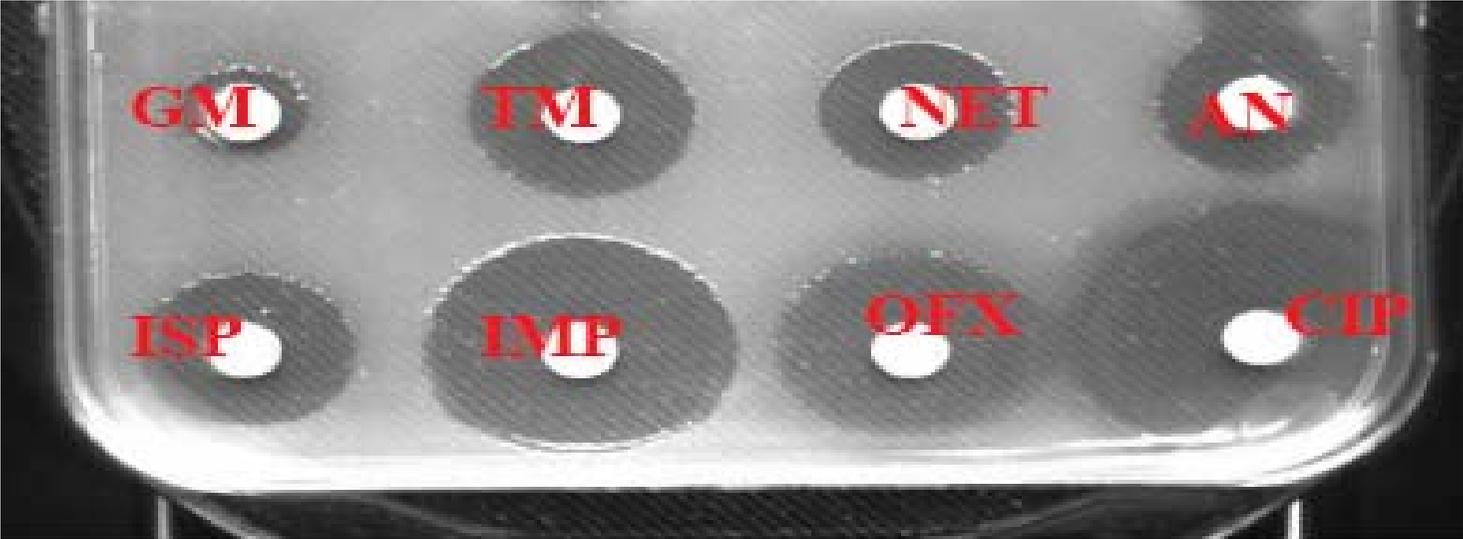
# Phénotypes de résistance chez entérobactéries

- **Aminosides**
- Anaérobiose, acidité, forte C° en NaCl, teneur en cations divalents
- → contrarient l'activité des aminosides
- **Entérobactéries**
- Aminosides utilisés: Am, Tm, Km, Nét, Gm
- Entérobactéries sensibles sauf:
  - *Serratia marcescens* AAC (6') naturelle R Km Tm Nét Am :
  - *Providencia spp* : AAC(2')-I R Gm, Tm, Nét
- Souches sensibles: Diamètre >20mm
- Si Ø réduits (même s'ils demeurent supérieurs aux diamètres critiques bas recommandés par la CA-SFM sera suspect de posséder un mécanisme de résistance

Entérobactéries: aminoside Phénotype sauvage



Diminution de perméabilité



- **Présence d'une seule enzyme :**

Phénotypes résistants	Enzyme
<b>S</b> <b>K</b> <b>G</b> <b>KGT</b> <b>KGTnt</b> <b>KTntA</b> <b>GTnt</b>	<b>APH(3'') ou ANT(3'')</b> <b>APH(3')-I plus rarement II</b> <b>AAC(3)-I</b> <b>ANT(2'')</b> <b>AAC(3)-II ou V</b> <b>AAC(6')-III<sup>2</sup></b> <b>AAC(2')</b>

- **Présence d'au moins deux enzymes : interprétation!**

# Quinolones & Fluoroquinolones

## Définition & structure

Composés antibactériens de synthèse

- **Première génération ou classiques:**

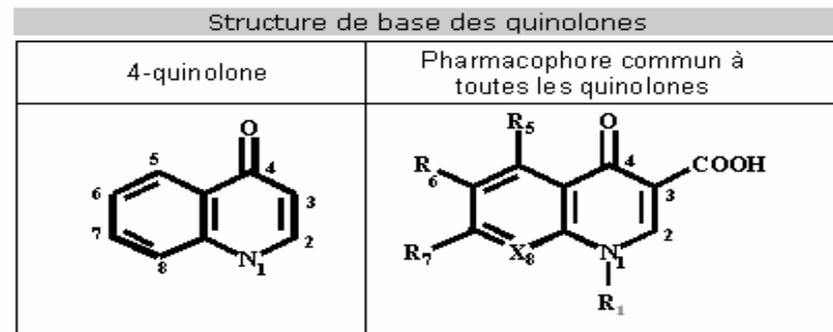
chef de file: acide nalidixique (1962)

-un cycle pyridine, dont l'azote peut être diversement substitué

-Fonction cétone en 4 et un groupement carboxylique en 3,

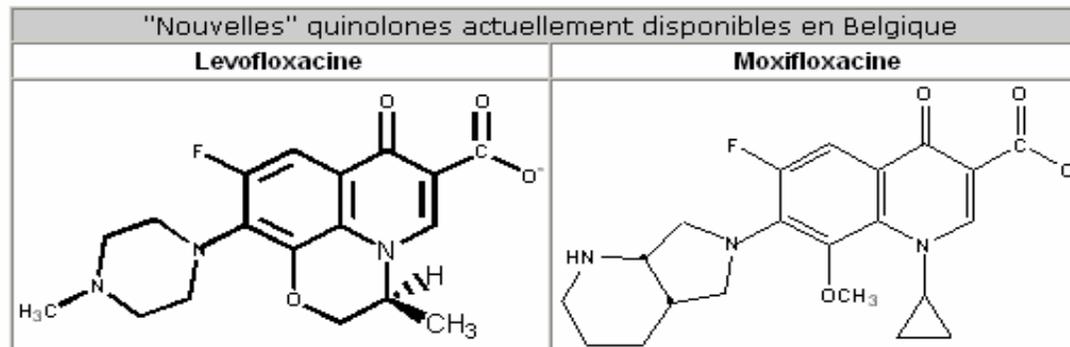
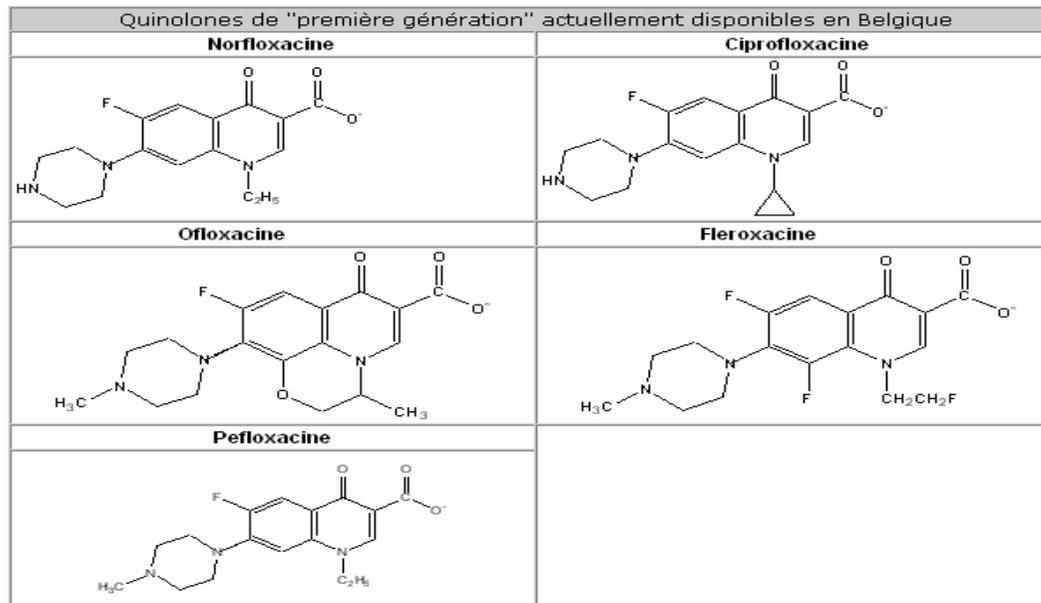
-ce cycle est accolé à une autre cycle aromatique variable

☛ Spectre étroit et pptés pharmaco-cinétiques → IU de l'adulte à entérobactéries sensibles



- **Fluoroquinolones: 1980**

Atome de fluor en 6 et un cycle azoté



- Produits spécifiquement **urinaires**: énoxacine, loméfloxacine, norfloxacine
- **Systemiques**: ofloxacine, pefloxacine ciprofloxacine  
Activité intrinsèque supérieure sur entérobactéries, actifs sur la staphylocoques, *P.aeruginosa*
- Arrivée de nouvelles FQ (lévofloxacine, moxifloxacine) → nouvel élargissement des indications essentiellement aux infections **Respiratoires**: activité accrue sur pneumocoques (PSDP) mais sans amélioration des performances vis-à-vis des BGN

# Mode d'action

## 1- Transport transmembranaire

Porines +++ (OmpF entérobactéries et OprD *P.aeruginosa*)

2- **Cible intracytoplasmique**: enzymes essentielles topoisomérases dont la fonction est de réguler la topologie de l'ADN pour en permettre la réplication

- **Topoisomérase II** ou **ADN-gyrase** (identifiée en 1976)

surenroulement de l'ADN

2 sous-unités A (Gyr A) et 2 sous-unités B (Gyr B)

Codées : 2 gènes *gyrA* et *gyrB*

- **Topoisomérase IV**: (1990), constitue une 2<sup>ème</sup> cible

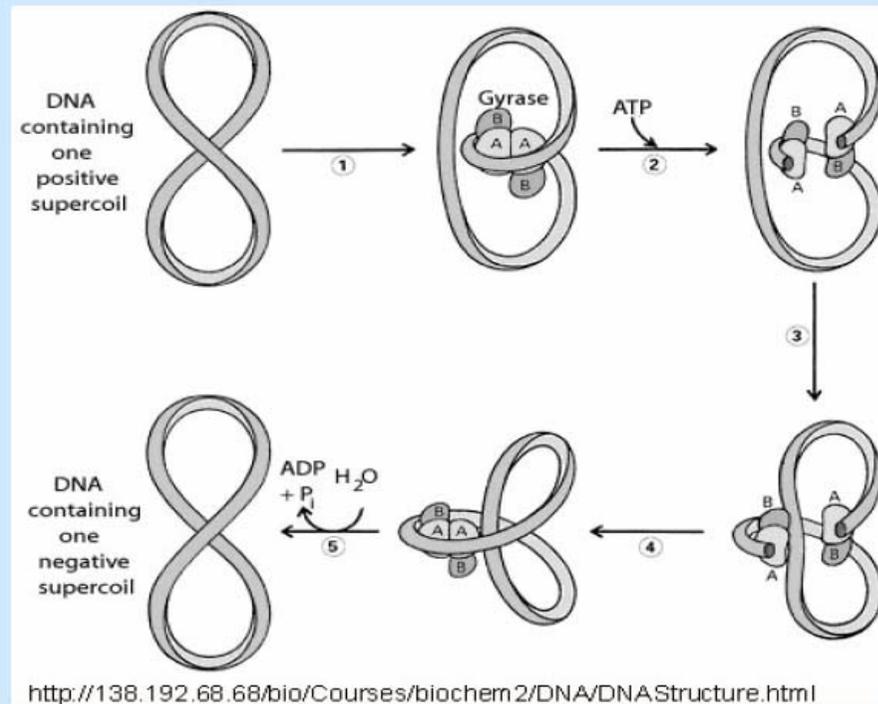
40% de similitude avec Gyrase

2 sous-unités C (ParC) et 2 sous-unités E (ParE)

codées: 2 gènes *parC* et *parE*

Semble avoir un rôle spécifique: empêcher le désenchevêtrement des ADN fils en fin de réplication

## Rôle de l'ADN Gyrase (sous unité A et B)



Coupure-ligation  
des 2 brins  
d'ADN

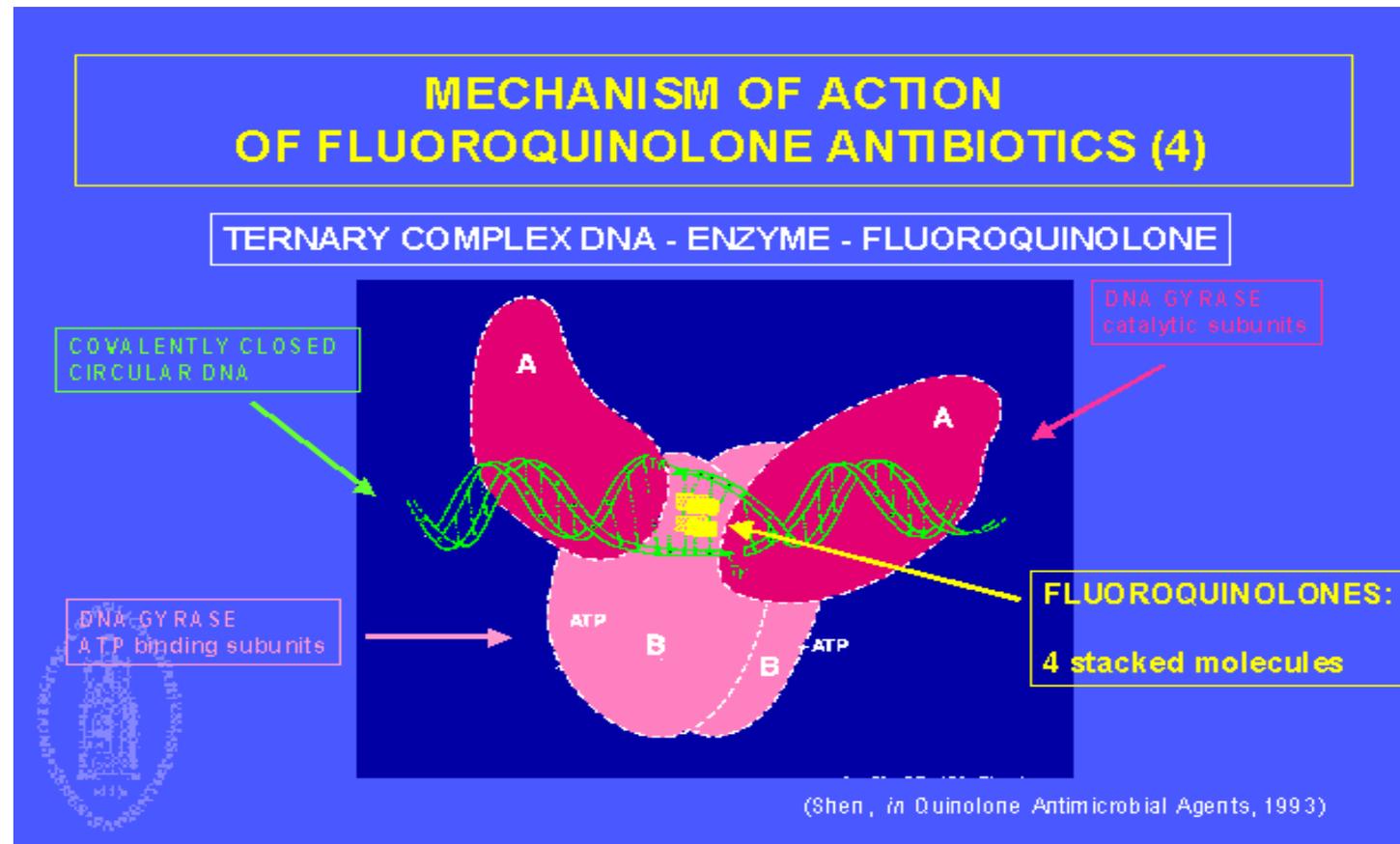


Réplication de  
l'ADN

Q/FQ se lie à l'ADN dans une zone où les 2 brins sont séparés et coupés par la gyrase

Stabilisent le complexe sous-unité A de la topoisomérase II (ou la topo IV) avec l'ADN clivé

→ le blocage de l'enzyme sur l'ADN empêcherait la progression de l'ADN polymérase bactérienne a/c de la réplication d'où inhibition de synthèse de l'ADN



- ADN gyrase: cible principale des FQ/Gram-
- Topoisomérase IV/ cible des FQ/Gram+

# Mécanismes de résistance

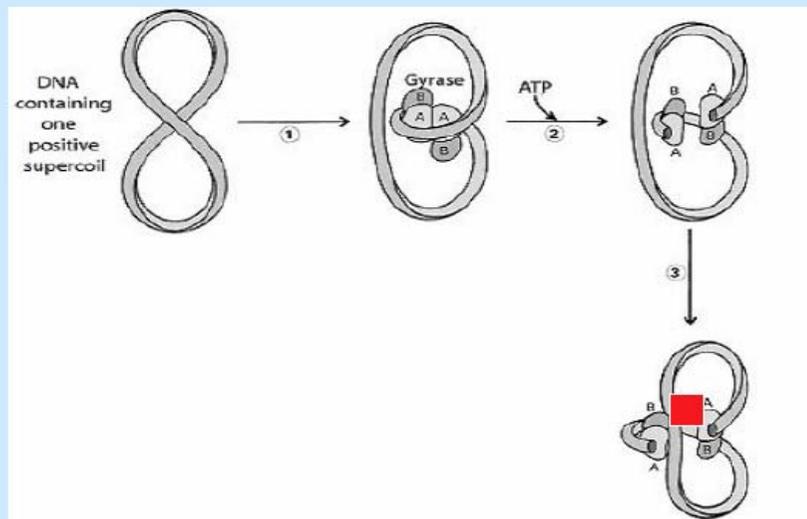
- **Résistance par Mutations Chromosomiques**
  - diminution d'affinité des cibles (Topoisomérase II et IV)+++
  - diminution d'accumulation intracytoplasmique
    - \* défaut de pénétration passive
    - \* excrétion active (pompes d'efflux)
- **Résistance Plasmidique: 1998**
  - ☞ gène qnr → protéine Qnr protégeant l'ADN gyrase de la fixation des Quinolones

Mutations des gènes *gyrA*, *gyrB* (ADN gyrase), *parC*, *parE* (Topoisomérase IV): ➔ région spécifique QRDR

Cette région spécifie le site actif de l'enzyme

La résistance est croisée pour la majorité des Q mais le degré d'augmentation des CMI peut varier en fonction de la molécule

## Quinolone agissent sur l'ADN Gyrase (sous unité A et B)



QRDR : région déterminant la résistance quinolone

# Résistance par défaut d'accumulation

- 1- Diminution de perméabilité: mutation intéressant les porines OmpF (diminution quantitative)
- 2- Efflux actif
  - Mis en jeu de pompe d'efflux
  - Existent naturellement (fonction de détoxification) → mutation dans la région régulatrice → hyperactivité de ces systèmes

# Phénotypes de résistance possibles des entérobactéries aux quinolones

Quinolones ⇒ une seule molécule : NA

**FQuinolones:** (R croisée entre ≠ molécules mais niveau d'expression variable)

⇒ **Souches S NOR (PEF) : S autres FQ**

**I ou R NOR (PEF) : test et réponse indépendante pour autres molécules**

Phénotype	Acide nalidixique	Norfloxacin	Péfloxacin	Ciprofloxacine
I	S	S	S	S
II	R	S	S	S
III	R	I/R	I/R	S
IV	R	R	R	R
Efflux rare ( <i>E coli</i> )	S	R	S	S

- ***P aeruginosa:***
- R croisée FQ, mais niveau expression variable selon molécules
- $\Rightarrow$  CIP et PEF et/ou OFX
- Souches I/R PEF ou OFX et S CIP  $\Rightarrow$  S CIP
  
- ***H influenzae:***
- Disque NA (30 $\mu$ g) suffit
- Si  $\phi$  inhibition < 21 mm  $\Rightarrow$  CMI des FQ
  
- ***N gonorrhoeae:***
- Disque NA (30 $\mu$ g) suffit
- Si  $\phi$  inhibition < 25 mm  $\Rightarrow$  CMI des FQ (OFX ou CIP)

## FQ & bactéries à Gram positif (BGP)

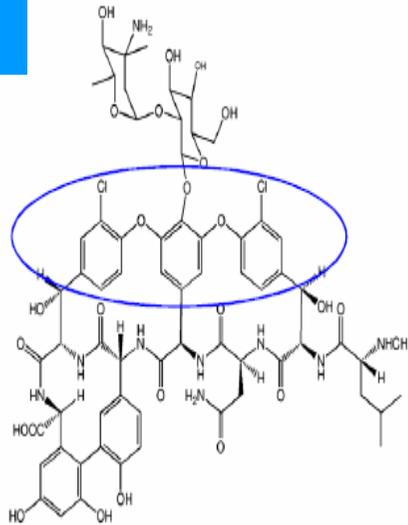
- BGP résistantes naturellement aux Q classiques (exception de *Bacillus*)
- Gyrase des BGP est moins sensibles aux FQ que celles des BGN
- Cible préférentielle: topoisomérase IV (parC en particulier), mais elle dépend de l'espèce:
  - S.aureus*: ParC
  - Pneumo: parC: ciprofloxacine, lévofloxacine
  - GyrA: sparfloxacine, moxifloxacine
- Même mécanisme de résistance que chez Gram-
- Support uniquement chromosomique (mutation dans la région restreinte QRDR)
- 1<sup>ère</sup> étape: mutation de la cible préférentielle → Résistance de bas niveau
- 2<sup>ème</sup> étape: mutation de la cible secondaire → Résistance de plus haut niveau
- efflux: Staph, pneumo, strepto oraux, entérocoques (expliquant en partie leur résistance naturelle aux FQ)

- Il est nécessaire de détecter les souches résistantes (haut niveau) aux FQ mais également les souches résistantes de bas niveau
  - ☞ risque de sélection de mutants de haut niveau de résistance sous traitement
- **détection de la résistance chez *S.aureus*:**  
Péfloxacine, ofloxacine, lévofloxacine et ciprofloxacine ont une activité similaire → résistance croisée entre elles → le résultat obtenu en testant l'une d'entre elles est valable pour les autres
- **Détection de la résistance chez pneumocoque**
- Résistance de bas niveau: norfloxacine ( $\emptyset < 10\text{mm}$ )
- Résistance de haut niveau: mieux détectée par lévofloxacine ( $\emptyset < 17\text{mm}$ )

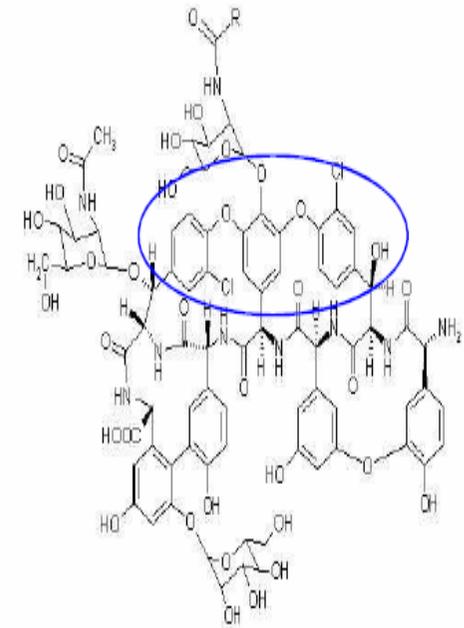
	Norfloxacin	Lévofoxacin	Pefloxacin	Sparfoxacin /Ciprofoxacin
	R < 10mm	R < 17mm	R < 10mm	
<b>Topo IV</b>	R	S	R	SPX > CIP
<b>Efflux</b>	R	S	S	SPX > CIP
<b>GyrA</b>	S	S	S	SPX < CIP
<b>Topo IV +GyrA</b>	R	I ou R	R	SPX > CIP

# Glycopeptides

Vancomycine



Teicoplanine



Peptide macromoléculaire tricyclique contenant une chaîne heptapeptidique linéaire

Grosses molécules Vanco PM: 1450 Da/ hydrophile

Teicoplanine: 1900 Da/ plus lipophile

# spectre

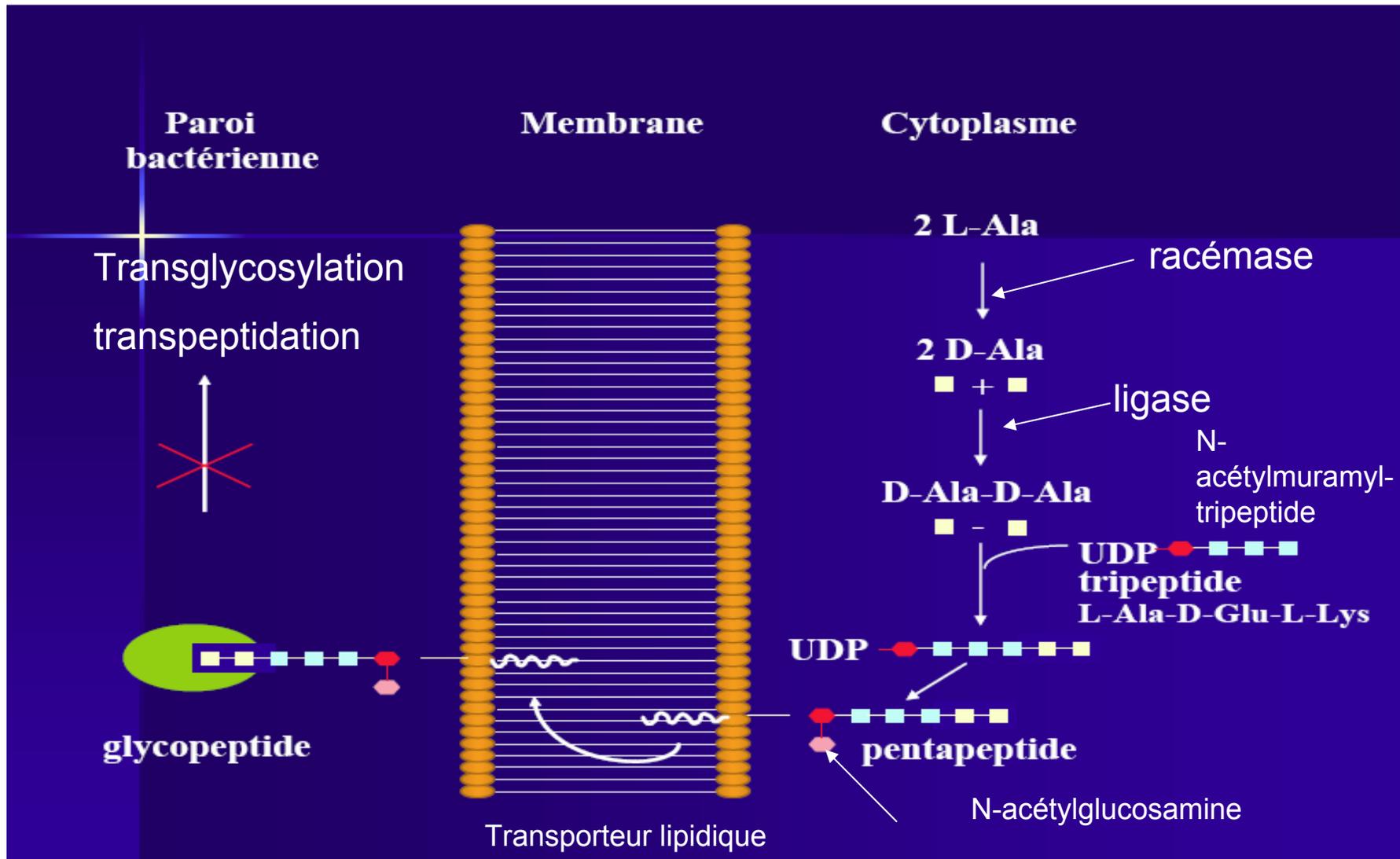
- Bactéries à Gram+
- Inactif sur les BGN car trop volumineuses pour passer à travers les porines de la ME

# Mode d'Action

- Ne pénètrent pas dans le cytoplasme
- Interaction avec la cible ne peut se faire qu'après translocation des précurseurs à travers la membrane cytoplasmique
- Se lie aux D-Ala-D-Ala terminaux des précurseurs pentapeptidiques avec une haute affinité
- Bloquent ainsi l'addition des précurseurs par transglycosylation à la chaîne du pg naissant et prévenant les étapes ultérieures de transpeptidation
- Activité bactéricide temps dépendante

# Mécanisme d'action des Glycopeptides

Fixation aux précurseurs du peptidoglycane → Bloque la synthèse





Synthèse de précurseurs de faible affinité  
Type de résistance (entérocoques)

- **Type VanA:**

Dipeptide D-Ala-D-Ala → depsipeptide D-Ala-D-Lac

Réduction considérable de l'affinité des GP

Opéron *vanA* code:

- déshydrogénase VanH réduisant la pyruvate en D- lactate
- ligase VanA

- **Type VanC** (*E.gallinarum*, *E.casseliflavus*)

Naturellement résistant à de faible C° de vanco mais demeurent sensibles à la teicoplanine

Opéron *vanC* code

Sérine racémase: VanT qui produit la D-sérine

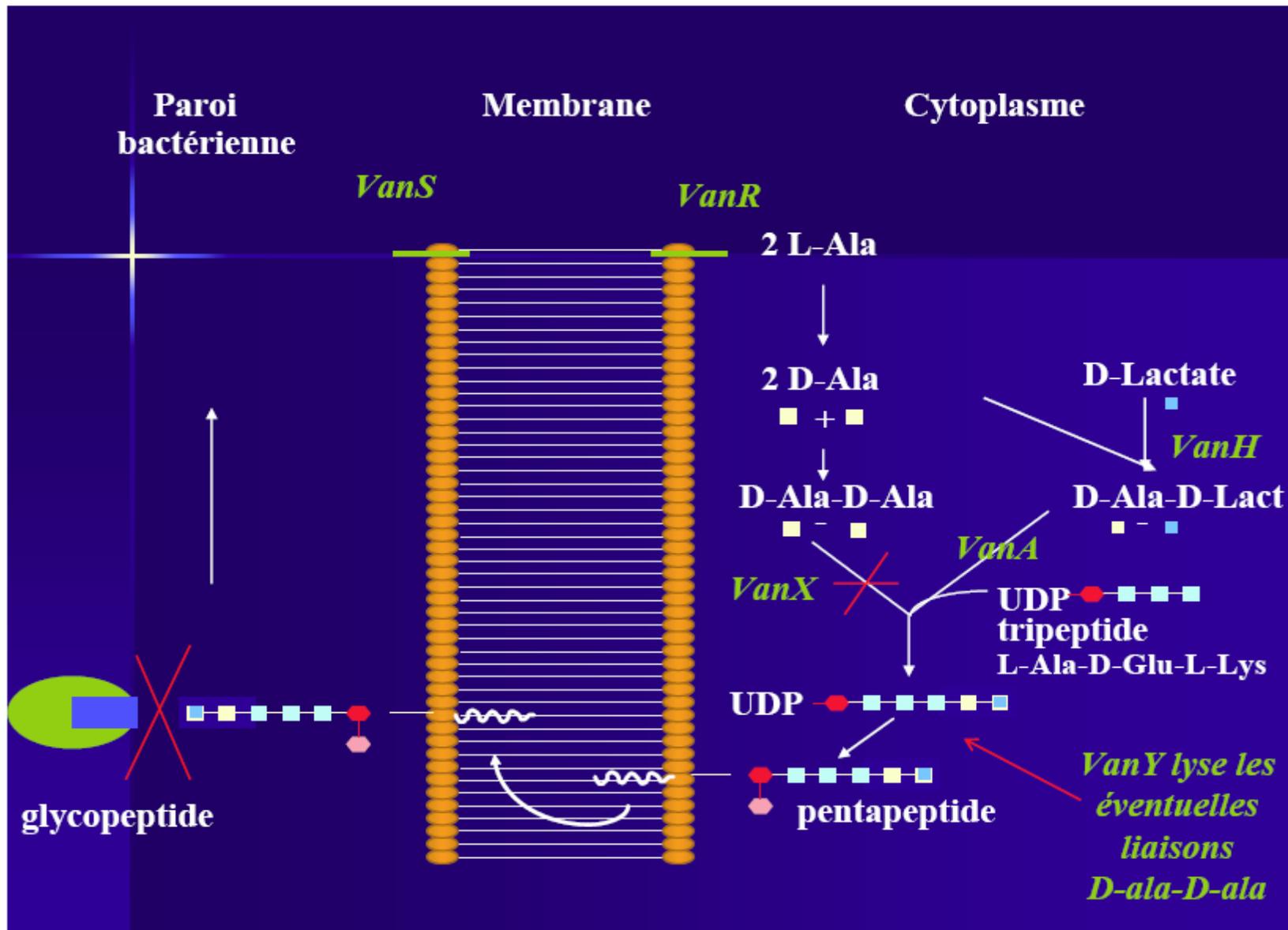
Une ligase: VanC catalysant la formation du dipeptide D-Ala-D-Ser

Cette substitution entraîne une affinité réduite pour la vanco

# Elimination de des précurseurs de haute affinité

- L'interaction d'un Gp avec sa cible D-Ala est prévenue par l'élimination des précurseurs terminés en D-Ala
- 2 enzymes impliquées:
  - VanX: hydrolyse D-Ala- D-Ala synthétisé
  - VanY: enlève D-Ala C-terminal lorsque l'élimination du D-Ala- D-Ala par VanX est incomplète

# Mécanismes de résistance



# Résistance aux Glycopeptides chez les Entérocoques

- Modification de la cible
- 5 types décrits:  
VanA, VanB, VanC, VanD et VanE

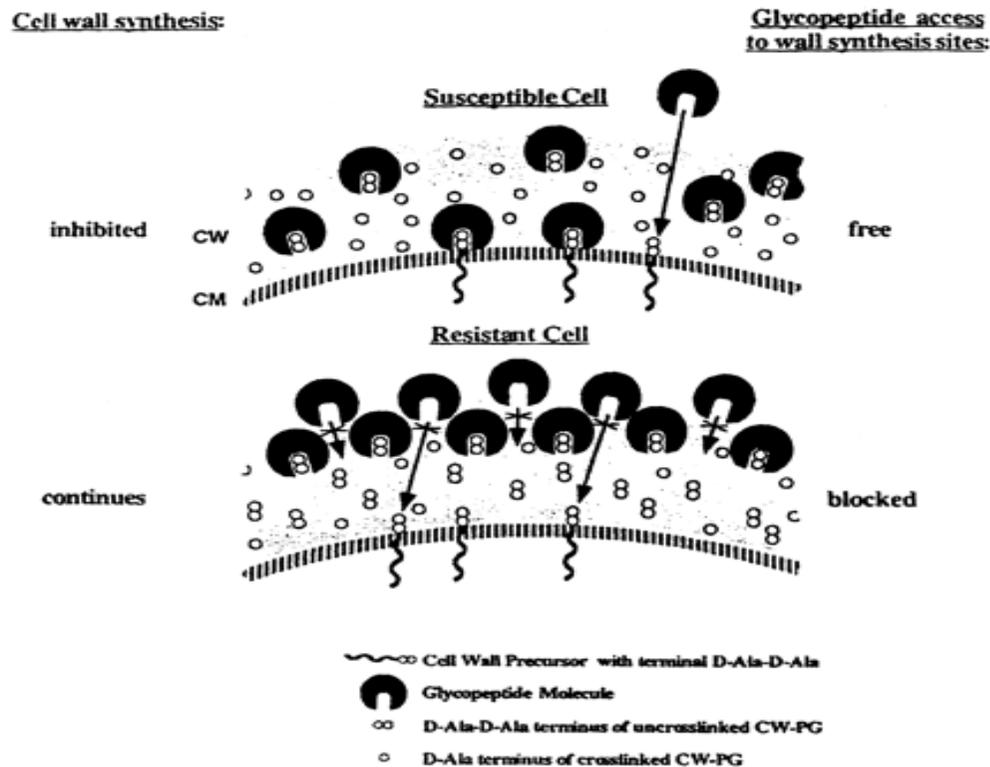
Caractéristiques	Type				
	VanA	VanB	VanC	VanD	VanE
Génétique	<b>Acquis</b> (par exemple : <i>Transposon Tn1546</i> )	<b>Acquis</b> (par exemple : <i>Transposon Tn1547</i> )	<b>Intrinsèque</b>	<b>Acquis</b>	<b>Acquis</b>
Séquence terminale du précurseur du peptidoglycane	D-Ala-D-Lac	D-Ala-D-Lac	D-Ala-D-Ser	D-Ala-D-Lac	D-Ala-D-Ser
CMI (µg/mL)					
-Vancomycine	64 à >1000	4 à >1000	2 à 32	16 à 64	16
-Teicoplanine	16 à 512	0,5 à >32	0,5 à 1	2 à 4	0,5
Gène de la ligase	<b>vanA</b>	<b>vanB</b>	<b>vanC1 et vanC2/vanC3</b>	<b>vanD</b>	<b>vanE</b>
Bactéries pour lesquelles on a retrouvé ce gène de résistance de façon naturelle	<i>Enterococcus faecium</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>E. durans</i> , <i>E. mundtii</i> , <i>E. avium</i> , <i>E. gallinarum</i> , <i>E. casseliflavus</i> , <i>Bacillus circulans</i> , <i>Streptococcus gallotycus</i> , corynébactéries, arcanobactéries, lactococci, oerskovies	<i>Enterococcus faecalis</i> , <i>E. faecium</i> , <i>Streptococcus bovis</i> , <i>S. gallotycus</i>	<i>Enterococcus gallinarum</i> , <i>E. casseliflavus</i> , <i>E. flavescens</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
Bactéries vers lesquelles la résistance à la vancomycine a été transférée	<i>Streptococcus sanguis</i> , <i>S. pyogenes</i> , <i>Listeria</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i> , incluant le transfert avec la résistance à l'ampicilline			

# Résistance aux Glycopeptides chez *S.aureus*

- Des souches de *S. aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides: GISA, VISA, Hétero-VISA
  - 1992: SARM I à la teicoplanine (JL Mainardi JID 1995)
  - GISA, VISA isolés avec des fréquences faibles dans le monde se recrutent parmi les souches simultanément résistantes à la pénicilline et à la gentamicine.
  - 1996: 1<sup>ère</sup> souche résistante à la vancomycine isolée au Japon (VISA: CMI vancomycine =8mg/l (Hiratmatsu JAC 1996)
  - Résistance croisée avec Teicoplanine
  - 1997:2 souches de sensibilité intermédiaire VISA isolées aux USA
  - 1998: Europe: Royaume Uni, Pologne, France,
- ☛ La plupart des souches ont été isolées chez des patients ayant eu un traitement prolongé par vancomycine
- Hétero-VISA: (Hiratmatsu)
    - souches initialement sensibles à la vancomycine (CMI 2-4mg/l)
    - présentant des sous populations intermédiaire à la vancomycine (CMI 6-8mg/l)
    - ne peuvent pas être détectées par CMI (mutants rares  $10^{-5}$  à  $10^{-7}$ )
    - elles sont en majorité intermédiaires à la teicoplanine
    - Mee par l'étude des populations
  - VRSA: CMI vancomycine >16mg/l (5 souches aux USA)

## Mécanismes de résistance

- **VISA, GISA, Hétéro-VISA**: épaissement de la paroi (2fois),
  - En rapport avec une réorganisation complexe du métabolisme du PG
  - liée probablement à des mutations dans des gènes de structure ou de régulation
  - Empêchant l'accès du GP à sa cible



Gp bloqué

Synthèse de la paroi  
continue

- **VRSA**: acquisition de l'opéron *vanA* des entérocoques

# Critères de suspicion de la sensibilité diminuée aux glycopeptides Staphylocoques & Entérocoques

- la méthode par diffusion en milieu gélosé lorsque,
  - -  $\emptyset < 17$  mm autour du disque de l'un des deux glycopeptides,
  - -  $\emptyset$  teicoplanine est inférieur d'au moins 3 mm à celui de la vancomycine
  - - quelques colonies sont présentes dans la zone d'inhibition de l'un des deux glycopeptides,
  - - il existe un phénomène d'interaction (synergie ou antagonisme) entre l'un des glycopeptides et un disque OXA (5  $\mu$ g) (Staphylocoques)

**Par un test particulier** : la sensibilité diminuée est suspectée par la présence d'au moins quatre colonies sur:

- gélose Mueller-Hinton (MH) additionnée de 5 mg/L de teicoplanine, ensemencée par dépôt de 10 µl d'une suspension de  $6 \cdot 10^8$  UFC/ml (35-37°C et lecture à 24 et 48 heures)
- **Catégorisation**
- Pour les souches suspectes d'être de sensibilité diminuée aux glycopeptides, seule la détermination des **CMI** de
- la vancomycine et de la teicoplanine permet leur catégorisation clinique (S,I,R)