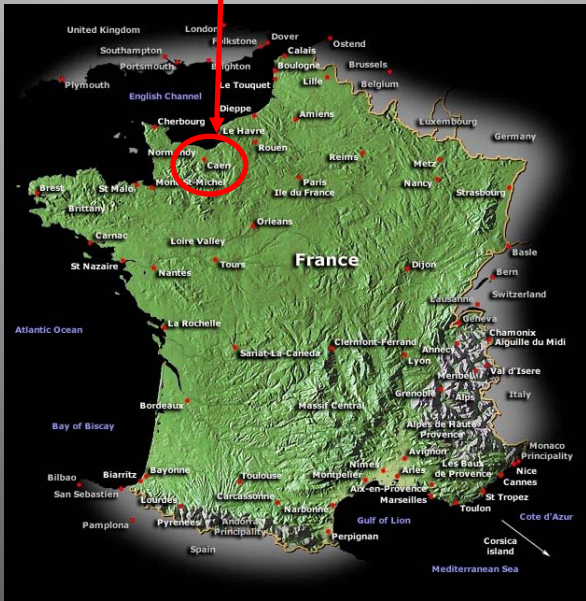


# STAPHYLOCOQUES: MACROLIDES ET GLYCOPEPTIDES

R. Leclercq

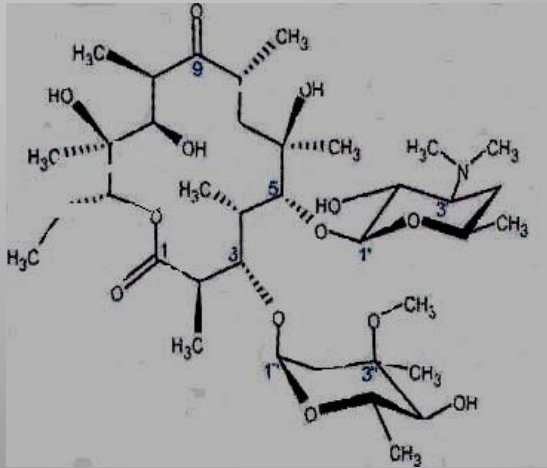


**CHU de Caen (Normandie, France), 1400 lits.**



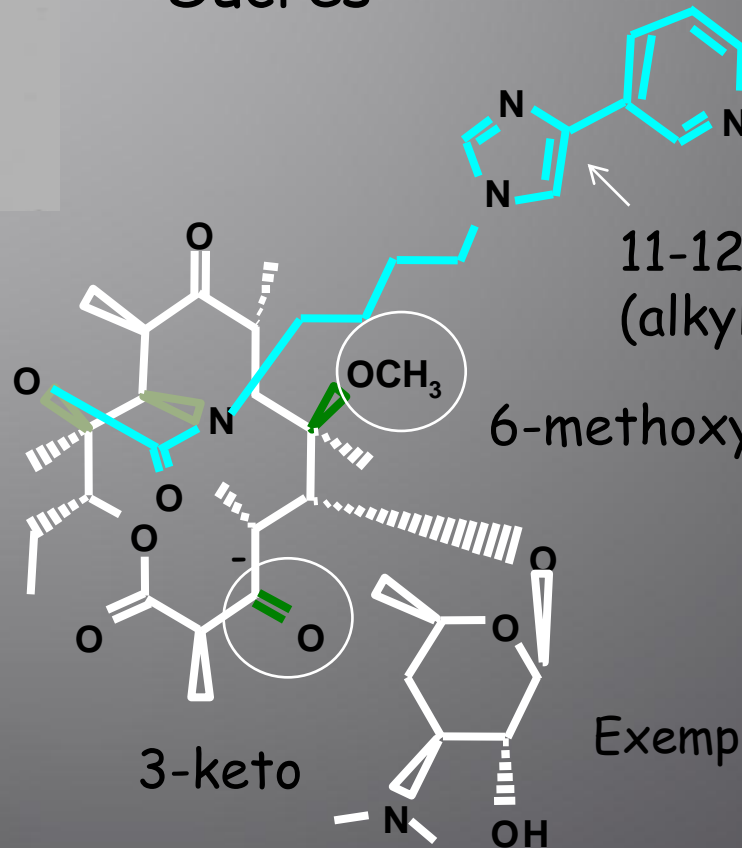
**Abbaye Mont Saint-Michel, 9<sup>ème</sup> siècle**

# Structure de l'érythromycine (macrolide)



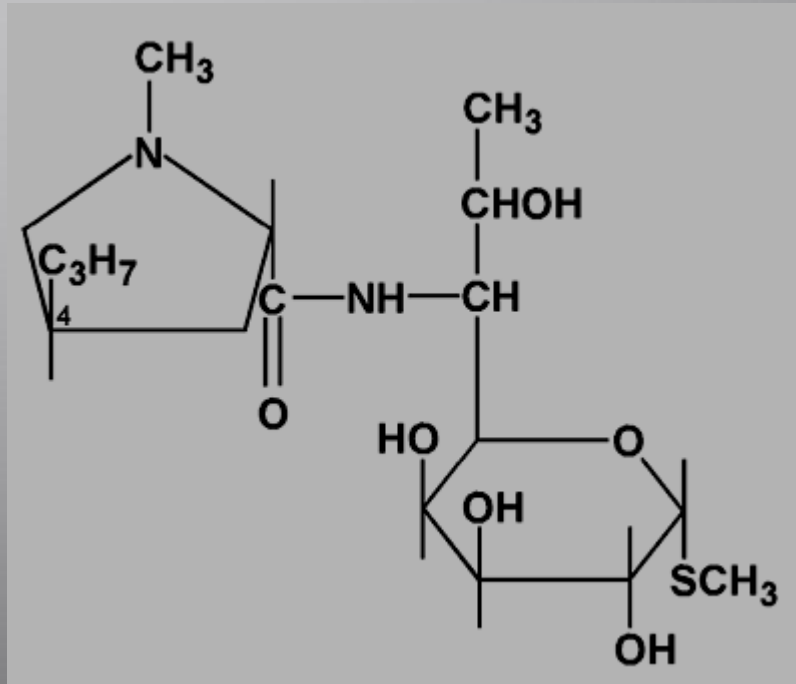
Erythromycine A

Autres macrolides, différence par  
-nombre d'atomes du cycle  
-Sucres

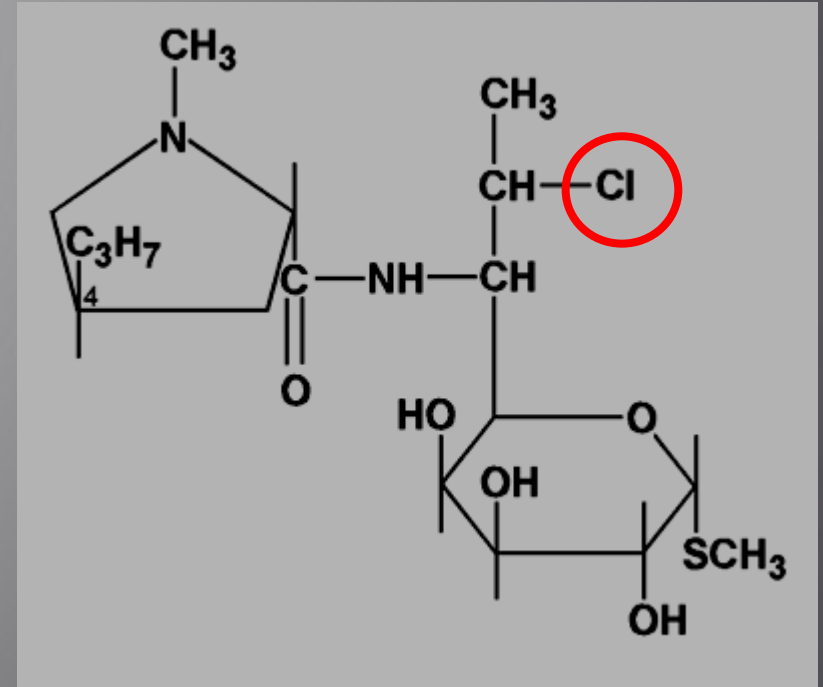


Exemple de la télithromycine

# Lincosamides: structure différente de celle des macrolides (proline alkylée)

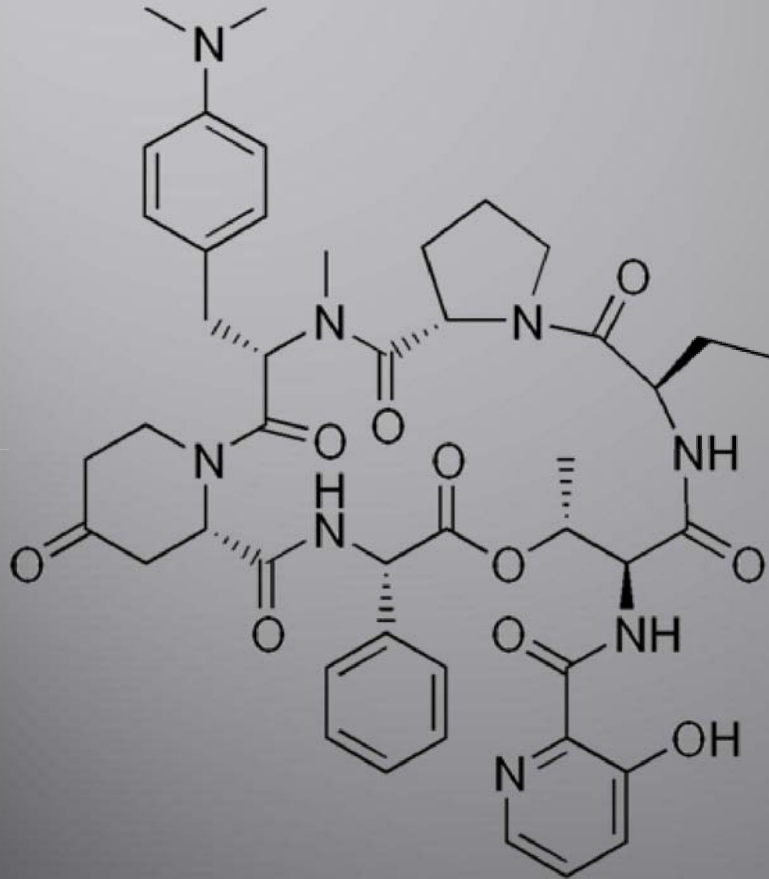


Lincomycine

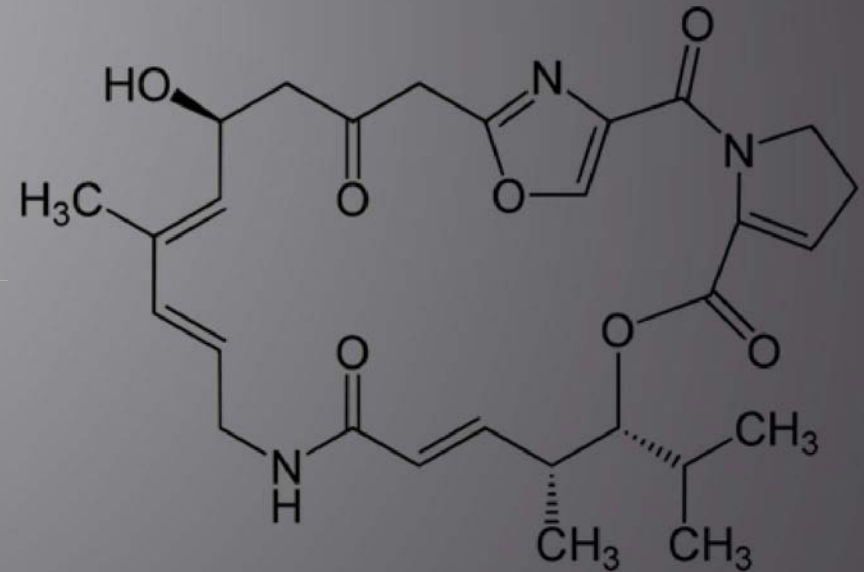


Clindamycine

# Pristinamycine (streptogramin)



Pristinamycine IA  
(Facteur B)



Pristinamycine IIA  
(Facteur A)

# Macrolides-lincosamides-streptogramines

## Macrolides à noyau à 14-atomes

-érythromycine, roxithromycine, clarithromycine,  
dirithromycine  
-kétolides (télithromycine)

## Macrolides à noyau à 15-atomes

Azithromycine

## Macrolides à noyau à 16-atomes

spiramycine, josamycine, myokamycine, midécamycine

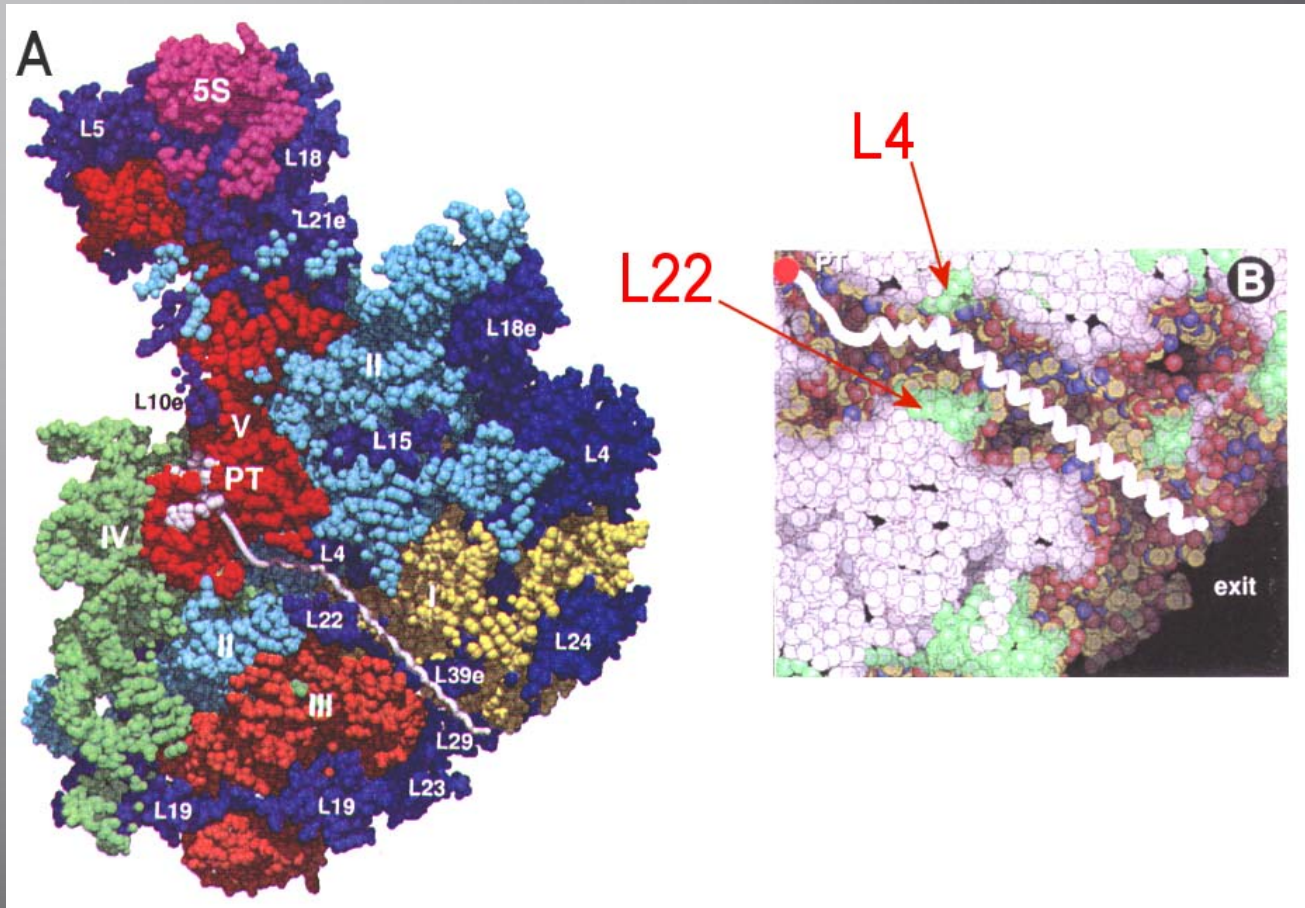
## Lincosamides

clindamycine, lincomycine

## Streptogramines

type-A: dalfopristine, pristinamycine IIA, virginiamycine M  
type-B: quinupristine, pristinamycine IA, virginiamycine S

# Sous-unité ribosomale 50S



Nissen, P et al. 2000. Science. 289:920-930

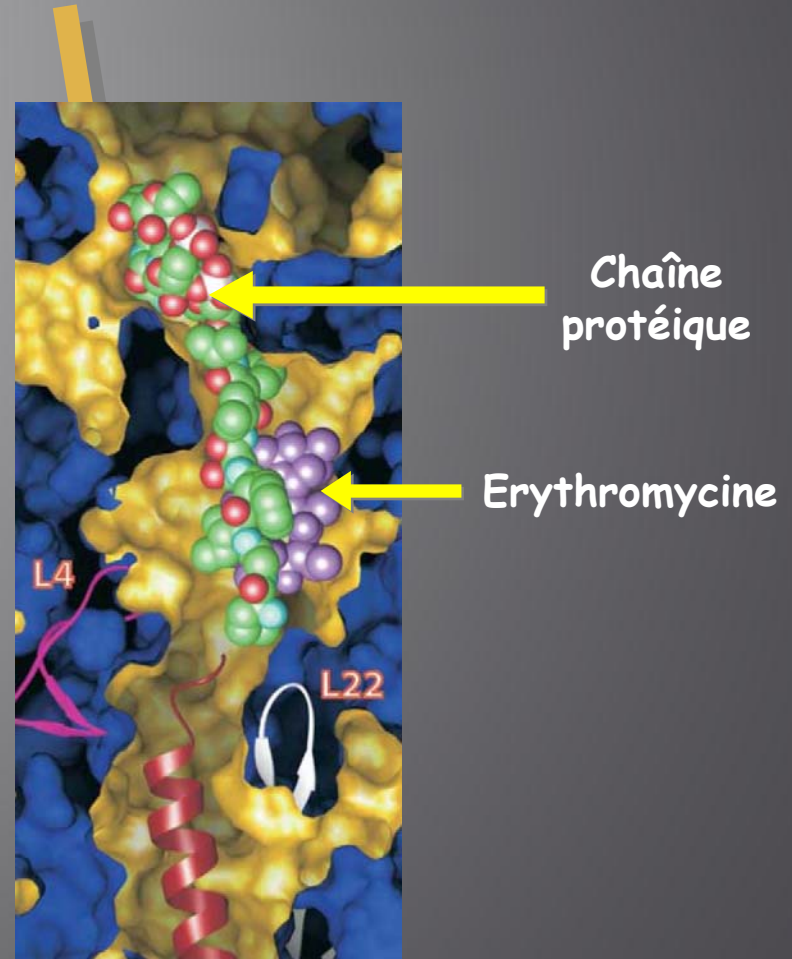


# Mode d'action des macrolides

Encombrement stérique



Blocage de l'élongation des chaînes protéiques

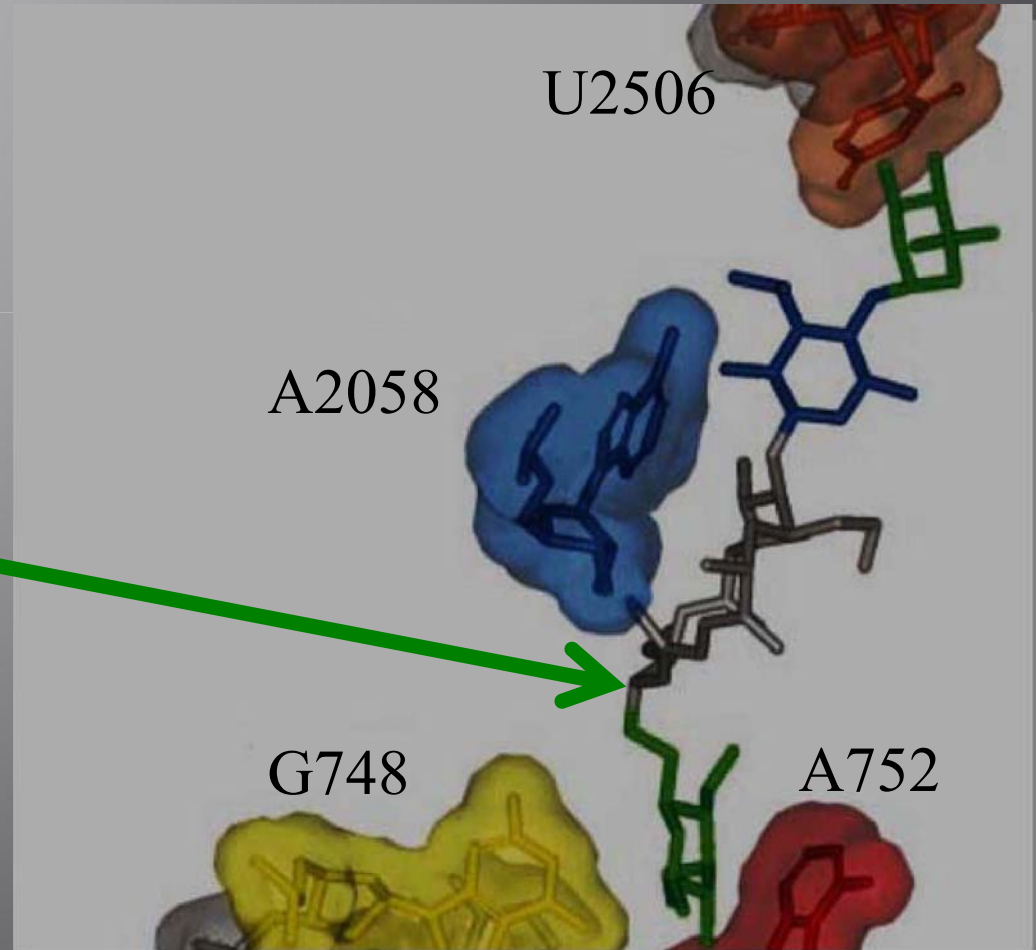


Tunnel de sortie

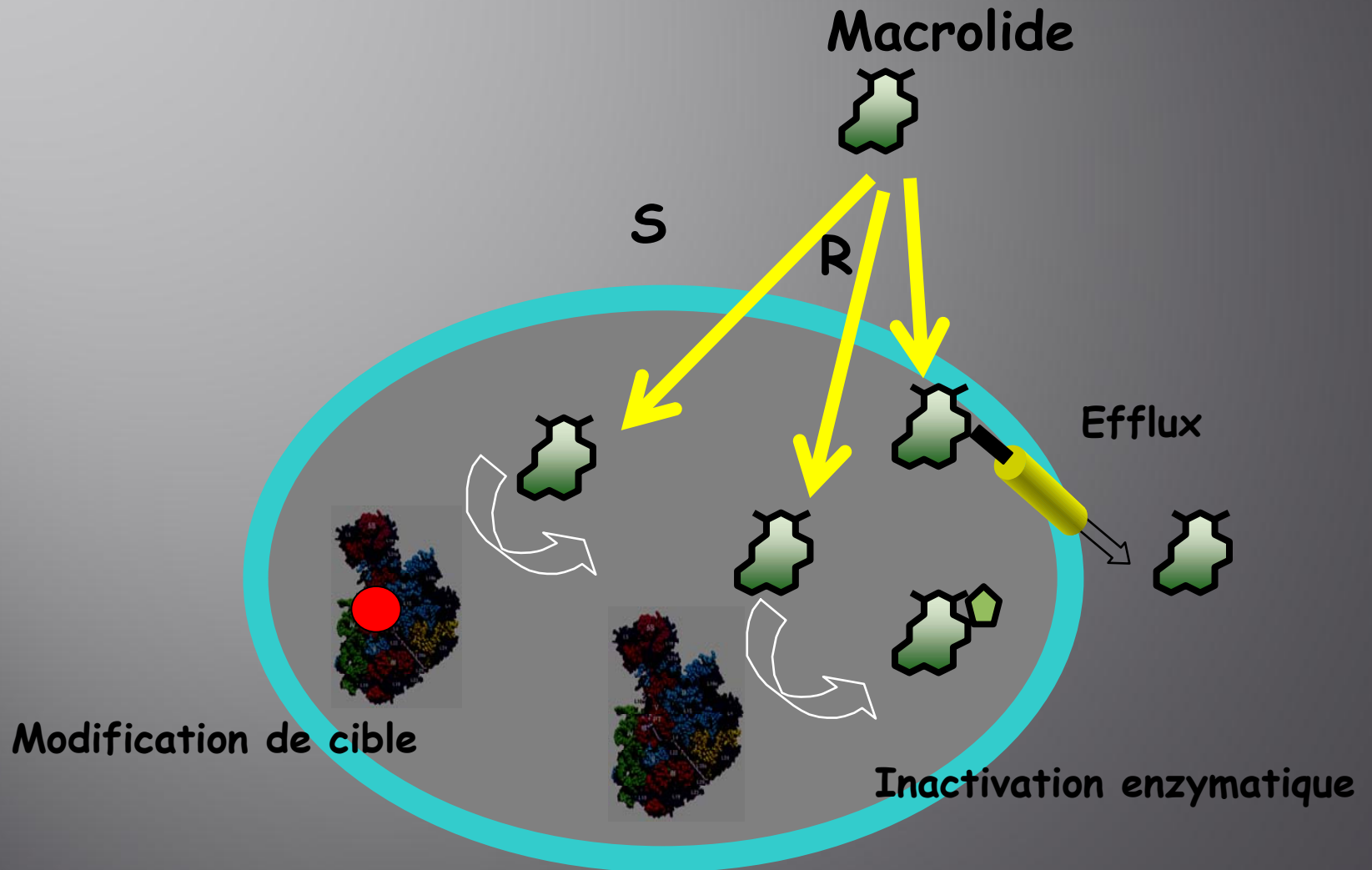
# Site de fixation des macrolides

Fixation  
sur l'ARN 23S

Macrolide

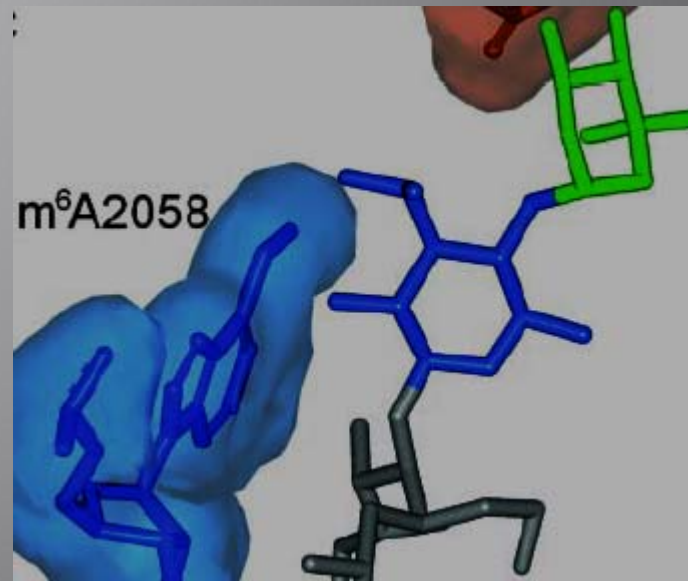
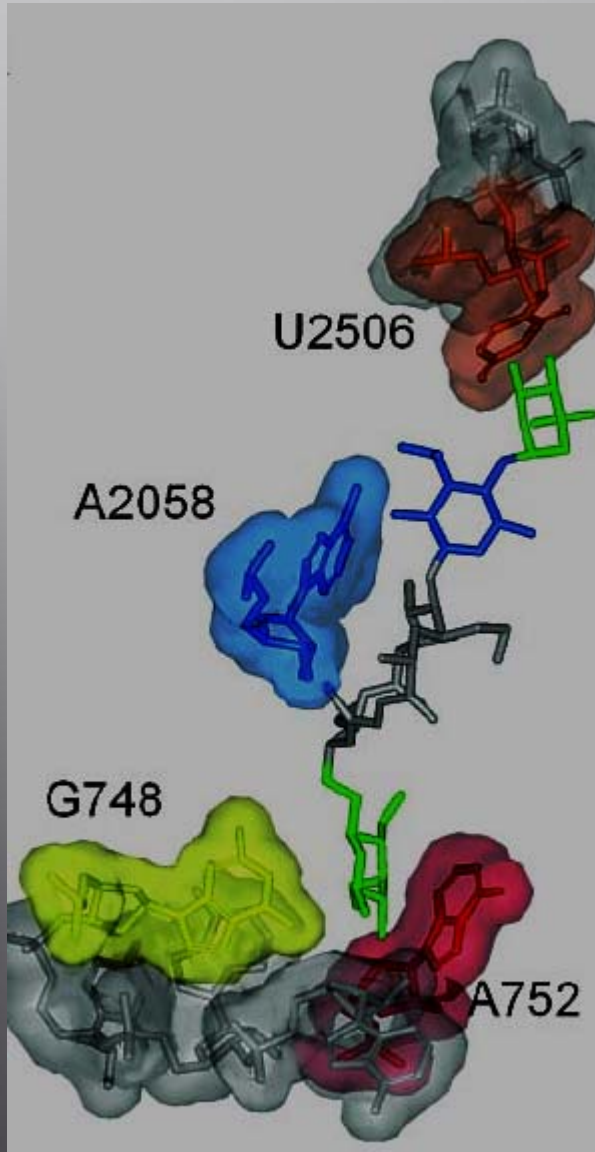


# Mécanismes de résistance aux macrolides



# Méthylation de l'adénine 2058

Gène *erm* (erythromycin ribosome methylase)  
Plasmides, transposons



From Mingfu Liu and Stephen Douthwaite,  
PNAS, 99, 14658-63

# Gènes *erm* chez les bactéries pathogènes

## Gene Class

## Original gene

## Major host

*erm(A)*

*ermA* (Tn554)

Staphylococci

*ermTR*

*S. pyogenes, S. agalactiae*

*erm(B)*

*ermAM* (Tn1545)

Streptococci, enterococci,

*ermP, ermB*

*Clostridium*, (Staphylococci)

*erm(C)*

*ermC* (plasmids)

Staphylococci

*erm(F)*

*ermF*

*Bacteroides*

*erm(T)*

*ermT*

lactobacilli

*erm(X)*

*ermCD, ermCX*

*Corynebacterium*

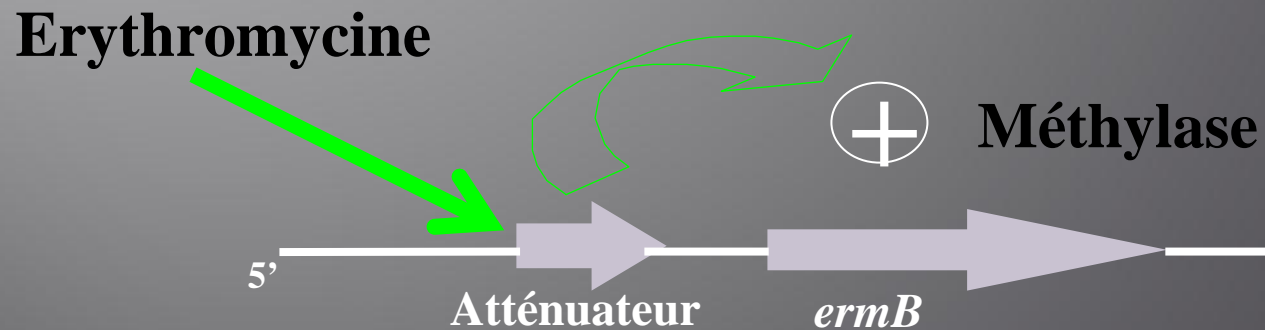
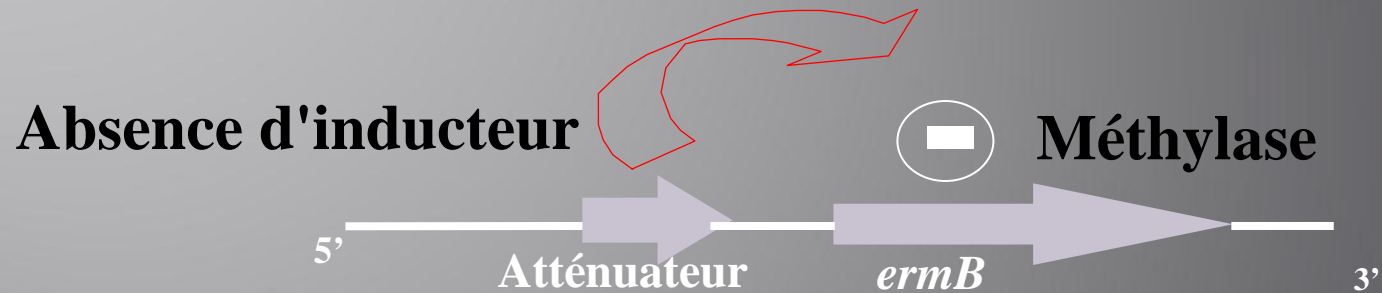
# Résistance MLS<sub>B</sub>

	Erythro. Azithro.	Josa. Spira.	Clinda.	Pristinamycine Quinu-Dalfopriline		
				SgB	SgA	SgA+SgB
<b>Sensible</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>
<b>MLSB inductible</b>	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>
<b>MLSB constitutif</b>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>S</b>



Sont-ils vraiment actifs?

# Induction de la résistance à l'érythromycine



# Résistance constitutive





# Résistance inductible



# La clindamycine est-elle vraiment active contre les staphylocoques MLSBi ?



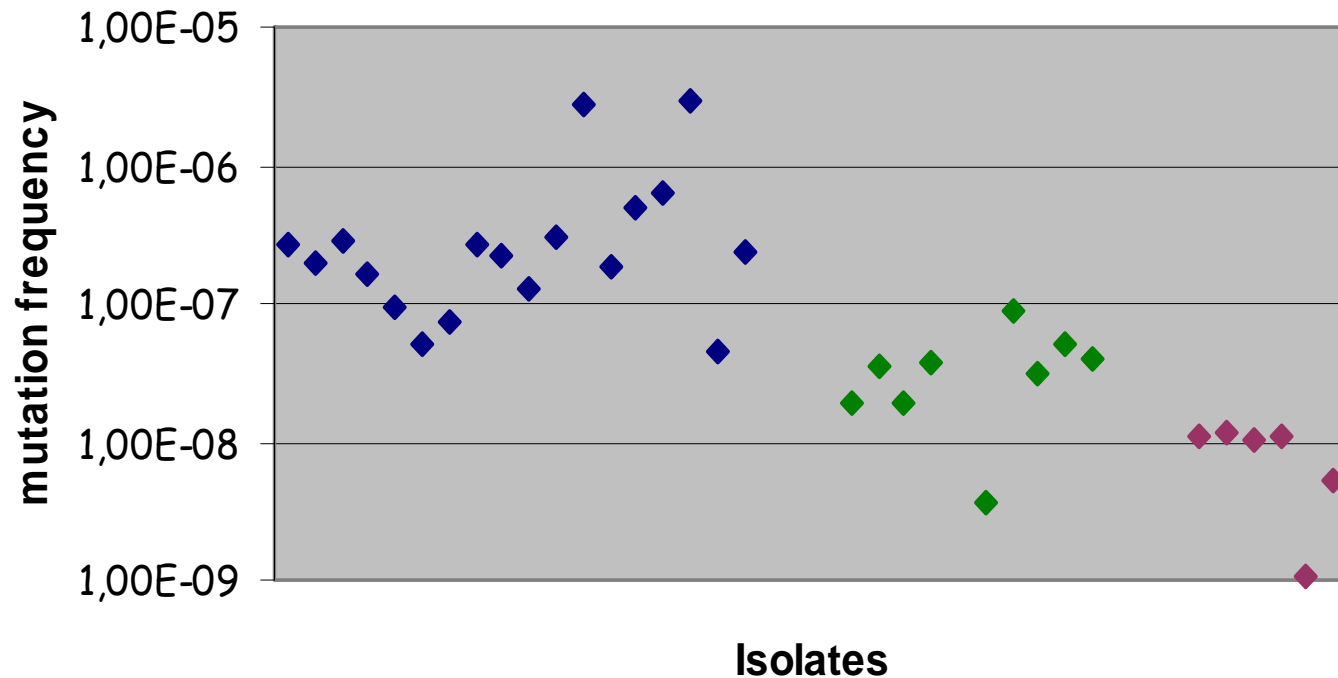
MLSB inductible

In vitro: sélection des clinda-R avec une fréquence de l'ordre de  $10^{-7}$  :

→ Le risque de sélection existe pour les infections à fort inoculum (médiastinite ++, poumon ?)

Pas de risque pour la pristinamycine (le facteur A empêche la sélection de mutant résistant au facteur B)

# Résistance à la clindamycine: fréquences de résistance



■ *ermC*

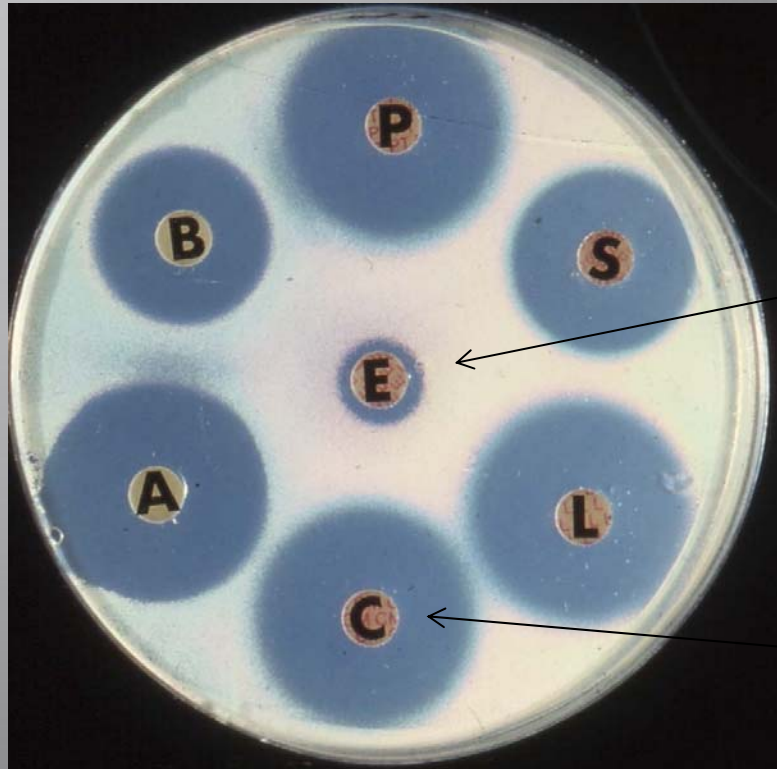
■ *ermA*

■ Sensibles

# Souches $MLS_B$ inductibles : échec thérapeutique

Nb de patients traités par clindamycine	Nb d'échecs	Nb de mutants $MLS_B$ constitutifs sélectionnés	Référence
3	2	1/3	Rao (2000)
2	2	2/2	McGehee (1968)
3	1	1/3	Drinkovic (2002)
2	2	1/2	Frank (2001)
1	1	1/1	Siberry (2003)
1	1	1/1	Levin (2005)
12	9	7/12	

# Le même?



Erythromycine

Clindamycine

Gène *msrA*

Phénotype MSB

Pompe ABC-transporteur

# Test d'induction en automate (test ICR VITEK2 bioMérieux)

Souches étudiées: collection + isolats de routine

	No. isolates with						Other mechanism
	No resistance gene	<i>erm(A)</i>		<i>erm(C)</i>		<i>msr(A)</i>	
		Constitutive	Inducible	Constitutive	Inducible		
Collection and reference strains	0	5	10	4	18	3	0
Routine isolates	25	13	8	0	15	17	1

Isolat clinique sans image d'induction: mutant ribosomal

\*

\*

# Interprétation

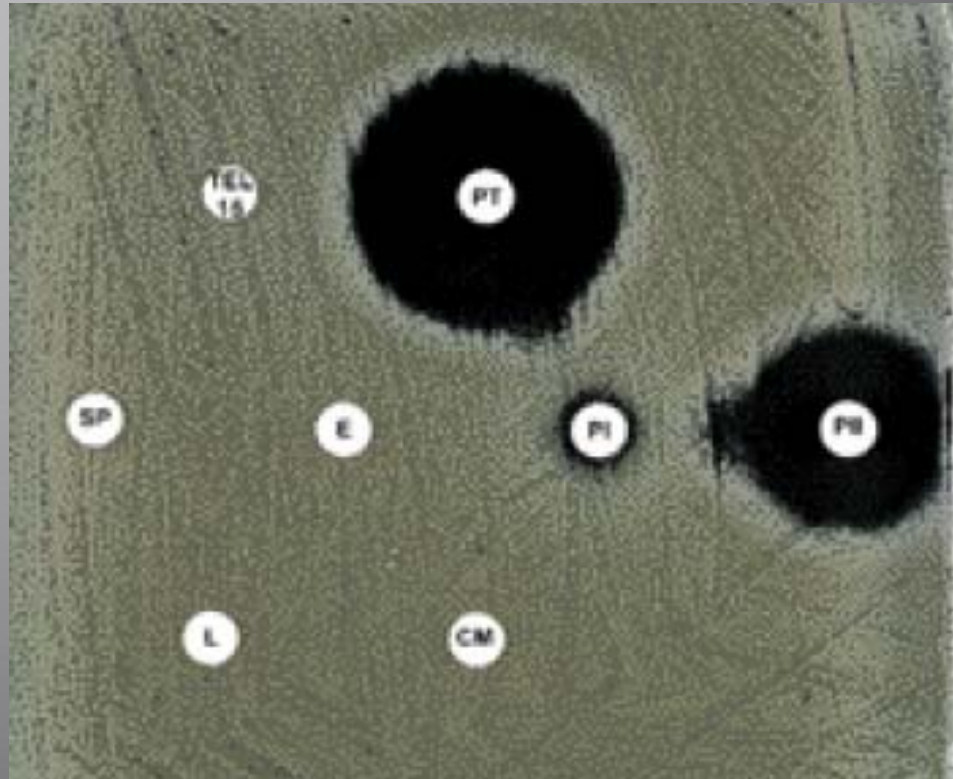
Devant une souche résistante à l'érythromycine et sensible à lincomycine et clindamycine, rechercher le caractère inductible de cette résistance (antagonisme érythromycine-lincomycine). En l'absence d'induction, répondre sensible à la lincomycine et clindamycine. En présence d'induction, répondre sensible à lincomycine et clindamycine avec le message suivant : de rares échecs cliniques ont été rapportés par sélection de mutants constitutifs résistants.

If resistant to erythromycin but susceptible to clindamycin or lincomycin, test for inducible  $MLS_B$  resistance. If negative, report susceptible to clindamycin and lincomycin. If positive, either report as resistant to clindamycin and lincomycin or report as susceptible with a warning: "Clinical failure during treatment with clindamycin or lincomycin may occur by selection of constitutively resistant mutants". The use of clindamycin/ lincomycin is probably best avoided in severe infections.

CA-SFM

EUCAST

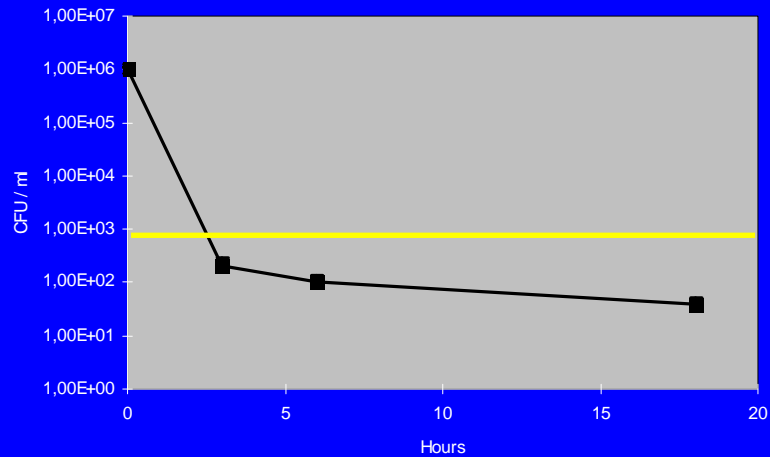
Les streptogramines sont-elles actives contre les staphylocoques MLSb constitutifs?



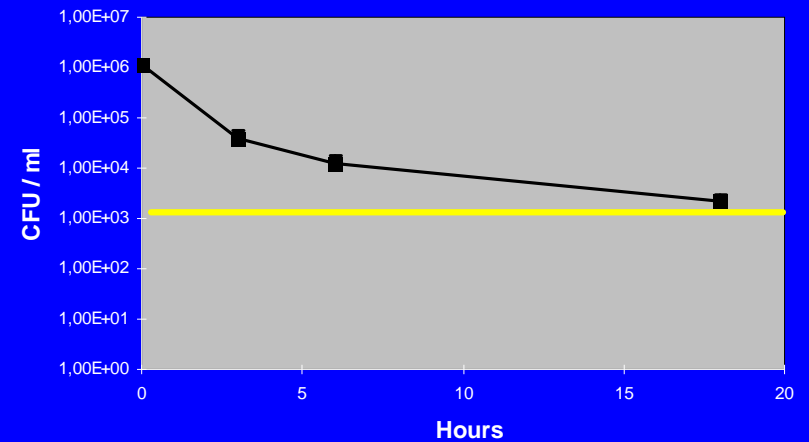


# Activité bactéricide de quinupristine-dalfopristine vis-à-vis de *S. aureus* contenant ou non *ermA*

*S. aureus* RN4220/pAT392

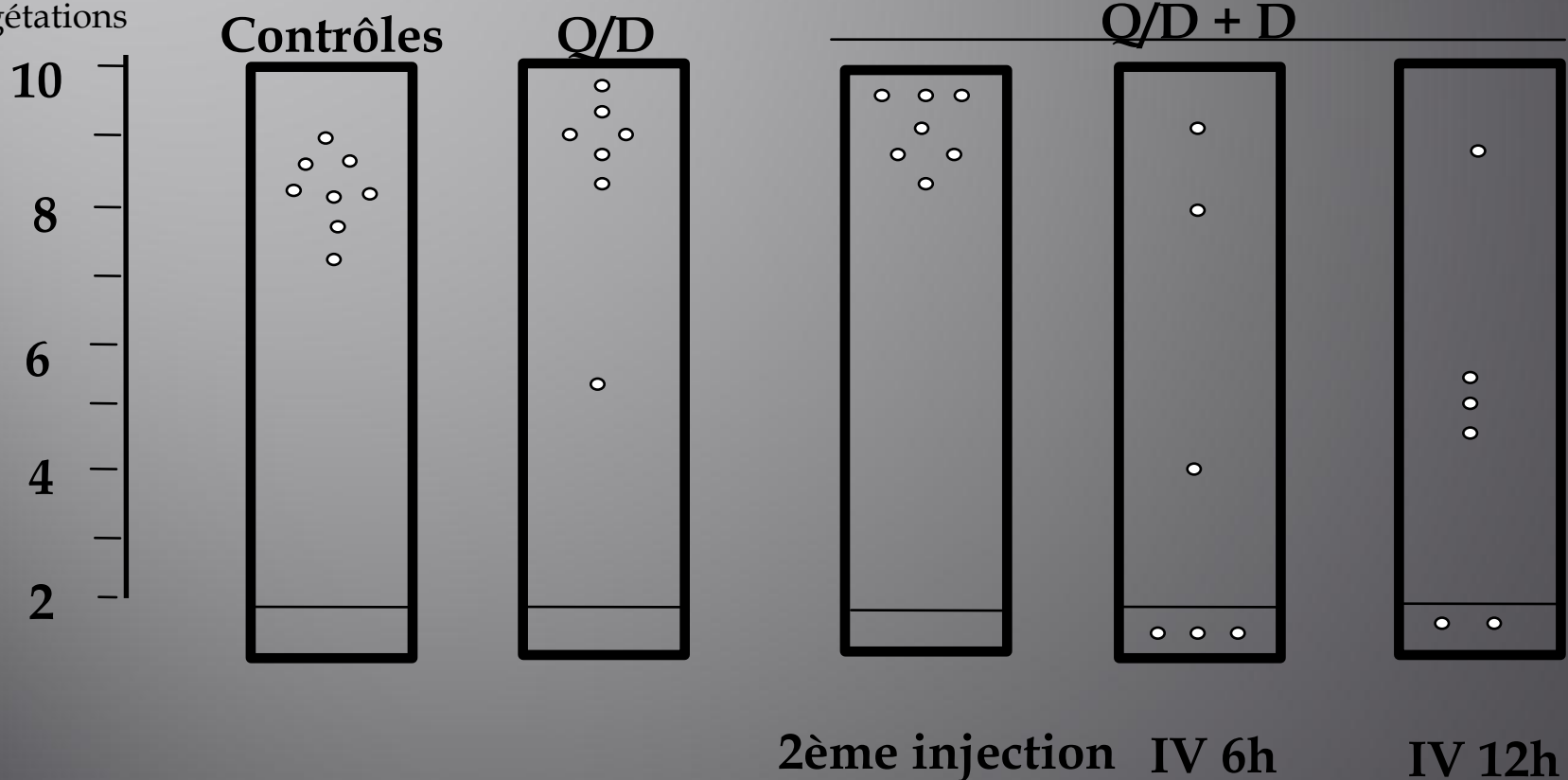


*S. aureus* RN4220/pAT392/*ermA*



# Influence de la résistance aux streptogramines B sur l'activité de quinupristine/dalfoprastine in vivo

Log10 ufc/g de végétations



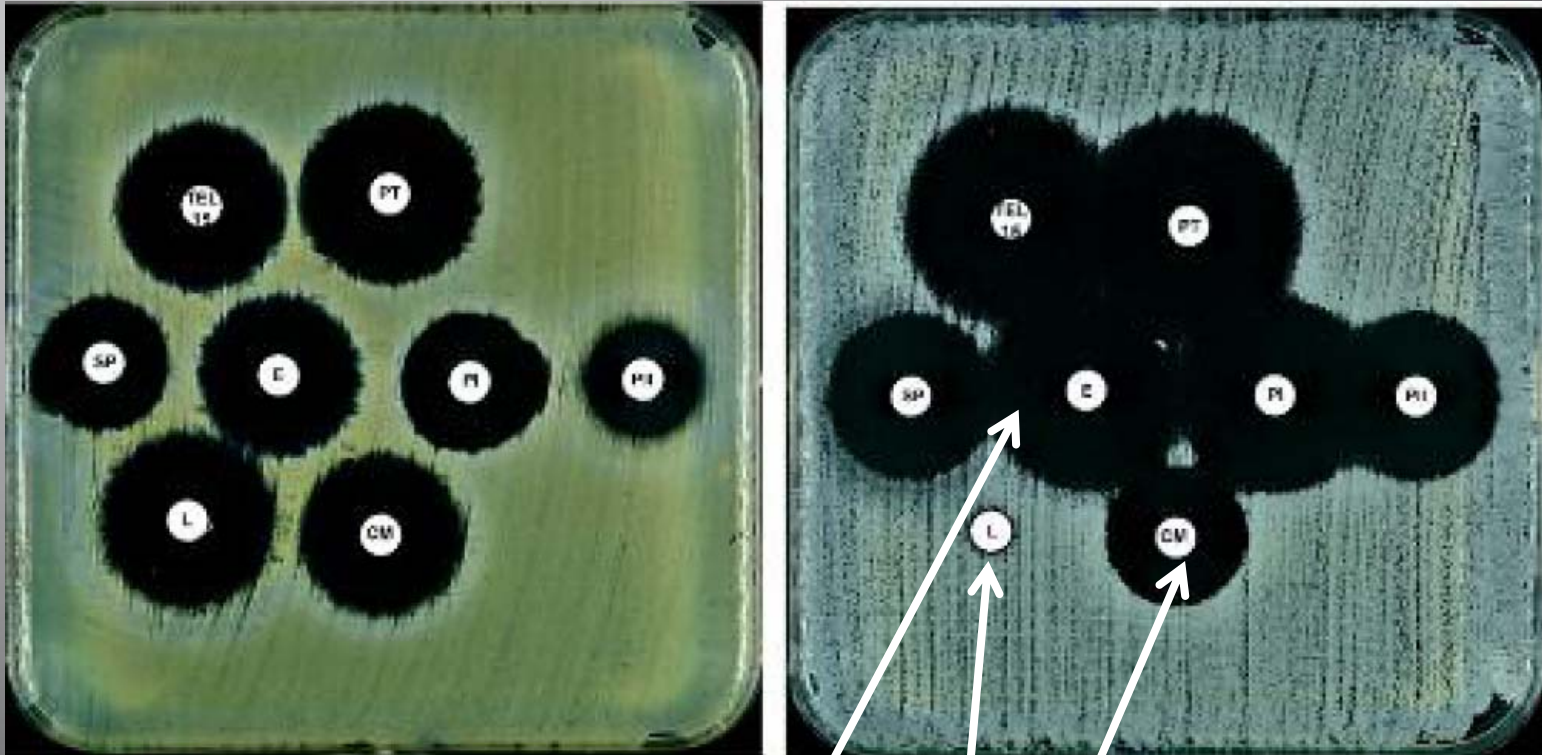
JM Entenza, H Drugeon, MP Glauser, P Moreillon,  
Antimicrob Agents Chemother, 1995

# PHÉNOTYPES RARES

# Inactivation des macrolides

- Estérases (*ereA*, *ereB*) décelées chez les entérobactéries.
- Phosphotransférases (*mphA*, *mphB*, *mphC*) détectées chez les entérobactéries et rarement chez les staphylocoques  
→ spécificité d'inactivation: macrolides
- Nucléotidyltransférases de la lincomycine: gène *lin(A)* (ou *lnuA*) chez staphylocoques, *lin(B)* chez *E. faecium*, *linB*-like chez des anaérobies  
→ spécificité d'inactivation: lincomycine (clindamycine peu touchée)

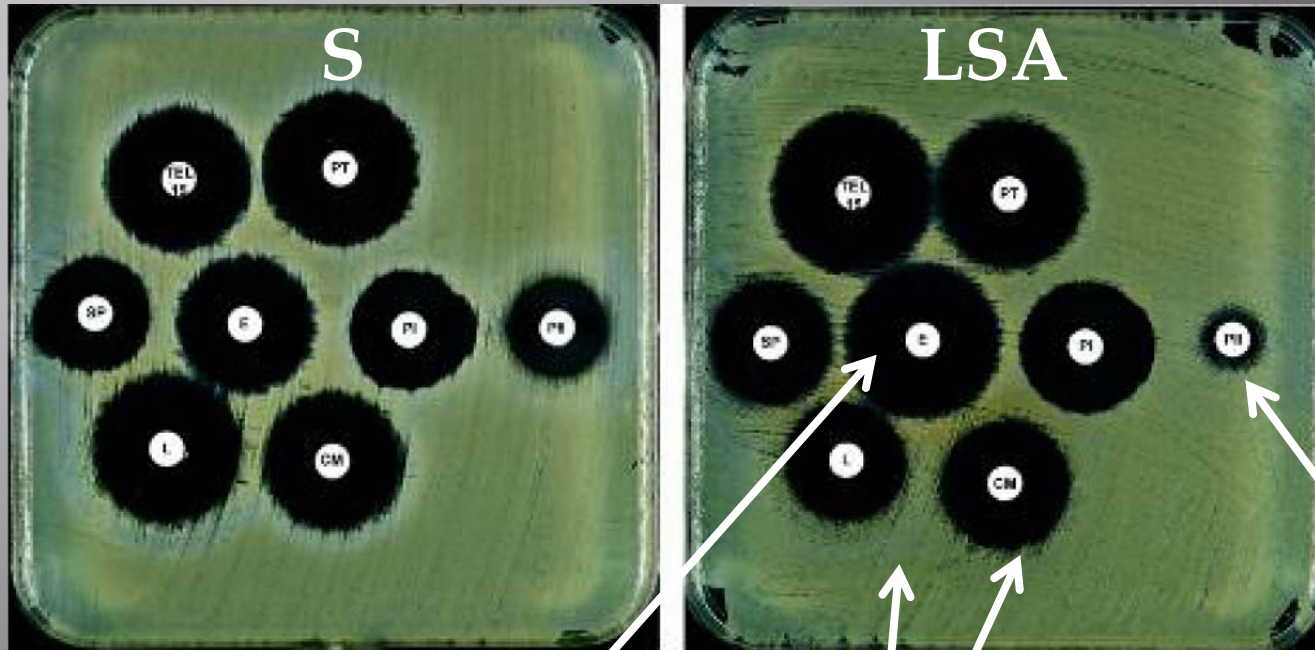
# Phénotype L



Ery S; Lin R; Clinda S (CMIx1 ou 2)

Lincosamide nucléotidyltransférase [*Inu(A)*, *Inu(A')*]

# Phénotype LSA



Ery S

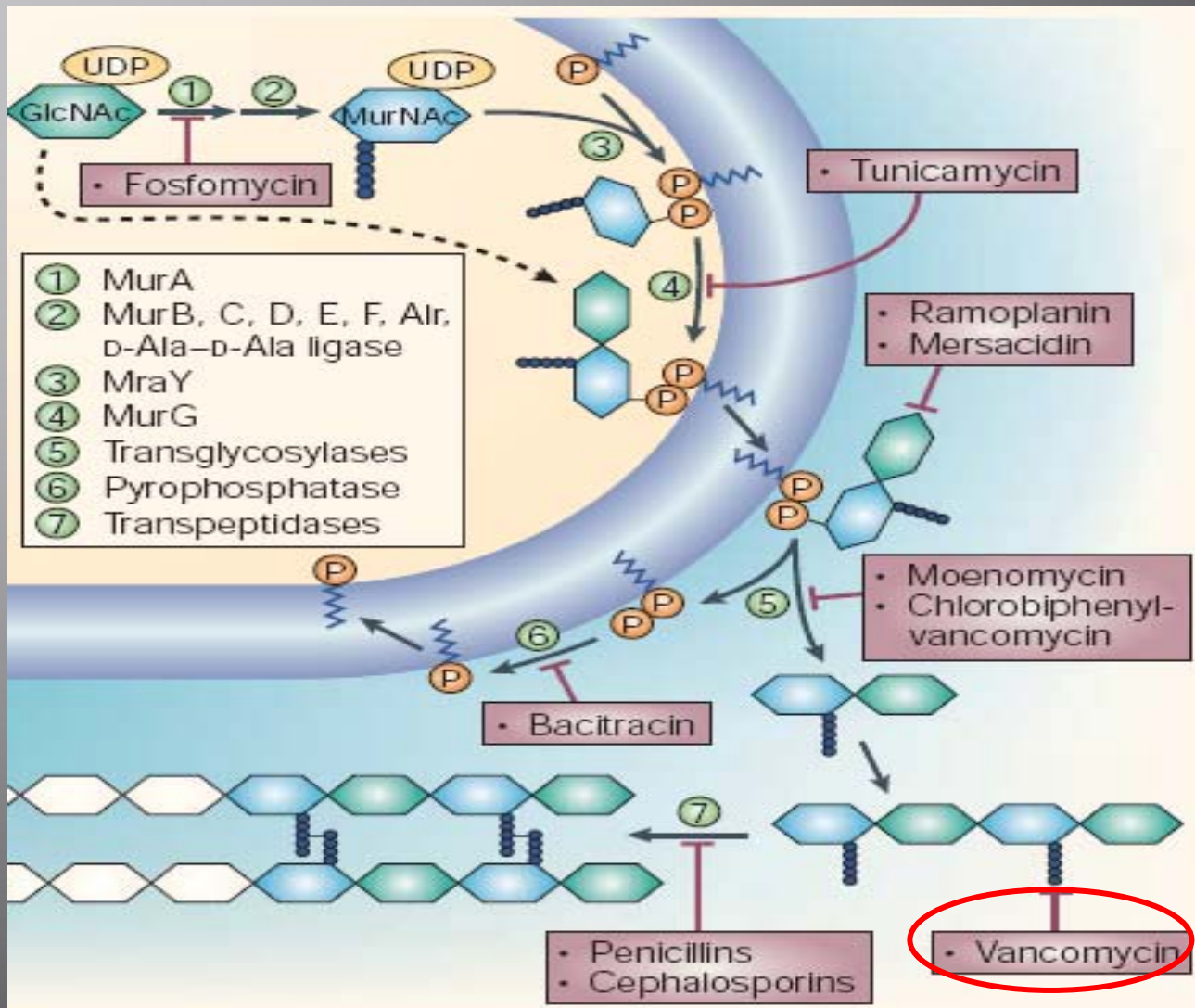
Lin-Cli I/ R

R streptogramines A  
(CMI pristinamycine:  
1-2 mg/L)

Mécanisme inconnu

# GLYCOPEPTIDES

# Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi





# Glycopeptides

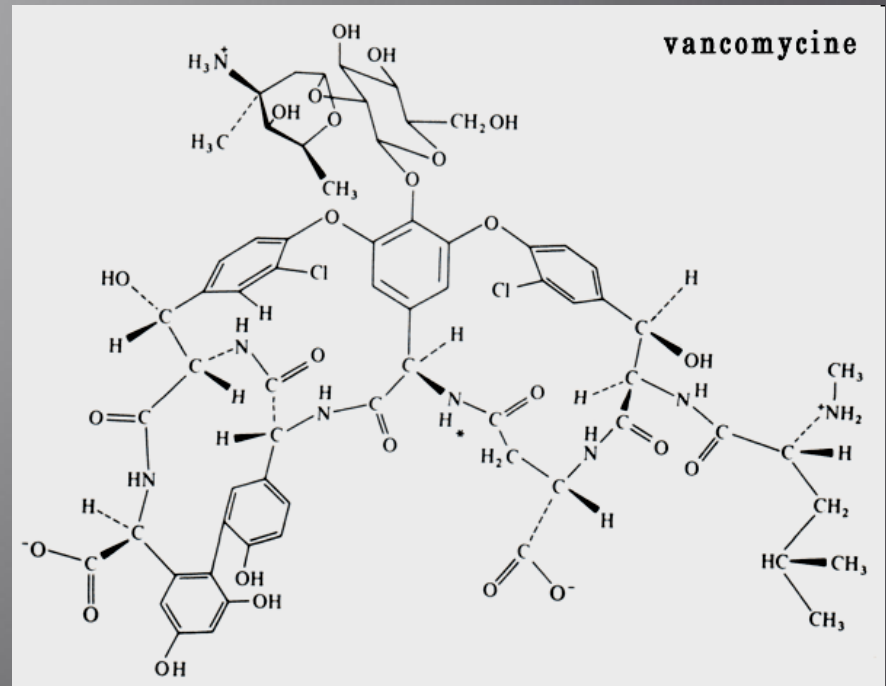
• Molécules hydrophiles de grande taille (PM = 1500-2000 Da) :

- Vancomycine et dérivés

(oritavancine, télavancine)

- Teicoplanine et dérivés

(dalbavancine)



• Isolées à partir d'actinomycètes : ex. *Amycolatopsis orientalis* (vancomycine), *Actinoplanes teichomyceticus* (teicoplanine)

# Glycopeptides

## Caractéristiques principales

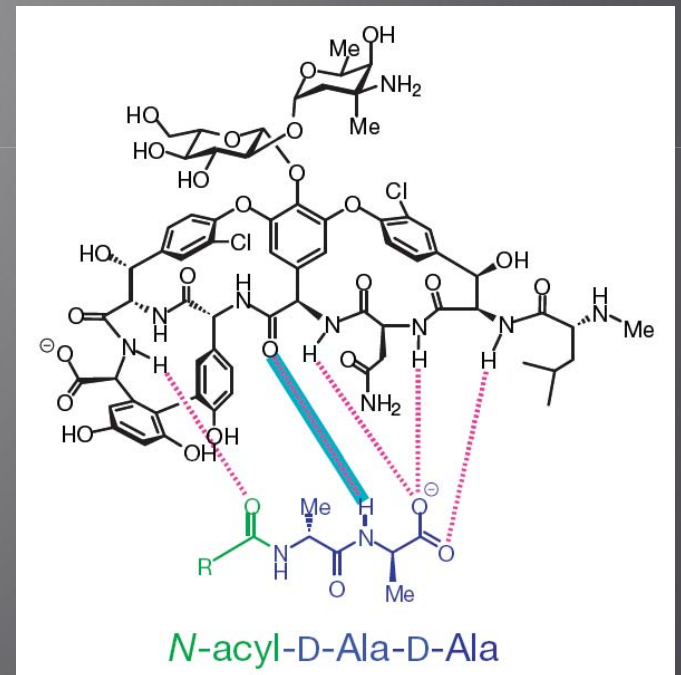
- ✓ ATB bactéricides lents (action temps-dépendante)
- ✓ Usage parentéral (non résorbés per os)
- ✓ Néphro- et ototoxicité
- ✓ Spectre d'activité étroit : bactéries à Gram + (notamment les souches *S. aureus* résistantes à la méticilline - SARM et les entérocoques)

# Glycopeptides

## Mécanisme d'action

- Affinité importante pour les précurseurs pentapeptidiques du PG comportant une **extrémité D-ala-D-Ala terminale** ? séquestration par formation de 5 liaisons H :

Pas d'action directe sur les PLP +++



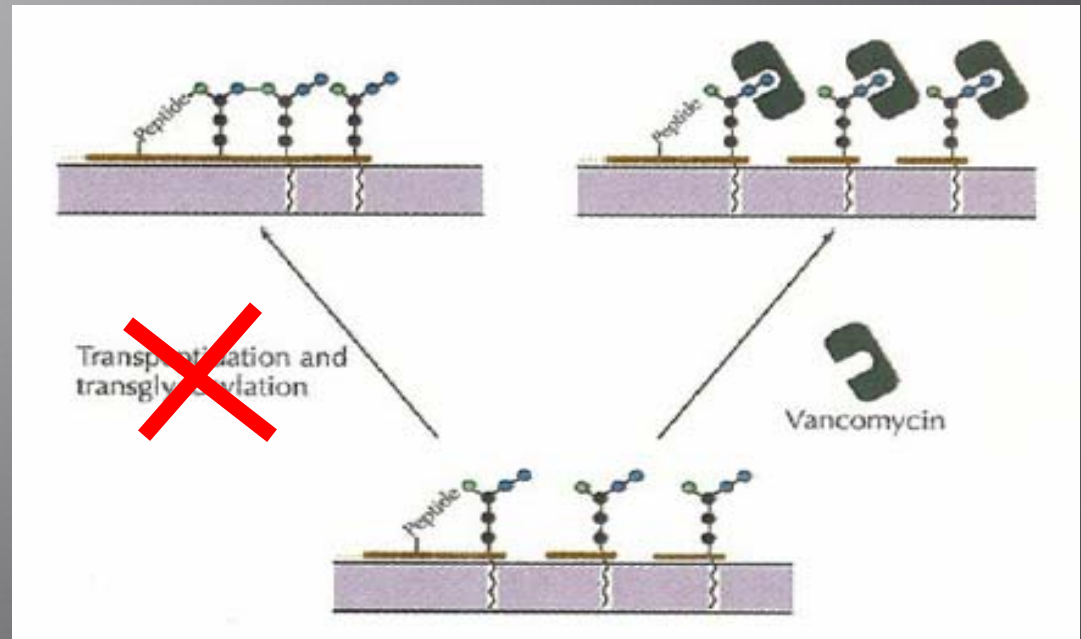
D'après Walsh, Nature 2000

Inhibition de la transpeptidation

# Glycopeptides

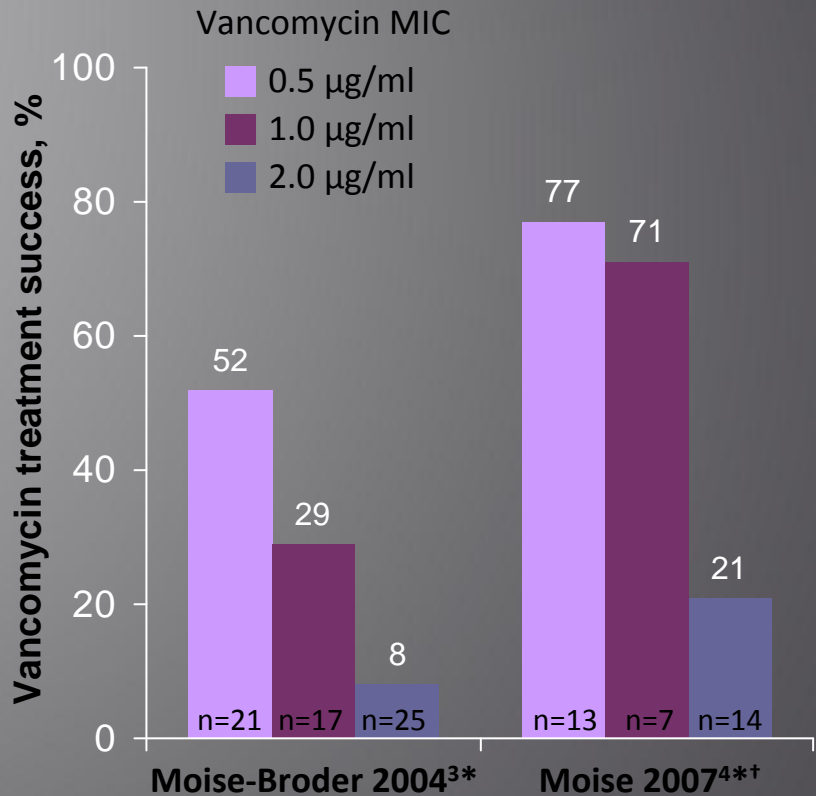
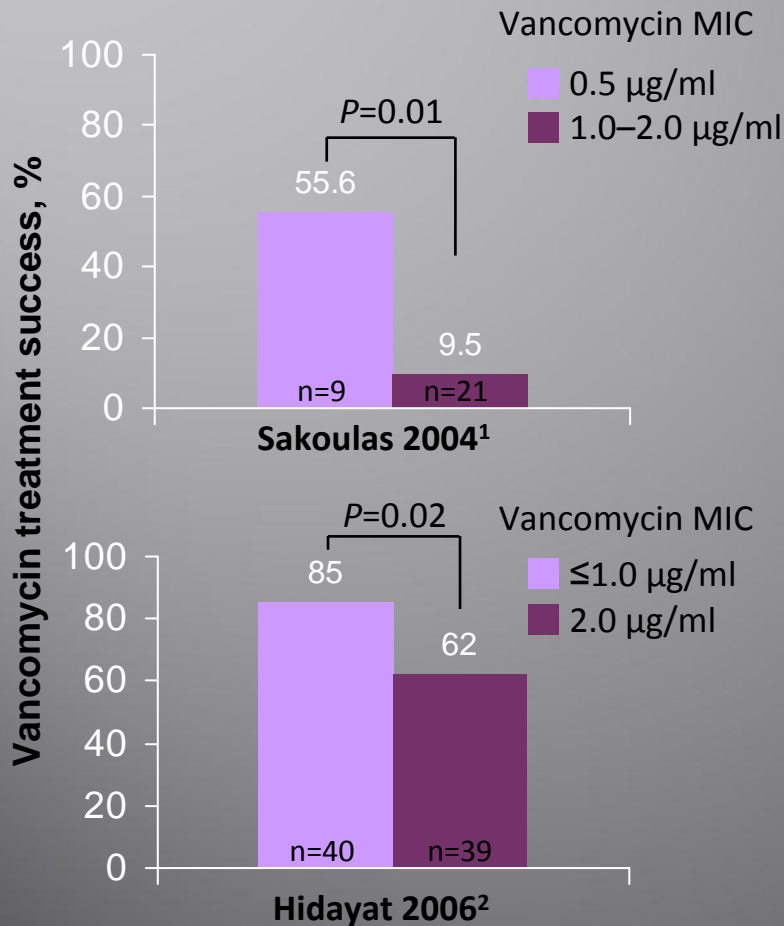
## Mécanisme d'action (2)

- Blocage par **encombrement stérique** de l'allongement des chaînes polysaccharidiques par perturbation du positionnement des transglycosylases :



Inhibition de la transglycosylation

# La CMI de la vancomycine est reliée au succès thérapeutique dans les infections à SARM



\*P-value not reported

†Success measured as eradication at end of treatment

1. Sakoulas G *et al.* *J Clin Microbiol* 2004;42:2398–2402  
 2. Hidayat L *et al.* *Arch Intern Med* 2006;166:2138–2144

3. Moise-Broder P *et al.* *Clin Infect Dis* 2004;38:1700–1705  
 4. Moise P *et al.* *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51:2582–2586

# Concentrations critiques de la vancomycine pour *S. aureus* (mg/L)

	Sensible	Intermédiaire	Résistant
CLSI CMI	$\leq 2$	4-8	$\geq 8$
CA-SFM CMI	( $\leq 4$ )	(8)	(>16)
EUCAST CMI	$\leq 2$	--	>2
CLSI-EUCAST Disques	non	non	non
CA-SFM Disques	$\geq 17$ mm		

\*EUCAST: "impaired response may be seen already at MIC 2 mg/L"

\*\*CLSI: impaired response at 4 and 8 and during prolonged treatment.

# Distribution des CMI de la vancomycine (*S. aureus*)

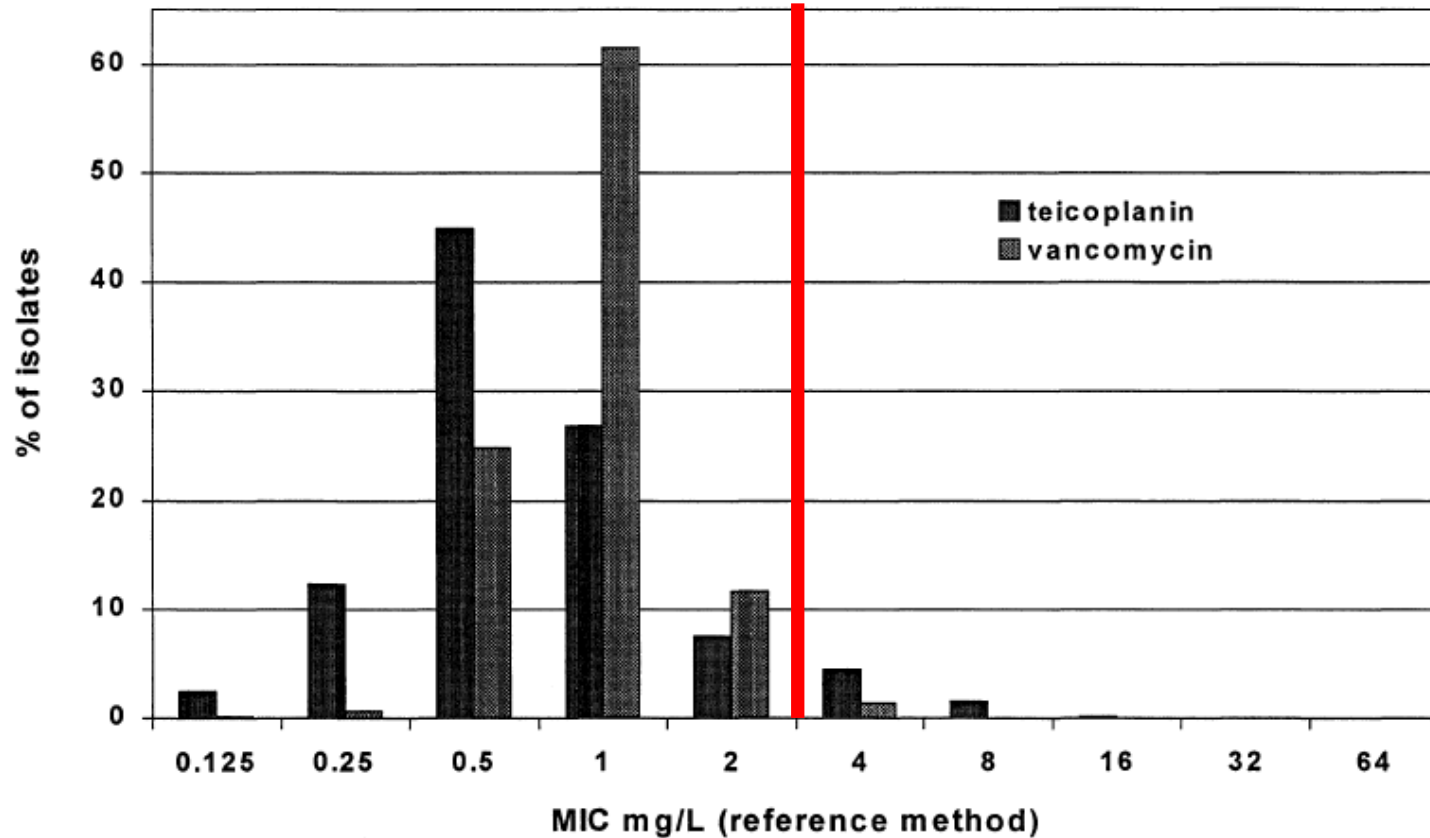
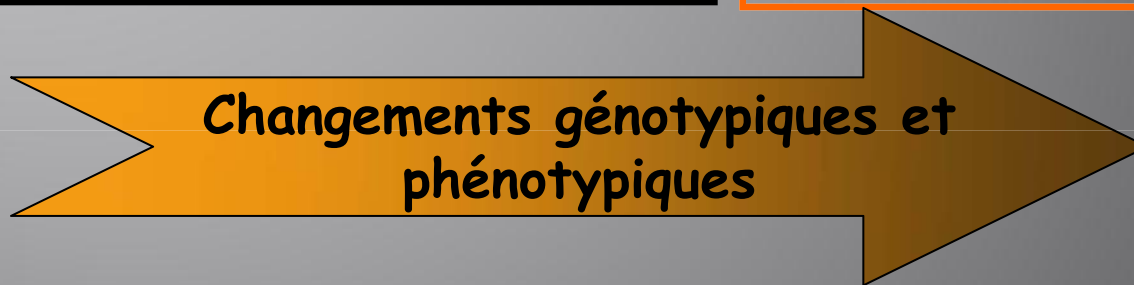
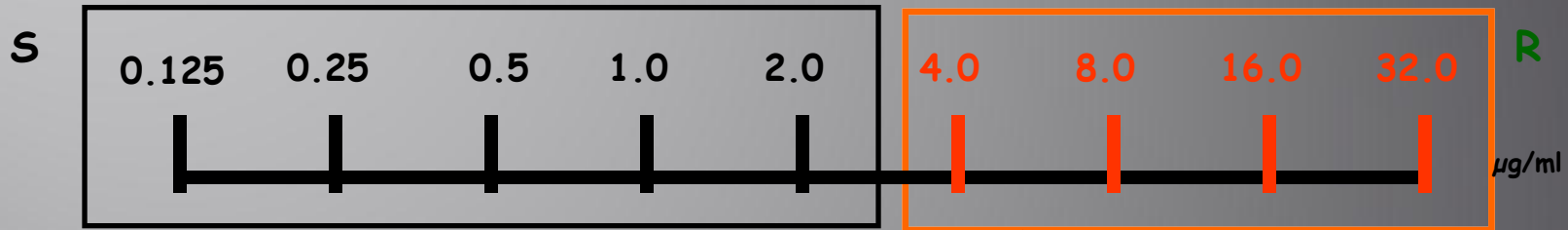


FIGURE 1 MIC distributions for *S. aureus* (n = 2852).

# CMI de vancomycine et catégorisations (*S. aureus*, EUCAST)



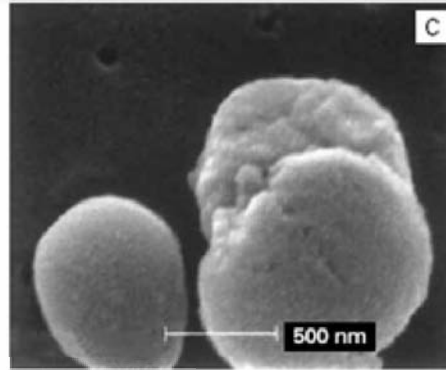
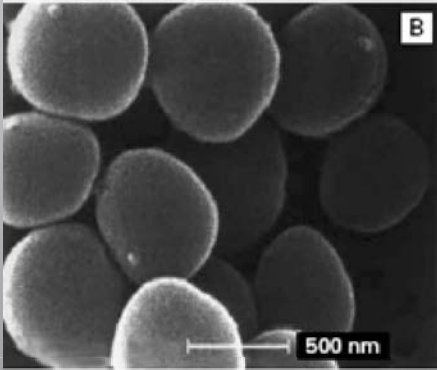
Attention aux souches CMI 2 mg/L ou S vancomycine mais I/R à la téicoplanine



# Hetero-VISA et VISA

S

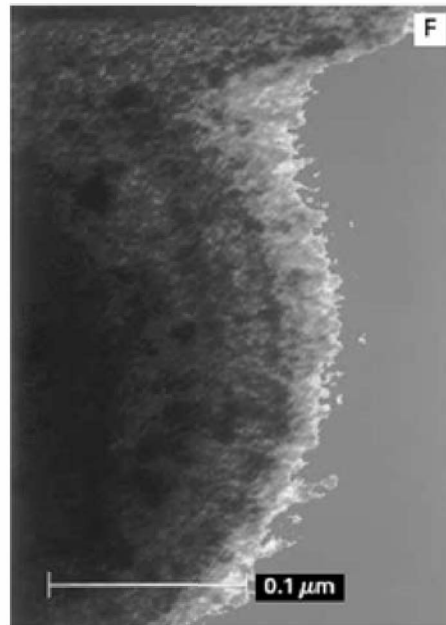
Hetero-VISA



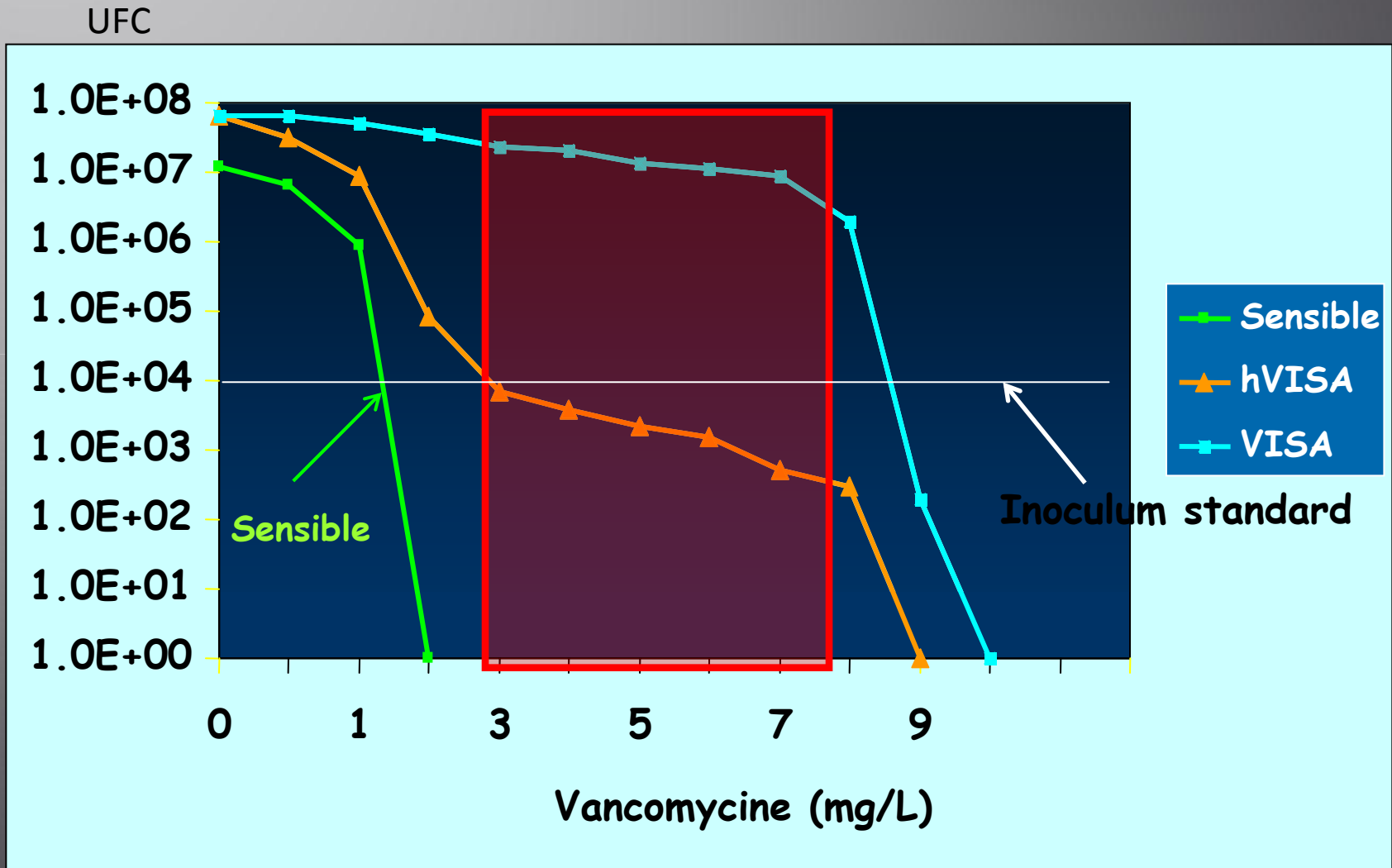
Épaississement paroi

Hyperproduction des précurseurs

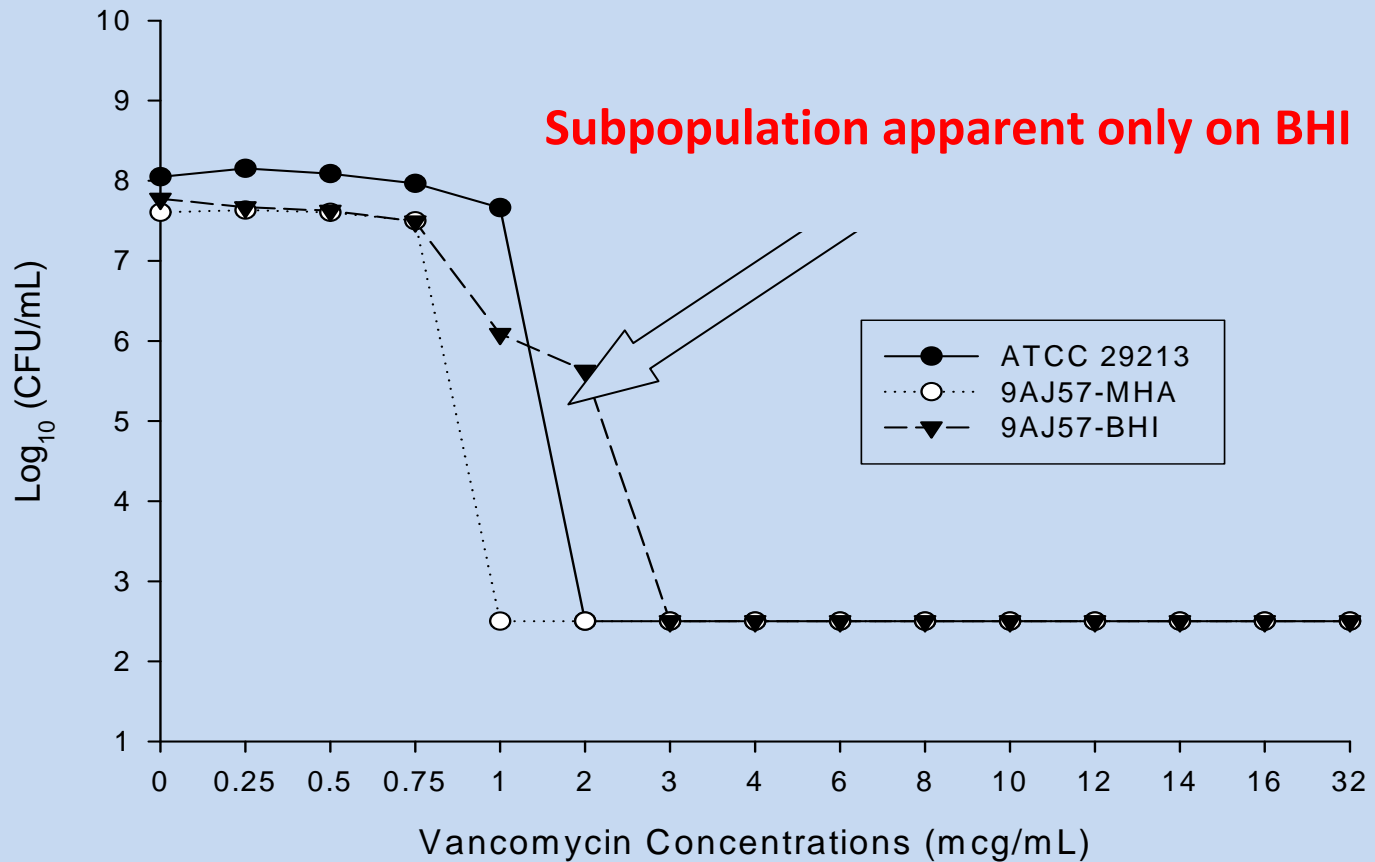
Modifications PLP



# Analyse de population hVISA



**Fig 1. Population Analysis for Strain 9AJ57 on BHI vs. MHA**



**Mueller-Hinton MIC= 1  $\mu$ g/ml**  
**BHI MIC = 4  $\mu$ g/ml**

# Tests corrélés aux analyses de population

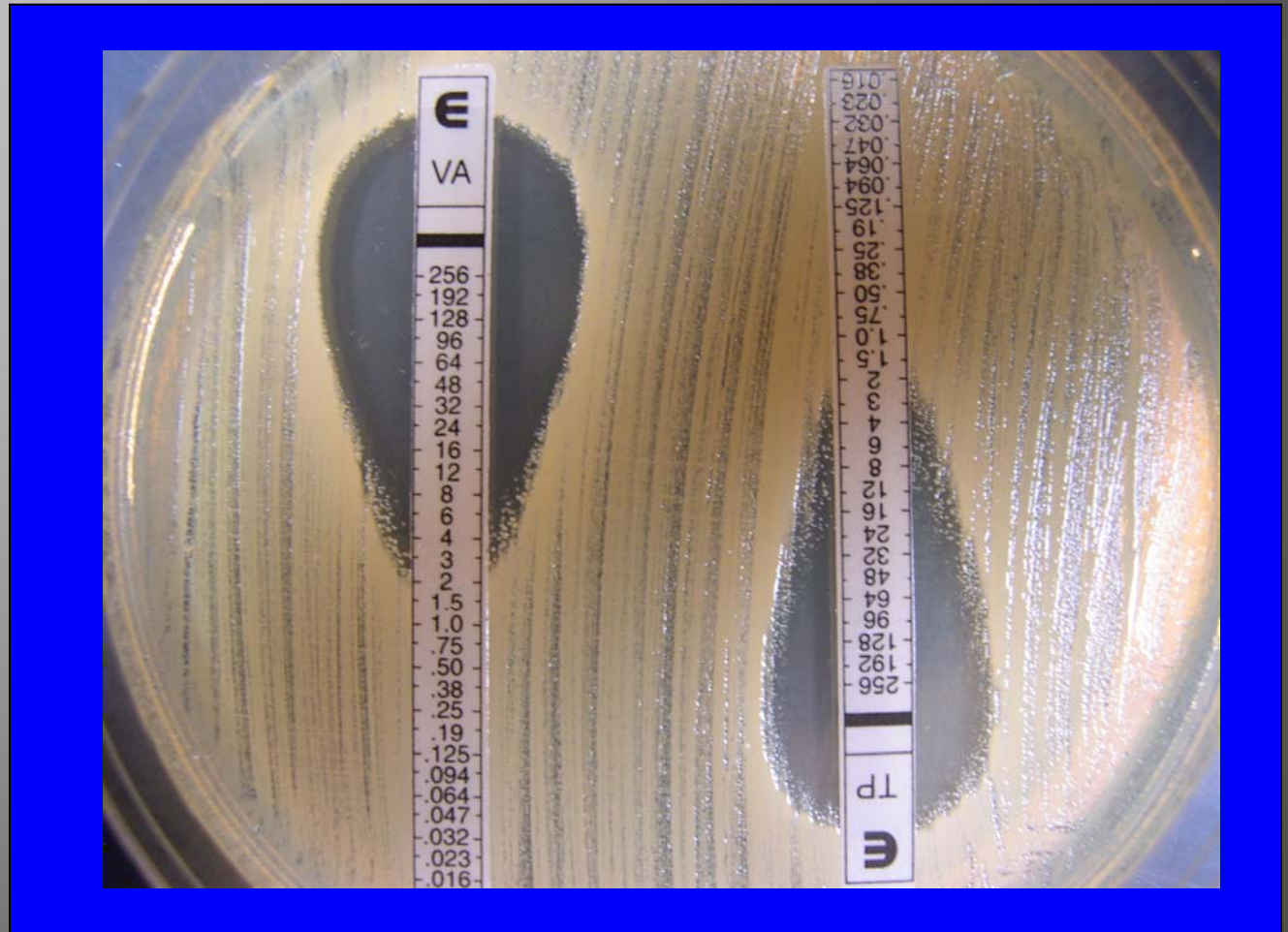
- Screening sur MH+teico 5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , Mc F 2
- E-test fort inoculum, milieu BHI, CMI au moins 6  $\mu\text{g}/\text{ml}$
- I/R à teicoplanine 5 vancomycine
- Agar screen vanco 6 (4)  $\text{mg}/\text{L}$

# Détection des hVISA par Macro Etest

H-VISA si:

Vanco. ET  
Téico.  
≥8 mg/L  
OU SI

Teico.  
seule  
≥12 mg/L

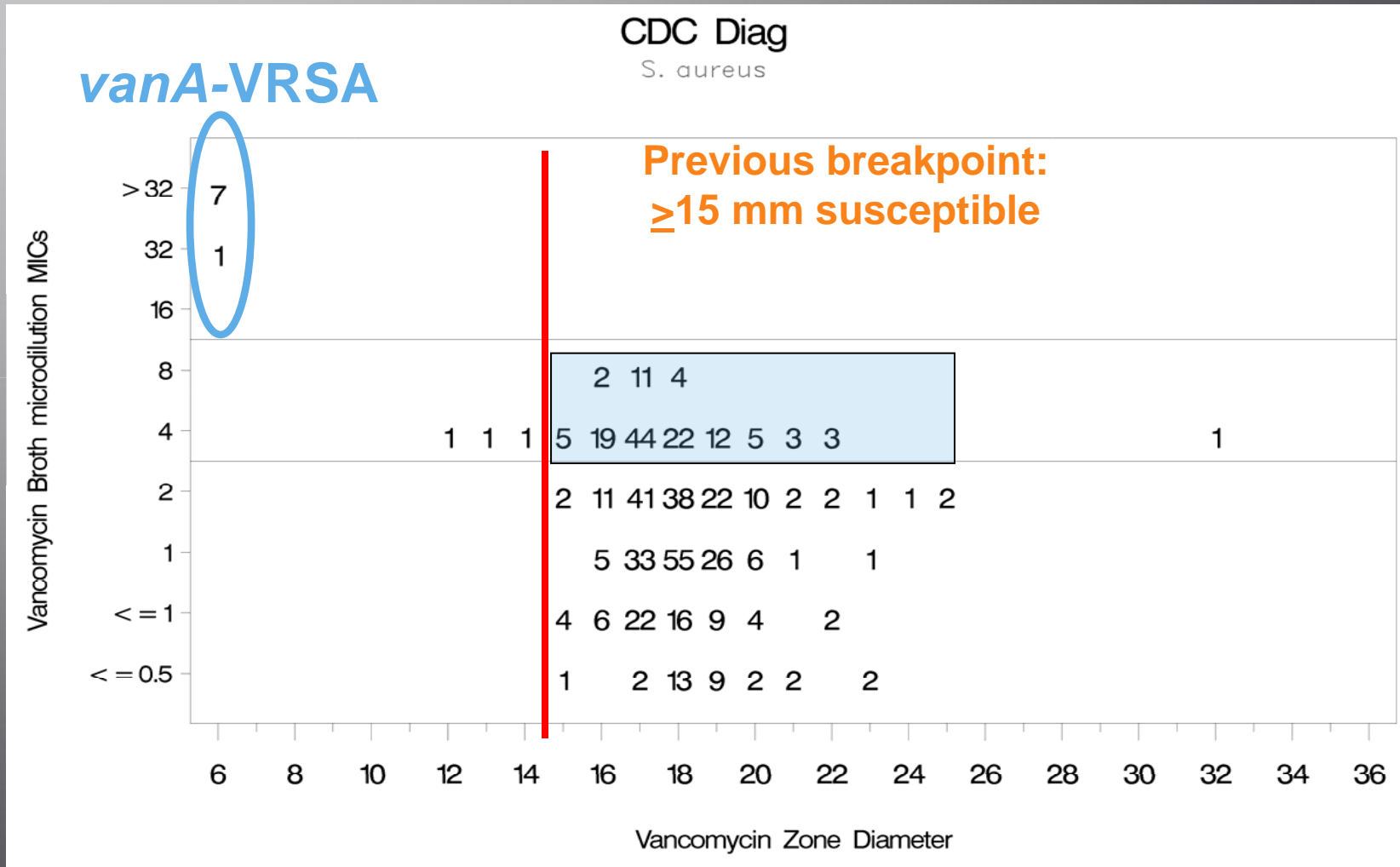


2 McFarland, BHI agar, incubation 48 h

# Détection des VISA/hVISA

Test	Medium	Time of reading (h)	Detection (%)	
			Sensitivity	Specificity
Etest GRD strips				
E-VA/TP	MHA	24	53	100
		48	80	95
	MHB	24	55	100
		48	89	95
E-VA/TP+S	MHA	24	63	100
		48	84	95
	MHB	24	70	100
		48	94	95
E-M	BHI/2 McFarland	24	80	87
		48	94	96
Agar screens	VA/BHI	48	27	100
	TP/MH	48	65	95

# Scattergram of *S. aureus* and Vancomycin; VRSA detected but CLSI breakpoints deleted



# Que retenir?

- ▣ Méthode des disques à déconseiller pour tester les glycopeptides : si elle est utilisée, elle est au mieux une méthode de screening (médiocre)
- ▣ Déterminer les CMI des glycopeptides par E-test , McF 0,5 écouvillonnage sur MH
- ▣ Si CMI >2 mg/L: R (EUCAST, CA-SFM)
- ▣ Si CMI =2 mg/L: possible hétéro-VISA: faire un test bien corrélé avec les analyses de population (macro E-test BHI, Teico 5-MH..)



# Staphylocoques à coagulase-négative

- ❑ Critères idem que pour *S. aureus* sauf téicoplanine 4 mg/L sensible; méthode des disques: performance médiocre
- ❑ *S. haemolyticus* fréquemment I/R téicoplanine
- ❑ Faible reproductibilité des CMI pour la téicoplanine
- ❑ Notion d'hétéro-résistance non applicable aux SCN