

*Activité des Antibiotiques chez les
bactéries du genre Streptococcus*

Sensibilité de *S. pneumoniae* aux bêtalactamines

Ecart des CMI (mg/L) des *S. pneumoniae* sensibles aux bêtalactamines

Pénicilline G	0,004-0,06	Céfalotine	0,006-0,25
Amoxicilline	0,004-0,06	Céfotaxime	0,003-0,06
Imipénème	0,004-0,03	Pipéracilline	0,004-0,06

Souches dites de sensibilité diminuée

En Australie et en Nouvelle-Guinée 1967

CMI vis à vis de la pénicilline G étaient supérieures à 0,12 mg/L
en cas de méningite échecs de la pénicilline G

Péni G reste efficace dans le cas des pneumopathies.

En 1977, en Afrique du Sud, des souches de CMI > 1 mg/L vis à vis de la Péni G
résistantes au traitement par la pénicilline G en cas de méningites.

Puis Extension mondiale

Mécanisme d'action des bêtalactamines

Les bêtalactamines inhibent une étape tardive de la synthèse du peptidoglycane.

Le peptidoglycane

composé essentiel de la paroi bactérienne

réalise un grillage tridimensionnel qui entoure la bactérie

situé sous la capsule de *S. pneumoniae* associé aux acides teichoïques

protection de la bactérie (PO), forme, division cellulaire.

enzymes ou substrats de synthèse du peptidoglycane =

cible de nombreux AB.

Structure du Peptidoglycane

Molécule unitaire comprenant
un disaccharide (acide N-acétyl muréique NAM et N-acétyl glucosamine NAG)
associé à une chaîne peptidique latérale liée à NAM.

polymérisée sous forme d'une chaîne polysaccharidique
rigidité renforcée par des ponts peptidiques qui relient les chaînes peptidiques
latérales (AA3-AA4)
à polymère en trois dimensions.

Chez les bactéries à Gram positif

peptidoglycane très épais

= 50% du poids cellulaire et 90% du poids pariétal.

très polymérisé

Action des transpeptidases et des carboxypeptidases :
réarrangements et pontages secondaires.

Chez Sp

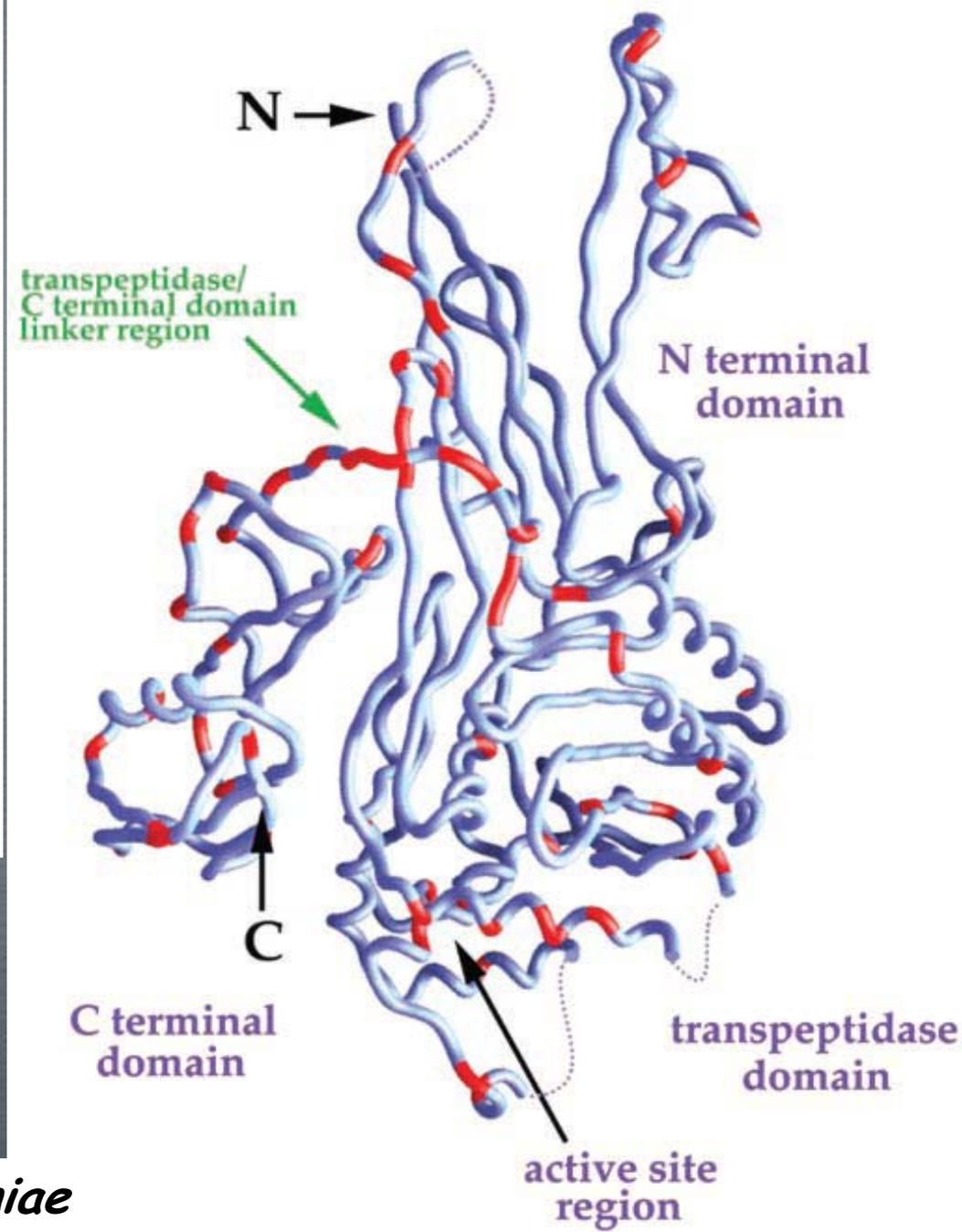
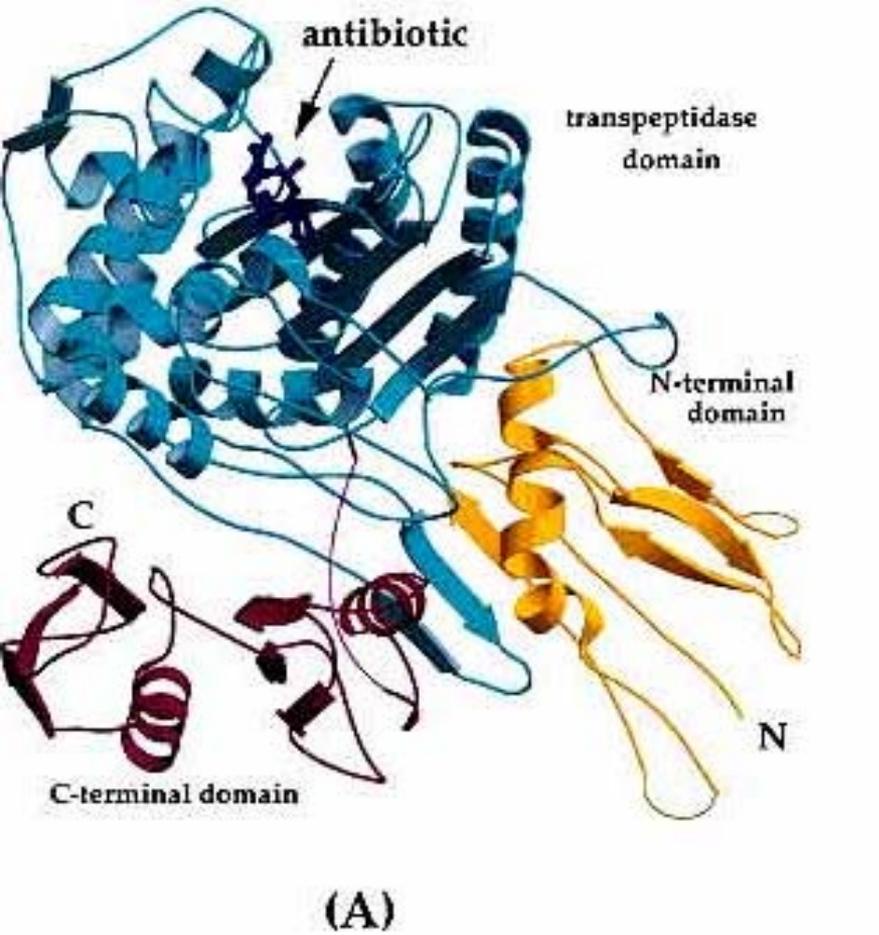
5 PLP de haut poids moléculaire (1a, 1b, 2a, 2b et 2x).

certaines bifonctionnelles (1a, 1b, 2a)

d'autres uniquement transpeptidase (2b, 2x).

substrat principal = dipeptide D-alanyl-D-alanine.

une PLP de faible poids moléculaire (3) carboxypeptidase.



PLP2x de *Streptococcus pneumoniae*

Activité des bêtalactamines au niveau des PLP

✓ inhibent la formation des ponts interpeptidiques.

analogie structurale + dipeptide D-alanyl-D-alanine carboxyterminal
acylation stable du site actif de la PLP

✓ affinité des différentes molécules varie pour les différentes PLP

pénicilline et l'amoxicilline PLP1a et 2b

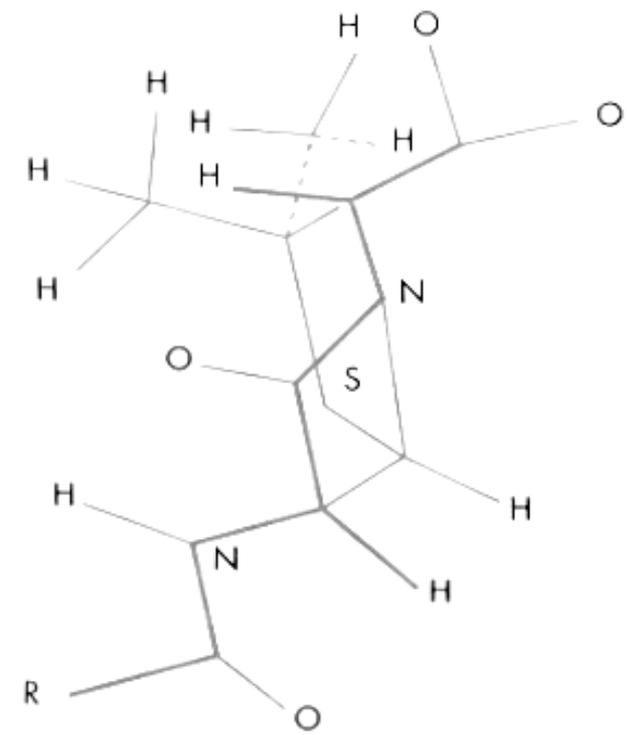
céphalosporines PLP1a et 2x.

✓ activité antibiotique nécessite le plus souvent l'inhibition de plusieurs PLP

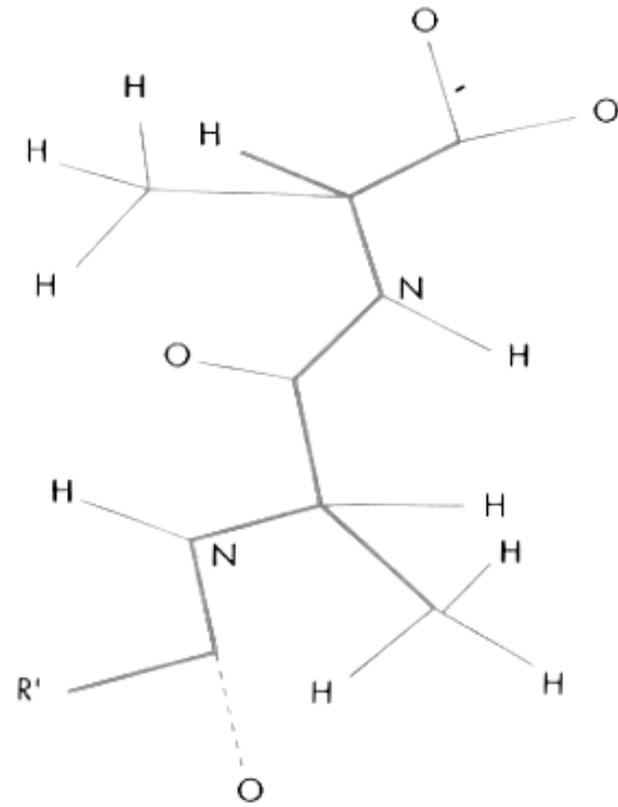
✓ action bactériostatique, puis effet bactéricide due en partie à la désorganisation du peptidoglycane.

libération d'acides teichoïques à phénomène d'autolyse

(activation d'hydrolases endogènes)



Pénicilline G



Dipeptide D-Ala-D-Ala

Analogie structurale entre bétalactamine et dipeptide D-Ala-D-Ala

Résistance du Pneumocoque aux bêtalactamines

Résistance bactérienne aux bêtalactamines peut relever de quatre mécanismes

- diminution de la perméabilité qui freine la pénétration de l'antibiotique
- efflux actif
- inactivation enzymatique : bêtalactamases
- modification des cibles cellulaires (PLP)

Chez Sp la résistance est due à des modifications des PLP.

- diminution de l'affinité des PLP pour les bêtalactamines
- désacylation n'est pas modifiée.

- doit toucher 3 des 5 PLP de haut poids moléculaire.

- changements ++ au niveau des séquences des PLP (25%)

- acquisition de structure en mosaïque

 - en particulier pour PLP 1a, 2x et 2b

Résistance du Pneumocoque aux bêtalactamines

✓ Niveaux variables de CMI pour la pénicilline G

Résistance croisée entre les différentes bêtalactamines, dont les C3G

✓ L'affinité des différentes bêtalactamines pour chaque PLP du pneumocoque varie.

résistance à la pénicilline PLP2b et 1a.

résistance à bas niveau vis à vis des céphalosporines PLP2x

(souches sont résistantes à haut niveau à la pénicilline G)

résistance de haut niveau au céfotaxime

modifications d'affinité des PLP1a et 2x

rôle PLP3 ??

Résistance du Pneumocoque aux bêtalactamines

Sp est normalement transformable

acquisition des structures en mosaïque par recombinaisons homologues interespèces (Streptocoques commensaux *S. mitis*, *S. oralis*, *S. sanguis*).

Chez ces espèces la résistance évolue par mutations dans les gènes des PLP

Il existe aussi des échanges entre Sp de sérotypes différents

PBP2x de mutants CTX-R

11 mutations différentes proches du site actif

(résidus Thr338 et Glu552).

mutation = Thr 338 empêche l'acylation

mutation = Glu 552 plus spécifique, touche Pénicilline G et Céfotaxime.

Résistance du Pneumocoque aux bêtalactamines

Autres mécanismes de résistance

Autres gènes impliqués dans la biosynthèse de la paroi bactérienne

- *cpoA* qui code pour une glucosyltransférase (mutants R pipéracilline)
- *ciaH* qui code pour une histidine protéine kinase (mutants R CTX)
- *mur*

Epidémiologie de la résistance aux bêtalactamines.

En France les premières souches ont été détectées en 1978
évolution lente (3,8 % de PSDP en 1987).
plus de 40% en 1996.

Importance de

Portage prolongé

Pression de sélection antibiotique (Tt antérieur)

Observatoires régionaux du pneumocoque (ORP) et CNRP

Etude au laboratoire de la sensibilité du Pneumocoque aux bétalactamines

Détection par étude de l'activité de l'oxacilline (5 μ g) 26mm

Mesure des CMI des bétalactamines.

CMI de la pénicilline G insuffisante

CMI des antibiotiques indiqués dans la pathologie étudiée
amoxicilline et céfotaxime ou ceftriaxone.

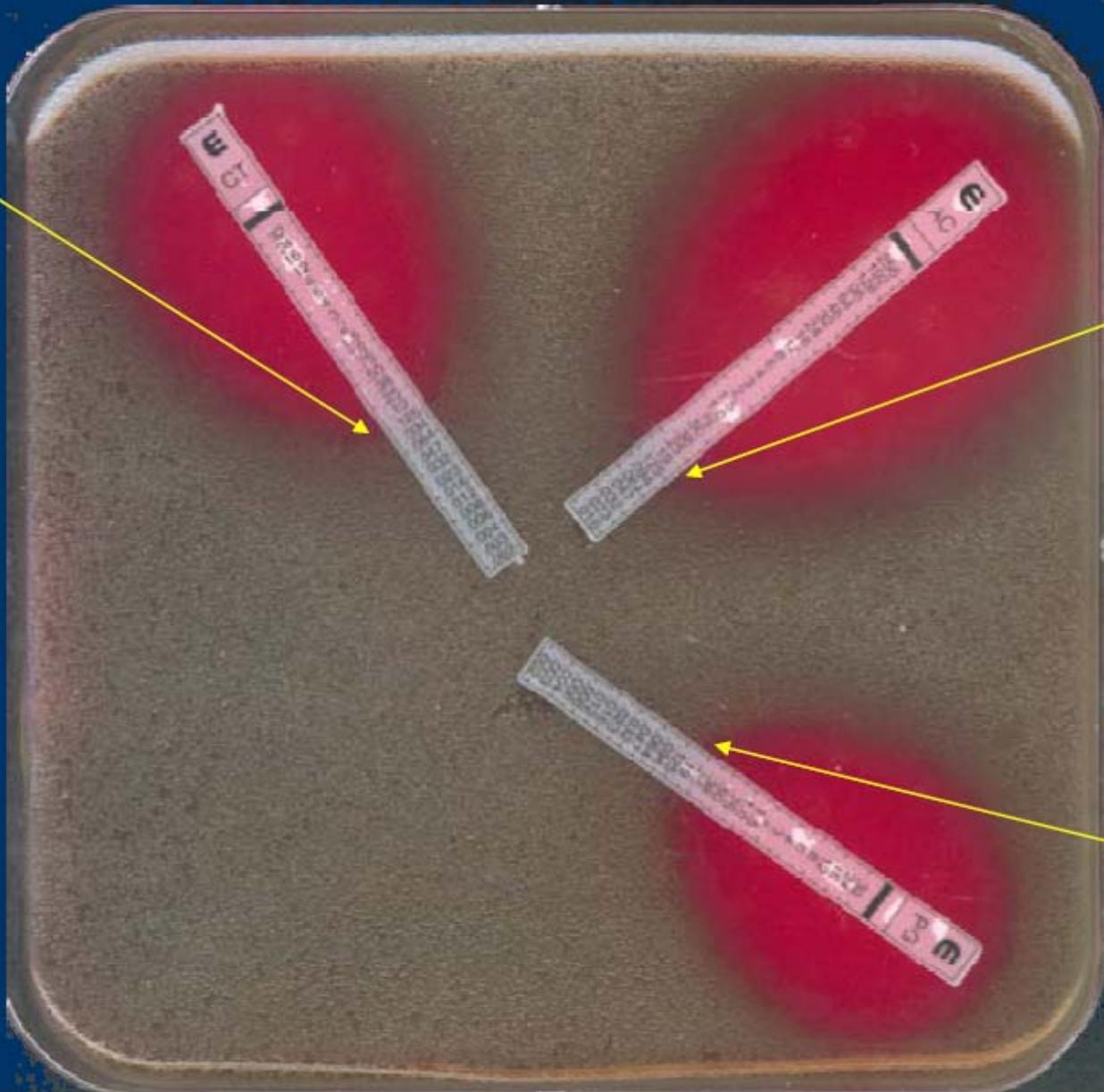
Méthode dilution en milieu gélosé (M-H supplémenté par 5 % de sang)

dilution en milieu liquide (API ou IM) CMIX2

E-test

S. pneumoniae : résistance de niveau intermédiaire

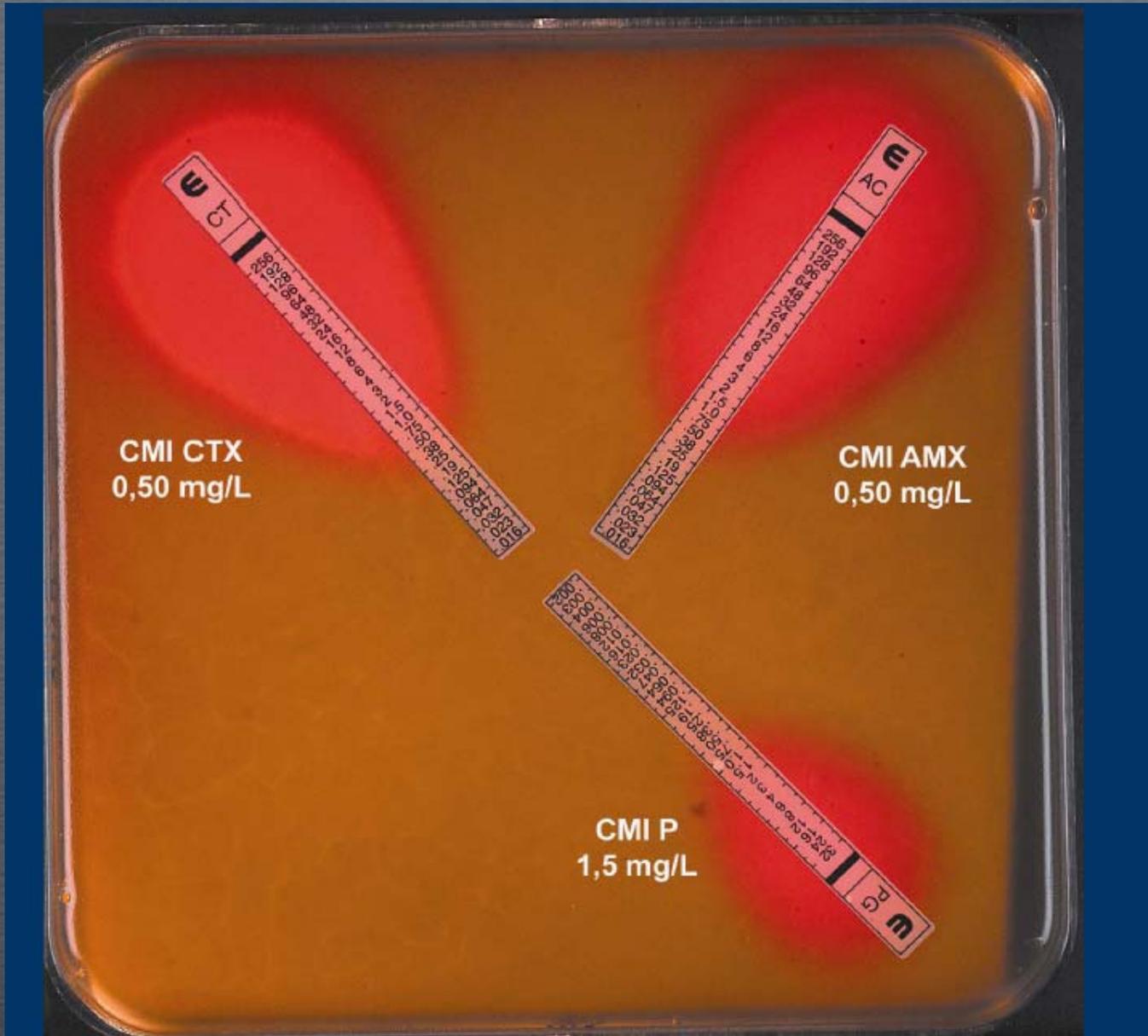
CMI CTX
0,125 mg/l



CMI AMX
0,2 mg/l

CMI Péni
0,2 mg/l

S. pneumoniae résistant à la Pénicilline



S. pneumoniae phénotype rare



CTX > PENI > AMX

PLP2x

AMX > PENI > CTX

PLP2b

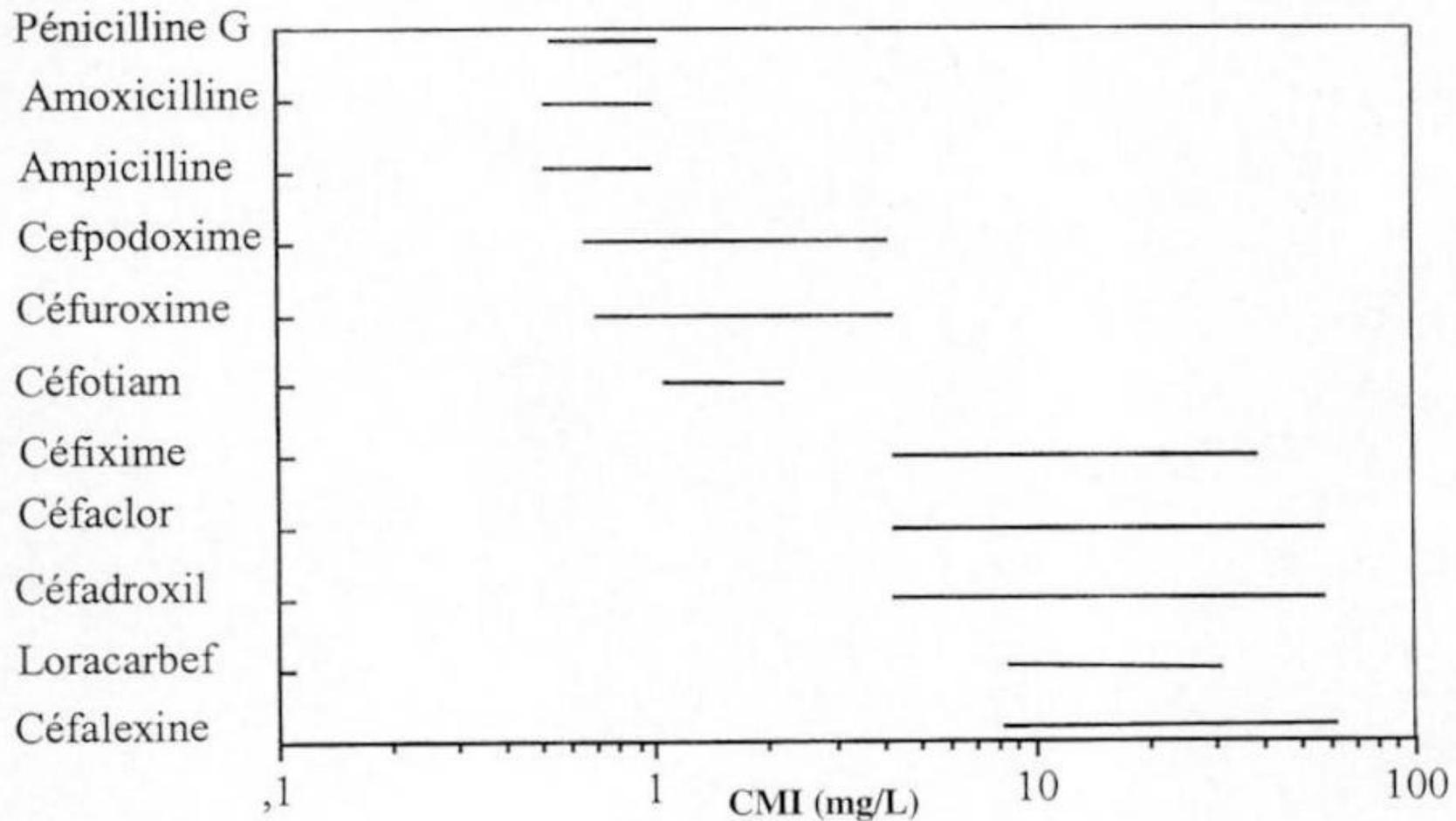
Interprétation selon les recommandations du CA-SFM

pénicilline	S < 0,12 mg/L,	R > 1 mg/L,
amoxicilline	S < 1 mg/L,	R > 2 mg/L
céfotaxime, ceftriaxone	S < 1 mg/L,	R > 2 mg/L

Un niveau intermédiaire de résistance aux bêtalactamines ne contre-indique pas l'emploi de ces antibiotiques à condition d'utiliser des doses appropriées d'antibiotique en fonction du site de l'infection

Les souches catégorisées comme intermédiaires (ou résistantes de bas niveau) doivent être considérées comme résistantes en cas de méningite, mais sensibles à fortes doses en cas d'infections respiratoires

La résistance acquise à la pénicilline G est croisée avec toutes les autres b-lactamines mais à des niveaux variables en fonction des molécules



CMI comparées de certaines bétalactamines vis à vis des PSDP

Contrôle de qualité

Streptococcus pneumoniae CIP 104485

Limites acceptables des CMI (mg/L) des bêta-lactamines

Pénicilline G	0,125 - 0,5 mg/L
Amoxicilline	0,03 - 0,125 mg/L
Céfotaxime	0,03 - 0,25 mg/L

Bétilactamines et autre Streptocoques

La sensibilité des streptocoques à la pénicilline G est évaluée avec un disque d'oxacilline à 5 µg selon les critères suivants :

- diamètre OXA-5 > 20 mm = sensible à pénicilline G.

Interprétation valable pour l'activité des autres B-lactamines

- diamètre OXA-5 < 21 mm = I ou R à pénicilline G.

→ CMI de l'amoxicilline et/ou du céfotaxime.

Sensibilité anormale fréquente chez certains streptocoques oraux

Streptocoques B-H toujours sensibles aux/à la Pénicilline(s)
rares souches de SGB de sensibilité diminuée

Quinolones

Action inhibition de la réplication de l'ADN bactérien

cible	Topoisomérases II	Gyr A et B	++ chez Sp
	Topoisomérases IV	Par C et E	++ chez les Gram +

Résistance chromosomique

Mécanismes

mutation

cible = QRDR (quinolone resistance determining region)

efflux

cipro-norflo

pompes (pmrA chez Sp)

inhibition par la réserpine

Génotype

bas niveau

efflux, ParC, (ParE)

Ht niveau

GyrA + ParC ou ParE

Transfert de gènes entre Strepto et gènes mosaïques

Quinolones

Epidémiologie très rare en France (<2%)

mais d'importance variable selon les pays (taux élevés en Europe de l'est, en Asie)

ABG

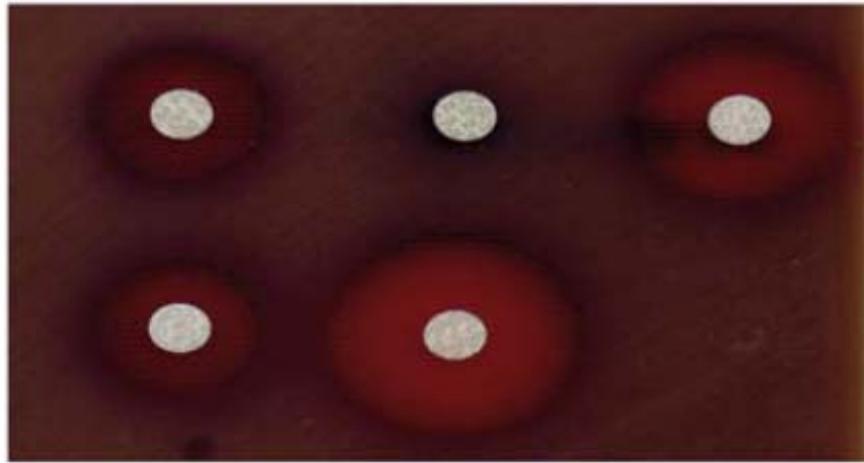
tester 2 quinolones

Norflo R à bas niveau diam <10 mm

risque de sélection de mutants Ht niveau

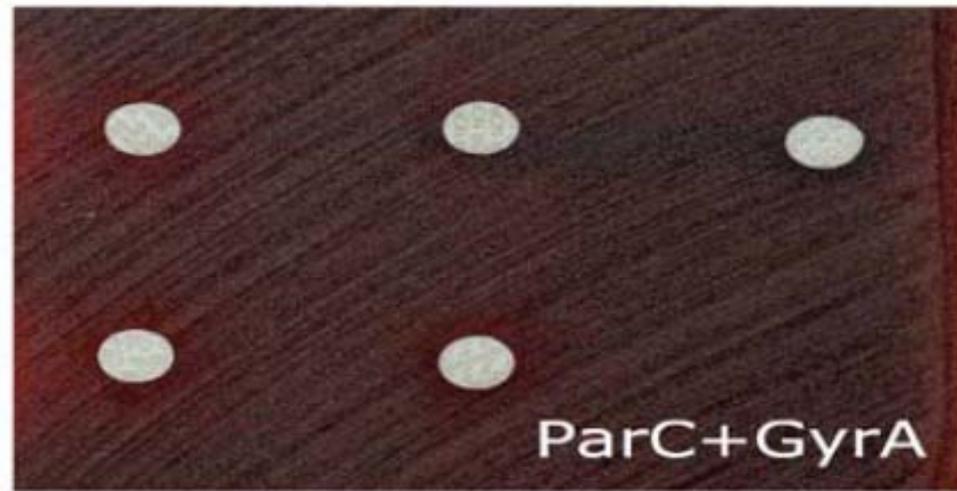
Levoflo R Ht niveau diam < 17 mm

6 – Phénotype Efflux.



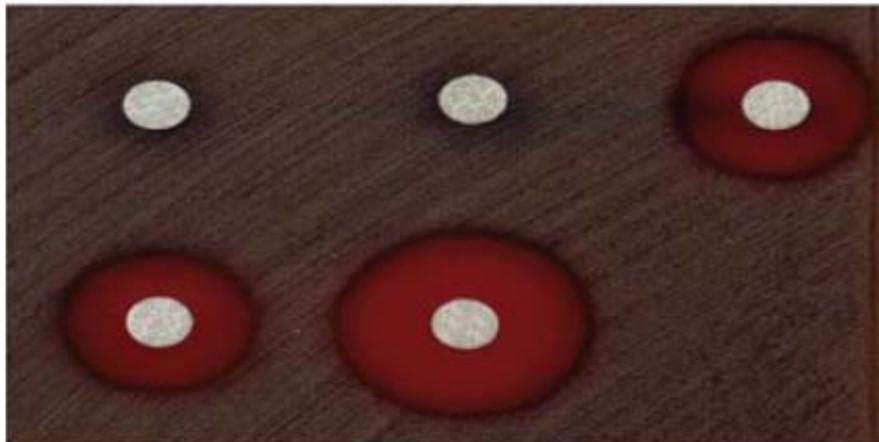
	PEF	NOR	LVX
∅ (mm)	18	6	21
	CIP	SPX	
∅ (mm)	17	27	

8 – Phénotype ParC + Gyr A.



	PEF	NOR	LVX
∅ (mm)	6	6	6
	CIP	SPX	
∅ (mm)	6	6	

7 – Phénotype ParC



	PEF	NOR	LVX
∅ (mm)	7	6	20
	CIP	SPX	
∅ (mm)	18	24	

Peflo → ParC

Norflo → ParC ou Efflux

Sparflo → GyrA

Macrolides et apparentés

Macrolide (noyau à 14 atomes et à 15 atomes)

Erythromycine et dérivés: résistances croisée

clarithromycine, dirithromycine, oléandomycine, roxithromycine

Sous-groupe kétolide: *télithromycine*

Macrolide (noyau à 16 atomes): résistances croisées

Josamycine, miokamycine, midécamycine, spiramycine, tylosine

Lincosamide

Lincomycine, clindamycine

Streptogramine A+B

Pristinamycine IIA + IA, dalfopristine/quinupristine

Mécanisme d'action des MLS

Fixation \approx /s-unité 50S du ribosome (cavité + centre Peptidyl Transferase \approx 23S)

M(A2058, A2059, A2062, G2505, U2609), L (A2058) ou S (A2062)

\Rightarrow Blocage de l'élongation de la chaîne PP

[Résistance naturelle Gram négatifs (AcrAB-TolC chez *E. coli*)]

[Résistance lincosamides et streptogramines A chez *E. faecalis* (Isa, efflux?)]

Macrolides sont bactéricides sur Strepto/Pno \neq Staph

A

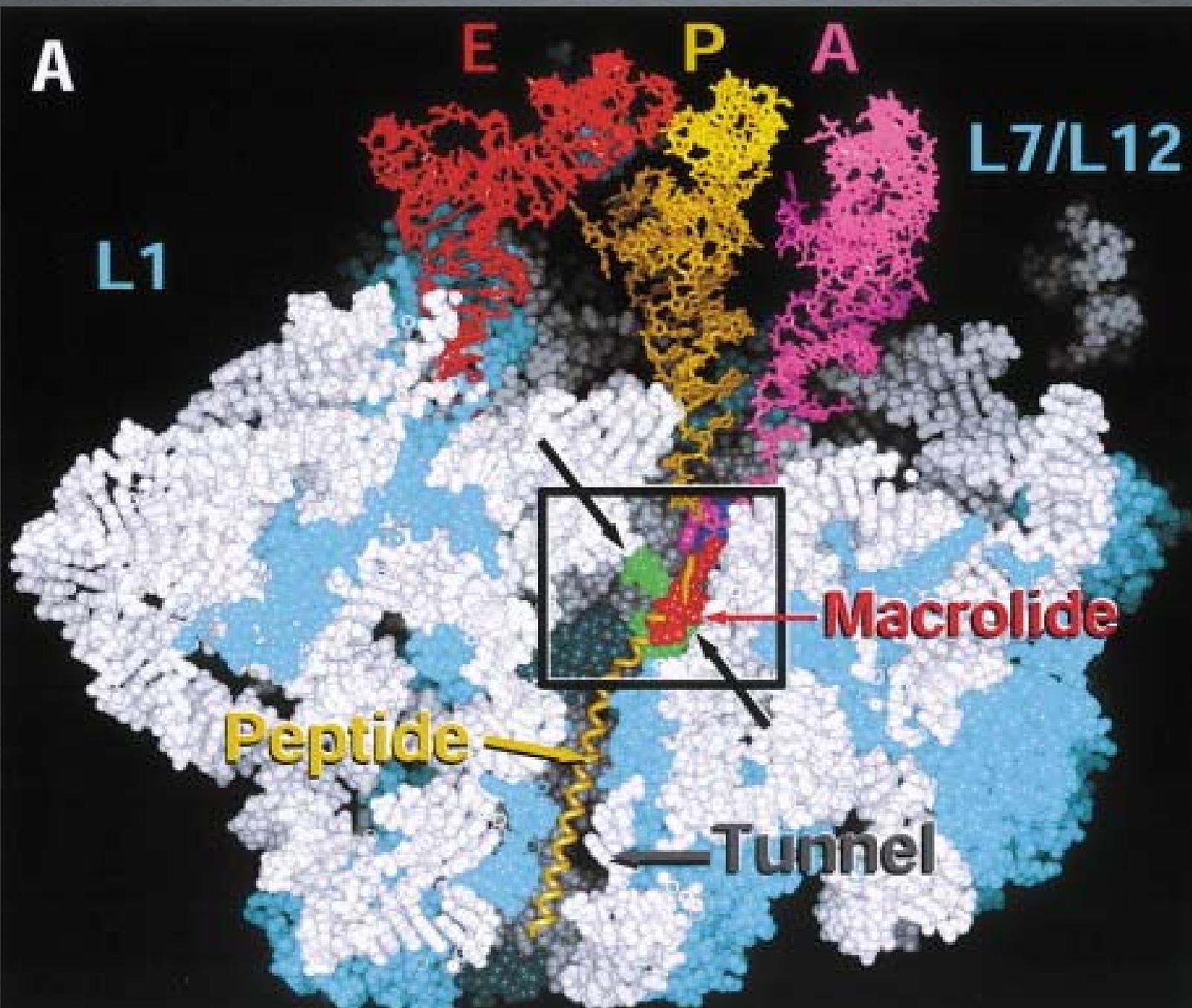
E

P

A

L7/L12

L1

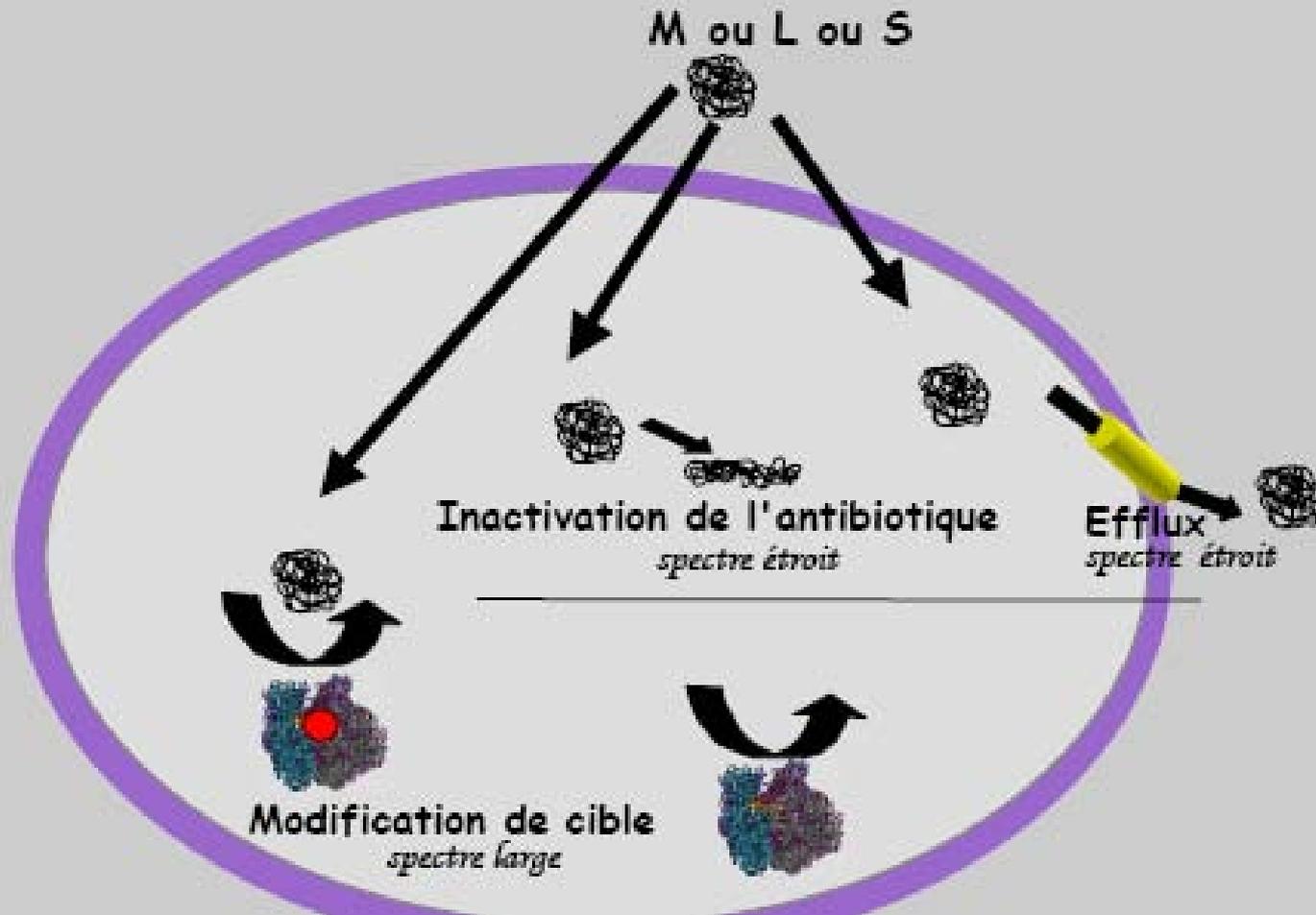


Macrolide

Peptide

Tunnel

Mécanismes de résistance aux MLS



Mécanismes de résistance

• Modifications de la cible

- Modification du ribosome ==> baisse affinité par méthylation

✓ erm(B)

différences dans l'expression de la résistance (≠ atténuateur)

✓ ermTR [classe erm(A)]

- Mutation ribosomale (A2058, A2059, A2062)

rares car il existe 4 gènes rrn

- Mutation des protéines ribosomales (L4 ou L22)

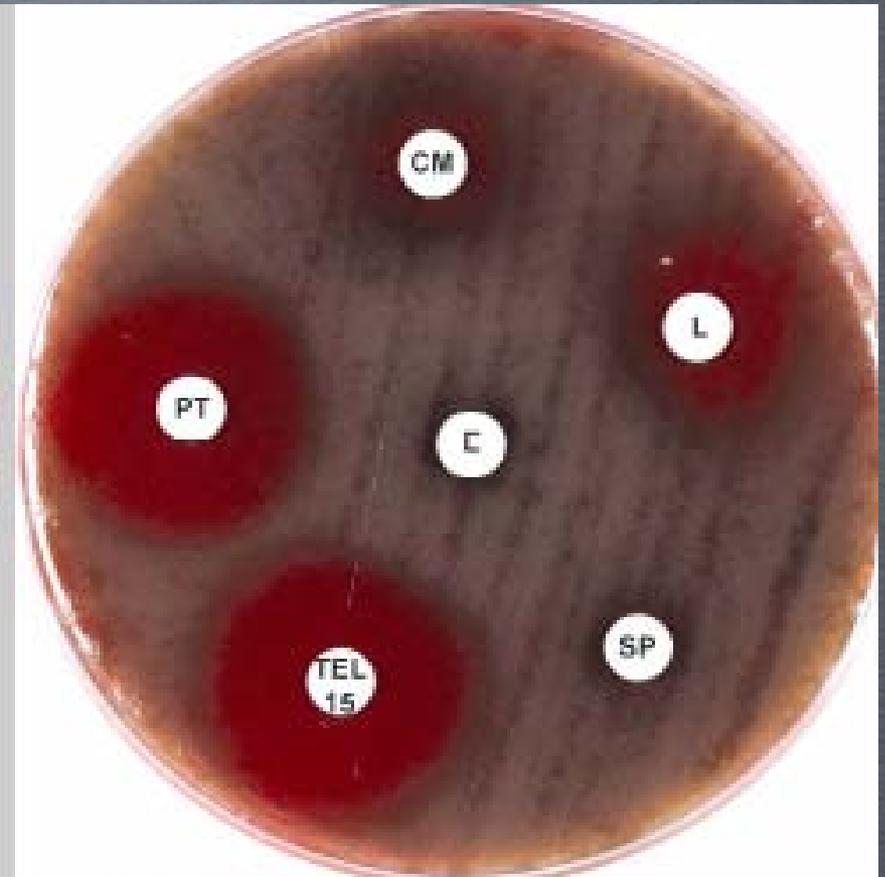
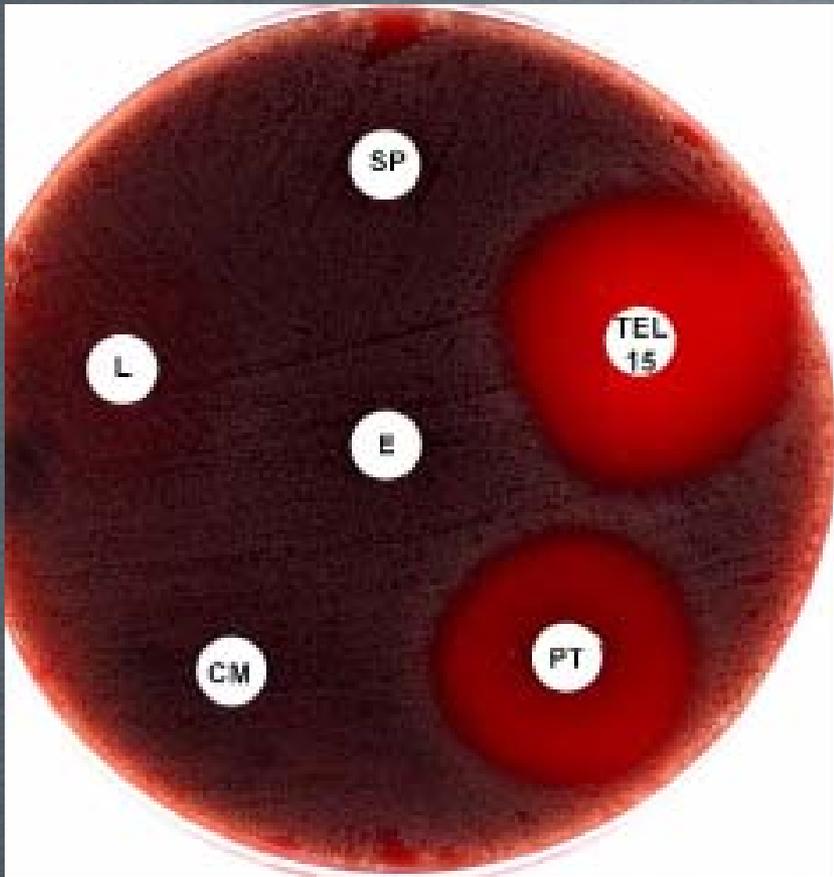
• Efflux

pompe différente de type ABCtransporteur ou MFS[Mef(A)]

Porté par un transposon

Phénotype MLSB [génotype erm(B)]

tous les M sont inducteurs



Phénotype constitutif ou inducible
MLSB

Phénotype inducible
MLSB

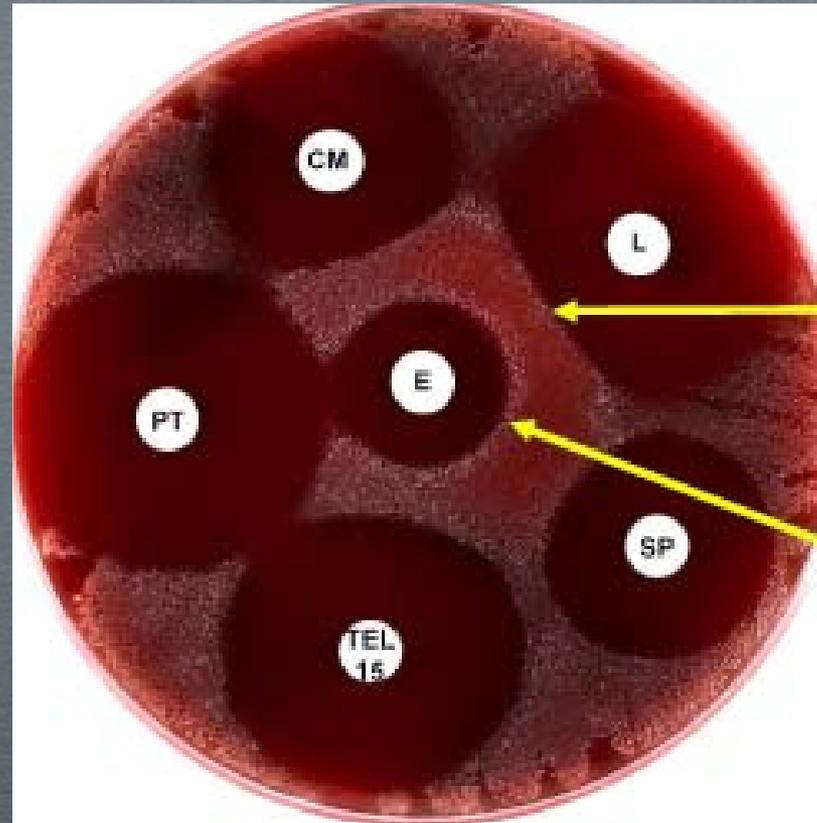
Fréquence
en France

Sp (>90%)
SGA (70%)
SGB (40-60%)

pour 50% Ery R)
pour 10-25% Ery R)
pour 15-25% Ery R)

Phénotype MLSB inductible [génotype *erm(A)* (*ermTR*)]

M16 et linco sont actifs

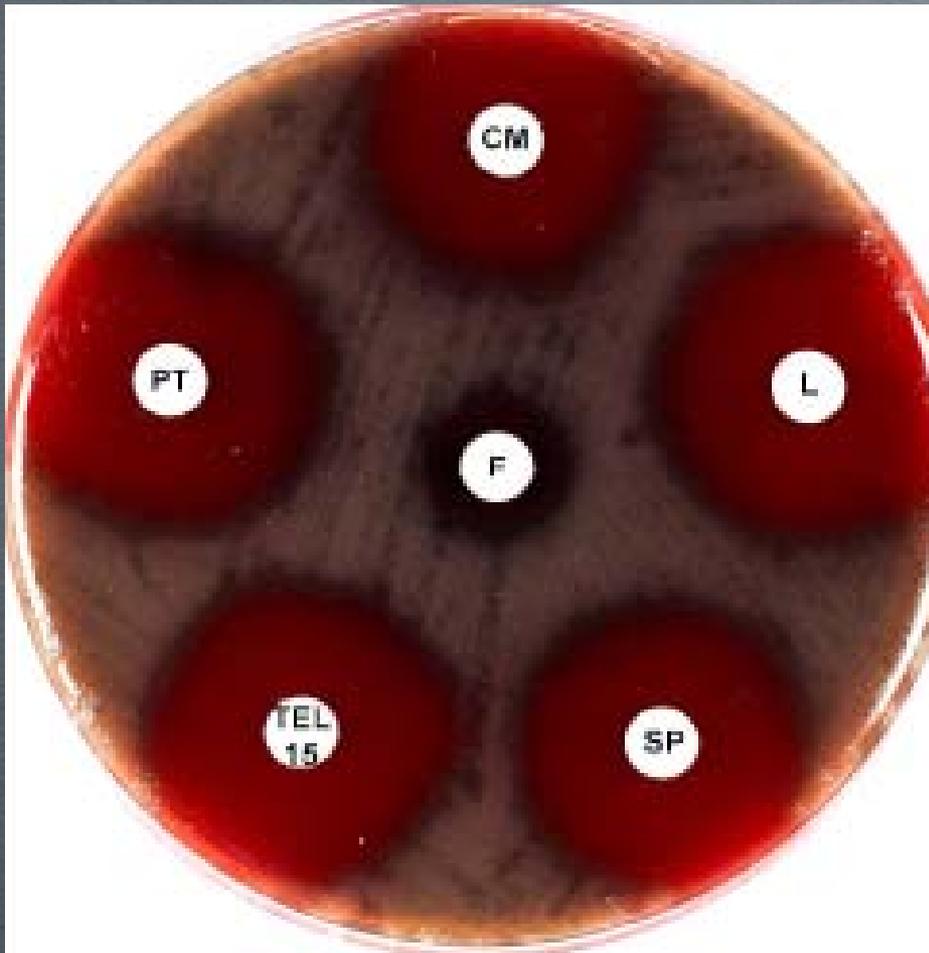


antagonisme
ery/clinda

- Le phénotype MLSB constitutif ressemble à celui de *erm(B)*
- Rapporté chez SGA (5%) et chez SGB (>30%), très rare chez Sp

Phénotype M inductible [génotype *mef(A)*]

niveau R variable



pas d'antagonisme E/L

Substrats de la pompe (*M*_{major}*F*_{acilitator}*S*_{uperfamily}): M14 et 15 (M16, linco, télithro pas touchés)

Fréquence en F SGA (10-30%) SGB (5%) Sp (3%)

Fréquence de résistance en France

- ✓ Sp 45-50% Ery R erm(B)⁺⁺ et mef(A)
pas de r Télithro ni Pristina
- ✓ SGA 25% Ery R aspect clonal (emm28)
erm(B) et mef(A)
- ✓ SGB 15-25% Ery R
erm(B), erm(A), [mef(A)]

Erythro I/R

Clinda I/R

Clinda S

Clinda S

antagonisme Ery

pas d'antagonisme

Phen MLSb inductible
ou constitutif

MLSb inductible

M14-15

Geno erm

erm

mef

M et Cl R

M et Cl R

M&'-15 R

Réponse au clinicien

	Ery	Cli	Pristina
MLS _B _{ind}	R	I/R/S(I)	S
MLS _B _{const}	R	R	S
M	R	S	S

- Phénotype MLS_Bi: réinterpréter Cli/Lin « I »
- Phénotype M: ne pas réinterpréter Cli/Lin « S » (non substrats de la pompe)
- Activité bactéricide de la pristinamycine conservée contre les Sp MLS_B

Activité de la télithromycine (kétolide)

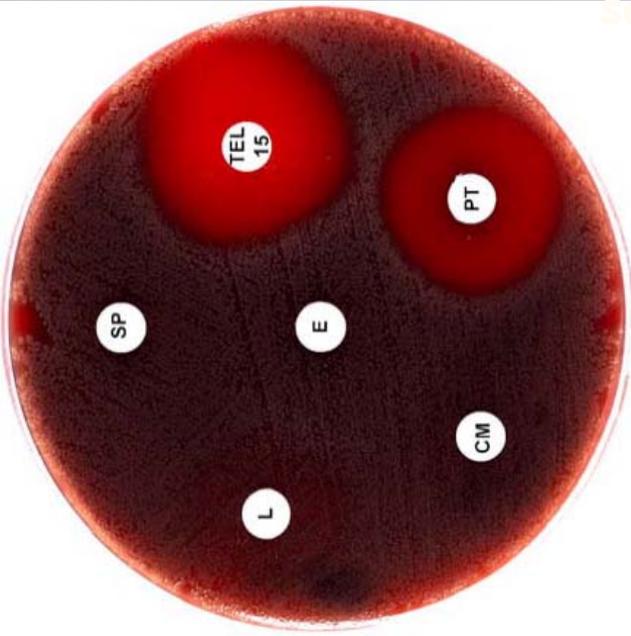
- Active sur les souches de phénotype M (efflux) (CMIX2)
de phénotype MLSB génotype ermTR (*S. pyogenes*)
- Rarement active sur les souches de *S. pyogenes* phénotype MLSB génotype erm(B)
- Très souvent active sur les souches de Sp phénotype MLSB et génotype erm(B);
fausses réponses « intermédiaire » après incubation sous CO₂

Nécessite un test spécifique:

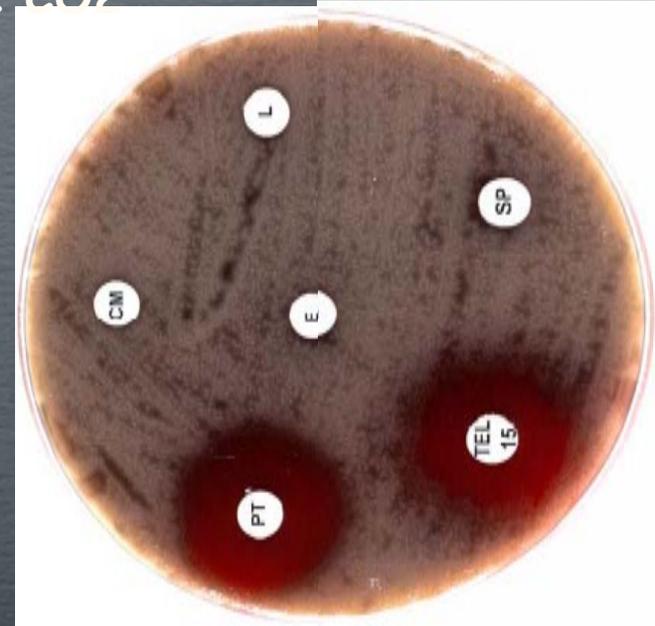
la réponse ne peut être déduite du test des autres MLS

sans CO₂

avec CO₂



tester sans CO₂



Tétracyclines

Inhibiteurs de la synthèse des protéines (ribosome)

Bactériostatique à large spectre

- Action après diffusion passive \approx membrane des Bactéries Gram+
fixation \approx /s unité 30S (protéine S7 et ARN 16S)
empêche la fixation de l'ARNt
- Activité antibactérienne

	écart CMI	CMI50	CMI90
Sp	$\leq 4 - > 8$	≤ 4	> 8
Str BH	2- 8	> 8	> 8
Str NG	2- 8	> 8	> 8
Bornes de sensibilité du CA-SFM		$S \leq 4$	R > 8

Tester Tc et Mc pour différencier efflux (Tc R Mc S)

et protection ribosomale (Tc R et Mc R)

Tétracyclines :

Mécanismes de résistance

- Efflux tet(K) et tet(L) plasmidique
- Protection ribosomale tet (M, O, Q, T, W)
produit des protéines proches des facteurs EF
portés par des plasmides ou des transposons conjugatifs
tet(O) est retrouvé sur le même Tn que mef(A) chez *S. pyogenes*
- Inactivation enzymatique pas chez les BGP

Epidémiologie de la résistance essentiellement tet(M)

Sp	30% de R
SGA	35%
SGB	>80%

Tigécycline

Beaucoup plus active sur les Stretocoques

pas touchées par l'efflux

pas affectée par la présence de tet(M)

Rifampicine

Action bactéricide par inhibition de la RNA polymérase-DNA dépendante

Mécanisme de résistance

mutation dans le gène *rpoB* (domaines codant pour la β et β' unités)
acquisition de gènes mutés à partir d'autres Streptocoques

Fréquence de résistance le plus souvent basse (<1% en France et Espagne)
difficile à évaluer

Glycopeptides

Pas de résistance sauf

une souche de *S. bovis* résistante à la Vancomycine
(Van B)

Aminosides

AB glycosidique bactéricide

Actifs sur le ribosome (30S) → arrêt de la synthèse protéique

Cible ≈ ARN 16S et protéines ribosomales

Transport en partie actif (énergie ← oxydation) EDP

• Mécanismes de résistance

✓ altération de la cible rare (SM)

✓ Modification enzymatique gènes » plasmides ou transposons

AAC APH ANT +/- classes et iso enzymes

✓ Constitutif et production intracellulaire

✓ Niveau de résistance variable (Haut niveau pour APH)

Aminosides

Résistance naturelle \leftrightarrow métabolisme anaérobie , à bas niveau (4-256mg/L)
mais synergie + B-lactamines/glycopeptides

		SGA	Sp	SNG
CMI	SM	12-50	6-25	6-25
	KN	12-50	6-25	12-50
	GN	4-8	3-6	6-12

Résistance acquise

- Mutants ribosomiaux (Sp) Haut niveau de résistance à la SM
- Résistance Enzymatique
ANT6 APH3' en association \rightarrow SM-KN R
AAC6'-APH2 Enz bifonctionnel \rightarrow KN-GN R
association \rightarrow SM-KN-GN R

Détection disques fortement chargés, MH + 5% sang de cheval
zone d'incertitude

Aminosides

Fréquence de la résistance HN

Sp 0% résistance GM
 8% SM 3% KN (67% phénotype sauvage)

SGB 0% résistance GM
 80% phénotype sauvage

Autres Stretocoques

 0% résistance GM
 > 90% phénotype sauvage

Autres Antibiotiques

- Chloramphénicol

inhibition de la synthèse des protéines (/s unité 50S, ARN 23S)

habituellement actif sur Sp et SGB, moins de 1% R

- Fosfomycine

inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne

au stade précoce (MurA) avant Bactamines et glycopeptides

	écart CMI	CMI50	CMI90
Sp est sensible (Cc 32mg/L)	4-16	5	10
SGA	2-64	28	54
SGB	2-64	12	45

Autres Antibiotiques

• Sulfamides et Triméthoprime

Interaction avec la synthèse des acides nucléiques
remplacent le DHF à des stades \neq de la synthèse
action séquentielle --> synergie le plus souvent bactéricide

ABG emploi de Mx particulier (MH +5% sang lysé)

CMI Sulfamides 4-32 mg/L TMP 0,5-4 mg/L

Résistance

Sulfamides rare chez les Streptocoques sauf Sp
modification de DHFS

TMP modification de DHFR R à bas niveau

Sp 25% en 2009 SGA

