

ENTÉROCOQUES

R. Leclercq
CHU de Caen, France

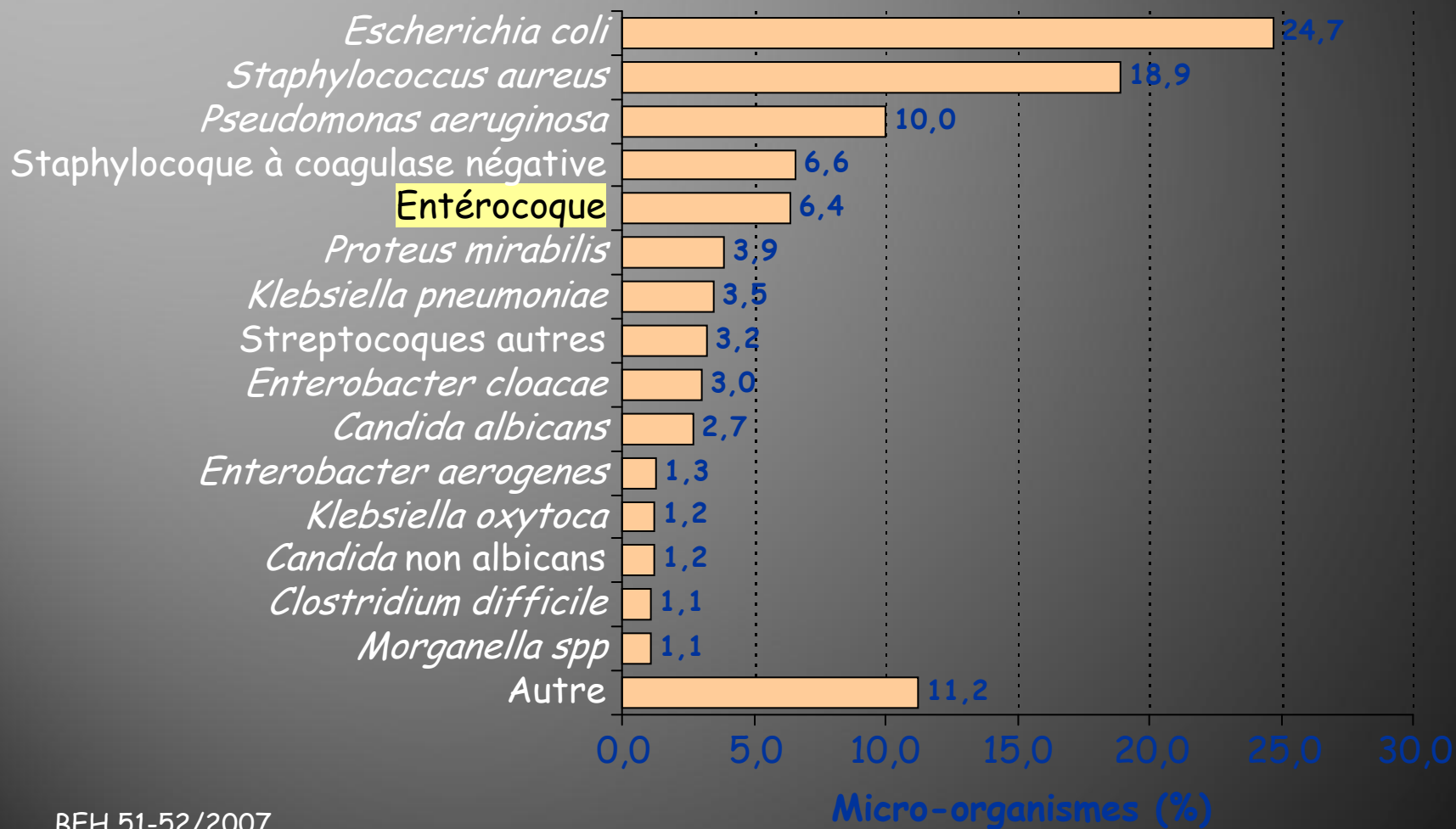
Importance clinique des entérocoques

- Peu virulent, peu de facteurs de pathogénicité ; mais:
 - Supporte des conditions environnementales difficiles : dessiccation, froid, chaud, stress
 - Naturellement peu sensible à de nombreux antibiotiques
 - Souches multirésistantes [*E. faecium* (pénicillines, vancomycine)]
 - Capacité à persister en conditions hostiles

- Voies de l'infection nosocomiale
 - colonisation ---> remplacement de la flore normale
 - > infection chez les patients avec terrain défavorable ± traitement C3G ou quinolones ou anti-anaérobies (*E. faecium*)

- A sa part dans les infections communautaires : endocardites, infections urinaires, infections intra-abdominales (pathogène en association)

ENP 2006 : principaux micro-organismes isolés d'infection nosocomiale (N=15 800)



La multirésistance ne signifie pas pathogénicité



Toujours discuter la signification clinique d'un isolement d'entérocoque

-Colonisations fréquentes

-Hémoculture isolée à entérocoque à discuter

-Prise en compte dans les infections intra-abdominales non consensuelle (inf communautaires: *E. coli* et anaérobies +++)

Fréquence (%) des espèces d'entérocoques dans les isollements cliniques

	Boston	Hôpitaux généraux*	Henri Mondor
<i>E. faecalis</i>	87,7	92,6	70,3
<i>E. faecium</i>	8,6	5,5	23,9
Autres entérocoques**	3,6	1,9	5,7

* Pangon et al., Eur J clin Microbiol Infect Dis, 1999, 18, 837

** *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*, *E. avium*, *E. durans*, *E. hirae*....

Les espèces ne sont pas équivalentes sur le plan de l'antibiorésistance intrinsèque et acquise

La multirésistance naturelle limite le nombre d'antibiotiques efficaces

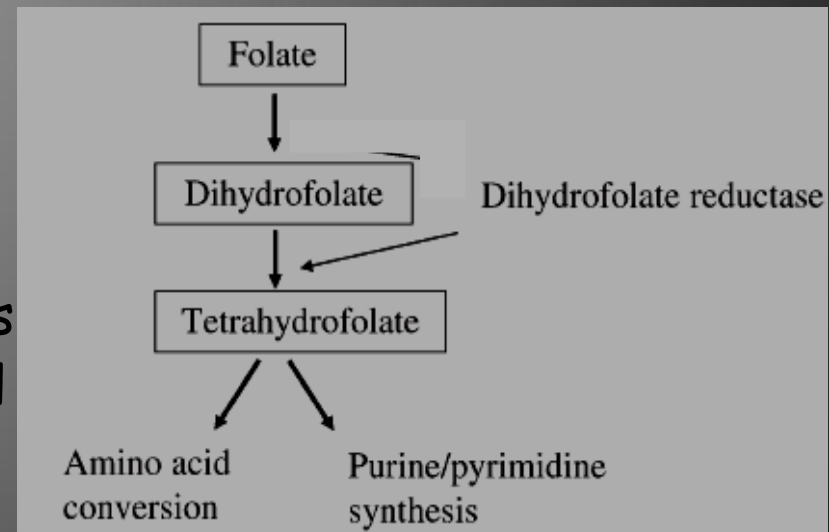
- Faible activité des pénicillines et résistance de bas-niveau aux aminosides (mais ne contre-indique pas leur emploi)

Résistance naturelle à

- Lincomycine-clindamycine-streptogramine A (et pristinamycine) (*E. faecalis* et autres sauf *E. faecium* et rares espèces voisines *E. durans* et *E. hirae*): efflux probable (gène *lsa* → ABC-transporteur)
- Fluoroquinolones classiques: gyrase de faible affinité + efflux + protection de la cible (gène naturel *qnr*) (Lynch, *Antimicrob Agents Chemother*, 1997; Arsène and Leclercq, *Antimicrob Agents Chemother*, 2007)
- Faible activité des macrolides, tétracyclines..

Triméthoprime-sulfaméthoxazole

- Résistance naturelle (in vitro) aux sulfamides
- Activité in vitro du triméthoprime et du cotrimoxazole:
 - activité discutée in vivo
 - assimilation des folates par les entérocoques
 - CMI triméthoprime:
0,02-0,6 mg/L;
2-100 mg/L en présence d'urines
 - Echec en modèle expérimental d'endocardite du lapin



Grayson ML Antimicrob Agents Chemother. 1990 ;34:1792-4.
Zervos MJ. Antimicrob Agents Chemother 1985;28:446-8 .
Wisell KT.J Antimicrob Chemother. 2008;62:35-40.

Trois classes majeures d'antibiotiques

- ▣ Les antibiotiques majeurs en thérapeutique sont
 - Les pénicillines
 - Les glycopeptides
 - Les aminosides (associations)

 - Ne pas oublier furanes (infections urinaires), fosfomycine (activité modérée)

- ▣ Nouveaux antibiotiques
 - Linézolide
 - Tigécycline
 - Daptomycine
 - Quinupristine-dalfopristine (seulement *E. faecium*)

E. FAECALIS

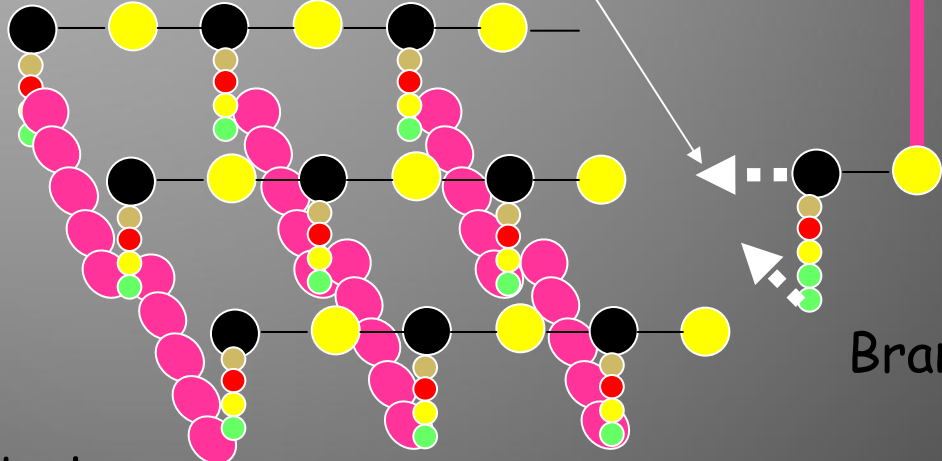
Cytoplasme bactérien

B-L



Membrane cytoplasmique

Protéines de liaison à la pénicilline



Précurseur

Branchement

Peptidoglycane

Milieu externe

PLP de *E. faecalis*

- ▣ 6 PLPs
- ▣ La présence d'une PLP5 de faible affinité est responsable de la faible sensibilité aux bêta-lactamines

Sensibilité de *E. faecalis* aux bêta-lactamines

	CMI (mg/L)
Pénicilline G	2-8
Ampicilline	0,5-2
Amoxicilline	0,25-1
Pipéracilline	1-4
Ticarcilline	32-64
Céfalotine	4-16
Céfotaxime	32- >128
Imipénème	1-2

- ▣ Résistance aux céphalosporines de 3ème génération
- ▣ Equivalence d'activité entre les pénicillines (sauf ticarcilline)
- ▣ Pas de bactéricidie (association aux aminosides quand cet effet est recherché)

Acquisition de résistance à la pénicilline G chez *E. faecalis*

- ▣ Rares souches productrices de pénicillinase identique à celle de staphylocoque et d'expression constitutive de détection difficile (CMI de l'ampicilline = 8 mg/L)
- ▣ Souvent résistantes de haut niveau à la gentamicine
- ▣ Etaient confinées aux USA (Côte est), Amérique du Sud, Liban (1 souche) et semblent avoir disparu

→ La distribution des CMI des pénicillines vis-à-vis de *E. faecalis* est restée unimodale
Pas d'intérêt des inhibiteurs de pénicillinase (ac. clavulanique, tazobactam, sulbactam)

Résistance de haut niveau aux aminosides chez *E. faecalis*

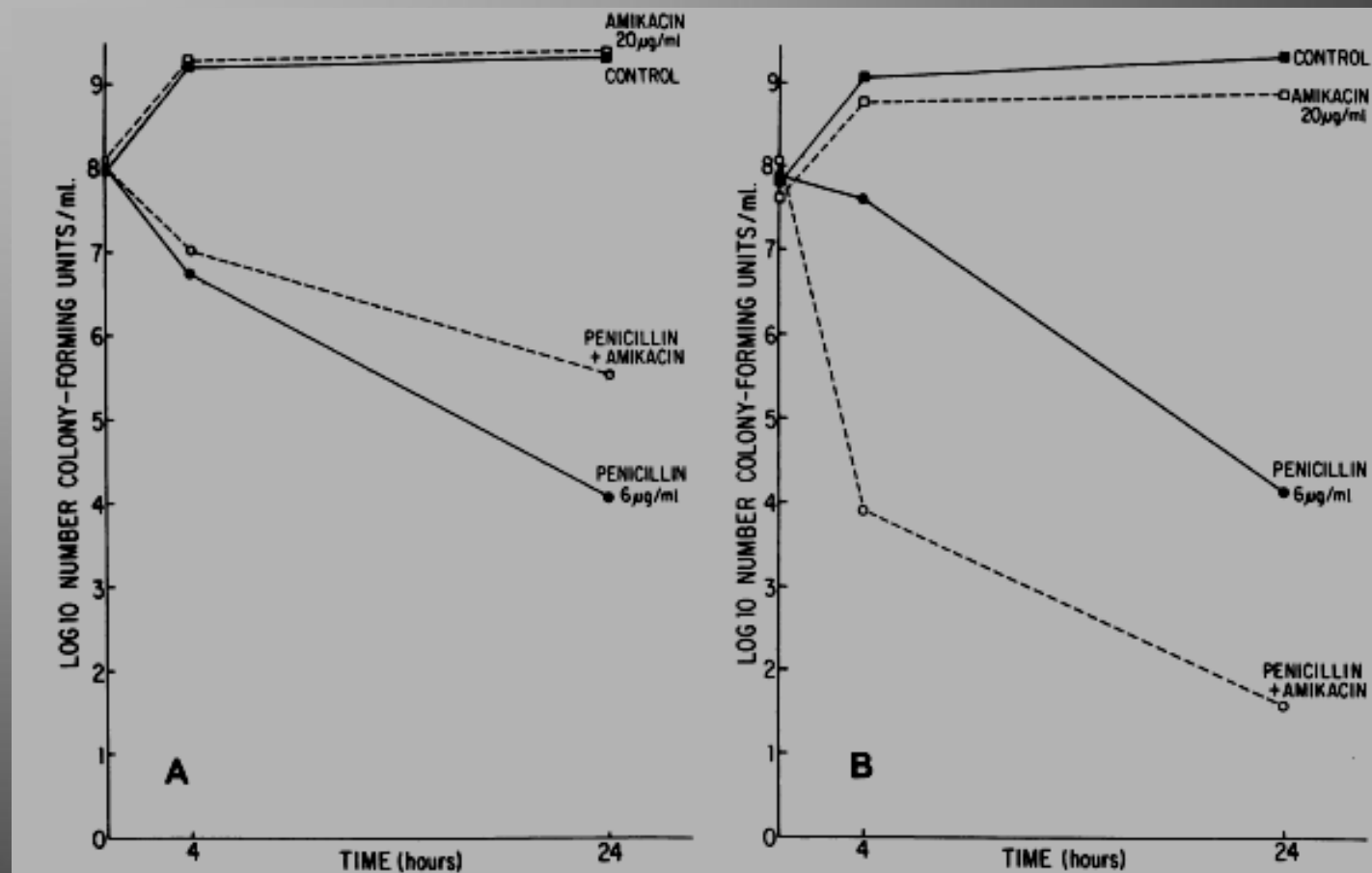
- ▣ Due à des enzymes inactivatrices identiques à celles des staphylocoques
- ▣ 2 phénotypes essentiels, définis par CMI de la kanamycine ou de la gentamicine >1000 mg/L

Phénotype	Enzyme	Perte de synergie entre ampicilline et	Fréquence
Km	APH(3)'-III	Kan, Ami	25-40
Km Gm	AAC6'-APH2''	Kan, Gen, Tob, Ami	10-20

Dans environ 50% des cas perte de la synergie ampicilline (ou vancomycine) et amikacine

**Pour la synergie avec vancomycine ou ampicilline
Choix préférentiel: gentamicine et non amikacine**

Antagonisme entre amikacine et pénicilline contre *E. faecalis* hautement résistant à la kanamycine



APH(3') producing *E. faecalis*

Non-APH(3') producing *E. faecalis*

E. faecalis et résistance de haut niveau à la gentamicine

- ▣ Première description en 1979 de la résistance plasmidique de haut niveau à la gentamicine (T. Horaud) et en 1983 aux USA:
- ▣ gène codant pour AAC(6')-APH(2'') (idem staphylocoques)
- ▣ Première démonstration du rôle nosocomial des entérocoques pour ceux résistants de haut niveau à la gentamicine (M. Zervos, 1986)
- ▣ Variations locales de la résistance de haut-niveau à la gentamicine

Incidence de la résistance de haut niveau à la gentamicine en France chez *E. faecalis*

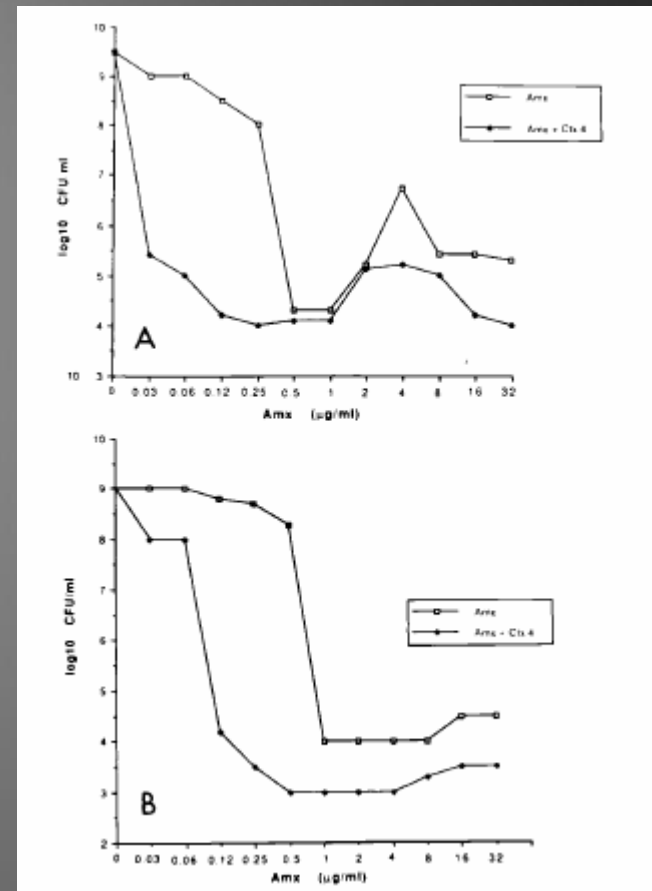
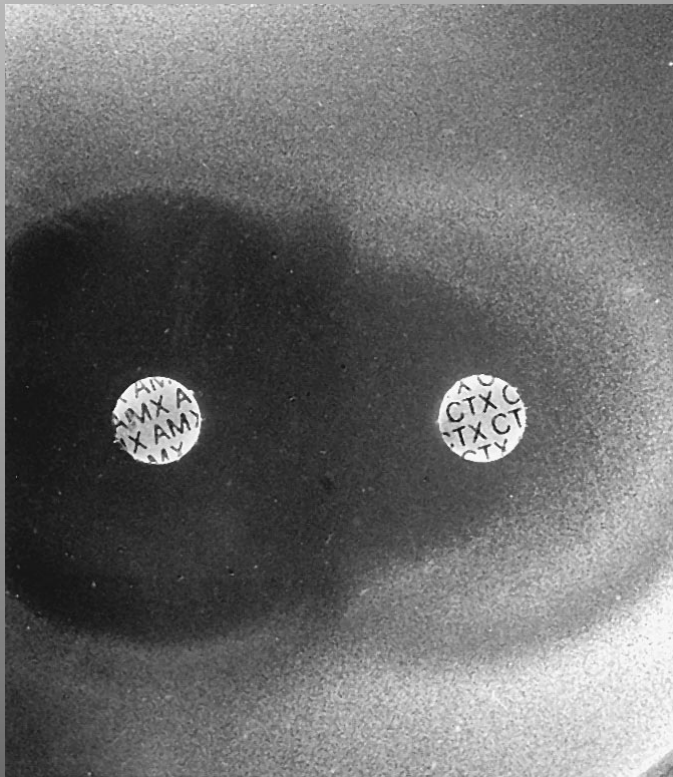
% R	Année	Auteur
19 (hôpitaux généraux)	1997	Pangon (EJCMID, 1999)
7,1 (hôpitaux Est)	1998	Mulin (CMI, 1999)
9 (réa)	1998	Garrabe (Presse Med, 2000)
22	2002	ONERBA (réseau REUSSIR)

Résistance des entérocoques à la gentamicine (%) suivant les spécialités

	H Mondor	Caen
Total	13-21	11
Urgences, Médecine	0-12,5	6
Réanimation, chirurgie hématologie	24-40,4	12

Endocardite: 4 à 6% des entérocoques sont résistants de haut niveau à la gentamicine

Synergie ceftriaxone (cefotaxime)/ampicilline



Essais de traitement des endocardites et infections ostéo-articulaires à *E. faecalis* par l'association

Gavaldà J, Ann Intern Med. 2007 , 17;146:574-9.

Euba G. Antimicrob Agents Chemother. 2009;53:4305-10

Activité des fluoroquinolones vis-à-vis de *E. faecalis*

CMI (mg/L)		
Quinolone	Dispersion	CMI50
Ofloxacine	1-64	4
Ciprofloxacine	0,5-32	2
Lévofloxacine	1-32	1
Moxifloxacine	0,25-16	0,25

Souches résistantes: mutations *GyrA* (Ser83 et Glu87) et *ParC* (Ser80 et Glu84); pas de mutation *GyrB*, *ParE* ni d'efflux rapportés

Co-résistance gentamicine- ciprofloxacine

E. faecalis sensible à
trovafloxacine (%)

<i>E. faecalis</i> (n=509)	80
<i>E. faecalis</i> Gen S (n=435)	87.6
<i>E. faecalis</i> Gen R (n=74)	36.5

Résistance croisée entre toutes les quinolones

MH Nicolas et coll. ECCMID, Berlin 1999

Des quinolones contre les entérocoques?

- ▣ Les entérocoques ne font pas partie du spectre des quinolones
- ▣ Pas d'activité bactéricide de la ciprofloxacine
- ▣ Emergence de mutants
- ▣ Naber K, IJAA, 2000: traitement de prostatite par ciprofloxacine
 - 65 patients (*E. coli* 55,7%, *E. faecalis* 22,8%, *P. mirabilis* 10%)
 - CMI ciprofloxacine pour *E. faecalis* 0,06-0,5 mg/L
 - 10 patients avec *E. faecalis*: 7 éradications et 3 persistances
- ▣ Place des quinolones actuelles mal évaluée

E. FAECIUM

Résistances intrinsèques spécifiques

▣ *E. faecium*

- Toutes les souches produisent une enzyme inactivatrice d'aminosides (AAC6') qui supprime la synergie bactéricide entre ampicilline ou vancomycine et tous les aminosides sauf la gentamicine (et streptomycine)
- Toutes les souches possèdent une méthylase responsable de CMI élevées de la kanamycine (256-512 mg/L)
- Faible activité des pénicillines

E. faecium

- ▣ Résistance naturelle: PLP5 de faible affinité pour les pénicillines. Diminution d'affinité encore plus marquée que pour la PLP5 de *E. faecalis*

- ▣ Acquisition de résistance:
 - 1er niveau intermédiaire de résistance à l'ampicilline (CMI \leq 16 mg/L) lié à l'augmentation quantitative de la PLP5.

 - Hauts niveaux de résistance associés à des mutations proches du site catalytique de la PLP5. En particulier, Met485Ala proche du site serine actif combinée avec l'insertion d'une sérine en position 466

Résistance de *E. faecium* aux pénicillines

Mécanisme	CMI de l'ampicilline (mg/L)		
	-	↗ PLP5	Mutations PLP5
CMI (mg/L) ampicilline	0,12-1	8-32	>32

Rybkin et al., J Infect Dis, 1998, 178:159-163

L'imipénème et la pipéracilline sont 2 à 4 fois moins actives que l'ampicilline vis-à-vis des souches résistantes à l'ampicilline

Pas d'imipénème ou de pipéracilline ou de pipéracilline-tazobactam pour *E. faecium*

Résistance aux glycopeptides chez les entérocoques

Acquise

Naturelle

VanA VanB

VanC1/C2

CMI (mg/l) Vancomycine
Teicoplanine
Expression
Localisation génétique

>64 4-1000
>32 0,5-2
ind ind
Tn1546 Tn1547

4-32
0,5-2
ind/const
chrom.

Espèce

E. faecium multi R
E. faecalis,
autres entérocoques

E. gallinarum
E. casseliflavus

Autres: *vanD*, *vanE*, *vanF*,
vanG, *vanL*

Danger épidémique

+++

+++

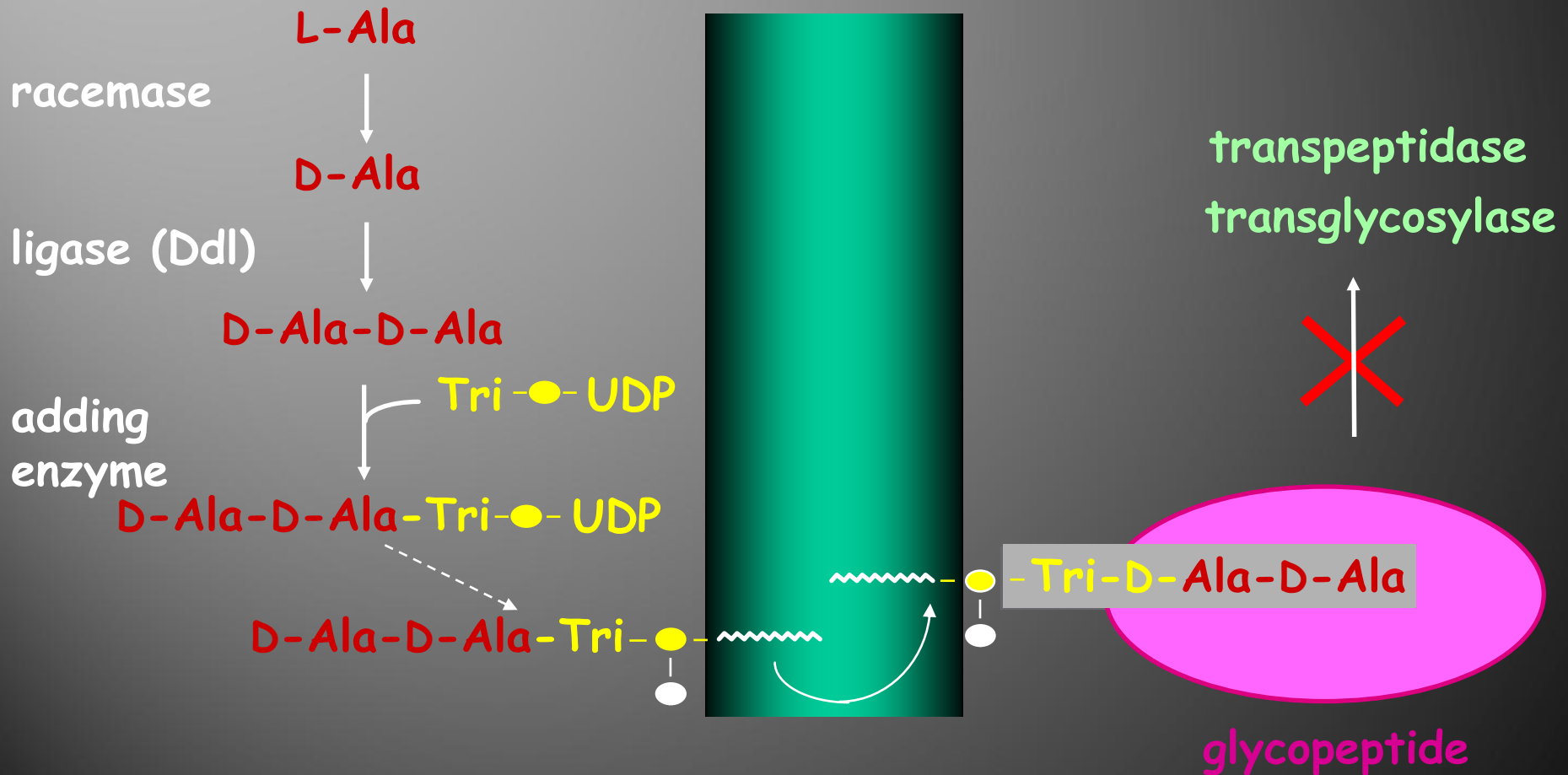
+/-

Mode of action of glycopeptides

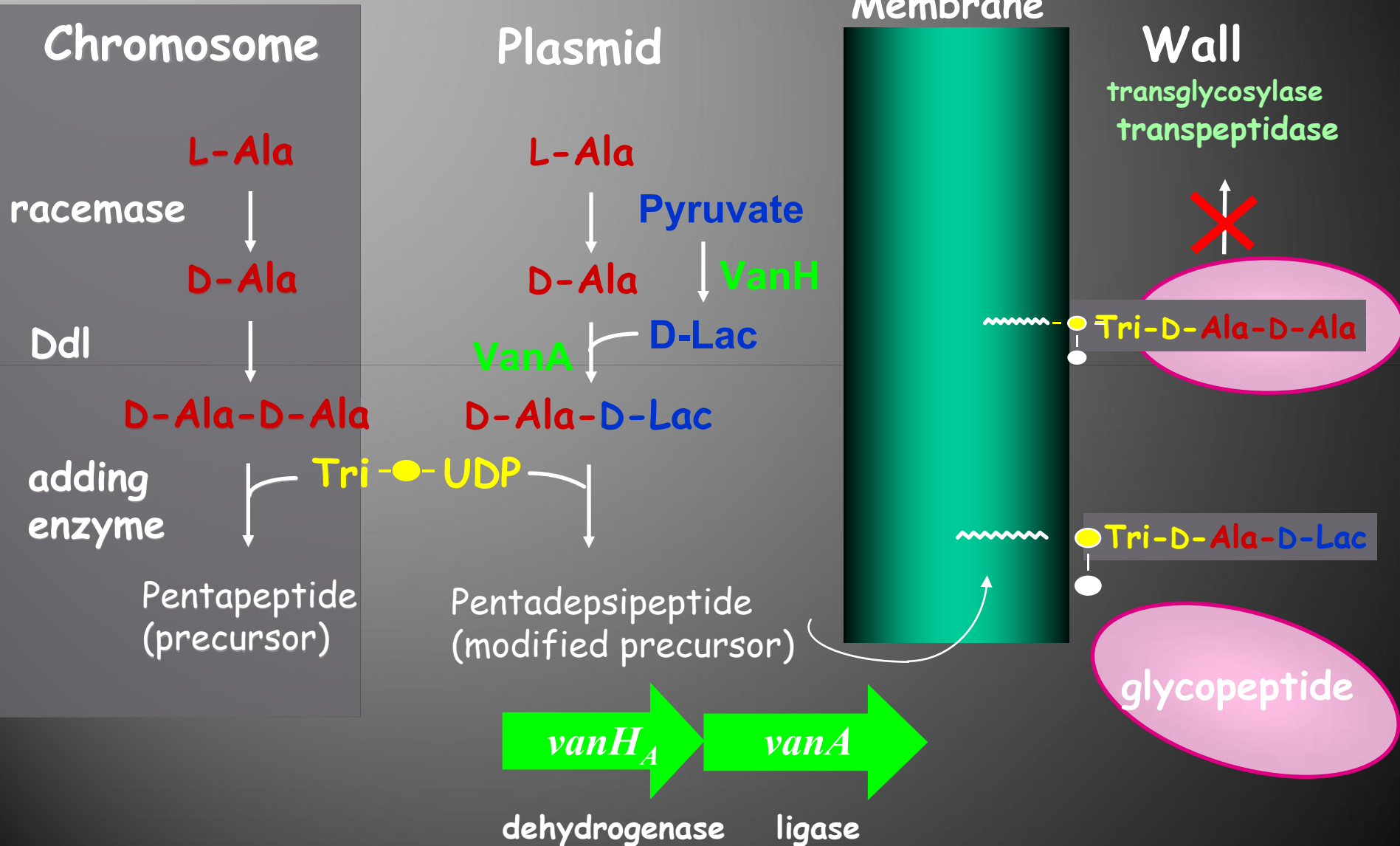
Cytoplasm

Membrane

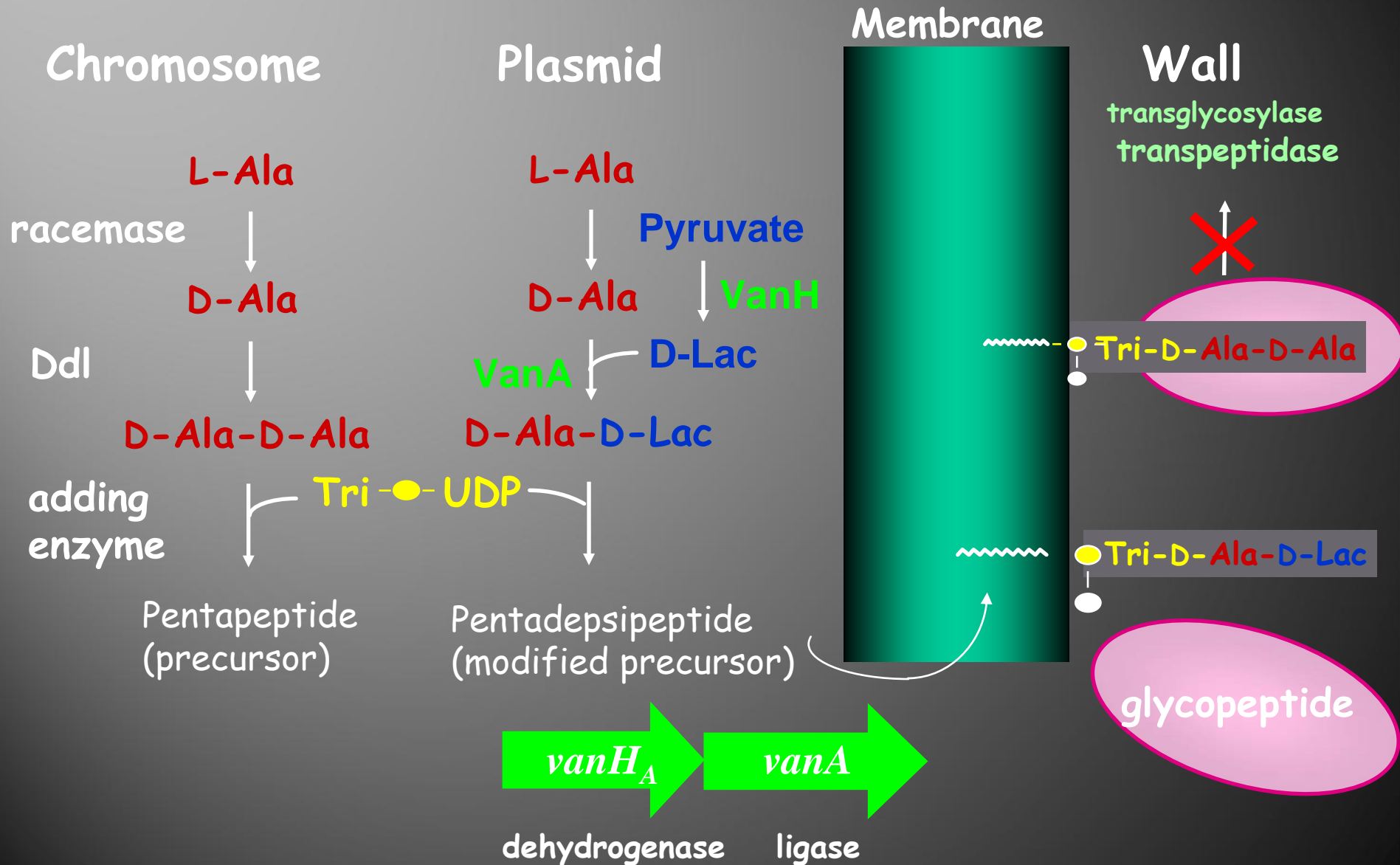
Wall



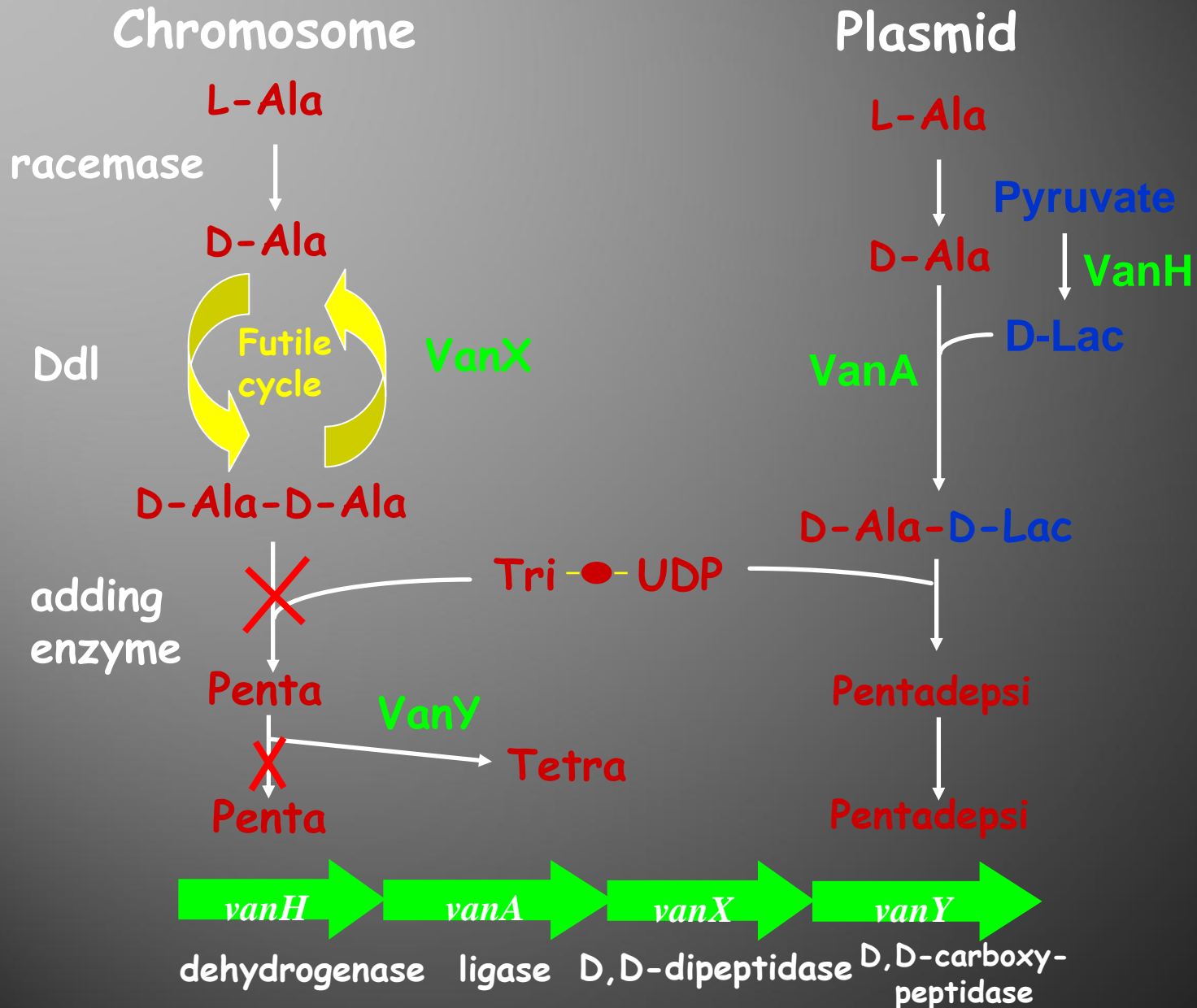
VanA-type resistance to glycopeptides



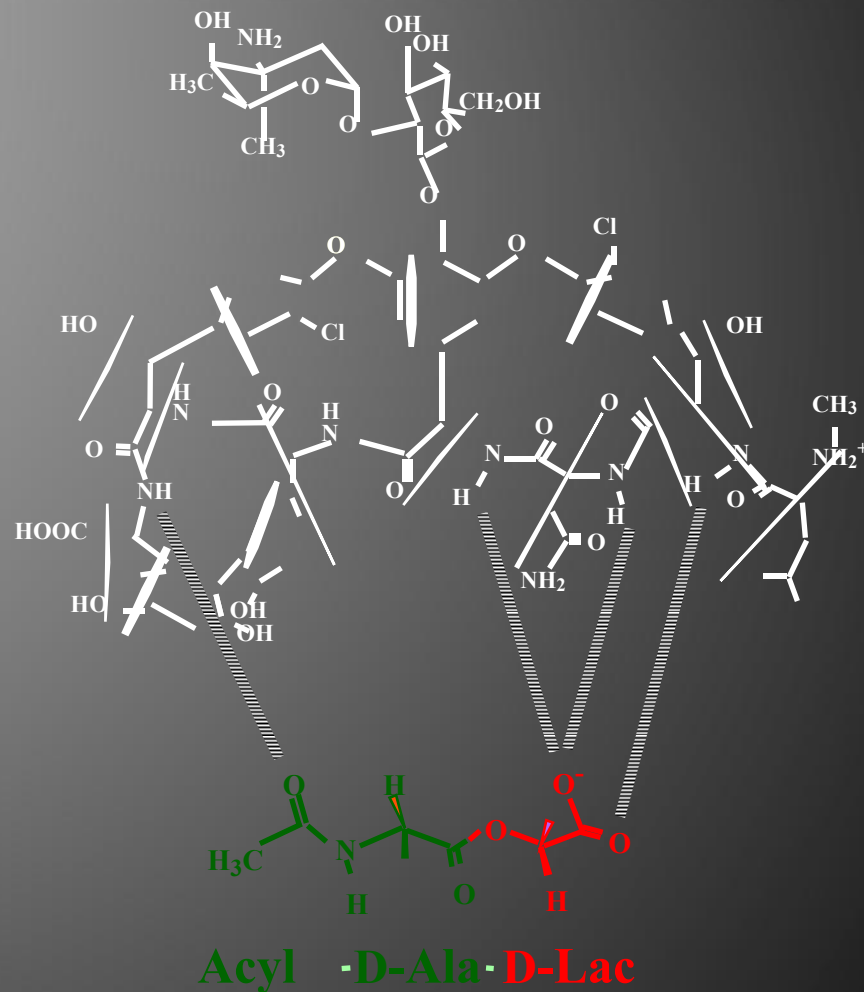
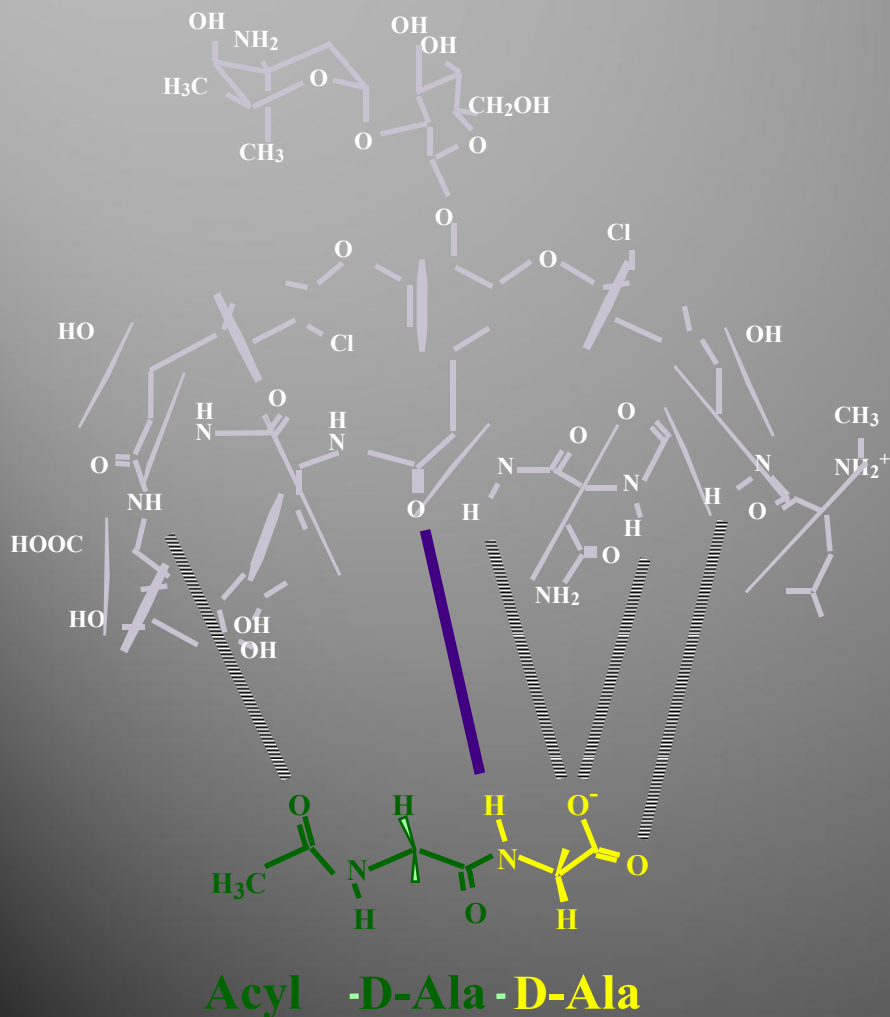
VanA-type resistance to glycopeptides



VanA-type resistance to glycopeptides

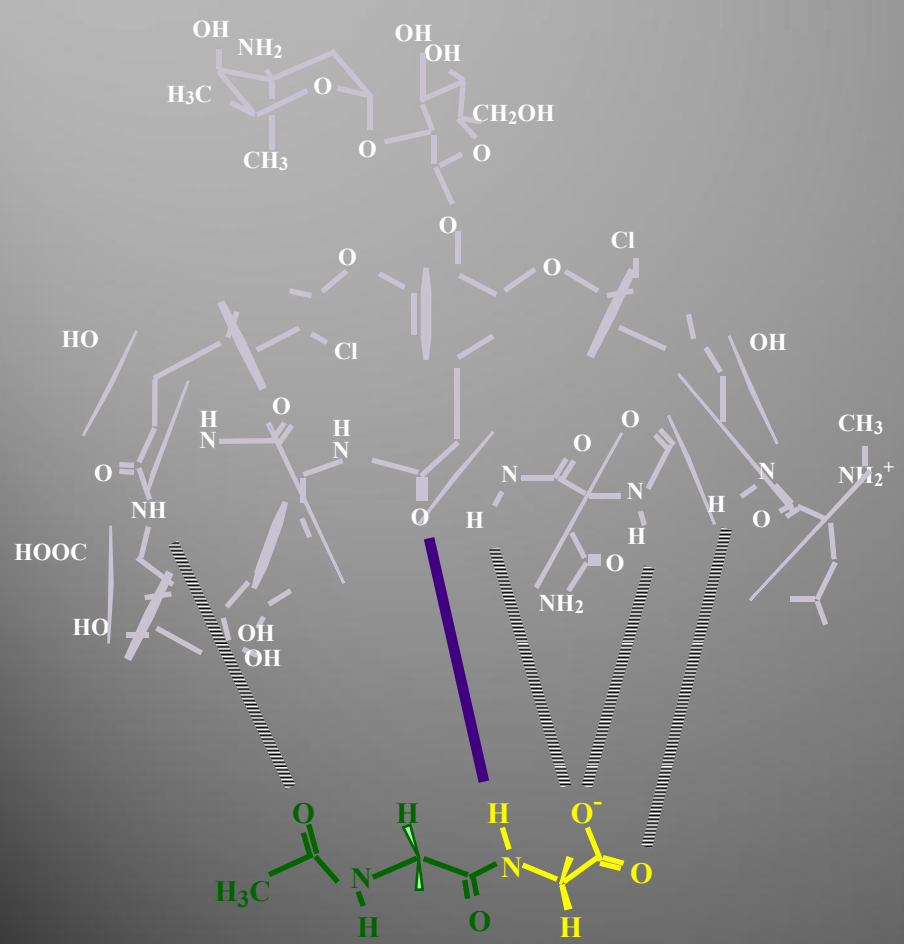


Les précurseurs se terminant en D-Lac confèrent une résistance de haut niveau à la vancomycine

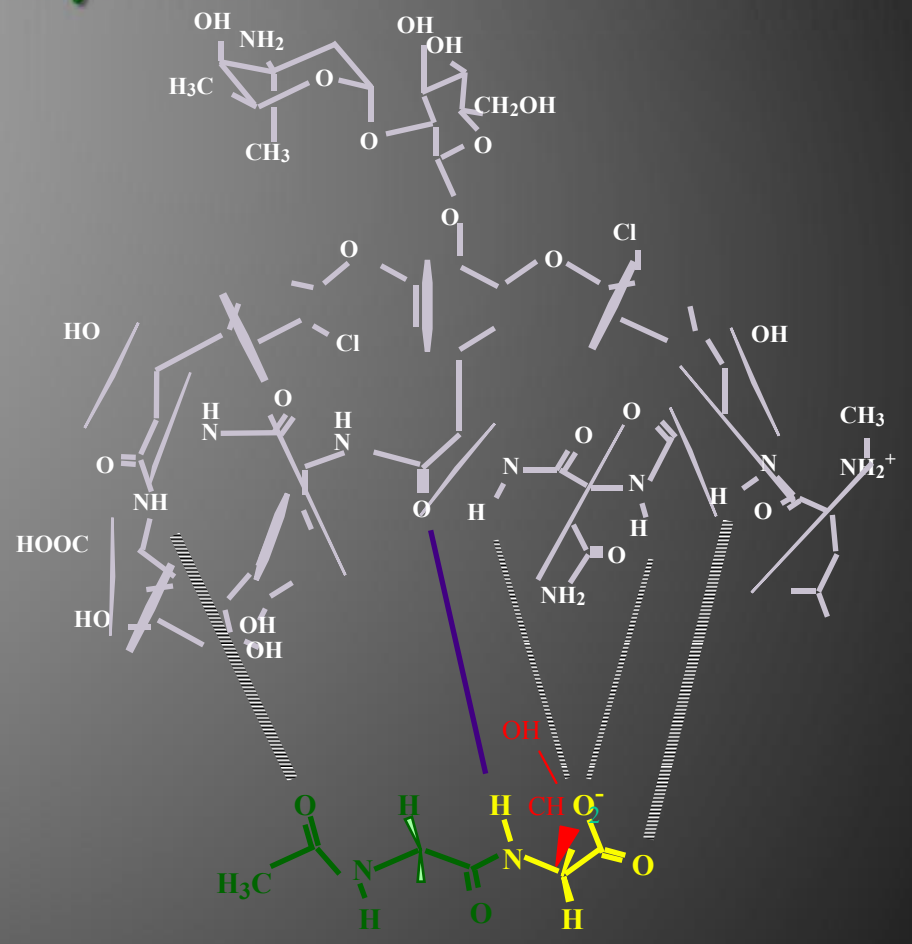


Affinité diminuée >1,000 fois

Les précurseurs se terminant en D-Ser confèrent une résistance de bas niveau à la vancomycine



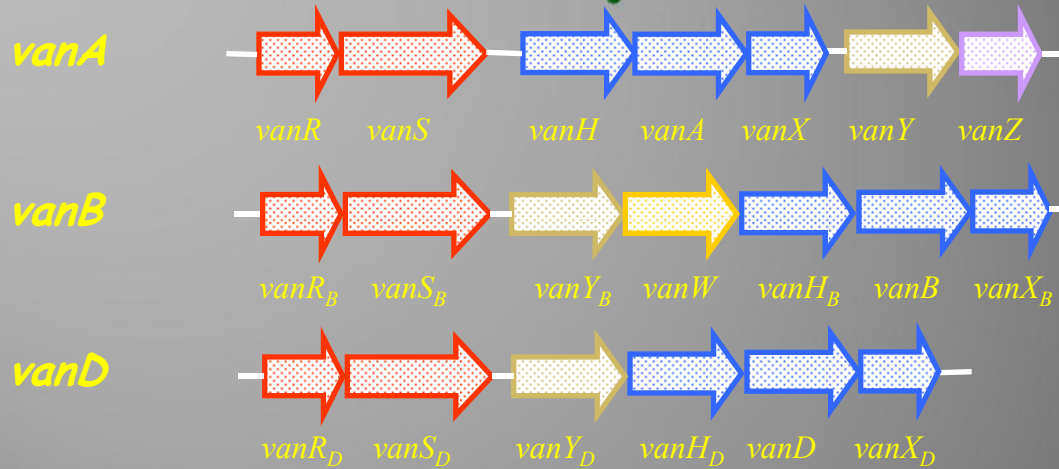
Acyl -D-Ala -D-Ala



Acyl -D-Ala -D-Ser

Affinité diminuée 6-fois
Résistance de bas niveau

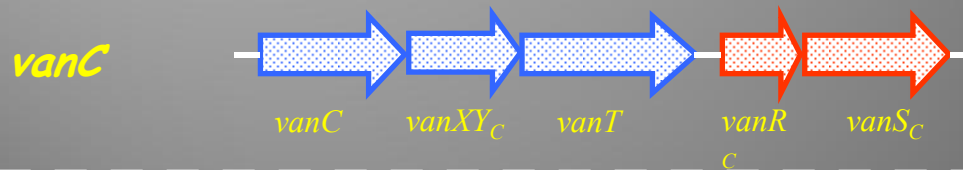
Opérons van



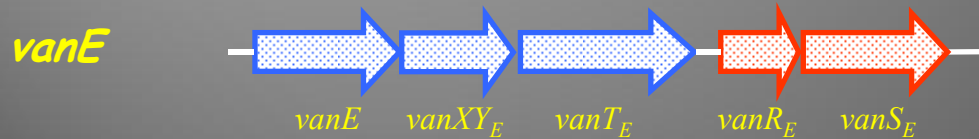
D-Ala-D-Lac

Acquis

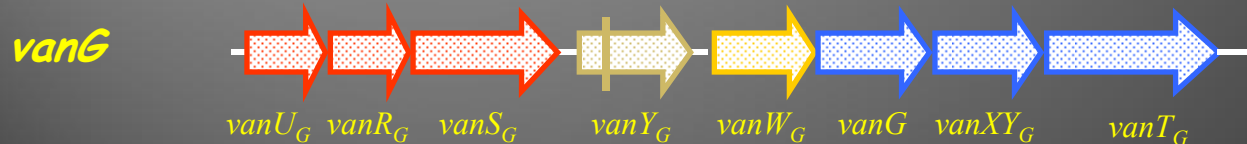
E. faecium,
E. faecalis...



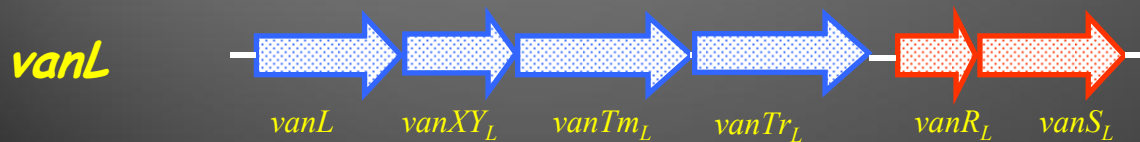
D-Ala-D-Ser
Intrinsèque
E. gallin./cass.



D-Ala-D-Ser

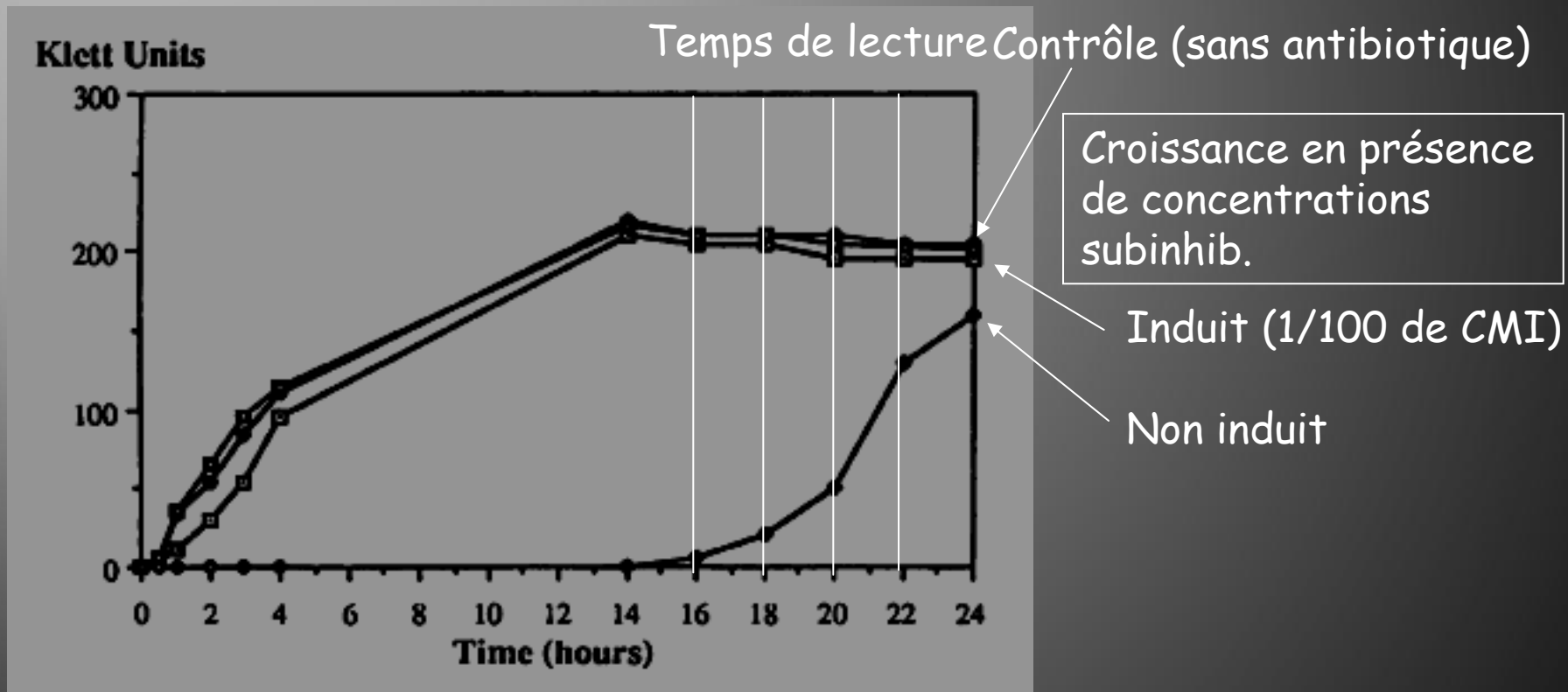


Acquis



E. faecalis

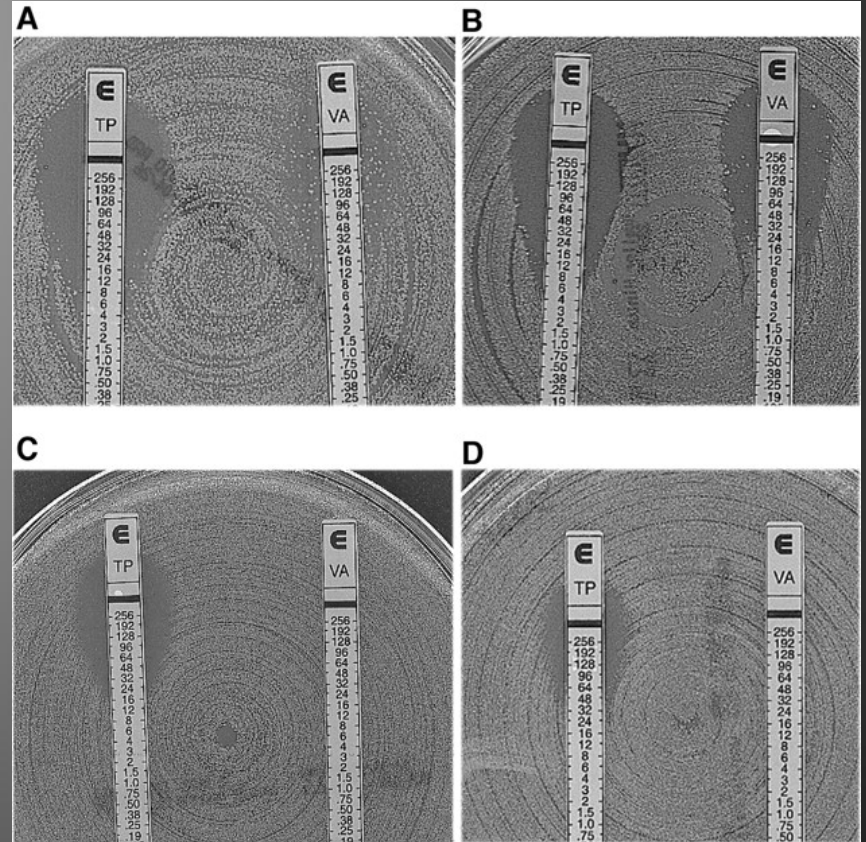
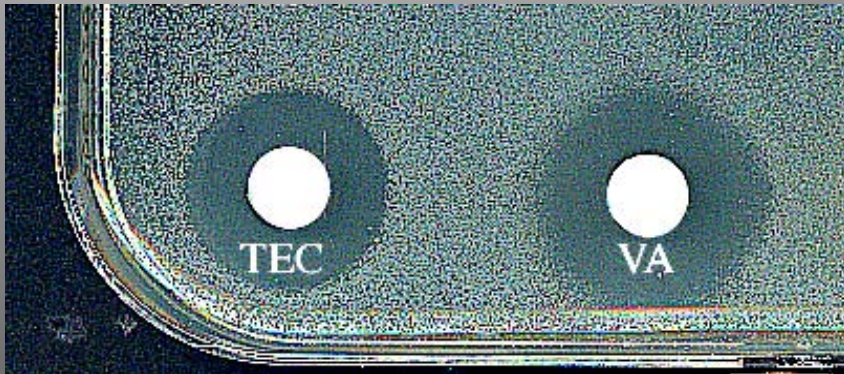
Difficultés liées à l'expression inductible de la résistance



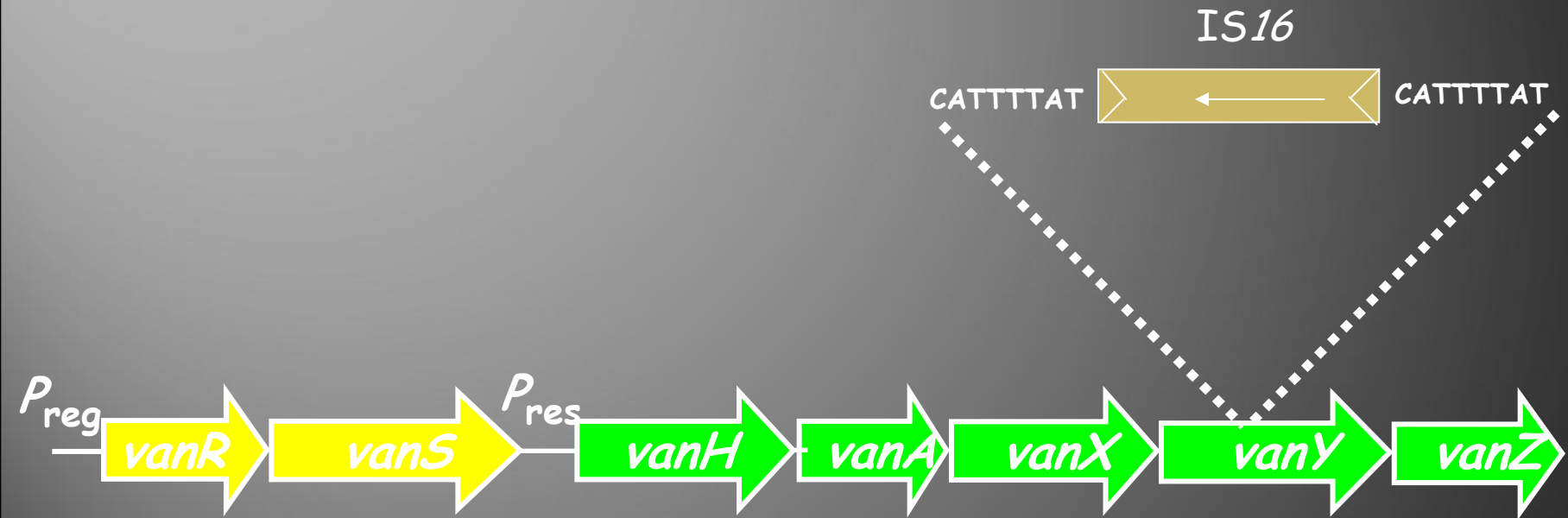
E. faecium vanA, CMI vancomycine >256 mg/L, croissance en présence de 16 mg/L de vancomycine

→ Diffusion: lecture après 24 h pleines d'incubation

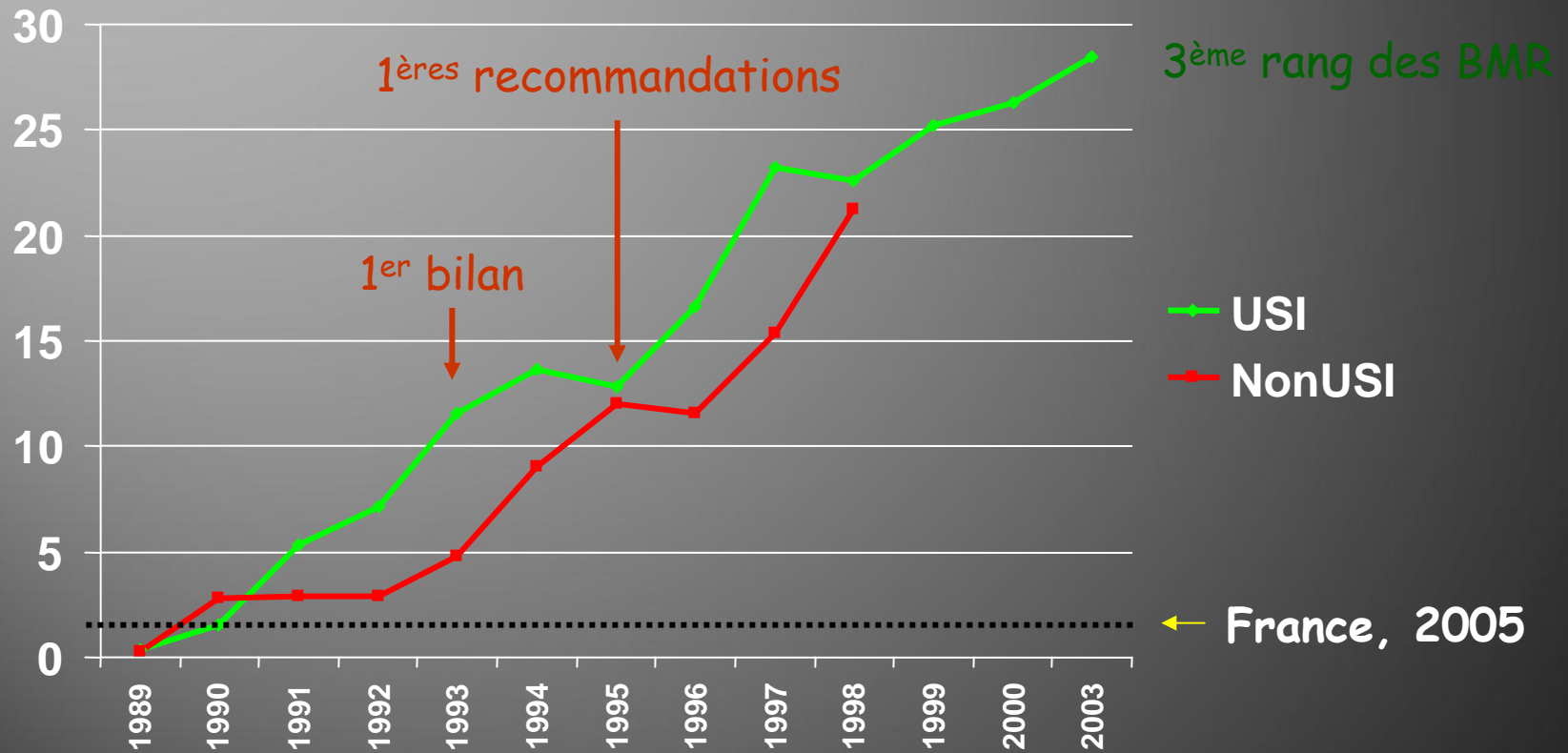
Un entérocoque VanA difficile à détecter



Bas niveau de résistance lié à des insertions dans *vanY*

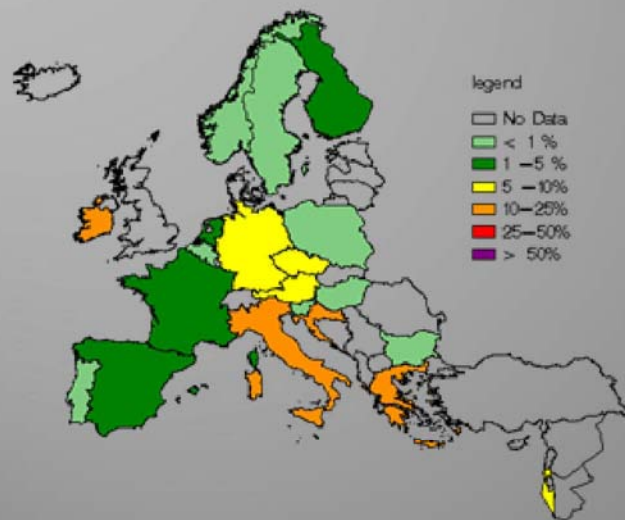


Proportion de résistance à la vancomycine chez les entérocoques, NNIS System, USA, 1989 - 2003

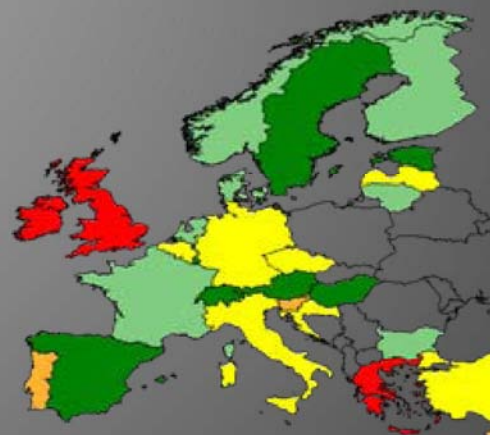


Les bactériémies à *E. faecium* en Europe: % d'ERV - EARSS <http://www.earss.rivm.nl/>

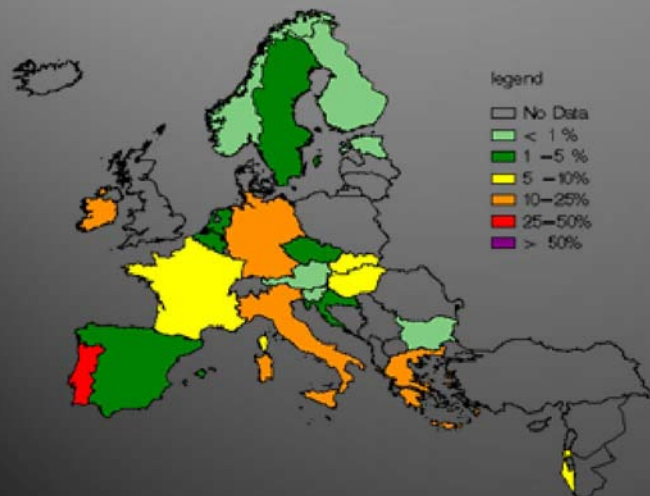
2002



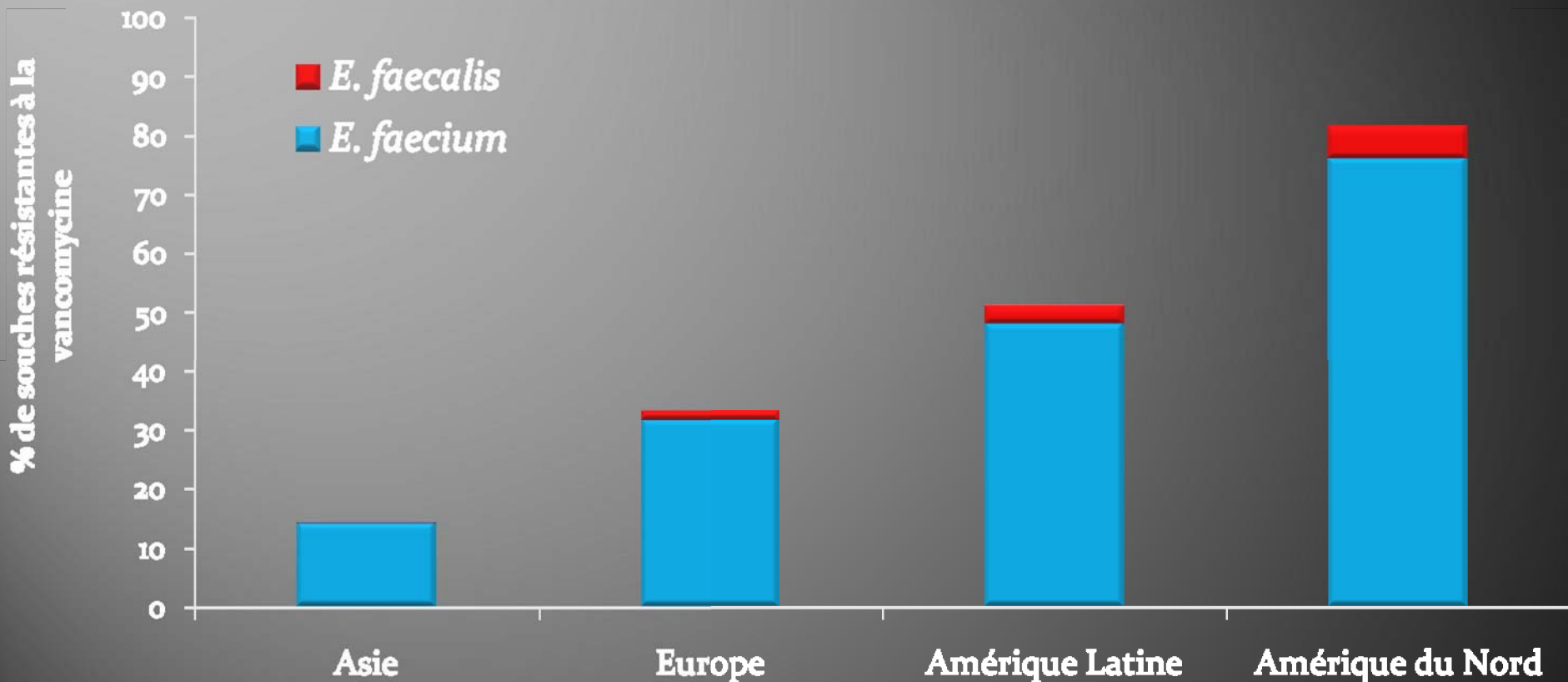
2008



2004



VRE 2007-08



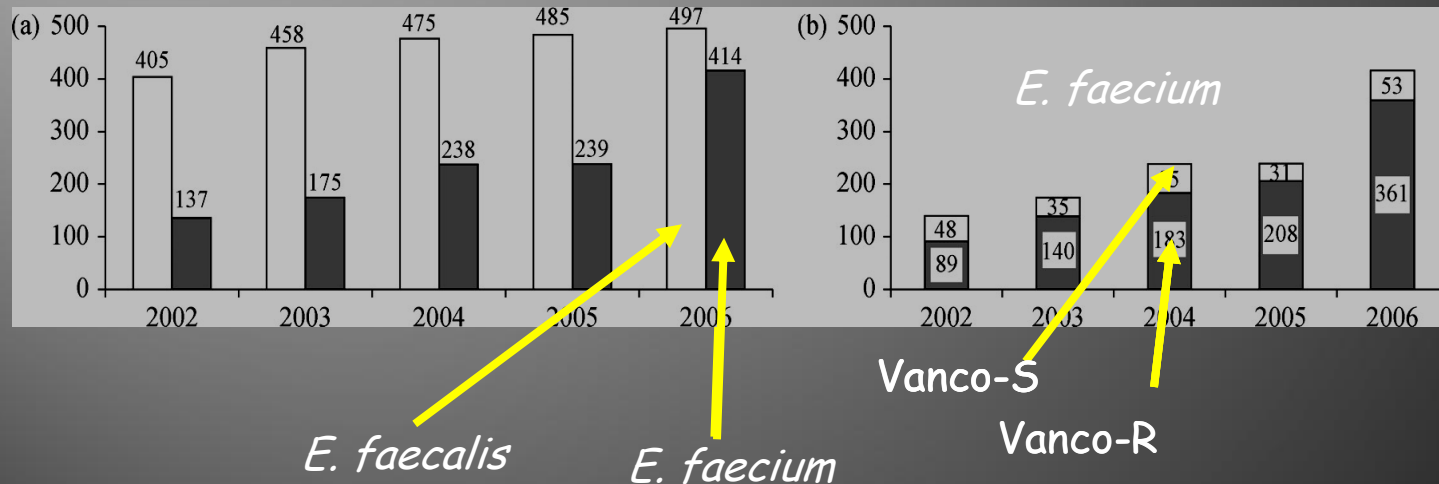
Enterococcus spp. isolés d'hémocultures (58,3%), urines (14,1%), et suppurations (7,7%)

E. faecium: 2/3 d'hémocultures, 8% d'urines

Rôle croissant des ERG

-Les ERG sont considérés comme des pathogènes mineurs (Ratio infections/colonisations 5-10%). Mais...

Enterocoques d'hémocultures; 11 provinces danoises (2002 to 2006)



L'apocalypse ou un non-évènement?

- ▣ Passage de *vanA* chez *S. aureus*
- ▣ 9 souches aux USA (7/9 Michigan) et 2 autres non contrôlées (Iran, India).
- ▣ Pas de dissémination bien que les isolats US appartiennent au ST5 épidémique (USA100, USA800)

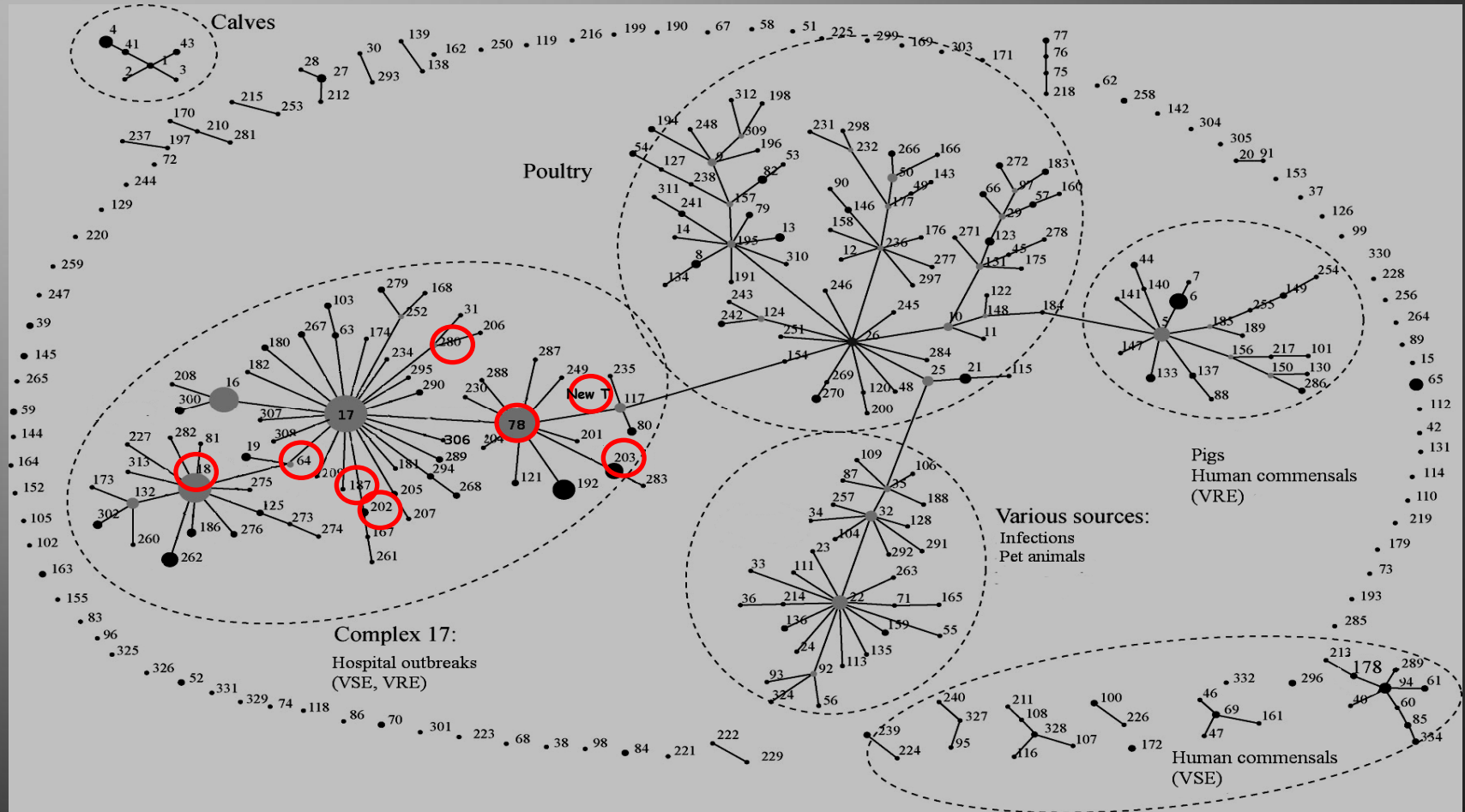
Existence de clones hospitaliers appartenant à un complexe clonal CC17

- Typage par séquençage de 7 gènes conservés: ST
- Le superclone CC17 rassemble des ST de *E. faecium* bien adaptées à l'hôpital (monde entier)
- Hautement résistantes à l'ampicilline et aux fluoroquinolones mais initialement sensibles à la vancomycine (acquisition récente de la résistance à la vancomycine)
- Possèdent plus souvent un îlot de pathogénicité portant le gène "de virulence" *esp* et un gène de hyaluronidase *hyl*

Leavis HL et al. Emerg Infect Dis. 2003;9:1108-15.

Klare I, et al. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2005;815-25.

Clones de *E. faecium* distingués par Multilocus Sequence Typing (MLST)



AUTRES ENTÉROCOQUES

E. gallinarum et *E. casseliflavus*

- Résistance intrinsèque de ces espèces à la vancomycine (sensibilité à la teicoplanine) (type VanC) du fait de précurseurs du peptidoglycane terminés en D-Sérine
CMI de vancomycine 2-32 mg/L (souvent 8-16 mg/L)
- Faible capacité à disséminer: à distinguer des souches épidémiques de *E. faecium* VanA

De quelle résistance parle-t-on?

• Identification d'espèce

- Différenciation *E. faecium*, *E. gallinarum* et *E. casseliflavus* médiocre à l'aide des galeries biochimiques (API Rapid ID 32, Vitek...)

- Etude ONERBA 2006

76 laboratoires, 5949 écouvillonnages rectaux

76 souches identifiées comme *E faecium* van-R

→ 59 *E. gallinarum* ou *E. casseliflavus*

→ 17 *E. faecium* (*E. hirae*) *vanA* ou *vanB* positifs

Portage 0,3% et non 2,2% ...

E. faecium et *E. gallinarum*

- ▣ Méthode génétique: gène *ddl* (ligase), *sodA*..
- ▣ Méthode phénotypiques: mobilité à 30°C

- ▣ En pratique
 - Les *E. faecium* van-R sont résistants à l'ampicilline et l'imipénème
 - Tous les *E. gallinarum* sont sensibles à l'ampicilline et à l'imipénème

Un *E. gallinarum* ampi-R est un *E. faecium*

Un *E. faecium* ampi-S et vanco I/R est a priori un *E. gallinarum*

Activité des pénicillines selon l'espèce

Espèce	Pénicilline G	Ampicilline	Amoxicilline	Pipéracilline	Imipénème
<i>E. faecalis</i>	2-8	0,25-2	0,25-1	0,5-4	0,5-4
<i>E. faecium</i>	2-512	0,5-256	0,25-256	4-512	1-512
<i>E. durans</i>	0,25-8	0,12-4	—	ND ^b	ND
<i>E. gallinarum</i>	1-4	1-2	—	16-> 16	1-2
<i>E. avium</i>	1-2	0,5-1	—	16-> 16	0,5-1
<i>E. casseliflavus</i>	0,5-4	0,5-2	—	8-> 16	0,5-4
<i>E. hirae</i>	2-8	2-4	—	> 16	2
<i>E. raffinosus</i>	32	16	—	> 16	8

Pipéracilline: seulement *E. faecalis*

Conclusion

▣ Entérocoques

- Persistance du rôle de *E. faecalis* et de *E. faecium* dans les infections nosocomiales
- Pas de résistance acquise à l'ampicilline chez *E. faecalis*
- 10-20% de *E. faecalis* résistants de haut niveau à la gentamicine et pour la plupart aux fluoroquinolones récentes
- Pourcentages variables selon les pays de *E. faecium* multirésistants (glycopeptides, gentamicine, pénicillines) et épidémies locales