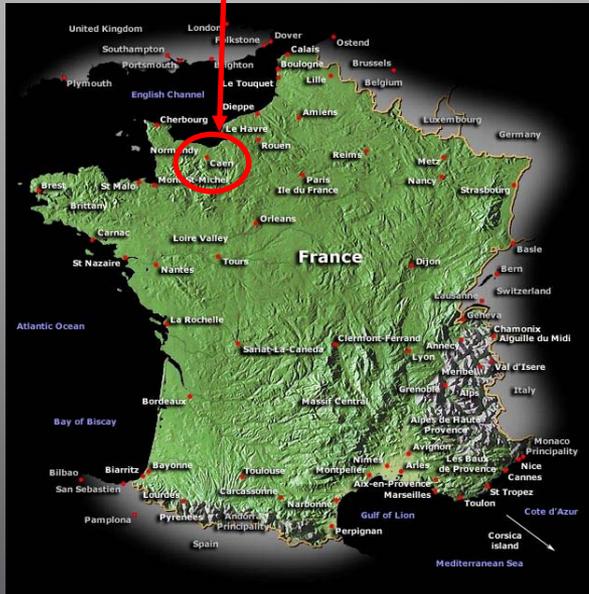


STAPHYLOCOQUES: MACROLIDES ET GLYCOPEPTIDES

R. Leclercq

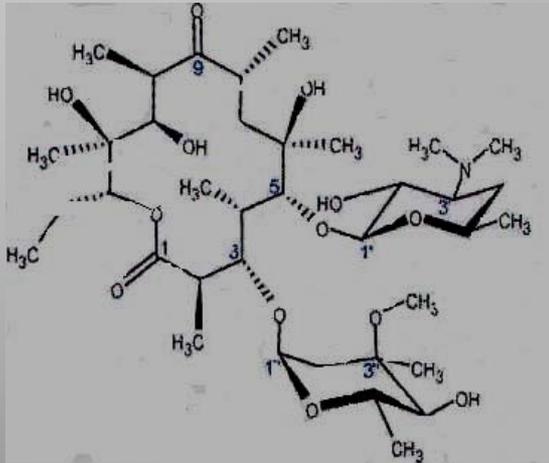


CHU de Caen (Normandie, France), 1400 lits.



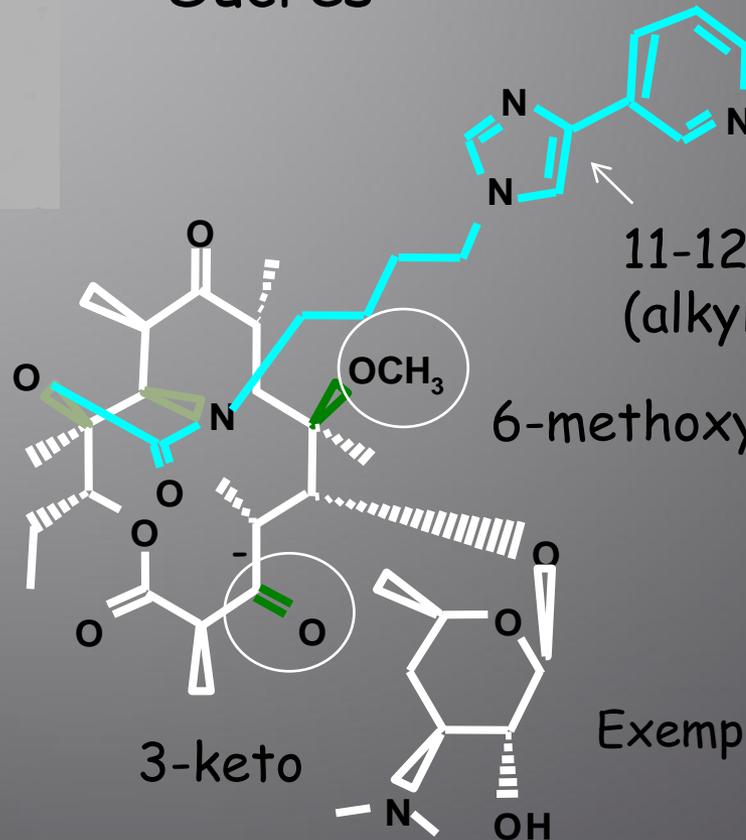
Abbaye Mont Saint-Michel, 9^{ème} siècle

Structure de l'érythromycine (macrolide)



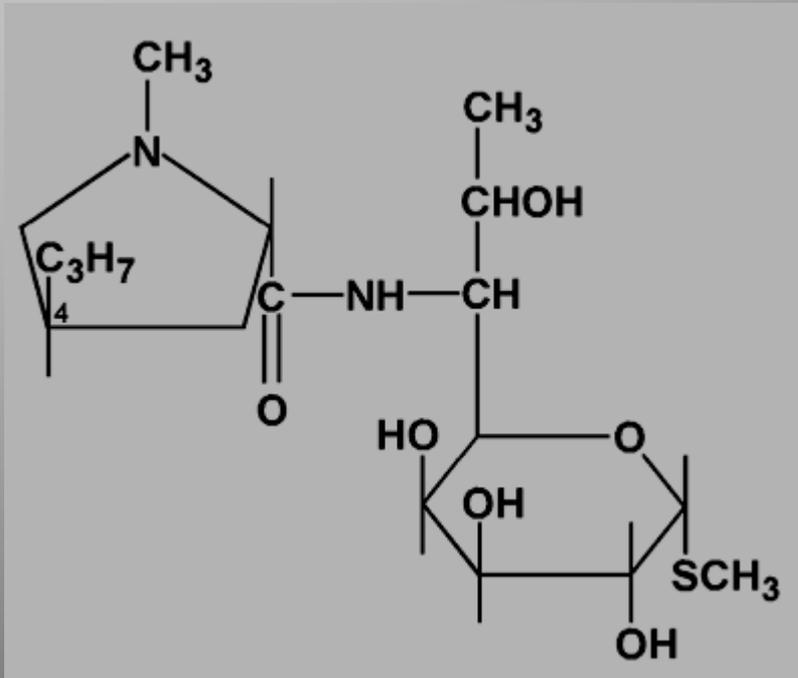
Erythromycine A

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

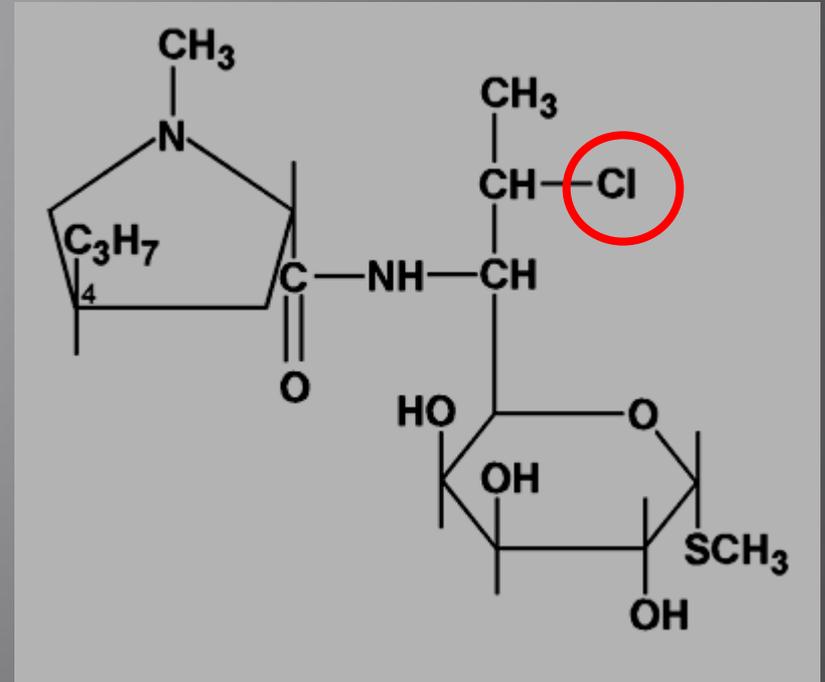


Exemple de la télithromycine

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

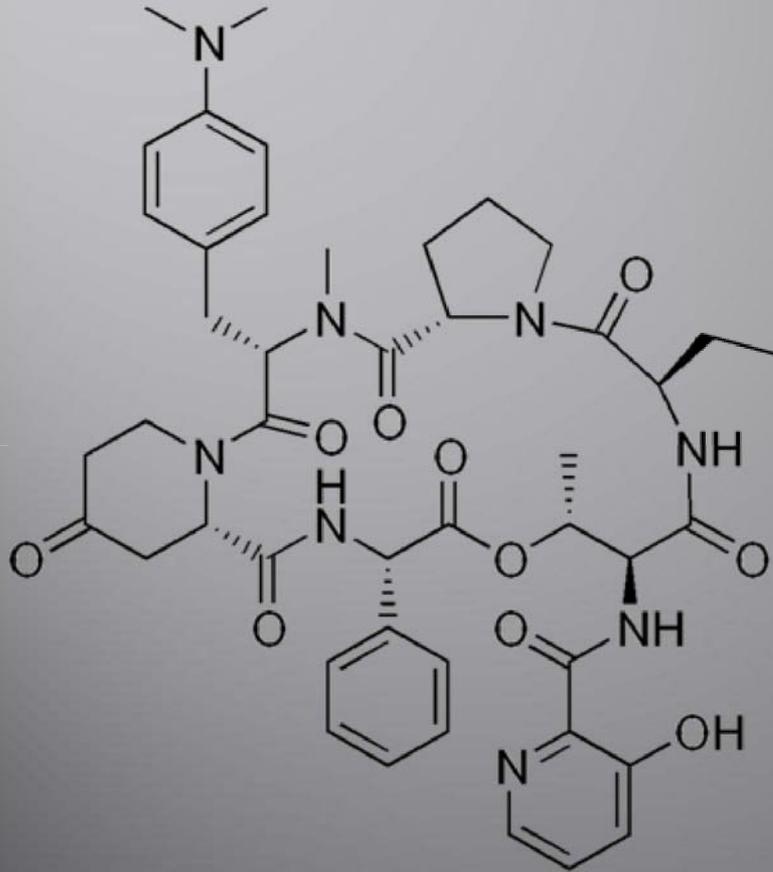


Lincomycine

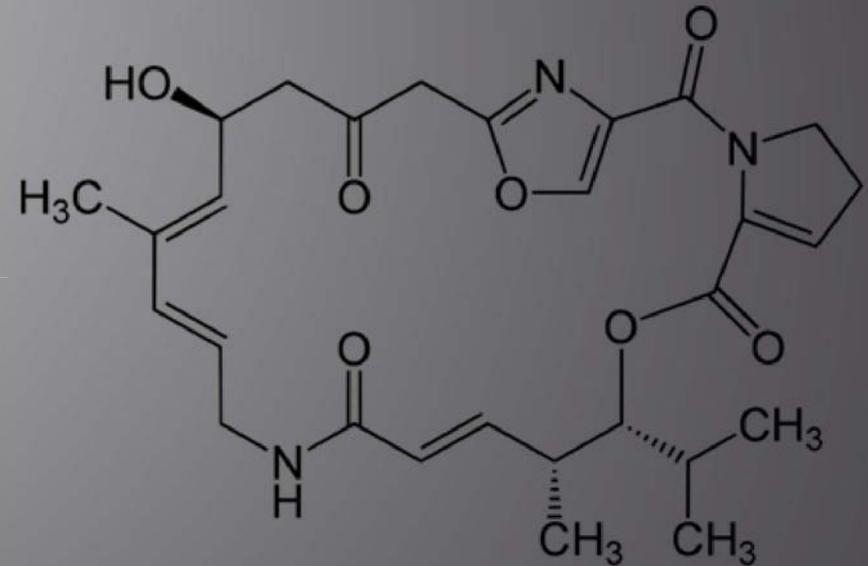


Clindamycine

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

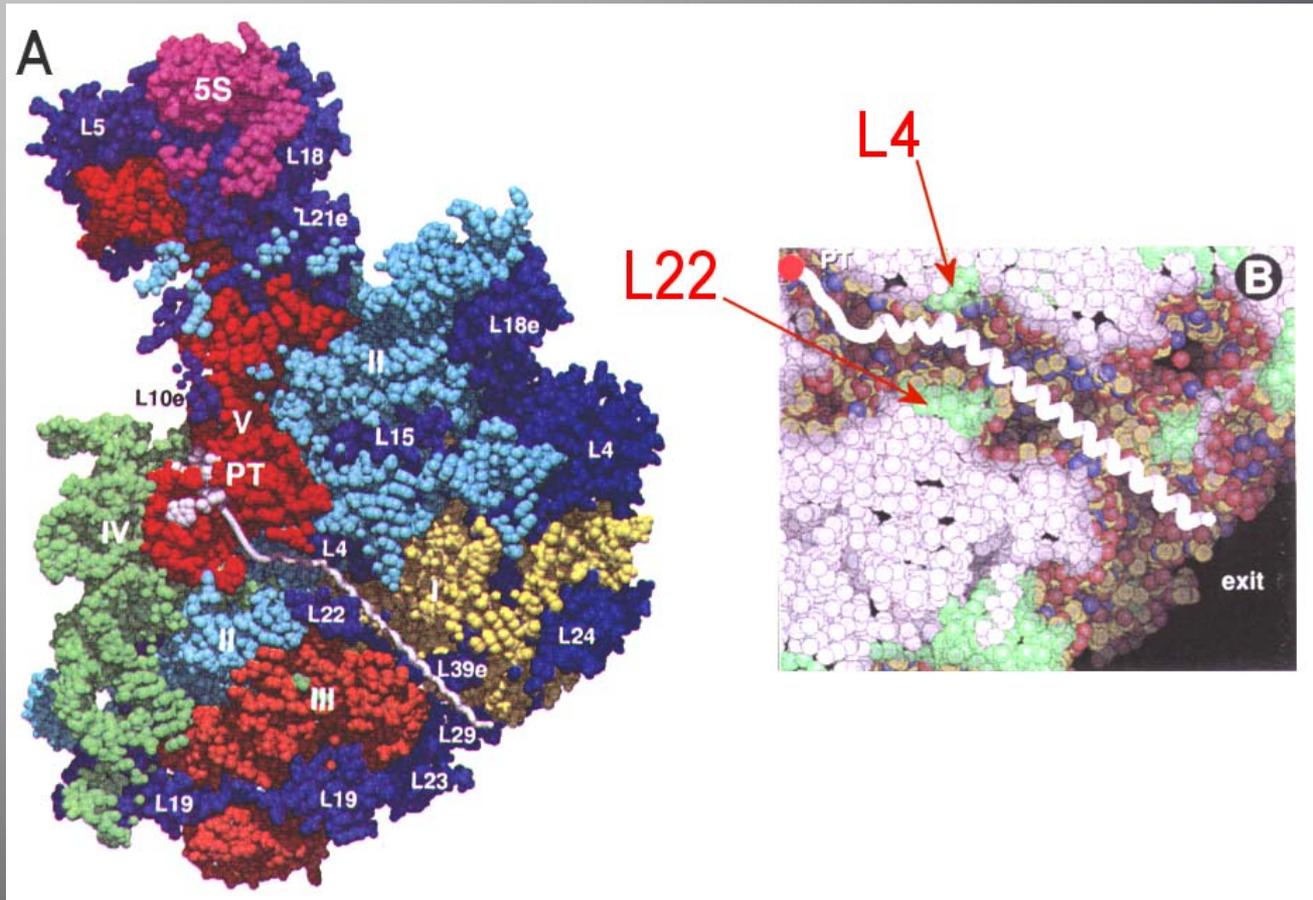
Lincosamides

clindamycine, lincomycine

Streptogramines

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

Sous-unité ribosomale 50S



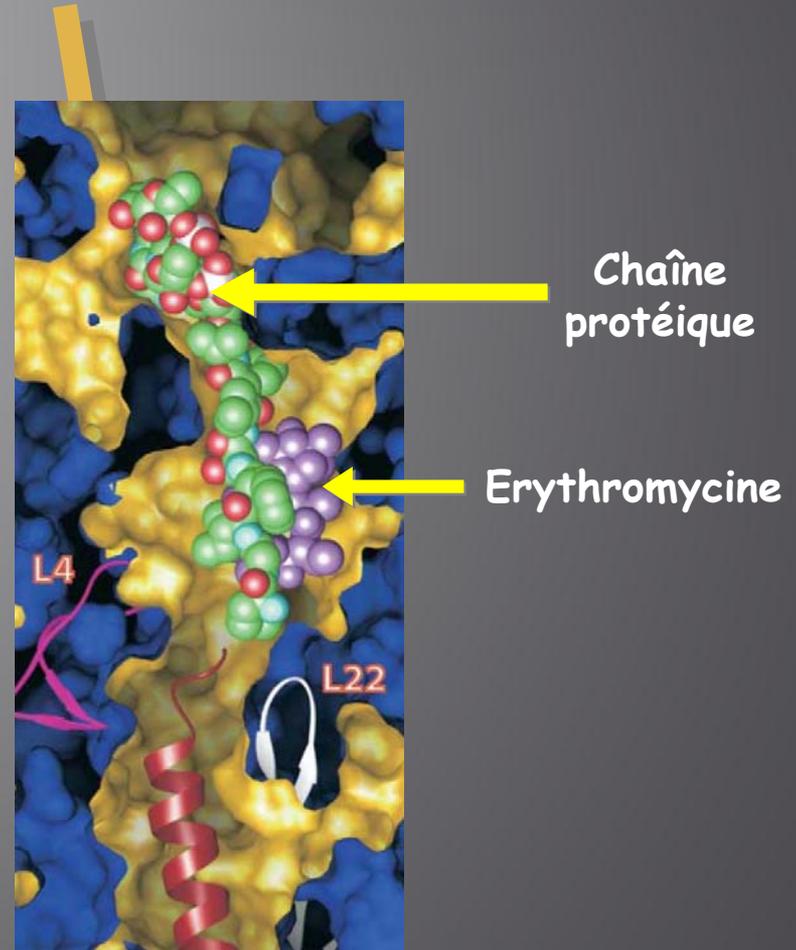
Nissen, P et al. 2000. Science. 289:920-930

Mode d'action des macrolides

Encombrement stérique



Blocage de l'élongation des chaînes protéiques



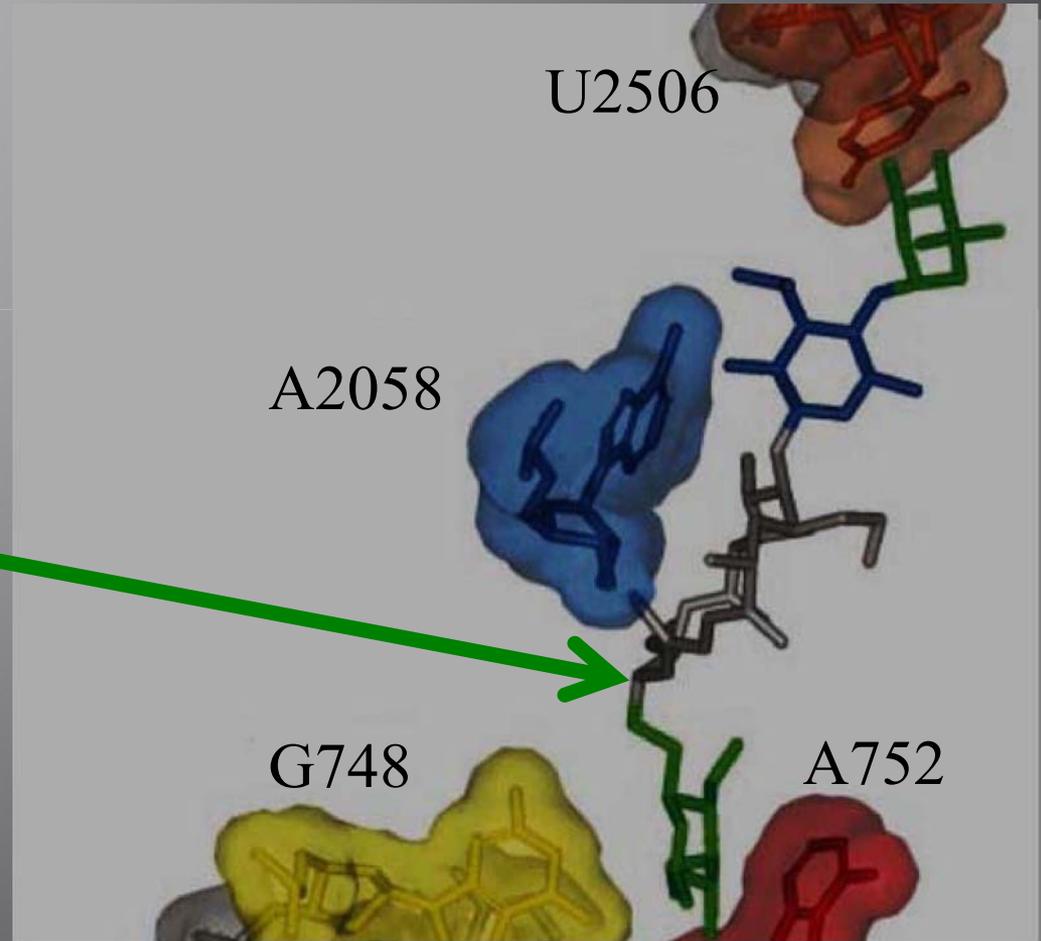
Tunnel de sortie



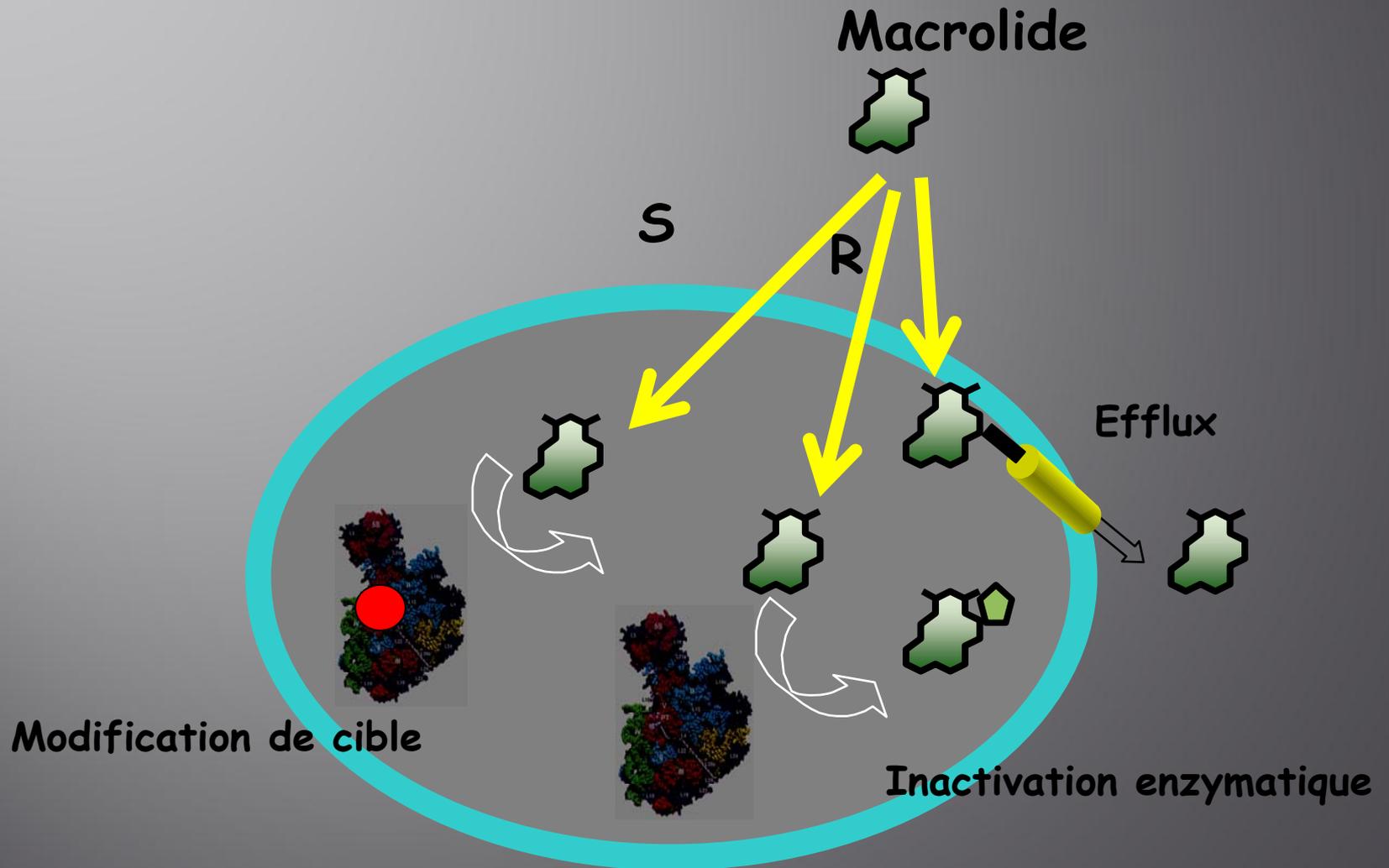
Site de fixation des macrolides

Fixation
sur l'ARN 23S

Macrolide

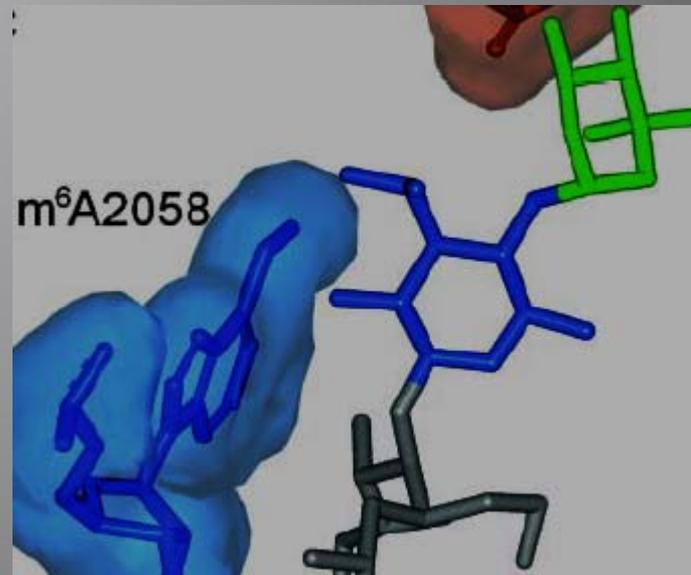
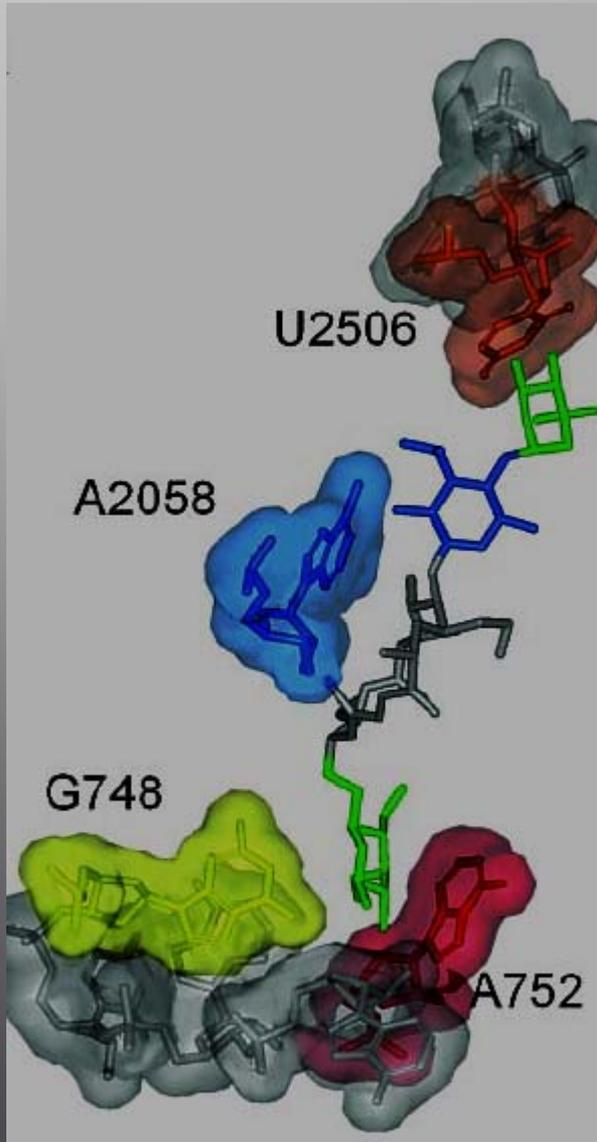


Mécanismes de résistance aux macrolides



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

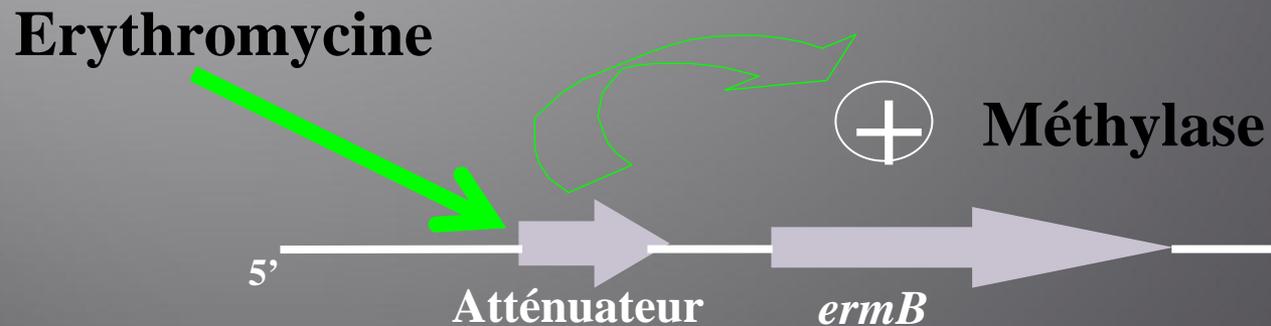
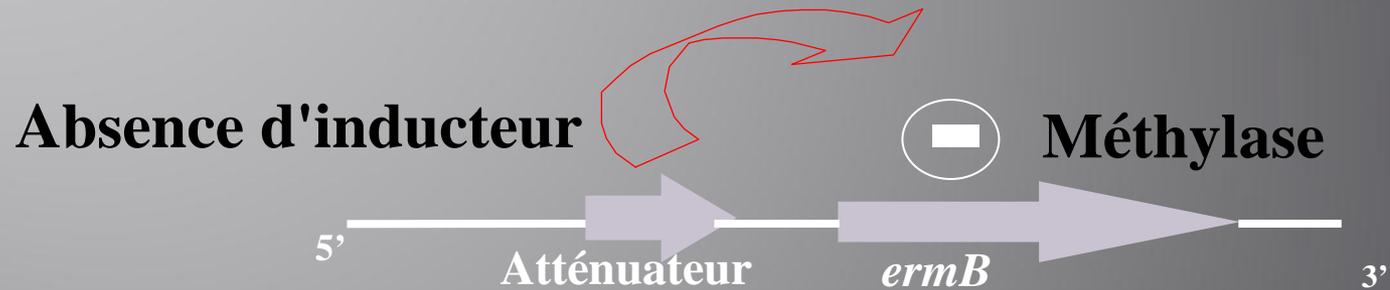
Résistance MLS_B

	Erythro. Azithro.	Josa. Spira.	Clinda.	Pristinamycine		
				Quinu-Dalfopriline		
				SgB	SgA	SgA+SgB
Sensible	S	S	S	S	S	S
MLSB inducible	R	S	S	S	S	S
MLSB constitutif	R	R	R	R	S	S



Sont-ils vraiment actifs?

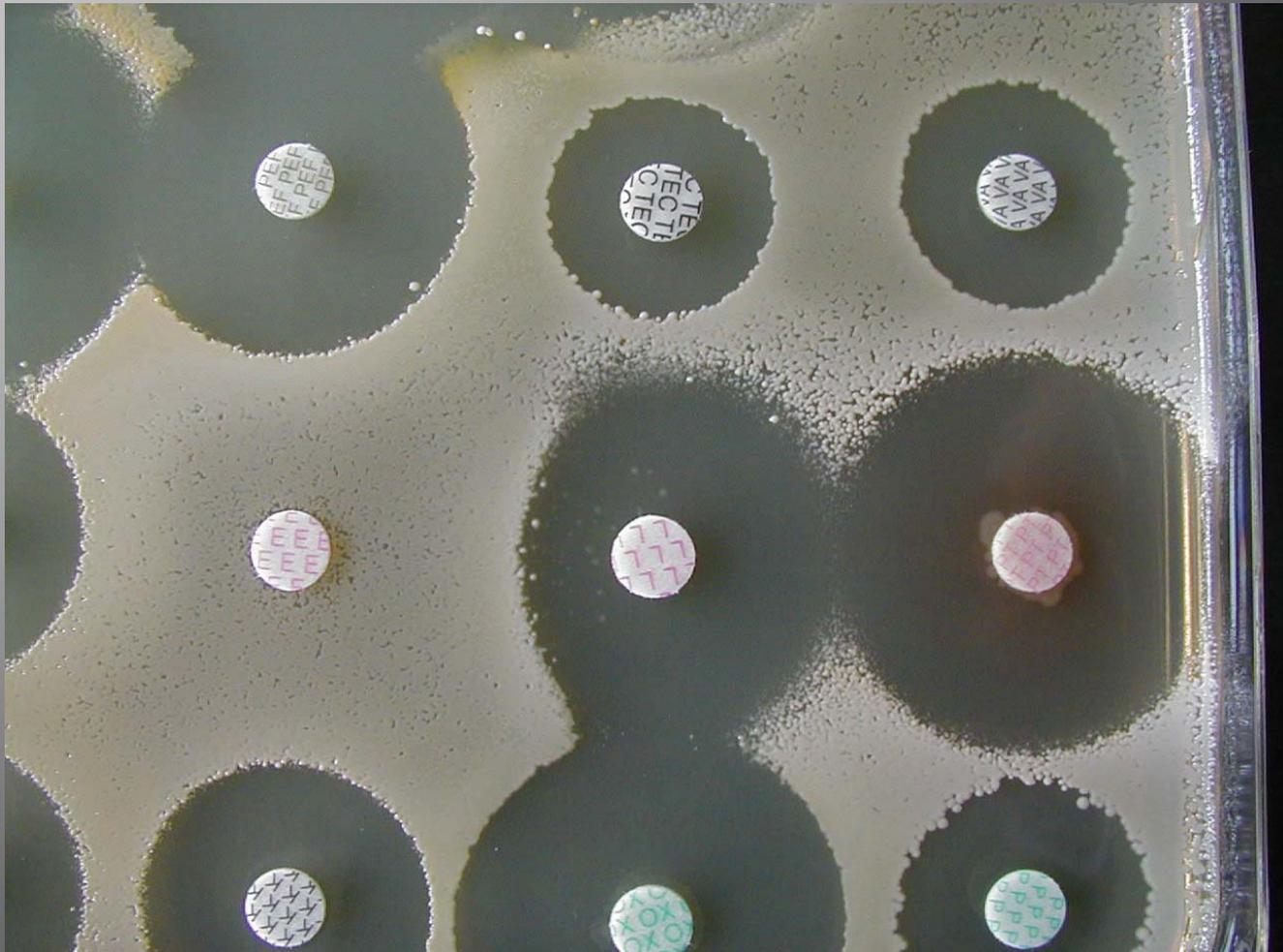
Induction de la résistance à l'érythromycine



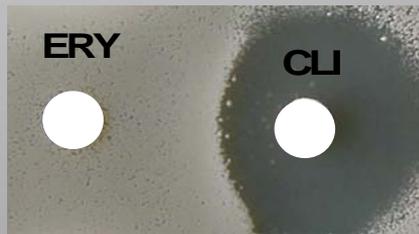
Résistance constitutive



Résistance inductible



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



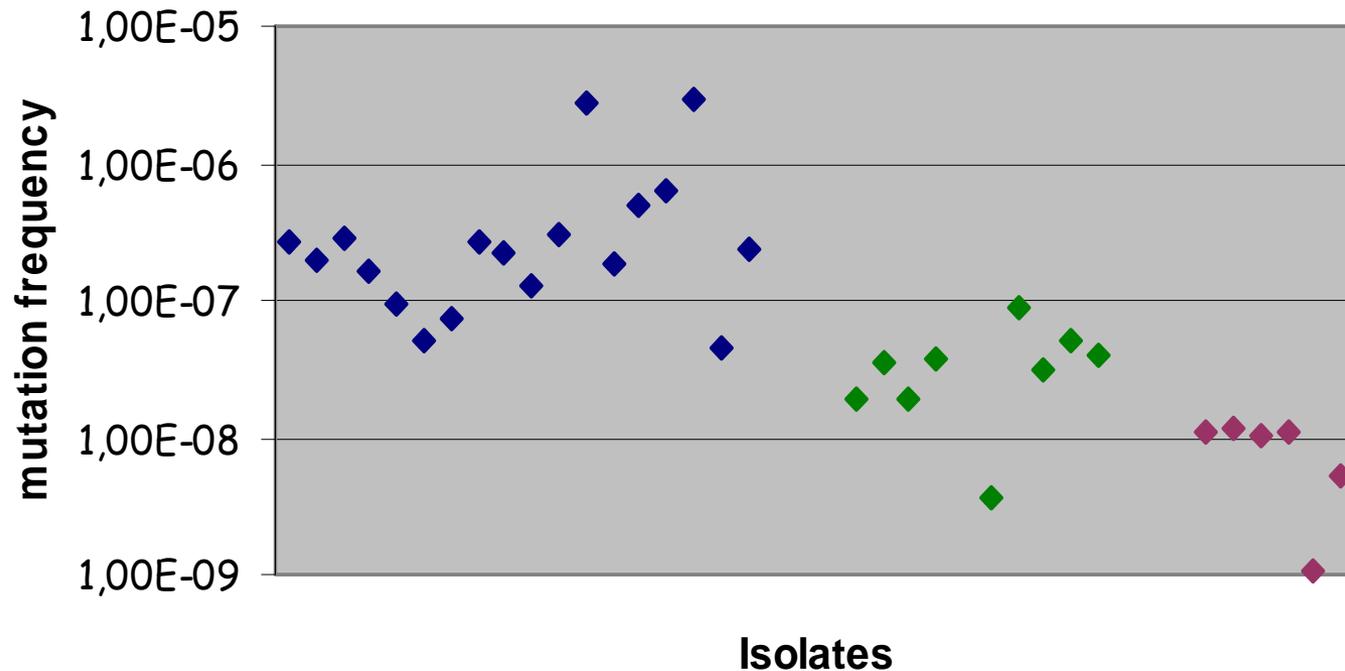
MLSB inductible

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*

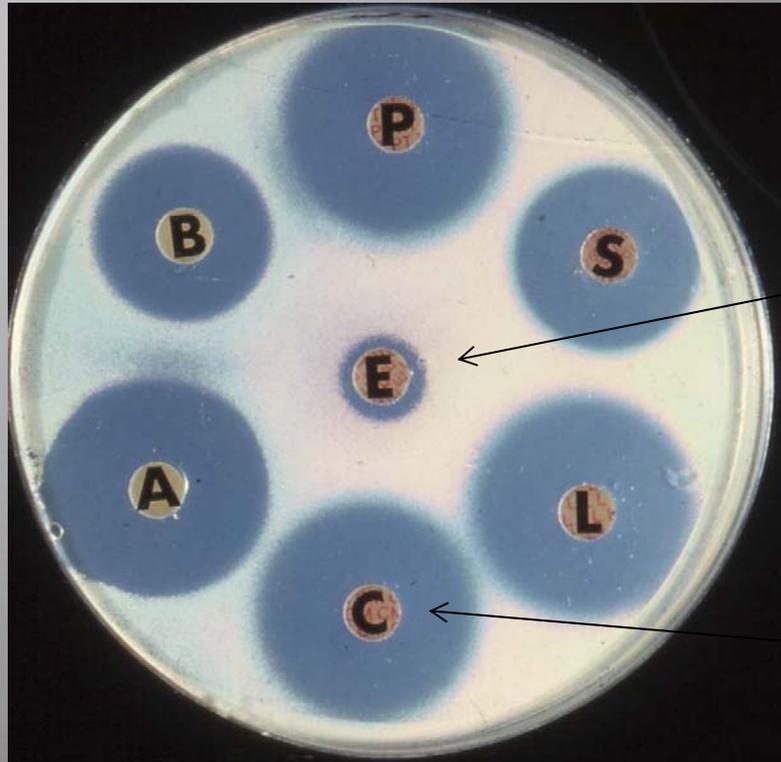
■ *ermA*

■ 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

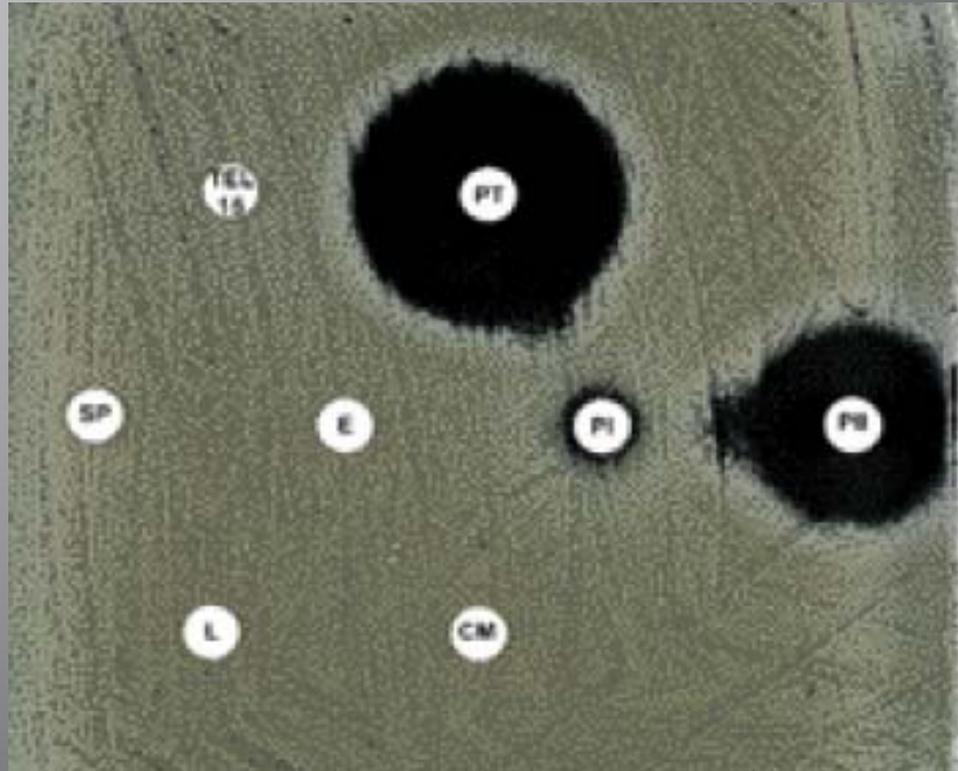
Devant une souche résistante à l'érythromycine et sensible à lincomycine et clindamycine, rechercher le caractère inductible de cette résistance (antagonisme érythromycine-lincomycine). En l'absence d'induction, répondre sensible à la lincomycine et clindamycine. En présence d'induction, répondre sensible 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

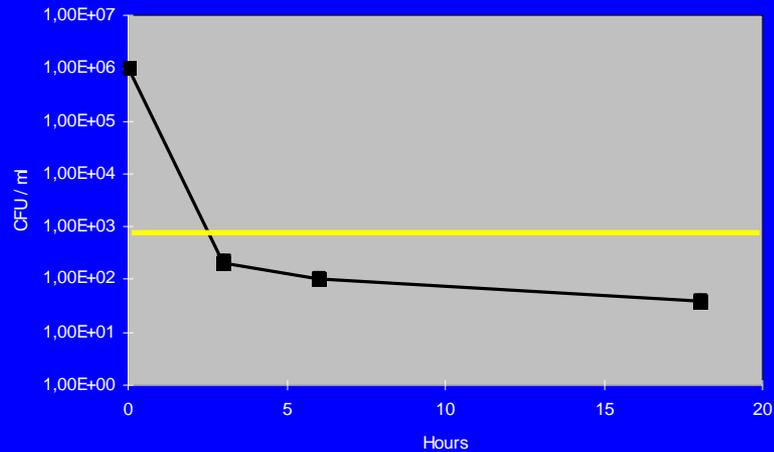
EUCAST

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

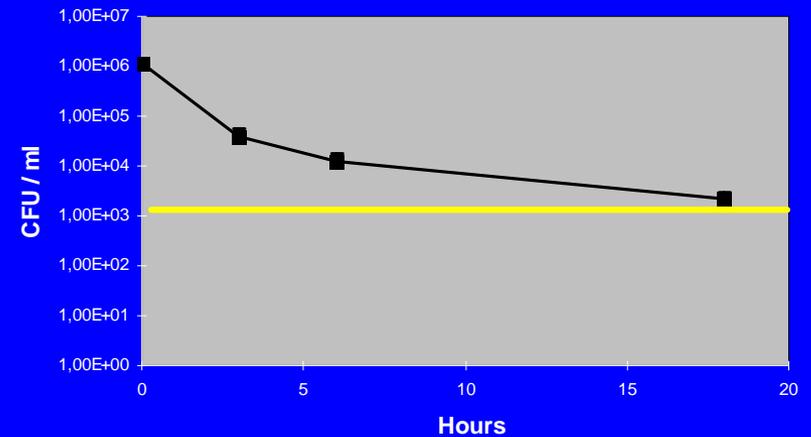


Activité bactéricide de quinupristine-dalfopristine vis-à-vis de *S. aureus* contenant ou non *ermA*

S. aureus RN4220/pAT392

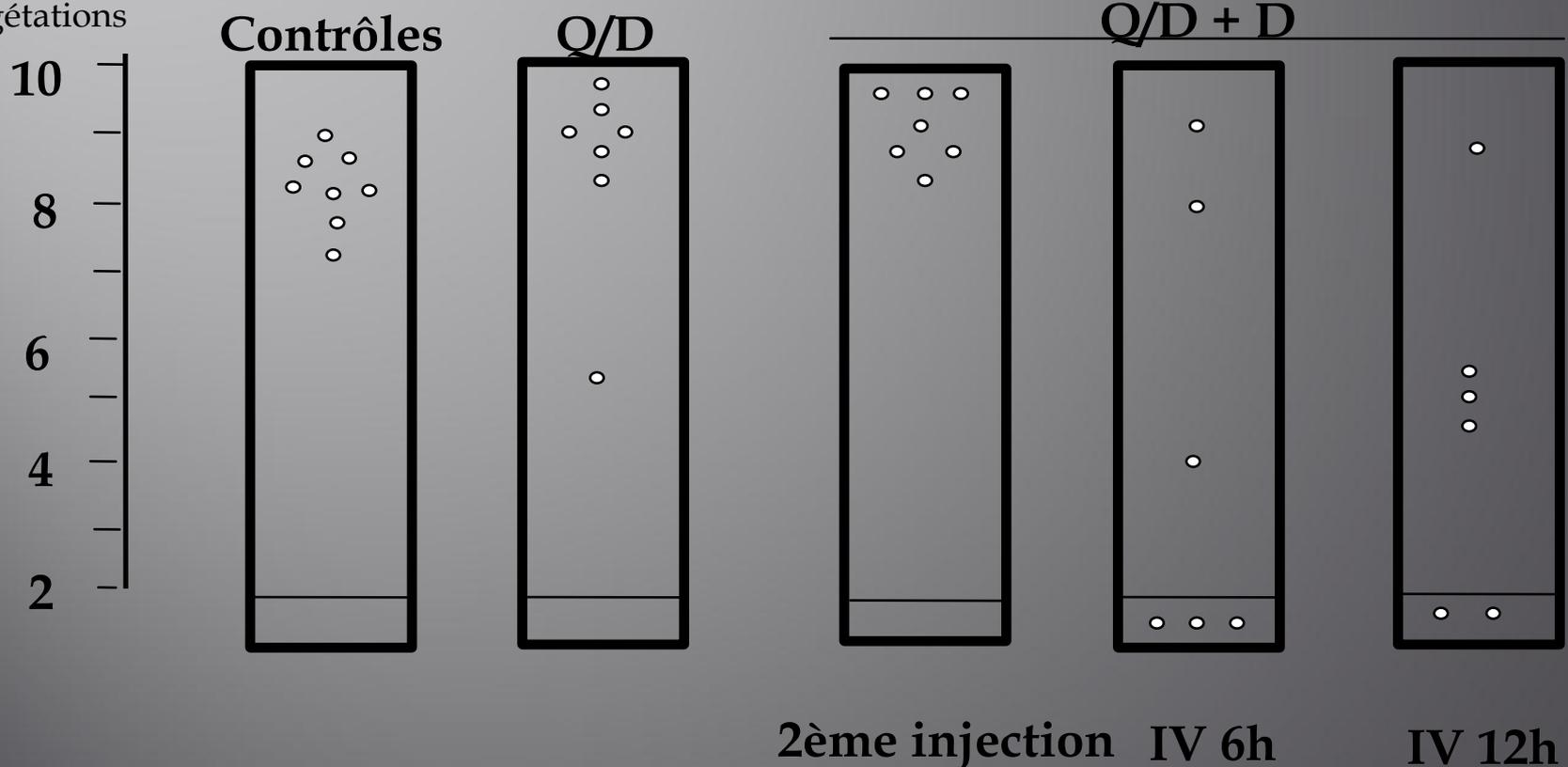


S. aureus RN4220/pAT392/*ermA*



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

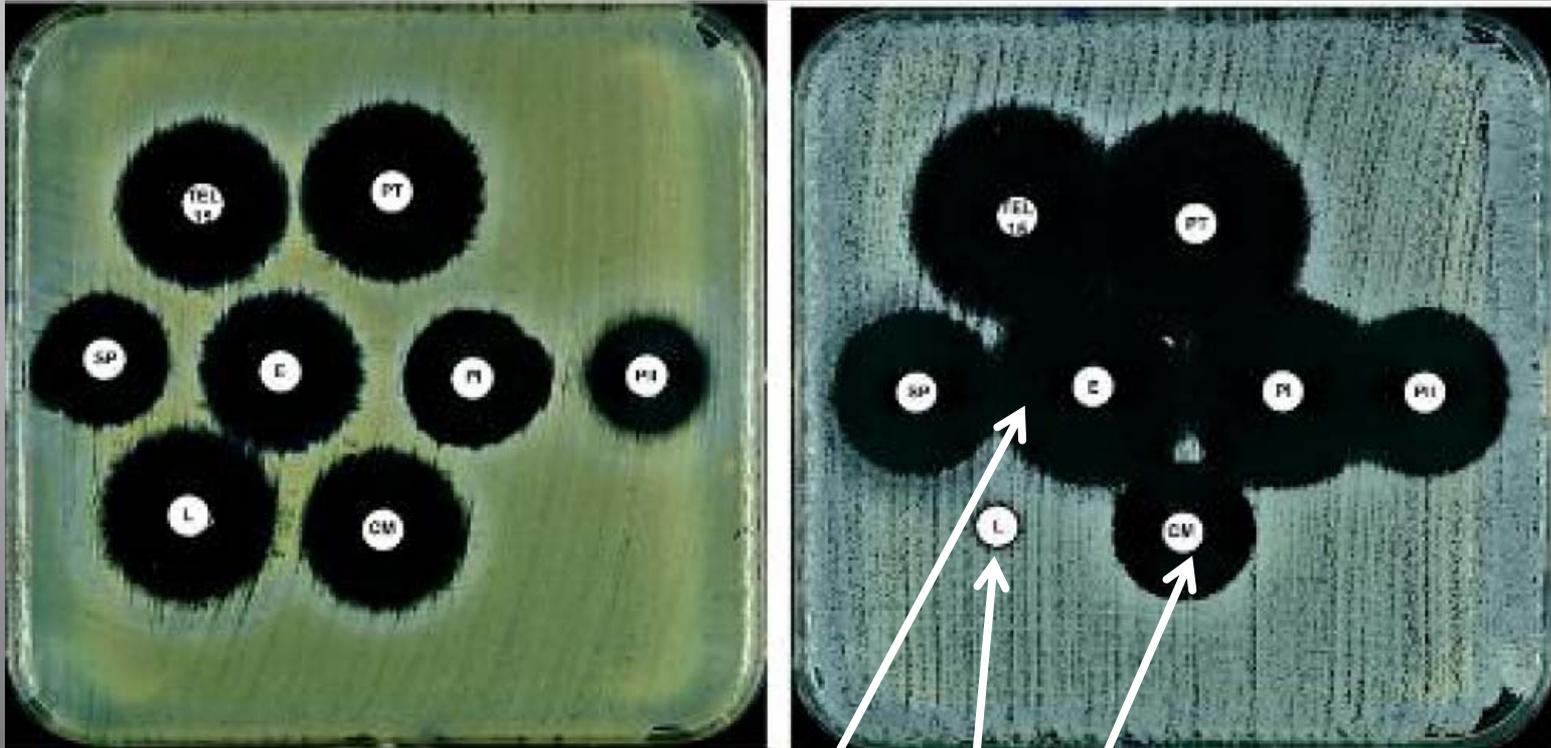
Inactivation des macrolides

- 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)

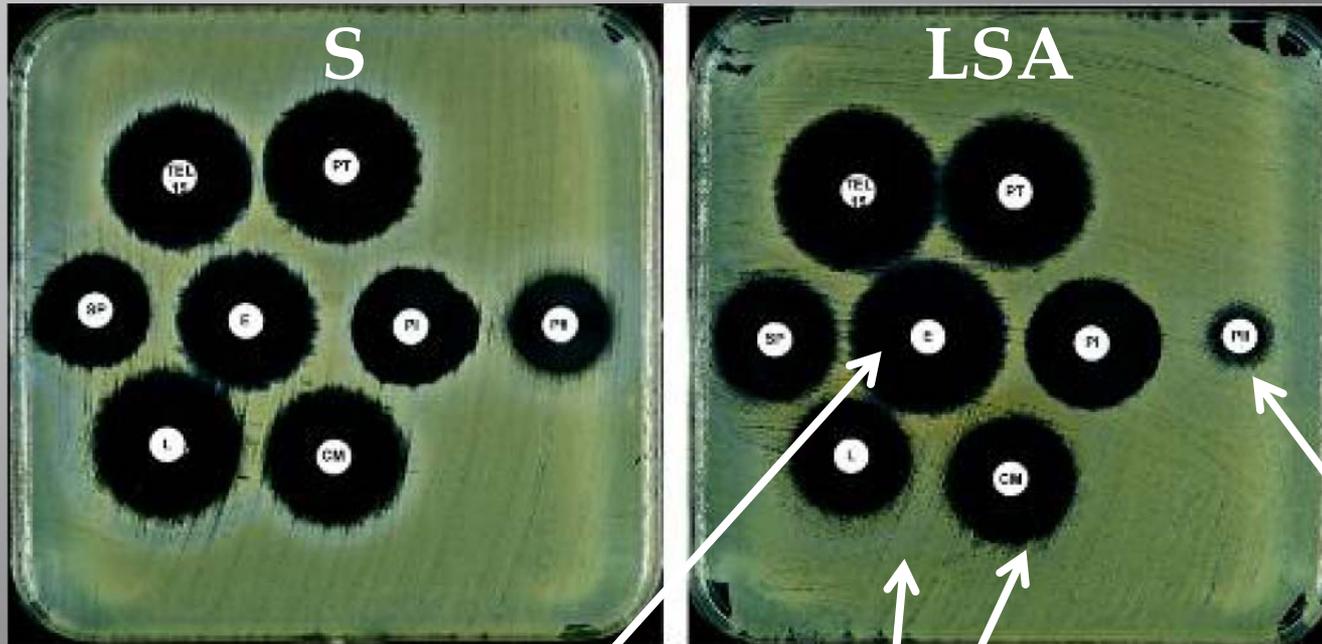
Phénotype L



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

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

Phénotype LSA



Ery S

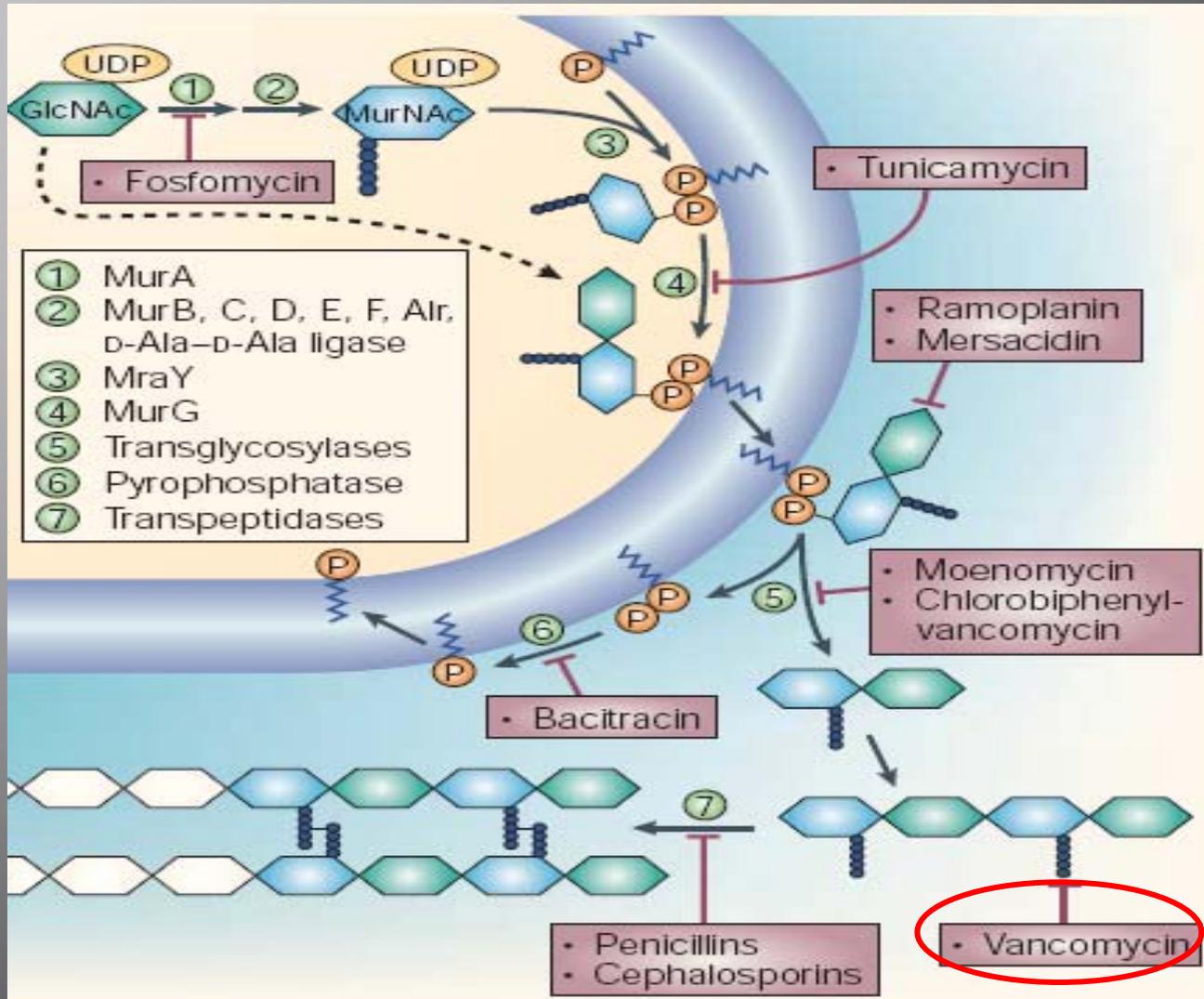
Lin-Cl I/ R

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

Mécanisme inconnu

GLYCOPEPTIDES

Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi



Glycopeptides

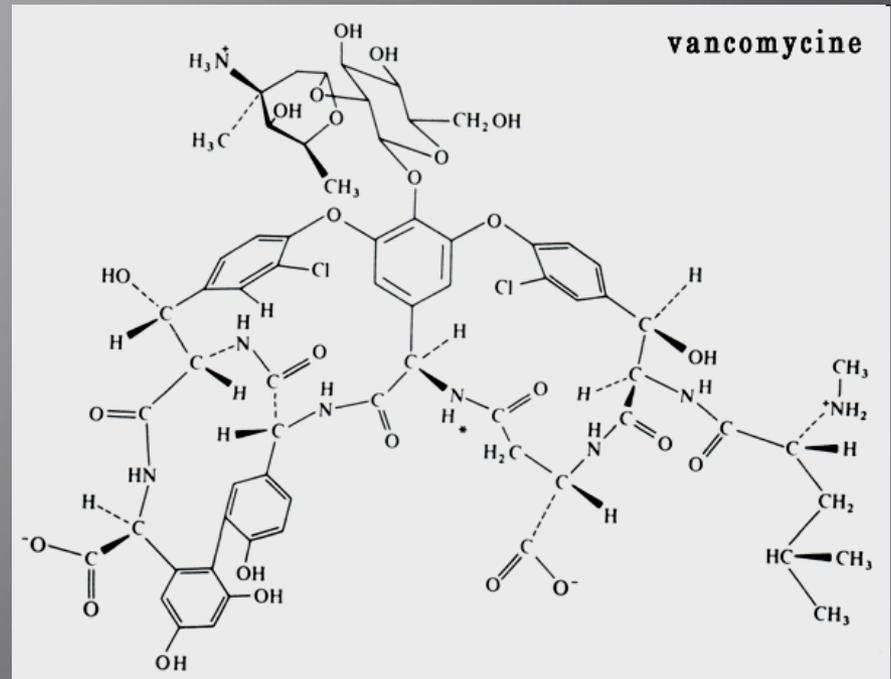
• Molécules hydrophiles de grande taille (PM = 1500-2000 Da) :

- Vancomycine et dérivés

(oritavancine, télavancine)

- Teicoplanine et dérivés

(dalbavancine)



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

Glycopeptides

Caractéristiques principales

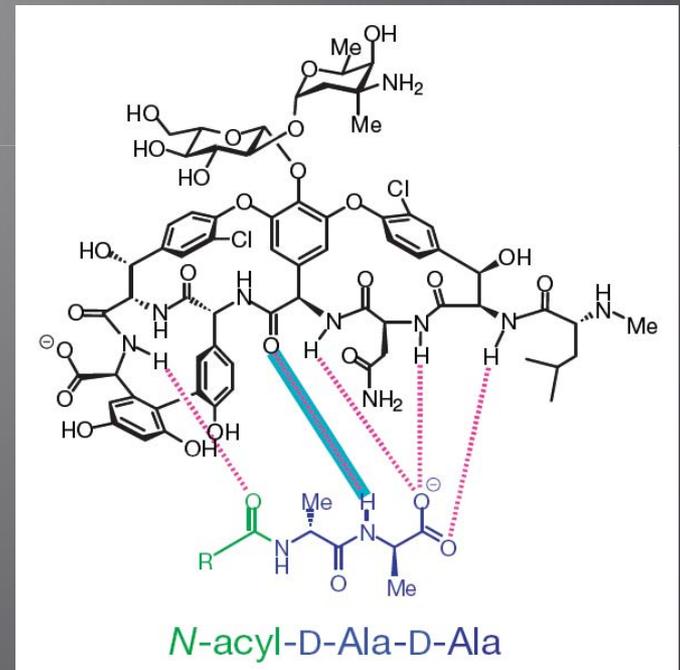
- ✓ ATB bactéricides lents (action temps-dépendante)
- ✓ Usage parentéral (non résorbés per os)
- ✓ Néphro- et ototoxicité
- ✓ Spectre d'activité étroit : bactéries à Gram + (notamment les souches *S. aureus* résistantes à la méticilline - SARM et les entérocoques)

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 +++



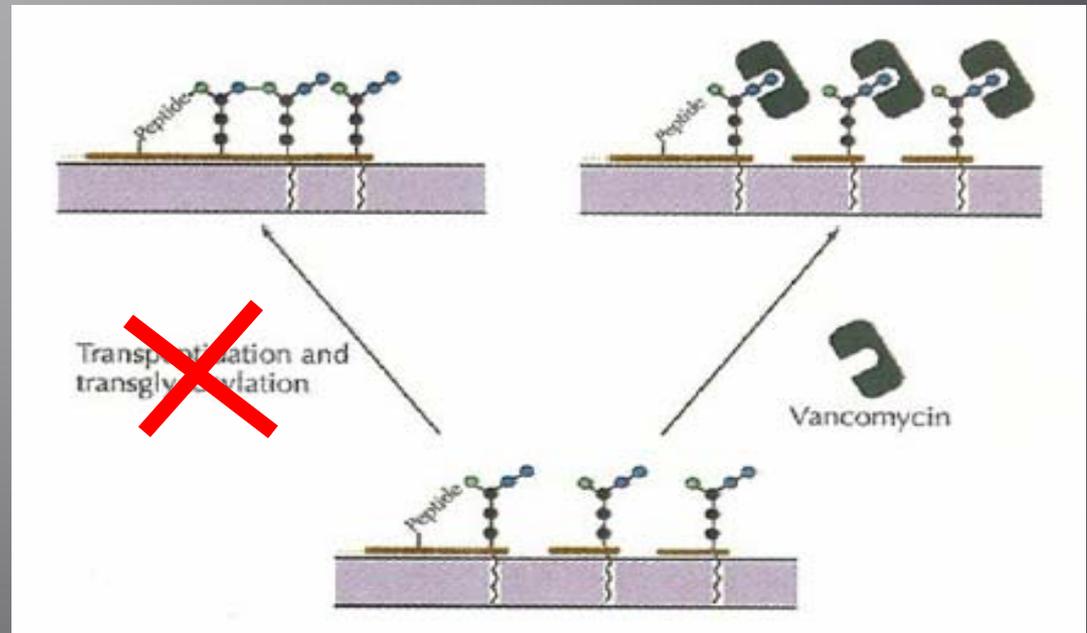
D'après Walsh, Nature 2000

Inhibition de la transpeptidation

Glycopeptides

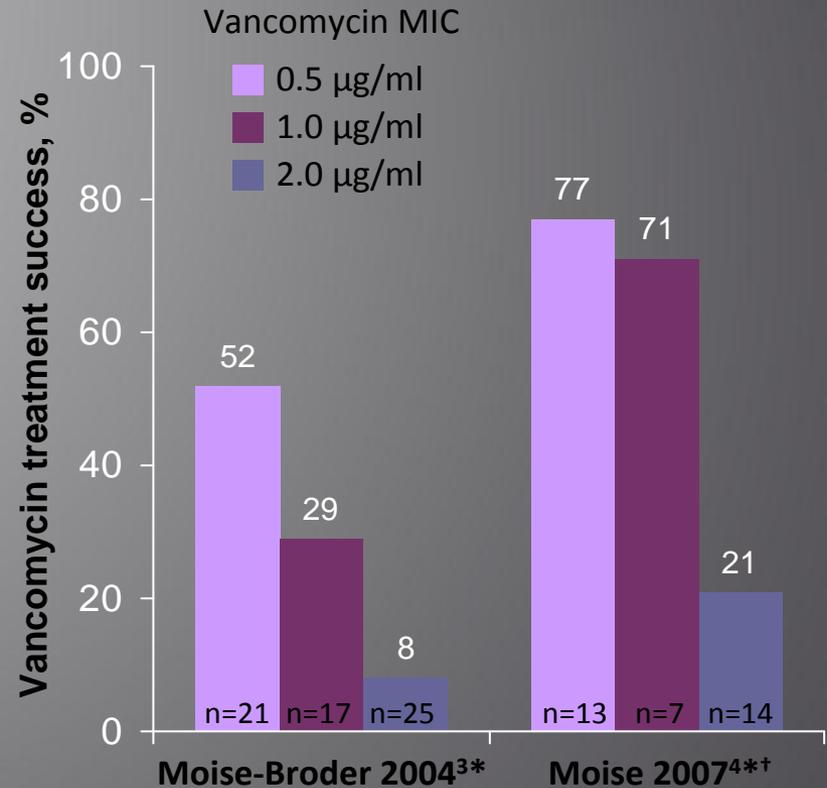
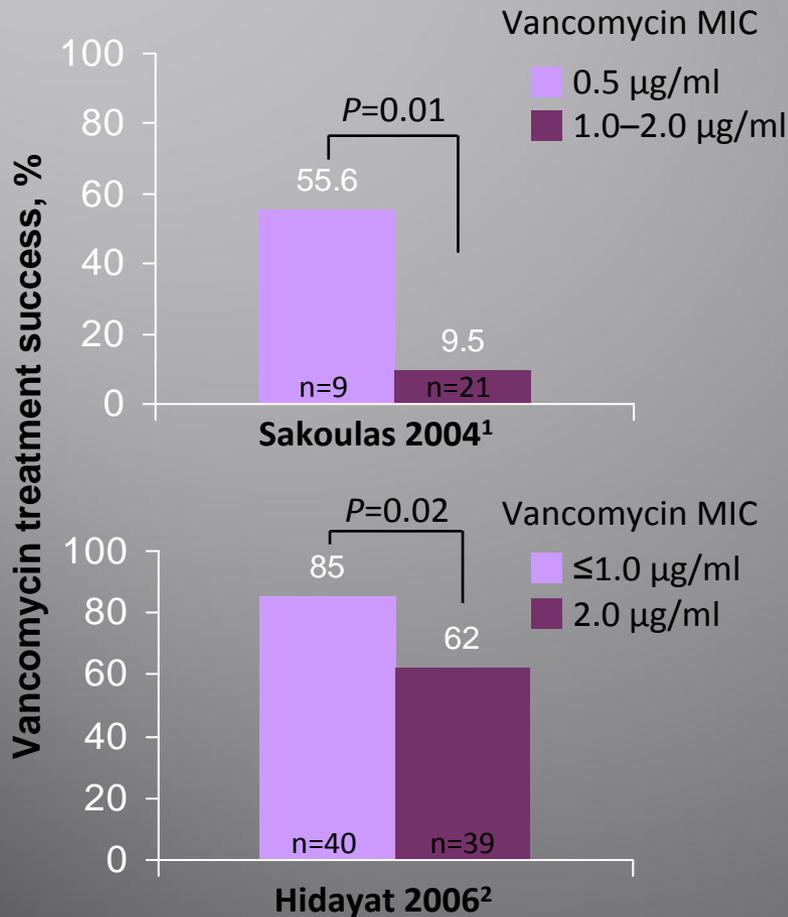
Mécanisme d'action (2)

- 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	≤ 2	4-8	≥ 8
CA-SFM CMI	(≤ 4)	(8)	(>16)
EUCAST CMI	≤ 2	--	>2
CLSI-EUCAST Disques	non	non	non
CA-SFM Disques	≥ 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*)

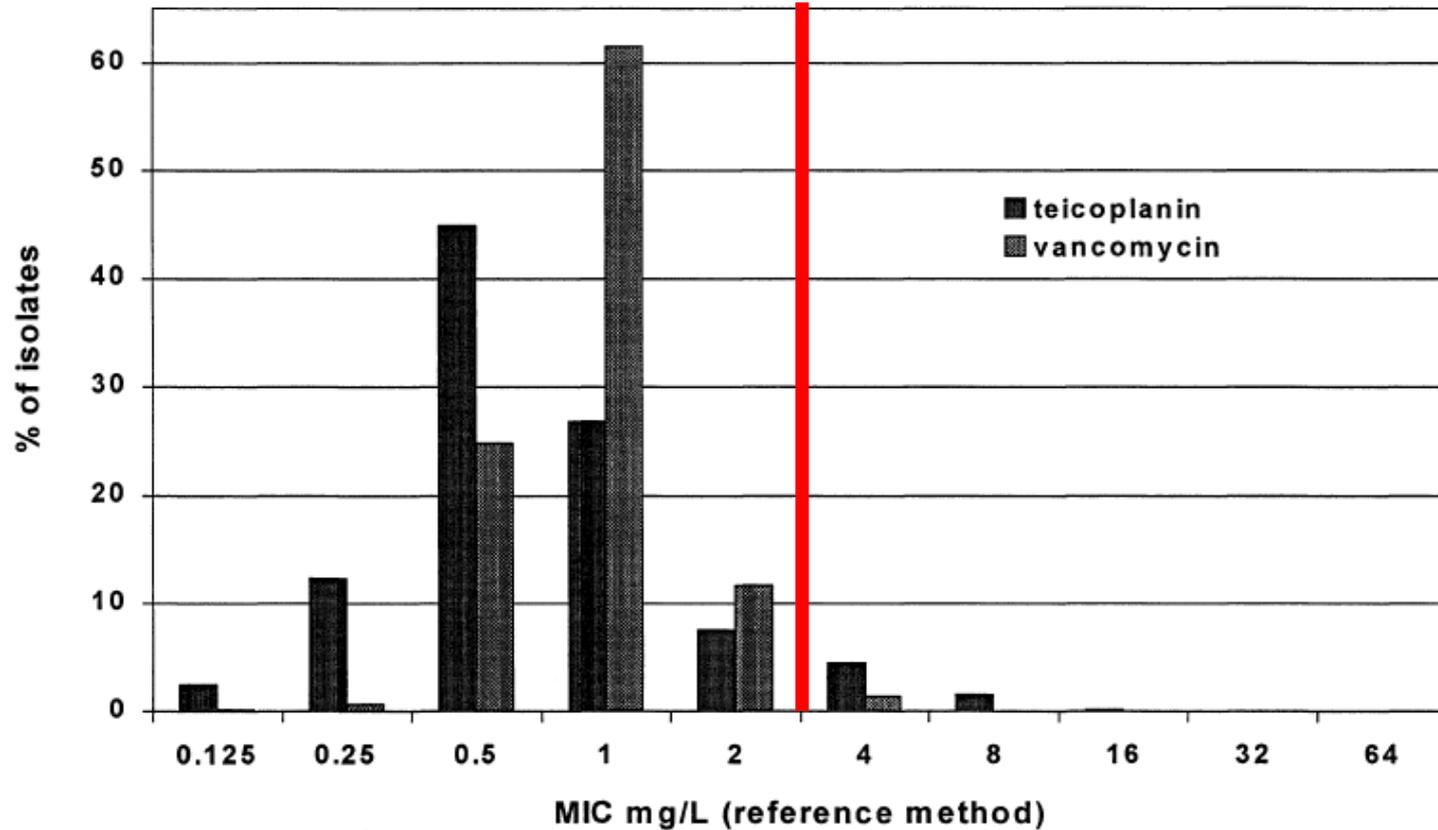
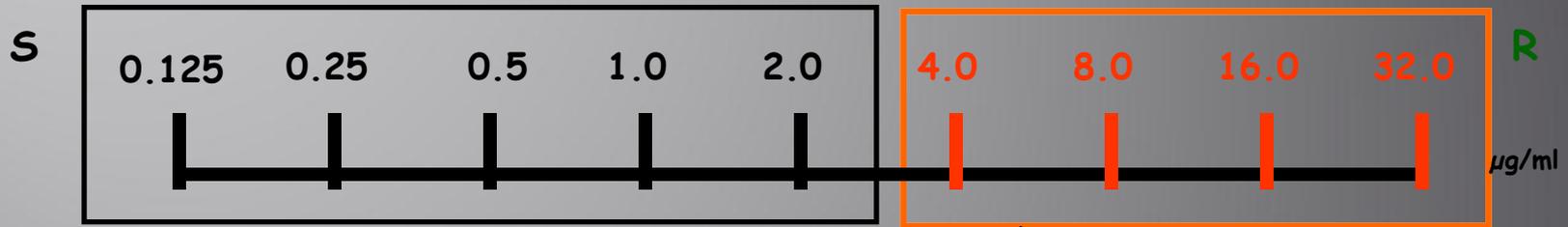


FIGURE 1 MIC distributions for *S. aureus* (n = 2852).

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



Changements génotypiques et
phénotypiques

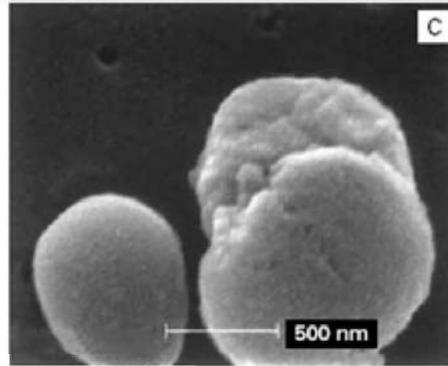
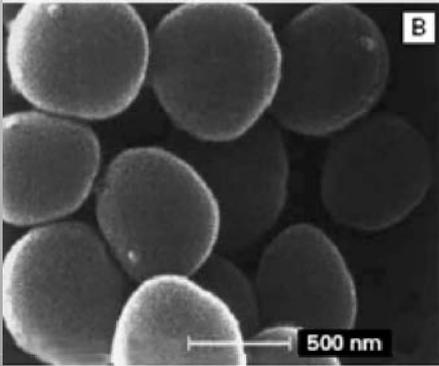


Attention aux souches CMI 2 mg/L ou S vancomycine mais I/R à la téicoplanine

Hetero-VISA et VISA

S

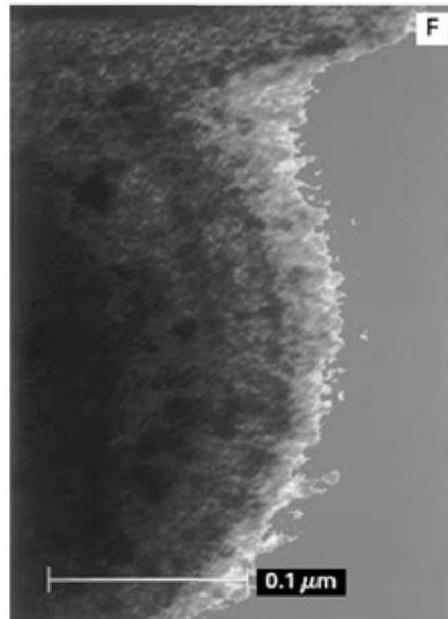
Hetero-VISA



Épaississement paroi

Hyperproduction des précurseurs

Modifications PLP



Analyse de population hVISA

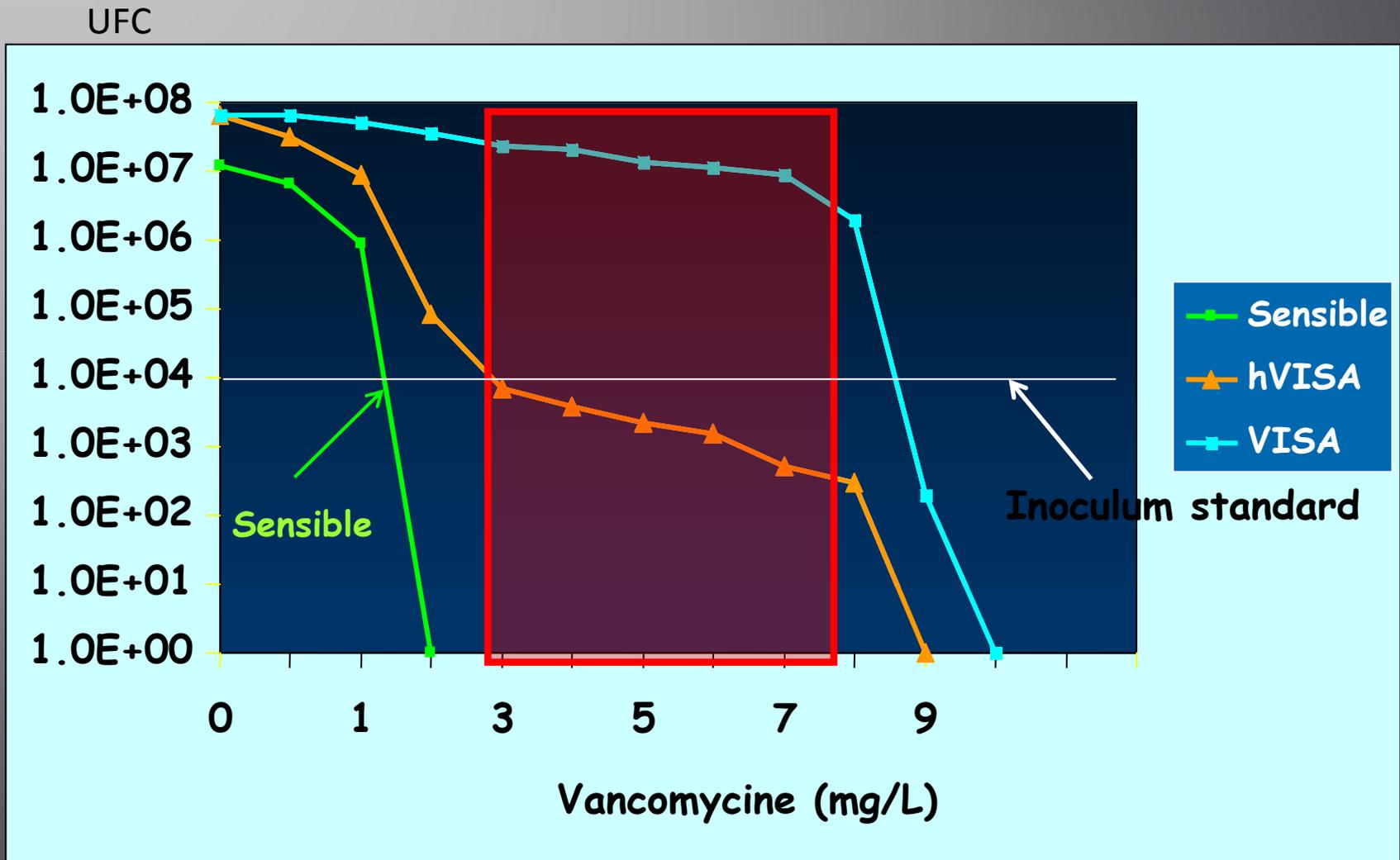
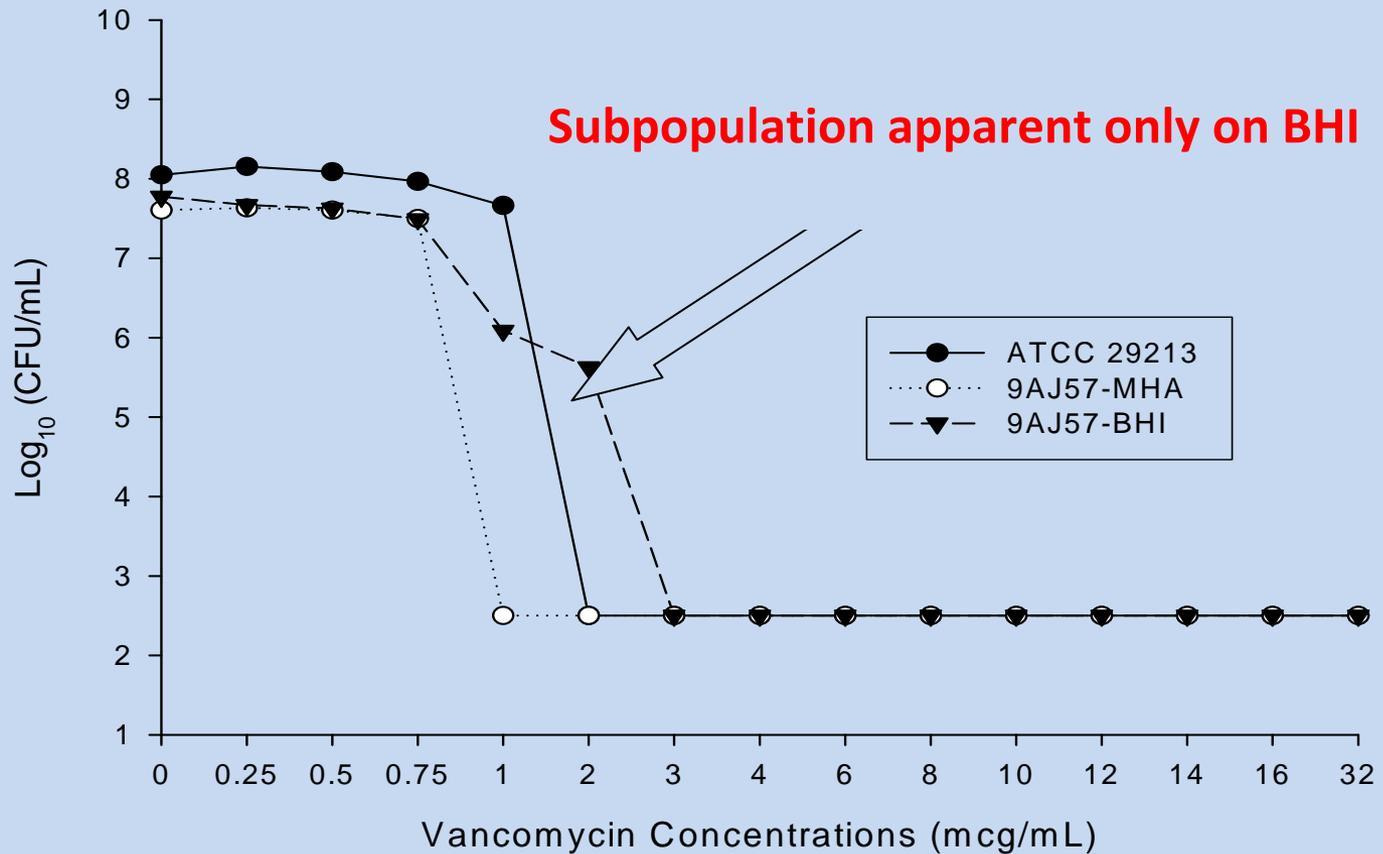


Fig 1. Population Analysis for Strain 9AJ57 on BHI vs. MHA



Mueller-Hinton MIC= 1 μ g/ml
BHI MIC = 4 μ g/ml

Tests corrélés aux analyses de population

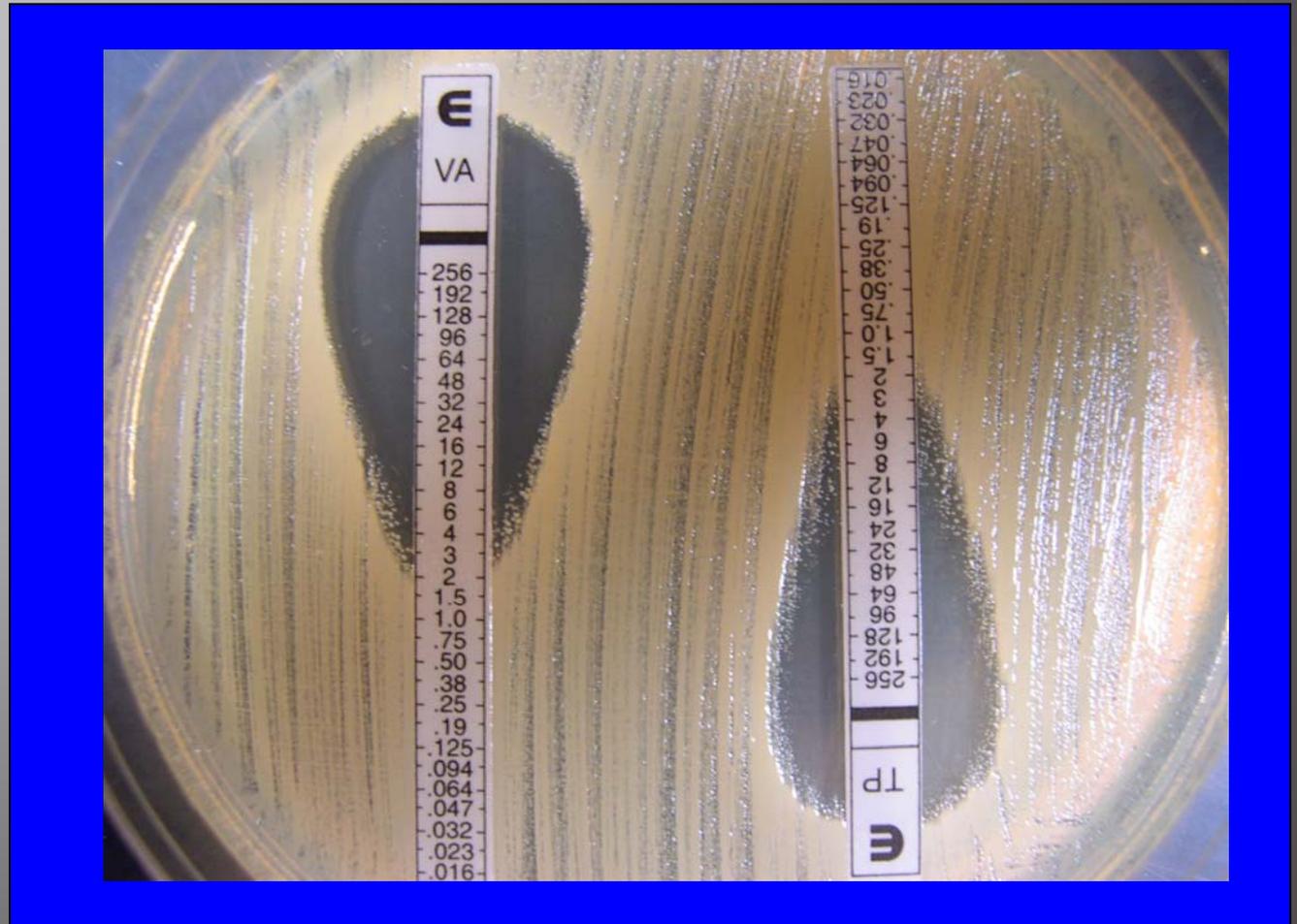
- Screening sur MH+teico 5 $\mu\text{g/ml}$, Mc F 2
- E-test fort inoculum, milieu BHI, CMI au moins 6 $\mu\text{g/ml}$
- I/R à teicoplanine 5 vancomycine
- Agar screen vanco 6 (4) mg/L

Détection des hVISA par Macro Etest

H-VISA si:

Vanco. ET
Téico.
≥8 mg/L
OU SI

Teico.
seule
≥12 mg/L

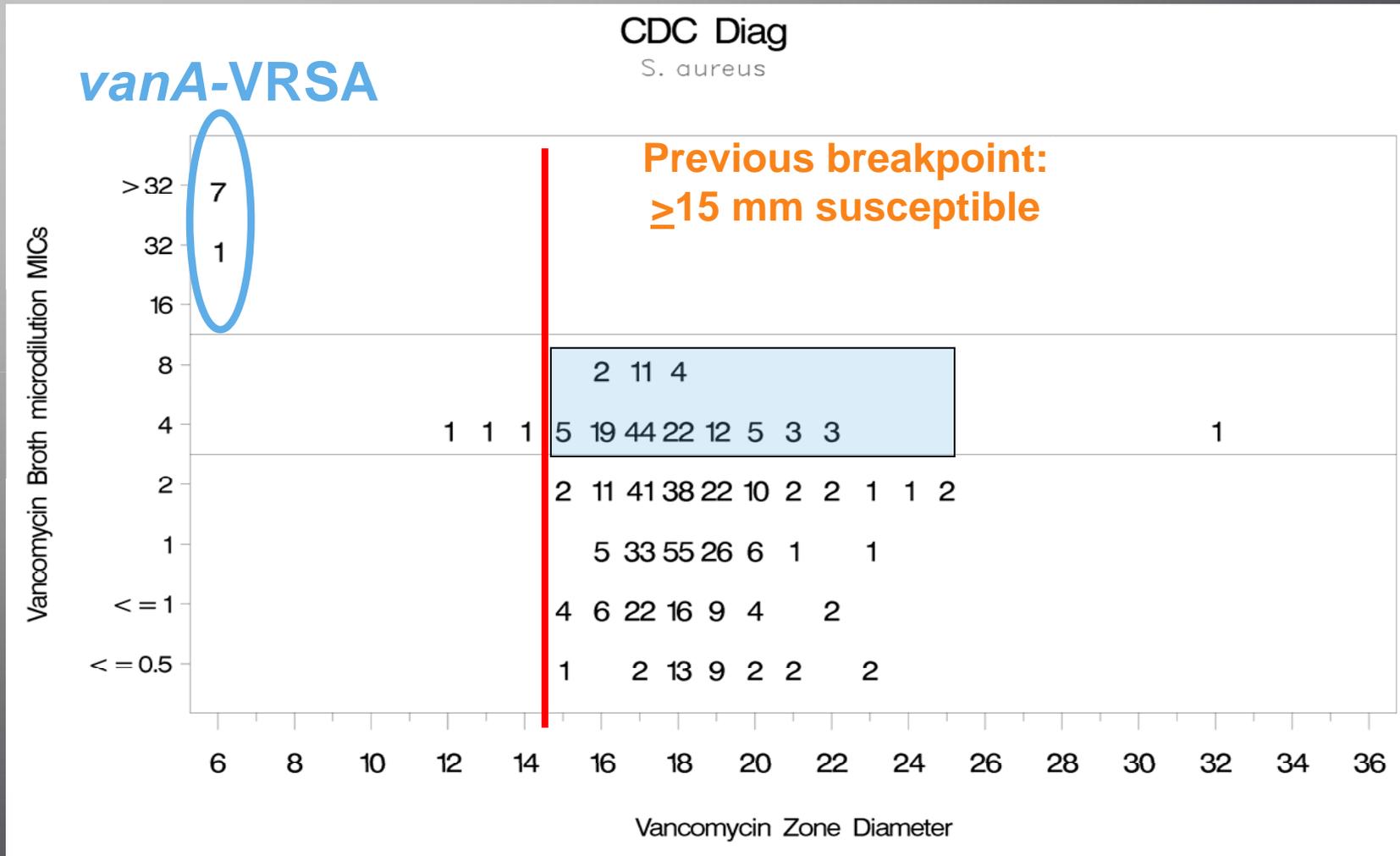


2 McFarland, BHI agar, incubation 48 h

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