

β -lactamines :
Lecture interprétative de
l'antibiogramme

Pr ag. Boutiba-Ben Boubaker I.
Laboratoire de Microbiologie
Hôpital Charles Nicolle

Février 2009

INTRODUCTION

Lecture interprétative de l'antibiogramme

1- Caractérisation du phénotype de résistance

(Choix judicieux des antibiotiques à tester: même famille, même classe)

2- Déduction du mécanisme biochimique par le phénotype observé

3- Prédiction des autres phénotypes de résistance par la connaissance du mécanisme

☛ Transformation d'un résultat initialement S en résultat I ou R en raison d'un risque d'échec thérapeutique

Pré requis

- Classification ATB (β -lactamines)
- Résistances naturelles des différentes espèces
 - = Caractéristique propre à une espèce bactérienne
 - = Résistance de toutes les souches de cette espèce
 - = Définit le phénotype sauvage ou sensible de l'espèce

Résistance acquise

- **Caractéristique de certaines souches au sein d'une espèce bactérienne**
- **Résulte d'une modification génétique :**
 - * **mutation**
 - * **plasmide ou autres éléments**
- **Définit des phénotypes “résistants”**

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

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**

 **Correction des résultats**

R naturelles chez entérobactéries

Production de β -lactamases naturelles → Groupes phénotypiques de résistance

Groupe 0: Espèces dépourvues de β -lactamases *Salmonella* spp et *P mirabilis*

Groupe1: Production naturelle de céphalosporinase de classe C de très bas niveau
E coli et *Shigella* spp

Groupe 2: Pénicillinase bas niveau → *Klebsiella* spp et *C koseri*

Groupe3: Céphalosporine de bas niveau

3 sous groupes selon comportement vis-à-vis C2G et céphamycines (Fox)

S C2G et S Fox: *P rettgeri* et *P stuartii*

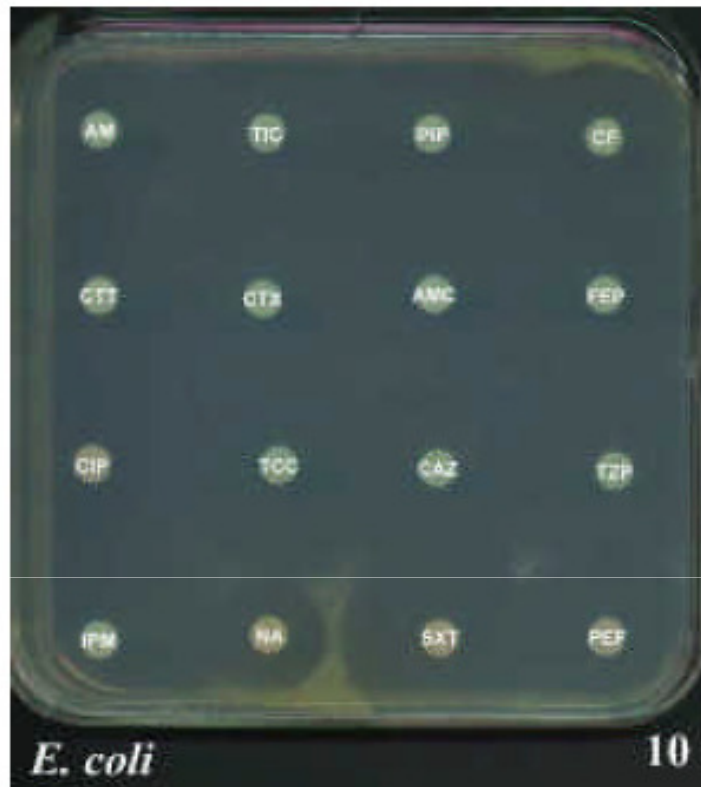
R Fox > C2G: *E cloacae*, *E aerogenes*, *C frendii*

R C2G > Fox : *S marcescens* et *M morganii*

Groupe 4: céphalosporinase + pénicillinase: *Y enterocolitica*

Groupe 5: céfuroximase: *P vulgaris*

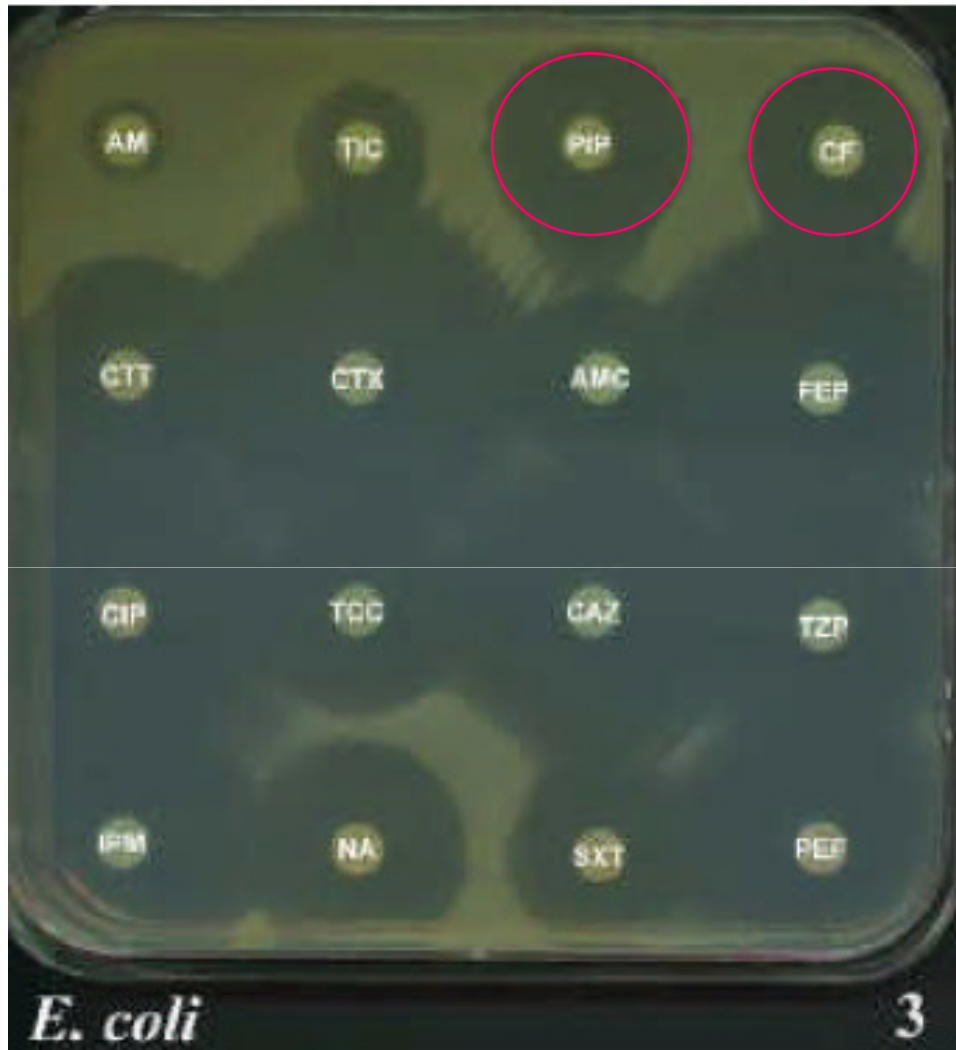
Groupe 6: BLSE chromosomique: *Kluyvera*



Reading Interpretation

Amoxicillin	S	S
Amoxi-clav	S	S
Ticarcillin	S	S
Ticar-clav	S	S
Piperacillin	S	S
Piper-tazo	S	S
Cefalotin	S	S
Cefotetan	S	S
Cefotaxime	S	S
Ceftazidime	S	S
Cefepime	S	S
Imipenem	S	S

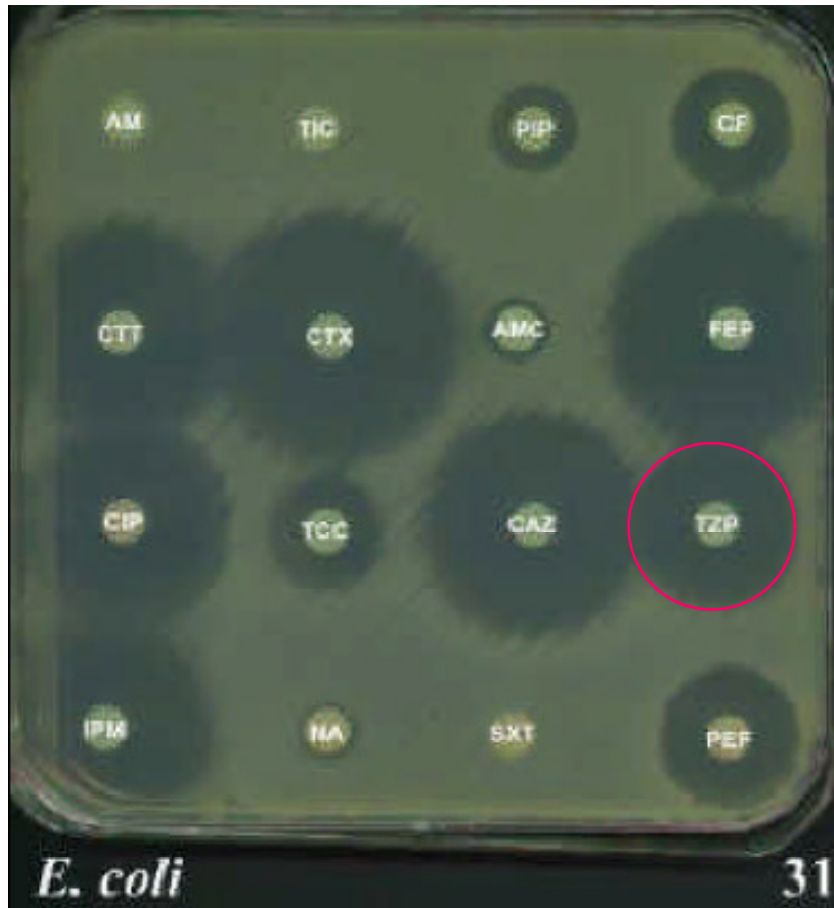
β -lactamines : phénotype sauvage



Reading Interpretation

Amoxicillin	R	R
Amoxi-clav	S	S
Ticarcillin	R	R
Ticar-clav	S	S
Piperacillin	S	I
Piper-tazo	S	S
Cefalotin	S	I
Cefotetan	S	S
Cefotaxime	S	S
Ceftazidime	S	S
Cefepime	S	S
Imipenem	S	S
Nalidixic acid	S	S
Pefloxacin	S	S
Ciprofloxacin	S	S

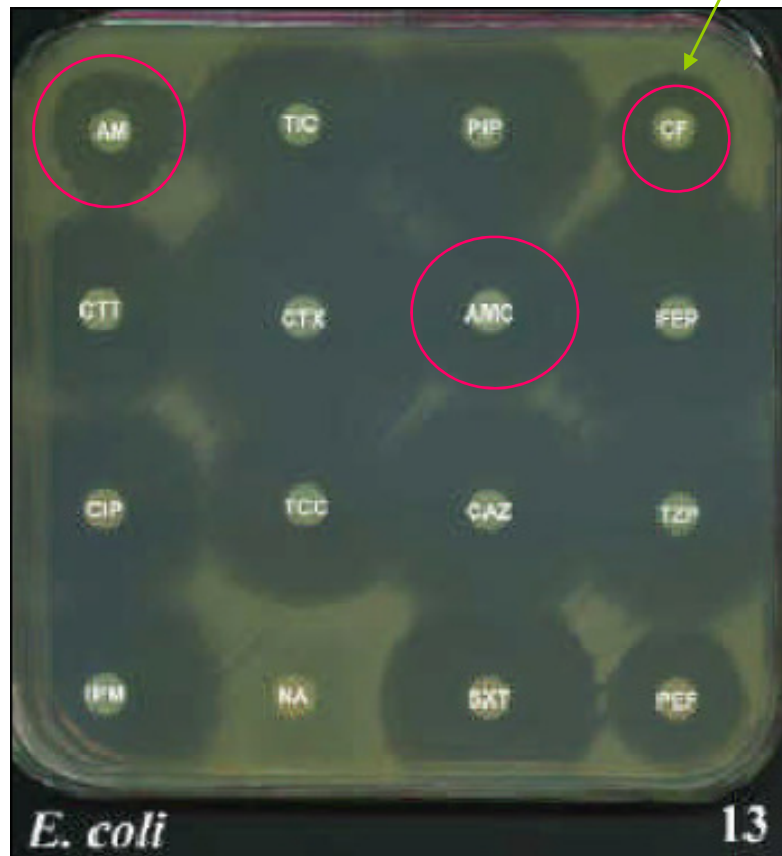
β -lactamines: pénicillinase acquise



Reading Interpretation

Amoxicillin	R	R
Amoxi-clav	R	R
Ticarcillin	R	R
Ticar-clav	R	R
Piperacillin	R	R
Piper-tazo	S	I
Cefalotin	I	I
Cefotetan	S	S
Cefotaxime	S	S
Ceftazidime	S	S
Cefepime	S	S
Imipenem	S	S
Nalidixic acid	R	R
Pefloxacin	I	I
Ciprofloxacin	S	S

TEM Resistant to β -lactamase Inhibitors = TRI / IRT
 (altération de la séquence de la β -lactamase de type TEM)



Reading Interpretation

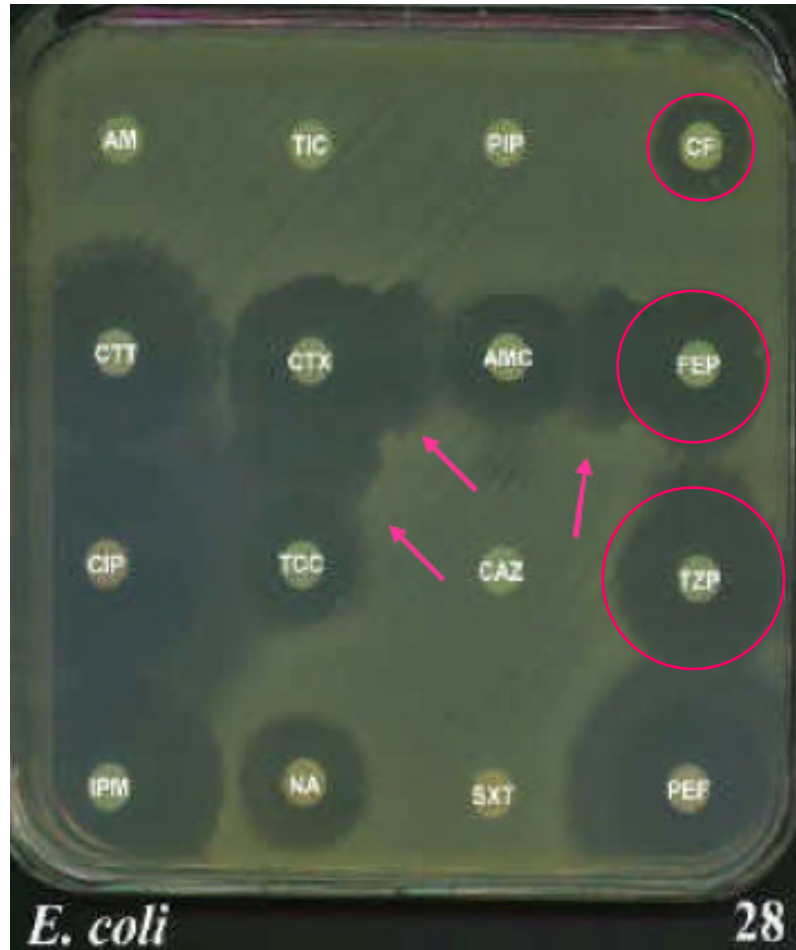
Amoxicillin	S	I	—
Amoxi-clav	S	I	—
Ticarcillin	S	S	
Ticar-clav	S	S	
Piperacillin	S	S	
Piper-tazo	S	S	
Cefalotin	R	R	—
Cefotetan	S	S	
Cefotaxime	S	S	
Ceftazidime	S	S	
Cefepime	S	S	
Imipenem	S	S	
Nalidixic acid	R	R	
Pefloxacin	I	I	
Ciprofloxacin	S	S	

β -lactamines: céphalosporinase de bas niveau

β -lactamases à spectre étendu BLSE

- **Pénicillinases**
- **S à action IBL**
- **Hydrolysent toutes les β -lactamines sauf les céphamycines (cefotetan, céfoxitine, latamoxef) & carbapénèmes**

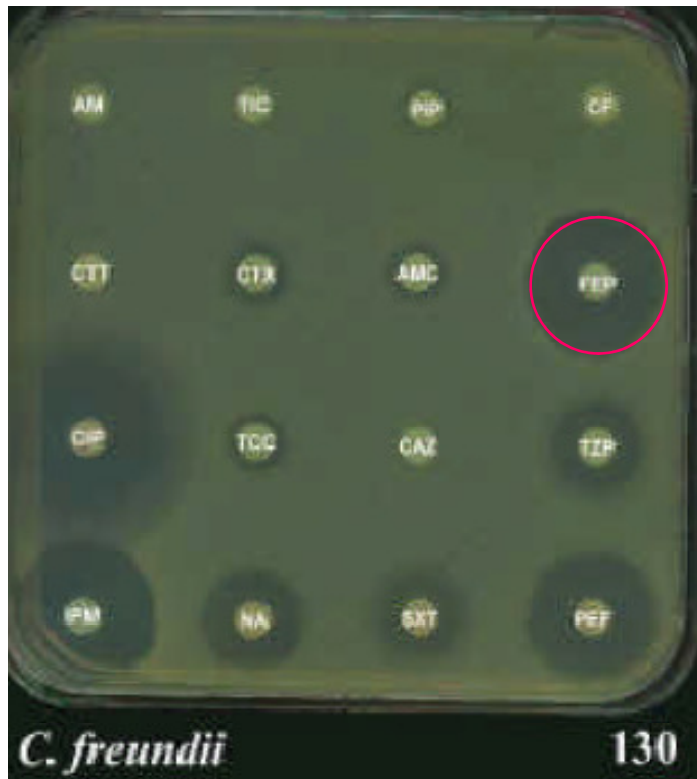
Détection des BLSE



Reading Interpretation

Amoxicillin	R	R
Amoxi-clav	I	I
Ticarcillin	R	R
Ticar-clav	R	R
Piperacillin	R	R
Piper-tazo	S	I
Cefalotin	I	R
Cefotetan	S	S
Cefotaxime	S	I
Ceftazidime	R	R
Cefepime	S	I
Imipenem	S	S
Nalidixic acid	I	R
Pefloxacin	S	S
Ciprofloxacin	S	S

Test de double synergie entre AMC (ou TCC) et C3G



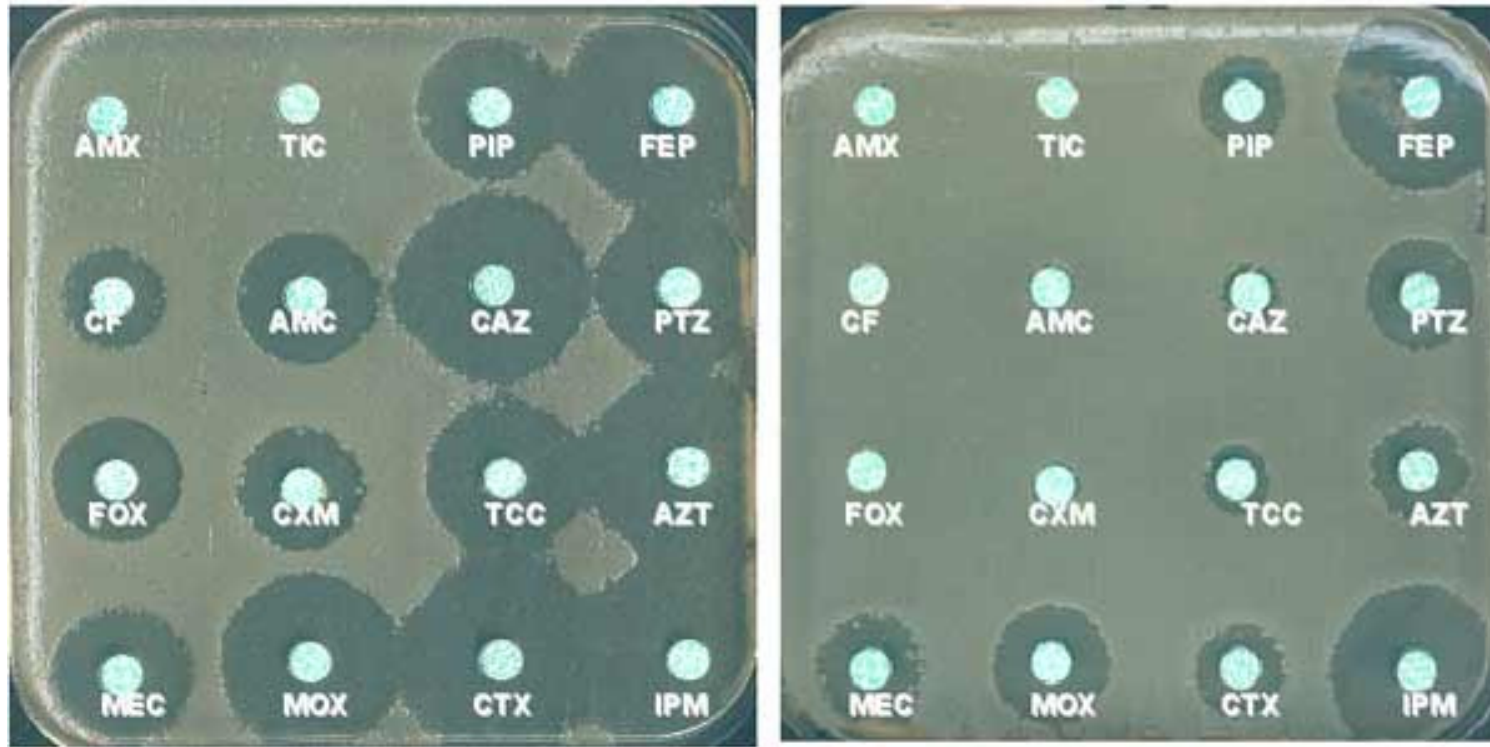
	Reading Interpretation	
Amoxicillin	R	R
Amoxi-clav	R	R
Ticarcillin	R	R
Ticar-clav	R	R
Piperacillin	R	R
Piper-tazo	R	R
Cefalotin	R	R
Cefotetan	R	R
Cefotaxime	R	R
Ceftazidime	R	R
Cefepime	S	I?
Imipenem	S	S
Nalidixic acid	I	R
Pefloxacin	S	S
Ciprofloxacin	S	S

Si BLSE

β -lactamines: BLSE et/ou céphalosporinase

→ Refaire ATB sur gélose MH + 300 mg/L de cloxacilline (inhibiteur des Cases)

→ Révéler → image en bouchon de champagne → BLSE



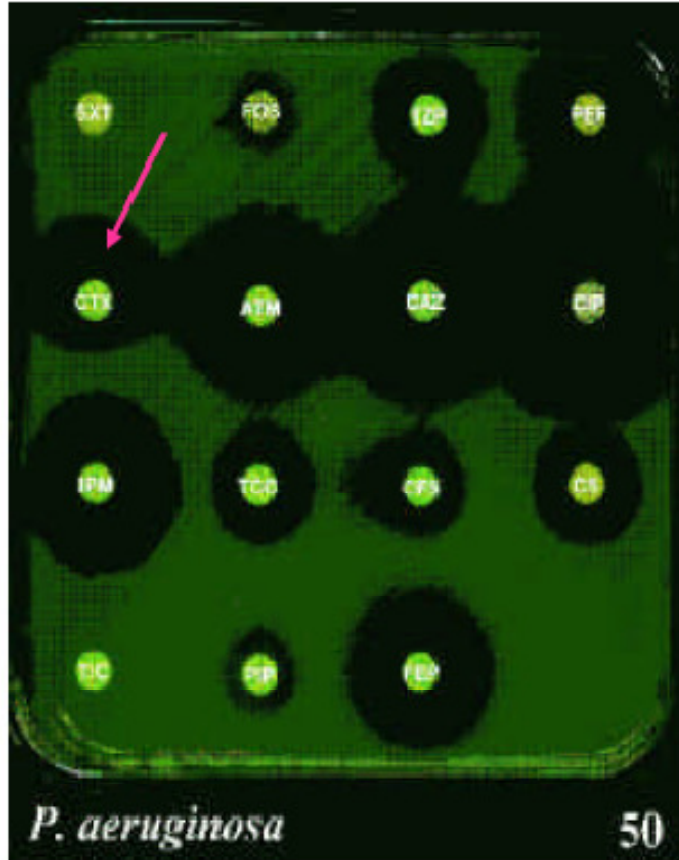
E. coli, hyperproductrice de sa céphalosporinase chromosomique examinée sur milieu MH normal (à droite) et MH supplémentée en cloxacilline (300 mg/L) (à gauche) → inhibition de la céphalosporinase, le phénotype "pénicillinase" est clairement individualisé

Pseudomonas aeruginosa et β -lactamines

Phénotype sauvage

- * **Résistances naturelles:** Case chromosomique inductible
 - . Aminopénicillines; CIG, CIIG; certaines C3G
 - . Phénicolés, tétracyclines, triméthoprim, quinolones IG

- * **Sensibilité:**
 - . Uréidopénicillines : pipéracilline
 - . Carboxypénicilline : ticarcilline
 - . CIIG : ceftazidime,
 - . CIVG: céfépime, cefpirome
 - . Monobactam : aztréonam
 - . Carbapénèmes : imipénème, méropénème

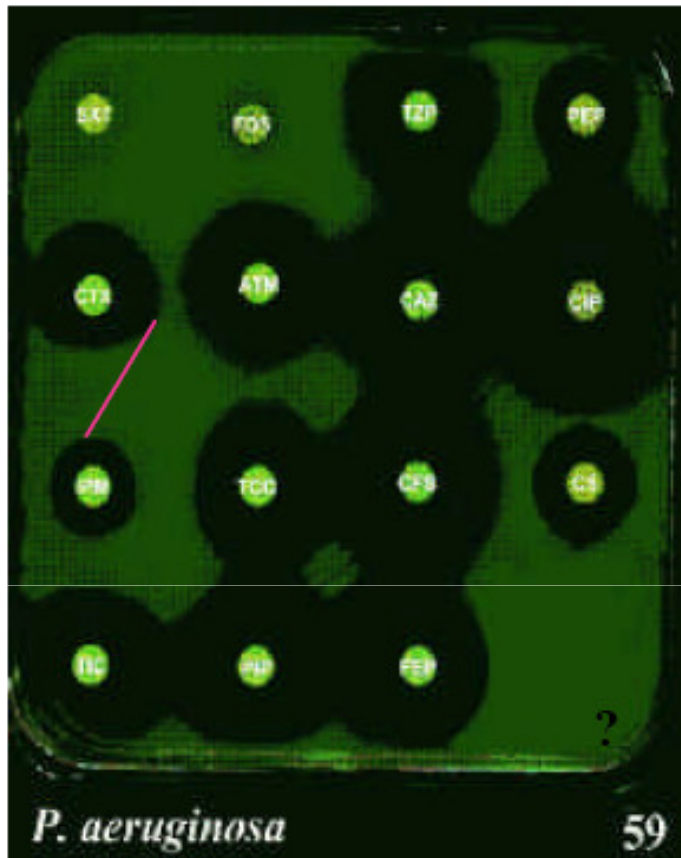


Reading Interpretation

Ticarcillin	R	R
Ticar-clav	I	I
Piperacillin	R	R
Piper-tazo	S	S
Cefotaxime	S	R
Ceftazidime	S	S
Cefsulodin	I	I
Cefepime	S	S
Aztreonam	S	S
Imipenem	S	S
Pefloxacin	S	S
Ciprofloxacin	S	S

R naturelle

β -lactamines: Case + Pase acquise

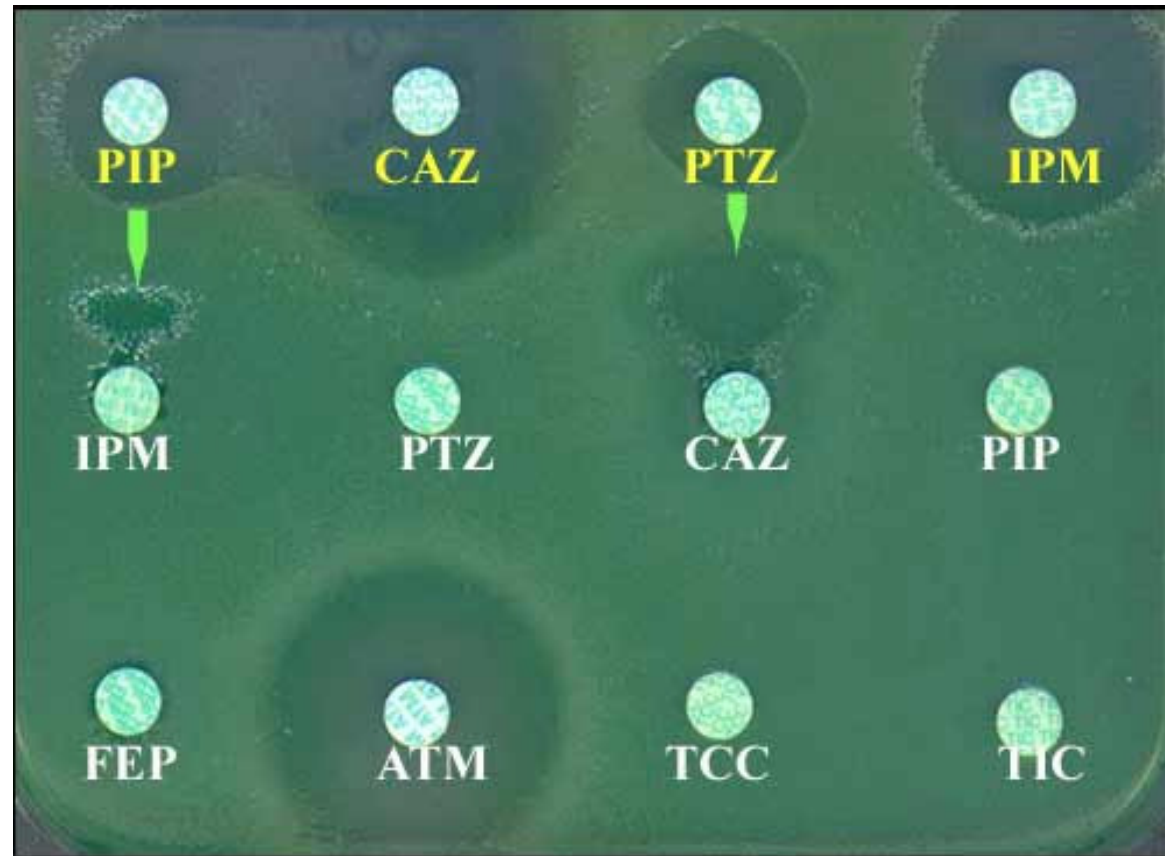


Reading Interpretation

Ticarcillin	S	S
Ticar-clav	S	S
Piperacillin	S	S
Piper-tazo	S	S
Cefotaxime	S	S
Ceftazidime	S	S
Cefsulodin	S	S
Cefepime	S	S
Aztreonam	S	S
Imipenem	R	R
Pefloxacin	S	S
Ciprofloxacin	S	S

β -lactamines: imperméabilité (porine D2)
R isolée à l'imipénème

***P. aeruginosa*: détection d'une carbapénémase de la classe B (VIM-2) par la méthode de diffusion** (pour les antibiotiques en jaune, apport de 20 µl d'une solution de EDTA)(Guérin F. et al., JAC, 2005)



Acinetobacter baumannii et β -lactamines

Résistances naturelles:

- Aminopénicillines, CIG, CIIG, certaines C3G (CTX et CRO)
- fosfomycine, triméthoprime, furanes

Acinetobacter baumannii et β -lactamines

PHENOTYPE	I	II	III	IV	V
Mécanisme	sauvage	Pase	Case	Pase + Case	Accumulation de mécanisme
TIC, PIP	S	R	S	R	R
C3G	S	S	R	R	R
ATM	S	S	R	R	R
IMP	S	S	S	S	R

***Staphylococcus* et β -lactamines**

Naturellement S aux β -lactamines

Quatre mécanismes de résistance acquise

1/ Production de pénicillinase: (fréquence +++)

→ résistance pénicillines, amino, carboxy, acyluréidopénicillines
= Pense sensible aux inhibiteurs (acide clavulanique)

2/ Production d'une PLP2a codée par le gène *mecA*: (milieu hospitalier +++)

→ résistance croisée avec toutes les β -lactamines

3/ Hyperproduction de β -lactamase = BORSA

→ souches résistantes à la méticilline mais les CMI diminuent en présence d'inhibiteurs (acide clavulanique)

→ résistance croisée avec toutes les pénicillines y compris la méticilline

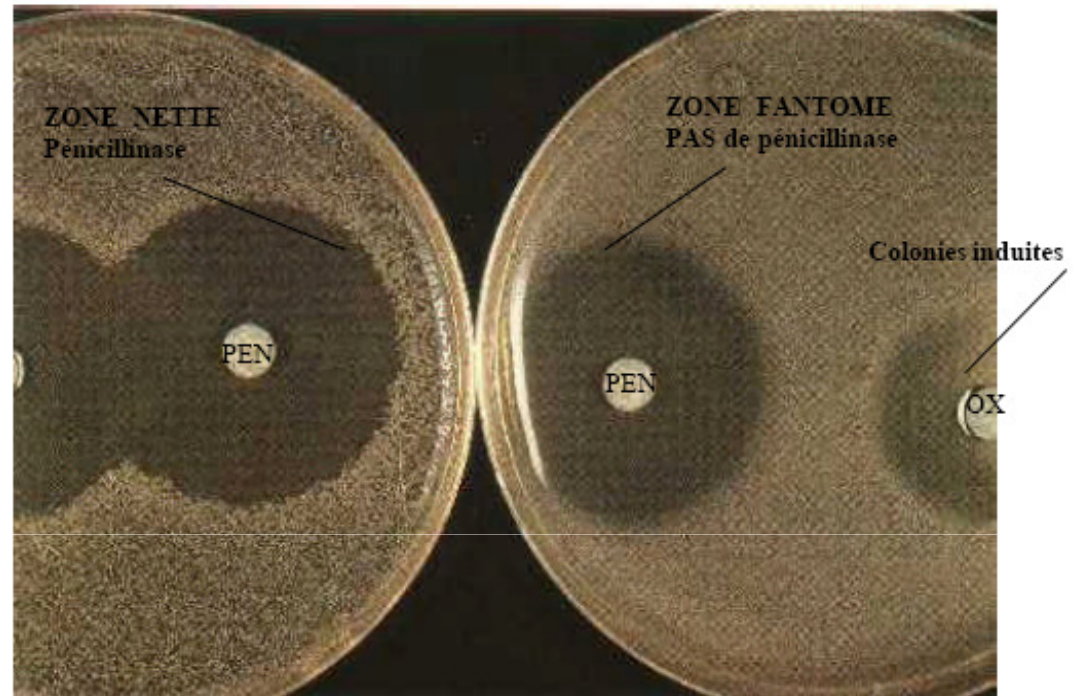
4/ Modification des PLP= MODSA

→ Touche de façon variable les différentes β -lactamines

Détection des pénicillinases

Diamètre Pénicilline G \gg D
Avec production de pénicillinase

Résultat S \rightarrow R
pénicilline G, amino,
carboxy, acyluréidopénicillines

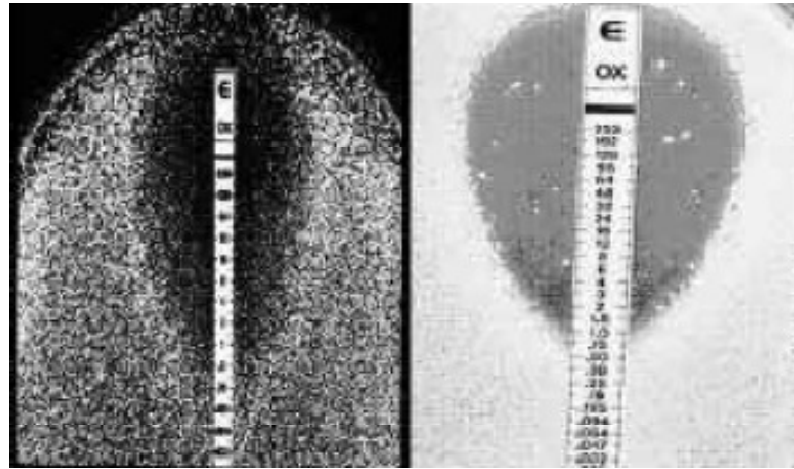


La détection de la bêta-lactamase chez *S. aureus* n'est pas toujours facile et nécessite une culture préalable induite en prélevant des colonies autour du disque d'oxacilline

Détection de la bêta-lactamase par méthode acidimétrique :
Les bandelettes de papier sont imprégnées de pénicilline et d'un indicateur de pH
(pourpre de bromocrésol)
→ si acidification: virage du violet au jaune

Détection de la résistance à la méticilline

Méthodes	R intrinsèque	BORSA	MODSA
Disque d'oxacilline MH à 30 °C ou MH hypersalé à 37 °C	R	BNR	BNR
Disque de céfoxitine	R	S ou I	S ou I
Association acide clavulanique	R	S	R
Screen test	+	-	-
CMI	≥ 16 mg/l	4-16 mg/l	4-16 mg/l
Agglutination des PLP2a sur latex	+	-	-
Gène <i>mec A</i>	+	-	-



R homogène

R hétérogène

Même interprétation → R croisée à toutes les β -lactamines

Pneumocoque et β -lactamines

β -lactamines: notion de sensibilité diminuée

- ▶▶ Modification des Protéines de Liaison à la Pénicilline G (PLP)

Aucune	1 ou plusieurs PLP
Pneumocoque sensible aux β -lactamines	Pneumocoque de sensibilité diminuée aux β -lactamines

LECTURE INTERPRETATION

- Oxacilline

R 

Détermination des CMI de:
Penicilline G
Amoxicilline
Céfotaxime /ceftriaxone
(Imipénème)

Diamètre
 Oxa (5µg) < 25mm
 Oxa (1µg) <20 mm

	S	I	R
		BNR	HNR
Pénicilline G	≤ 0.06	0.125-1	> 1
Autres β -lactamines	≤ 0.5	1-2	> 2

* Si méningite → I = R

Haemophilus influenzae et β -lactamines

- **R par production de β -lactamase constitutive** (TEM-1 plasmidique)
 - R amino & carboxyP, restituée par IBL
 - Détection: céfinase avant antibiogramme
 - Vue l'hétérogénéité de répartition plasmidique → tester plusieurs colonies
- **Altération structurale d'une ou de plusieurs PLP**
 - BNR aminoP, CIG et IMP et IBL
 - Détection: disque amp (2 μ g): $\Phi < 20$ mm



N. meningitidis et β -lactamines

* La détection d'une sensibilité diminuée aux pénicillines est effectuée en routine à l'aide d'un disque d'oxacilline (1 μ g ou 5 μ g) selon les critères suivants :

- oxa 1 μ g \geq 11 mm ou oxa 5 μ g \geq 18 mm, souche sensible aux pénicillines

- oxa 1 μ g < 11 mm ou oxa 5 μ g < 18 mm, sensibilité diminuée à la pénicilline G et/ou amoxicilline à confirmer par la détermination des CMI.

* La résistance à haut niveau aux pénicillines par production de β -lactamase est extrêmement rare. Elle est détectée par une technique chromogénique



N. gonorrhoeae et β -lactamines

- La production de β -lactamase doit être détectée par une technique chromogénique dès l'isolement. Elle confère la résistance aux amino, carboxy et uréido-pénicillines. Et est restaurée lors de l'association avec IBL



- La détection d'une sensibilité diminuée aux pénicillines sera effectuée en routine par détermination de la CMI de la pénicilline G sur gélose chocolat PolyViteX

CONCLUSION

ANTIBIOGRAMME +++



DIALOGUE

BIOLOGISTE & CLINICIEN

- **AIDE À L'ANTIBIOTHERAPIE :**

Du fait :

- de l'évolution du nombre de molécules
- de l'évolution des résistances

- **INFORMATIONS EPIDEMIOLOGIQUES**

Production «états épidémiologiques» par germe, par service, par type de prélèvement (par hôpital + études multicentriques)

↳ **Meilleure connaissance de l'environnement local pour une antibiothérapie probabiliste optimisée**