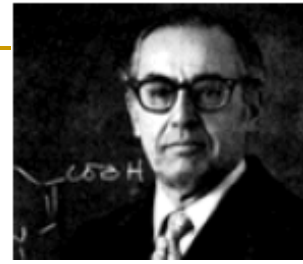
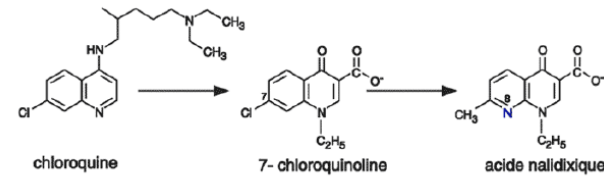

Les mécanismes de résistance aux fluoroquinolones

Pr. Boutiba – Ben Boubaker I.
Laboratoire de Microbiologie EPS Charles Nicolle
Laboratoire de Recherche “Résistance aux Antimicrobiens”
Faculté de Médecine de Tunis

Un peu d'histoire...



■ 1962 : Acide Nalidixique

- ❑ Par Georges Leshner
- ❑ Molécule organique artificielle (BGN)
- ❑ À partir d'une préparation de chloroquine

■ Années 80 : Fluoroquinolones

Systemiques

1985 : Pefloxacin

1986 : Ofloxacin

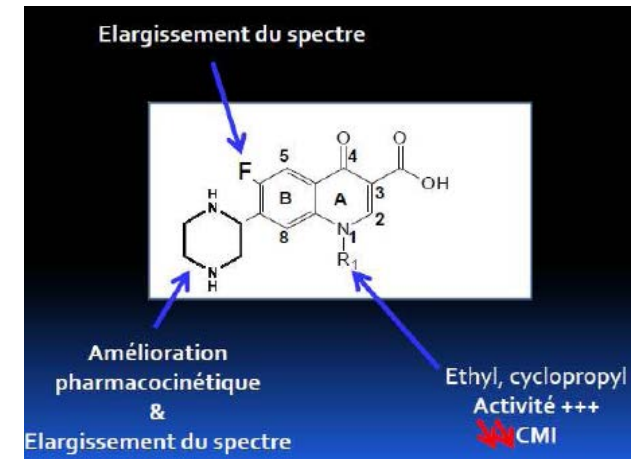
1987 : Ciprofloxacin

Urinaires

1985 : Norfloxacin

1986 : Enoxacin

1987 : Lomefloxacin



- **Années 90 : FQ anti-pneumococciques / lévofloxacin** → Activité accrue sur pneumocoques (PSDP) mais sans amélioration des performances vis-à-vis des BGN

- Plus de 10 000 dérivés synthétisés: mais peu de rescapés

Spectre antimicrobien: Large

- **Gram –**
- **Gram + :**
 - Staphylocoques
 - Streptocoques naturellement R sauf FQ anti-pneumococciques
- **Intracellulaires +++**



Trou !!!

- Entérocoques
 - Anaérobies (sauf Moxifloxacine)
 - *Listeria*
-

Activité antibactérienne des Fluoroquinolones

	Entérobactéries	<i>P. aeruginosa</i>	<i>H. influenzae</i>	<i>S. aureus</i>	Streptocoques	Bactéries atypiques	Anaérobies
1^{ère} Génération							
A. nalidixique	+	-	-	-	-	-	-
2^{ème} Génération							
Norfloxacine	++	+	+	+++	+	+	-
Péfloxacine	++	+	+	++++	+	++	-
Ofloxacine	+++	++	++++	+++	++	+++	+
Ciprofloxacine	+++	++++	++++	+++	++	+++	+
3^{ème} Génération							
Lévofloxacine	+++	+++	++++	+++	++++	+++	+
Moxifloxacine	+++	++	++++	+++	++++	++++	++

Quelques CMI

FQ	PEF	OFL	CIP	LEV	MOX
<i>E. coli</i>	0.12	0.12	0.01	0.06	0.12
<i>P.aeruginosa</i>	8	4	0.25	2	4
<i>B. fragilis</i>	8	2	4	1	0.25
SASM	0.5	0.5	0.5	0.12	0.06
SARM	32	32	32	8	1
<i>E. faecalis</i>	8	4	4	2	0.5
<i>S. pneumoniae</i>	4	2	2	1	0.12

Pharmacocinétique

- **Bonne biodisponibilité orale** (>85%, sauf cipro: 50-60)
 - **Diffusion très bonne :**
 - Partout (os, poumon, tissus mous...),
 - Accumulation dans phagocytes ↪ Bactéries intra-cellulaires
 - **Élimination: Hépatique et/ou rénale :**
 - Ofloxacine, Levofloxacine : rénale ++
 - Péfloxacine : hépatique
 - Autres FQ : hépatique et rénale
 - **Effet post antibiotique (EPA) prolongé**
-

Fluoroquinolones: Bactéricides

- Bactéricidie rapide, C° dépendante
 - CMB = 1 à 2 x CMI
 - Vitesse de bactéricidie
 - FQ < Aminosides
 - FQ > β -lactamines et glycopeptides
 - Moins rapide pour Cocci à Gram + que BGN
 - Cipro & Oflo > pour BGN et Peflo > pour *S. aureus*
-

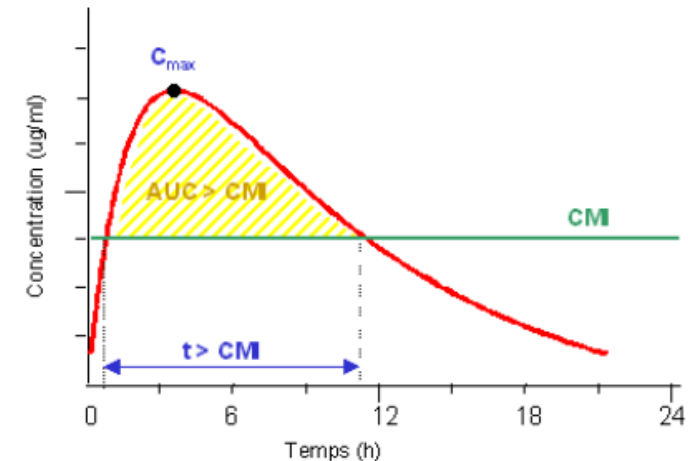
Pharmacocinétique / Pharmacodynamie

- Efficacité thérapeutique et issue clinique favorable sont corrélées : **C_{max} / CMI (QI) et/ou AUC/CMI**

Plus ces paramètres sont élevés, plus l'éradication bactérienne est intense

- Effet thérapeutique maximal si $QI \geq 8$ à 12
(Posologie doit permettre d'obtenir des pics de C° plasmatique $\geq 8-12 \times CMI$)

Propriétés PK/PD

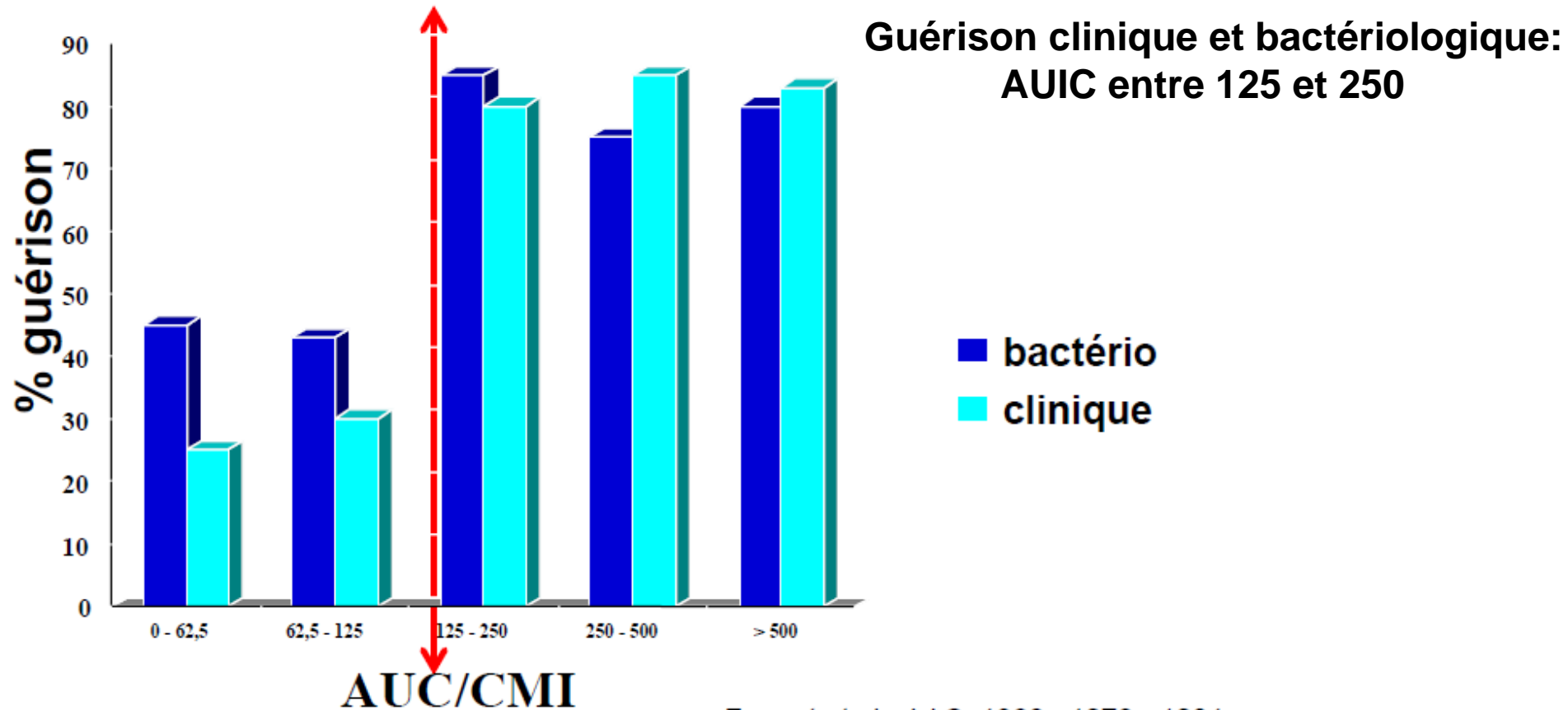


Pharmacocinétique / Pharmacodynamie

Rapport AUC24h/CMI diffère selon la bactérie

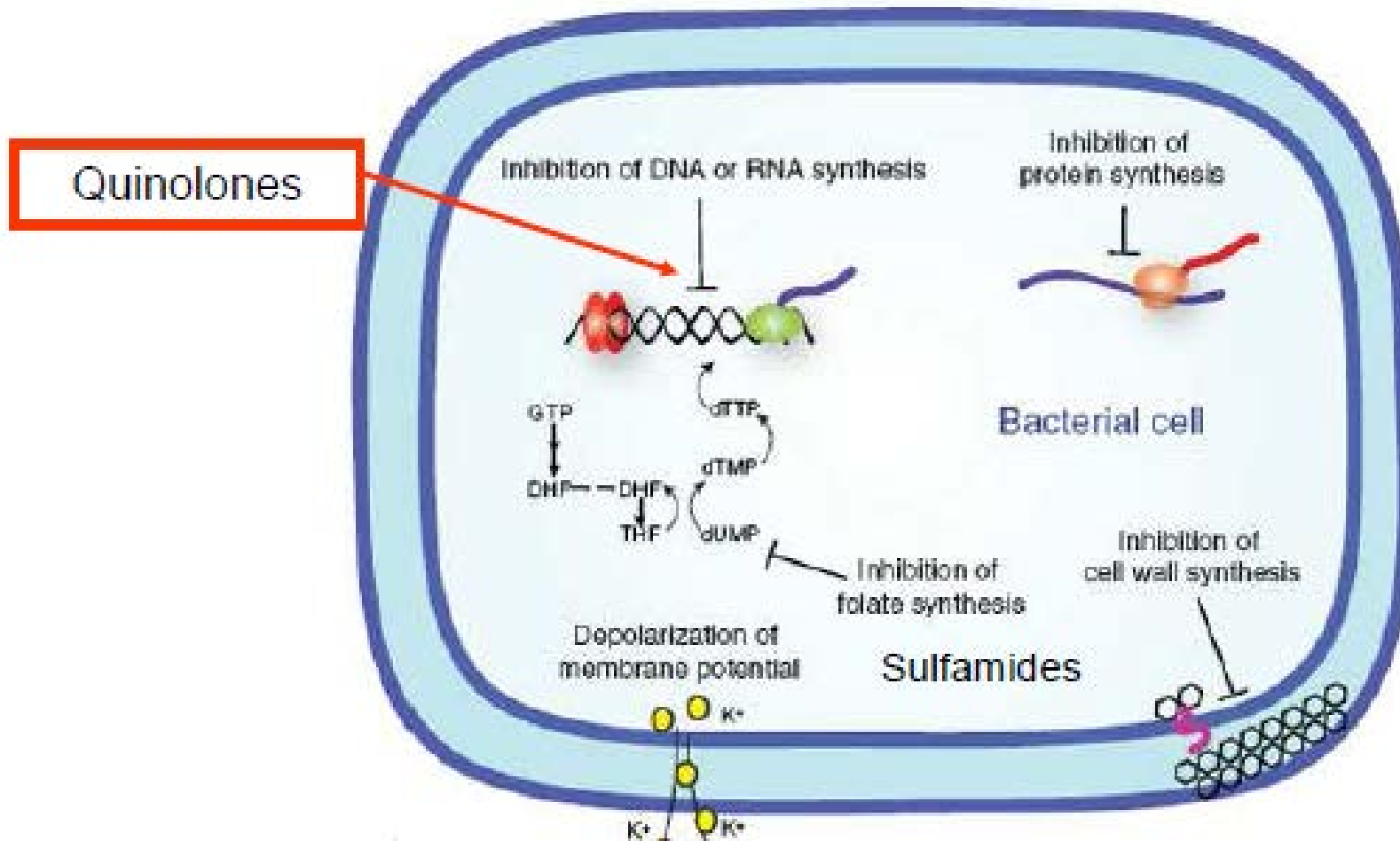
Espèce	AUC24h/CMI
<i>S. pneumoniae</i>	30-40
<i>S. aureus</i>	60
Entérobactéries	80-100
<i>P. aeruginosa</i>	100

DEMONSTRATION DU ROLE DU RAPPORT AUC_{90} : FLUOROQUINOLONE EN CLINIQUE CHEZ L'HOMME (Pneumopathie nosocomiale)



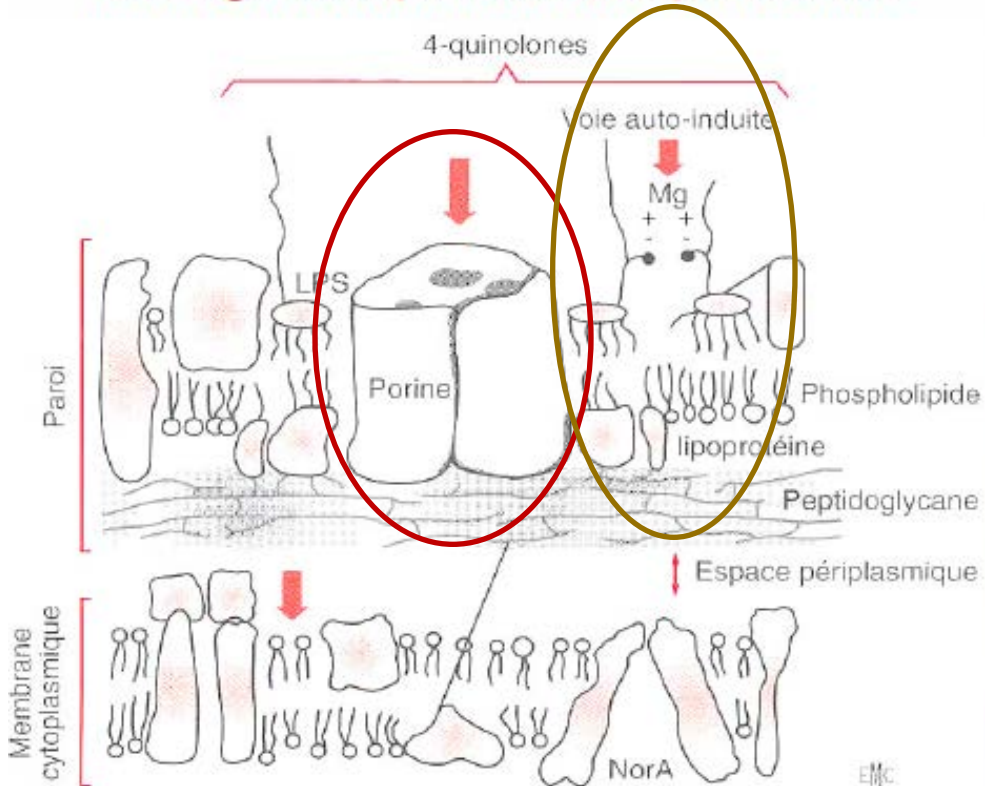
Forrest et al., AAC, 1993 : 1073 - 1081

Mécanisme d'action



Passage transpariétal

Passage transpariétal des quinolones



LPS : lipopolysaccharide ; NorA : protéine d'efflux

BGN

1- Voie des porines:

FQ hydrophiles de faible PM : Norflo et cipro

2-Voie auto-induite:

FQ hydrophobes : Oflo, Peflo et lévo

Chélation du Mg^{2+} ↪ Désorganisation structure

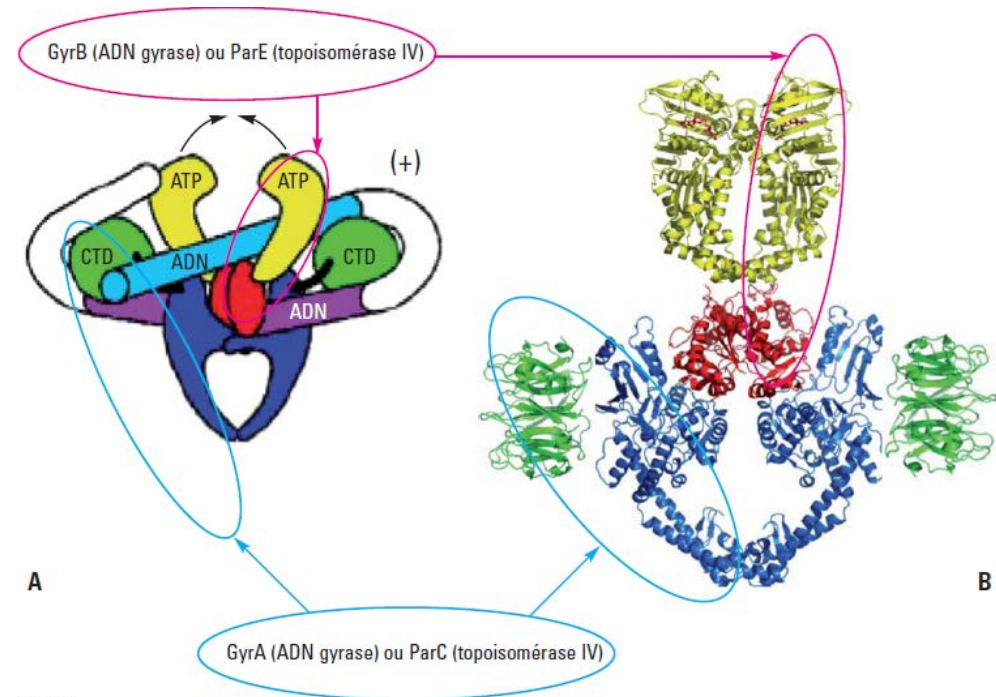
↪ Diffusion à travers la couche lipidique de la membrane externe

Cocci Gram +

Diffusion passive à travers peptidoglycane

Cible intracellulaire: Topoisomérases

- **Topoisomérase II**
ou **ADN-gyrase**
- **Topoisomérase IV**
- **Fonction** : réguler la topologie de l'ADN pour en permettre la réplication

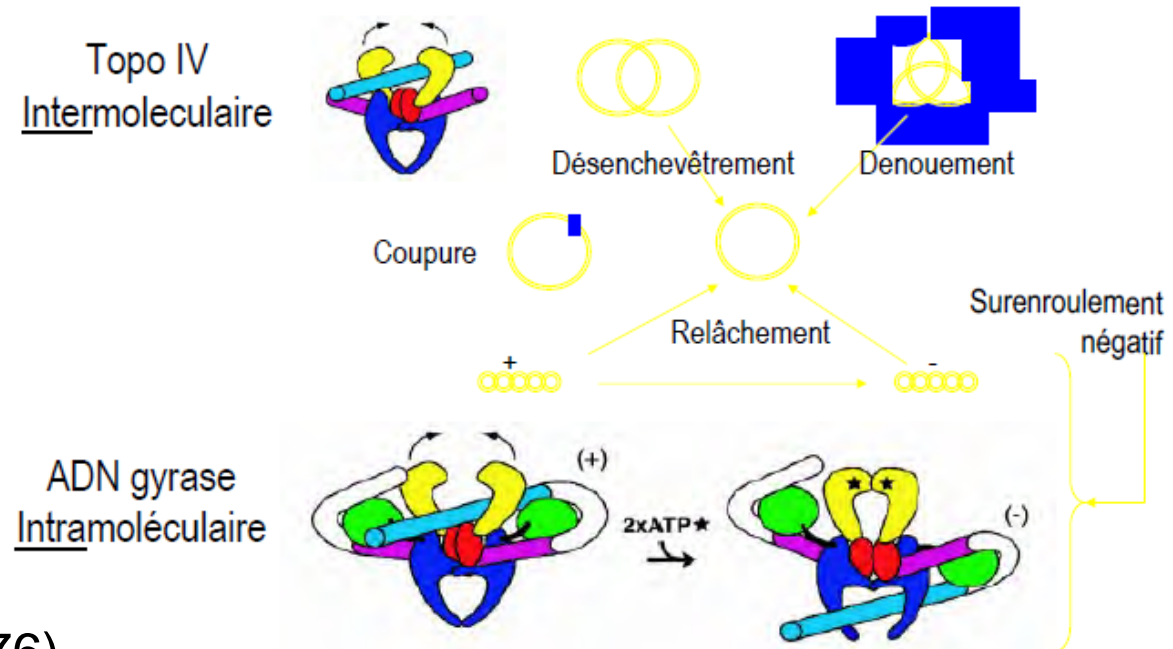


A : schéma
B : structure cristallographique
Fig. 4
Les cibles des quinolones ; les topoisomérases de type II bactériennes

Enzymes cibles des fluoroquinolones

Topoisomérase IV (1990)

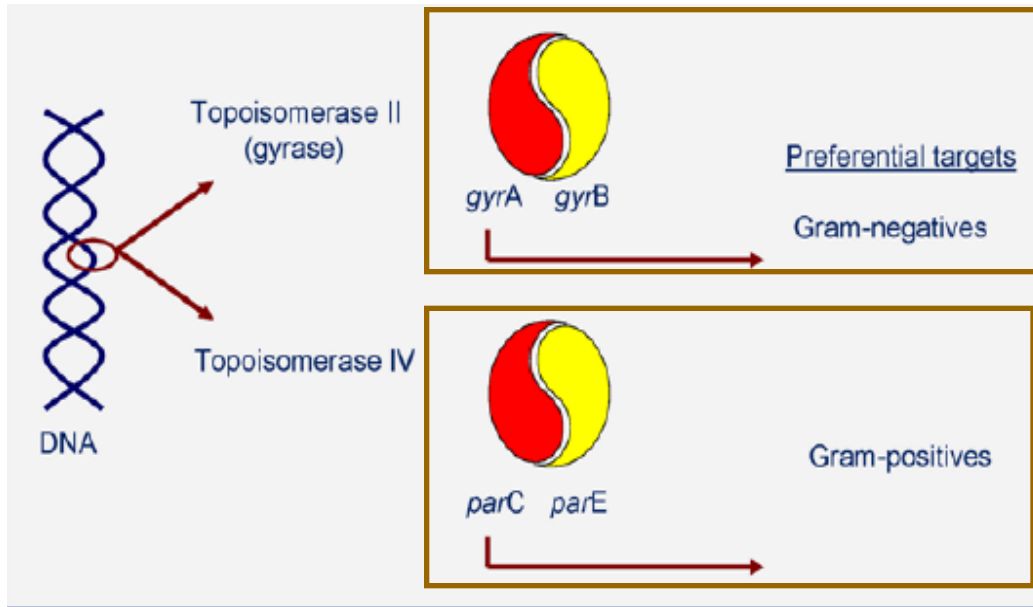
- 40% de similitude avec gyrase
- Empêcher le désenchevêtrement des ADN fils en fin de réplication
- 2 ParC et 2 ParE
- Codées: 2 gènes *parC* et *parE*



Topoisomérase II ou ADN-gyrase (1976)

- Surenroulement de l'ADN
- 2 Gyr A et 2 Gyr B
- Codées : 2 gènes *gyrA* et *gyrB*

Cible préférentielle

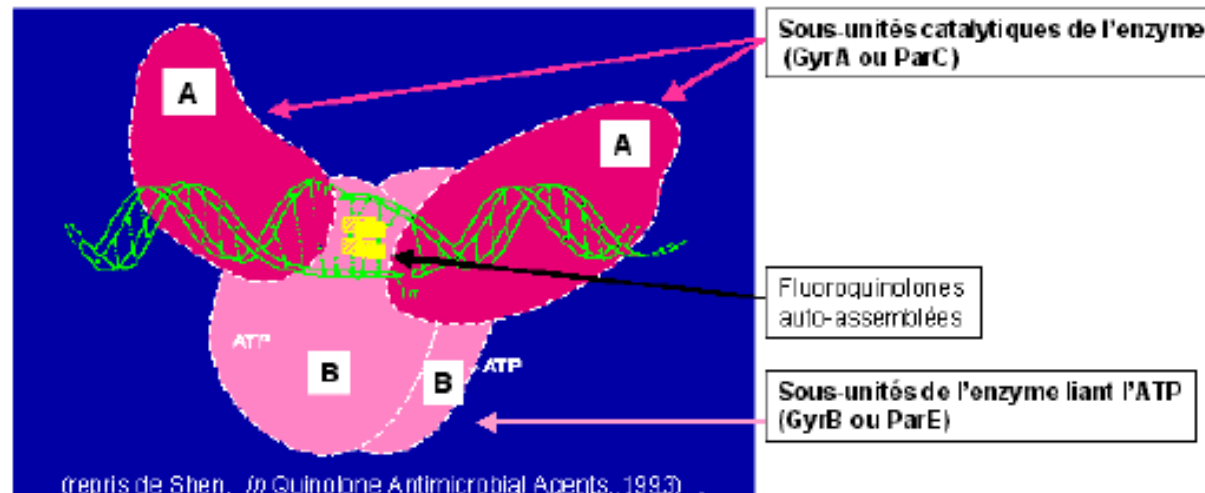
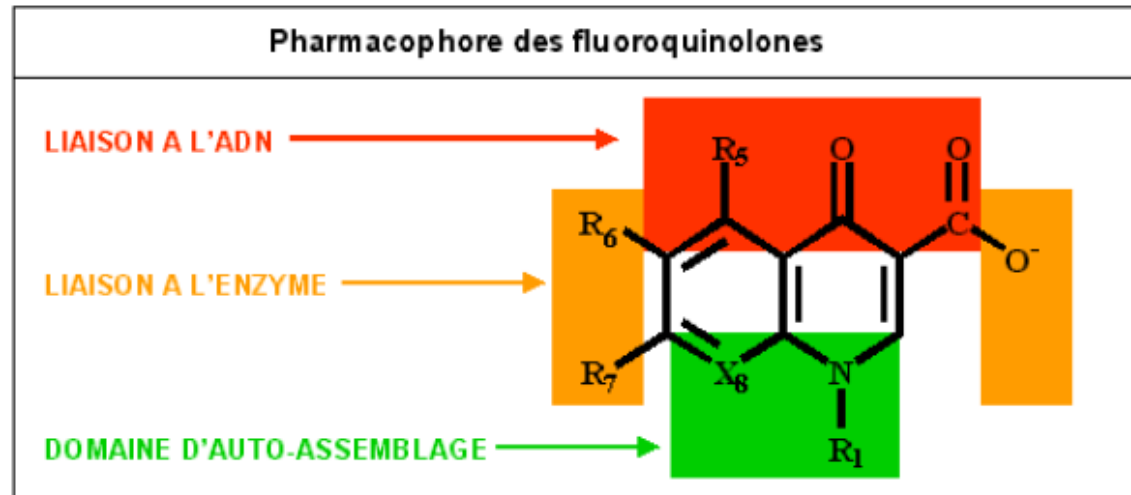


	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>		<i>S. pneumoniae</i>	
	Gyr	Topo	Gyr	Topo	Gyr	Topo
Cipro	X			X		X
Sparflo	X		X	X		X
Levoflo	X			X		

Dépend de l'espèce et de la FQ

Cas particuliers

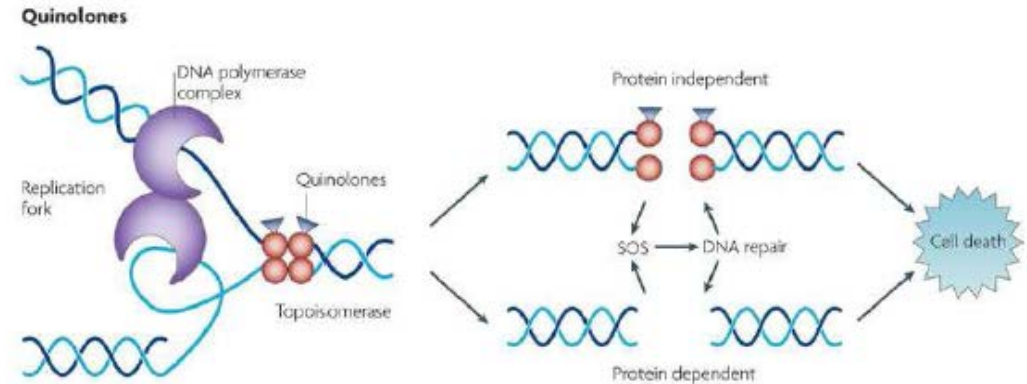
- Chez certaines bactéries/
 - *M. tuberculosis*
 - *M. leprae*
 - *T. pallidum*
 - *H. pylori*
 - Pas de topoisomerase IV
 - ADN gyrase = Seule cible des quinolones
-



Formation d'un **complexe ADN-topoisomérase-quinolones**

Formation d'un complexe ADN-gyrase-quinolones

- **Absence de fermeture de l'ADN**
 - ↪ Blocage de la réplication
 - ↪ Coupures des 2 brins d'ADN
 - ↪ **Signal induisant le système SOS:**



☞ **Effet bactéricide intense**

Michael A. et al,
Nature Reviews Microbiology 8, 423-435 (June 2010)

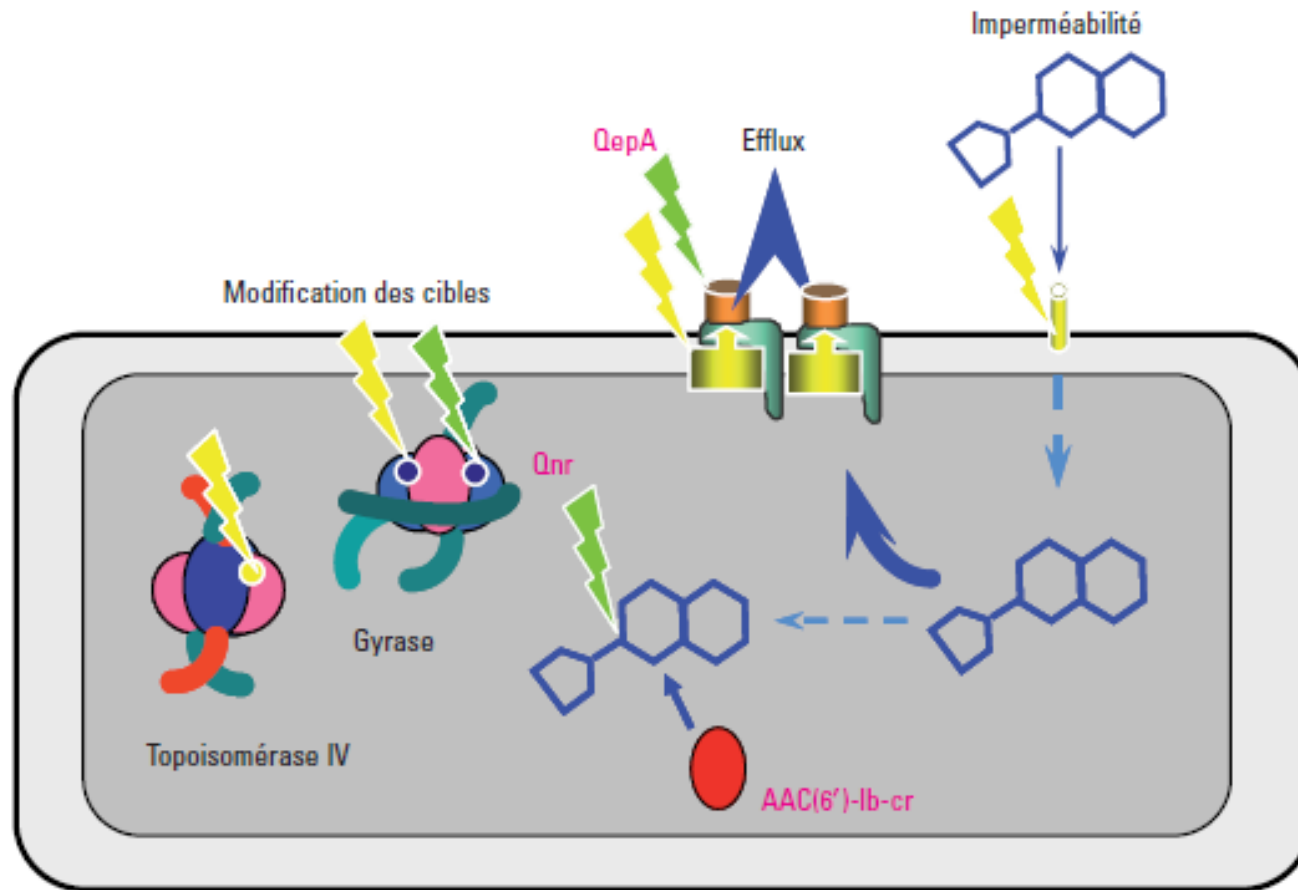
Effet bactériostatique paradoxal à fortes doses

- A doses élevées FQ inhibent synthèse ARNm bactérien par inhibition de l'ARN-polymérase

 **Inhibition de la synthèse protéique**

Rançon de large utilisation des FQ
=
Emergence et diffusion de souches R
[R aux FQ
+
R croisées: effets collatéraux]

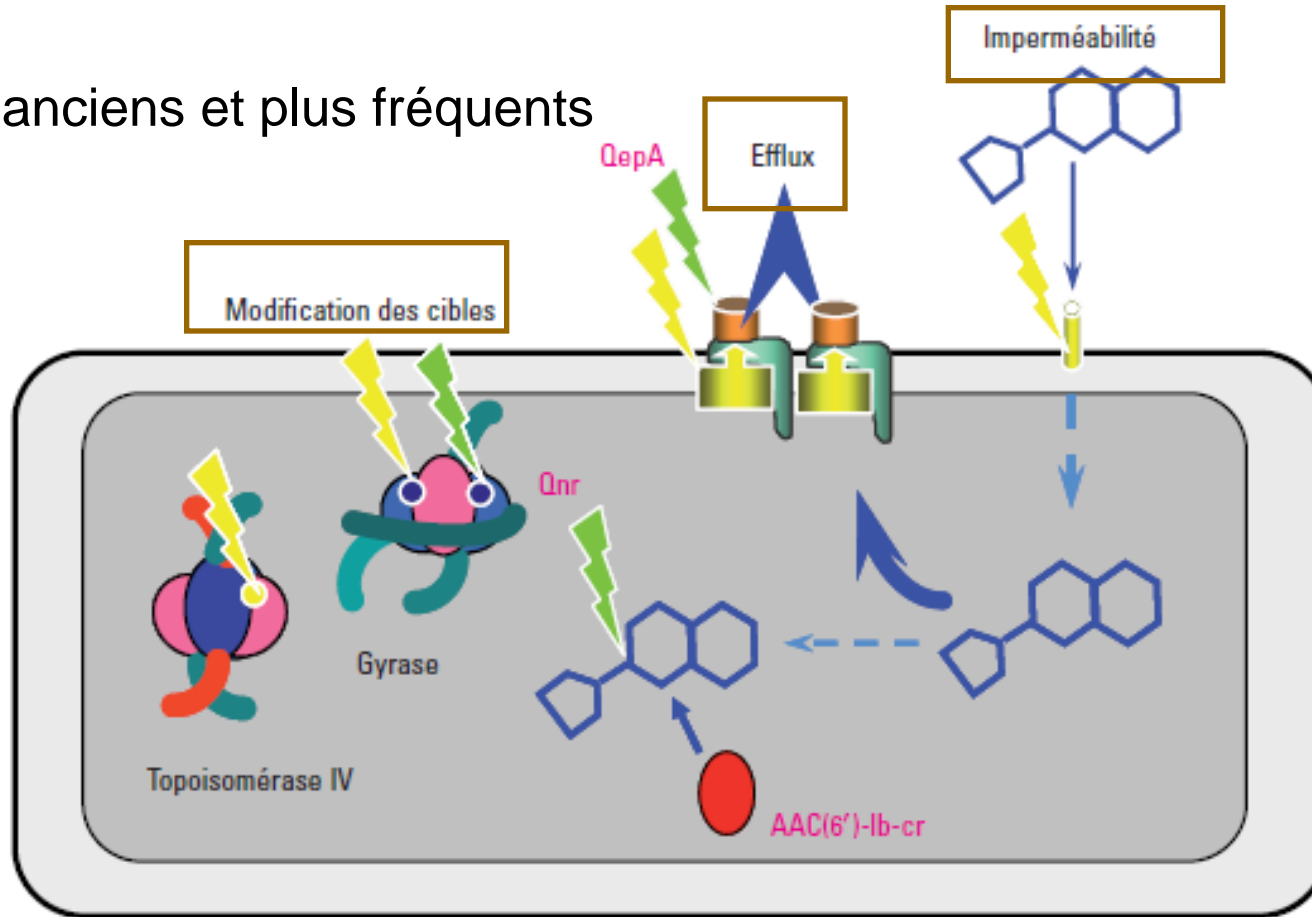
Mécanismes de résistance acquise aux FQ



- Les résistances chromosomiques sont les plus fréquentes
- Les résistances plasmidiques sont les plus récentes

Mécanismes de résistance chromosomique

Plus anciens et plus fréquents



Inactivation des cibles

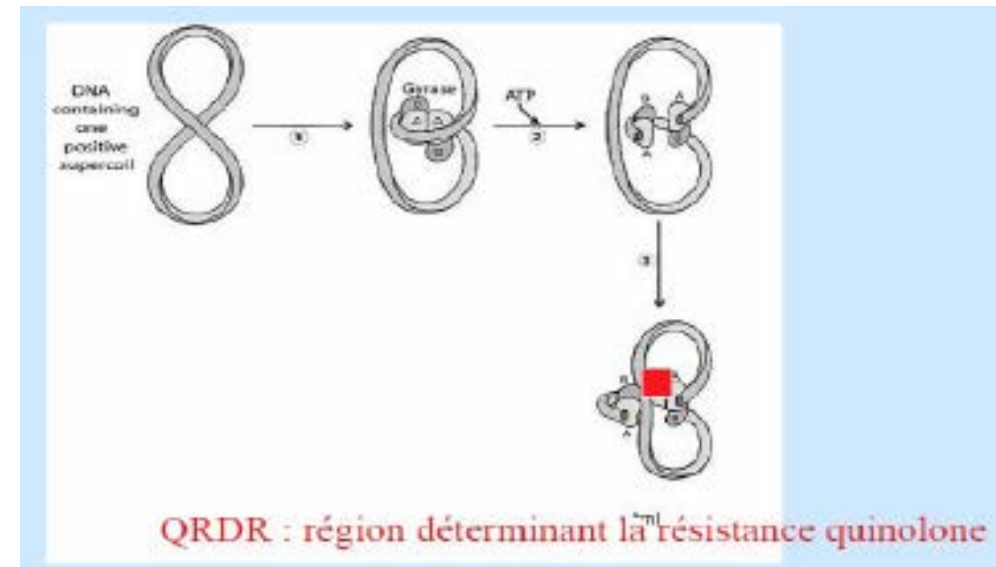
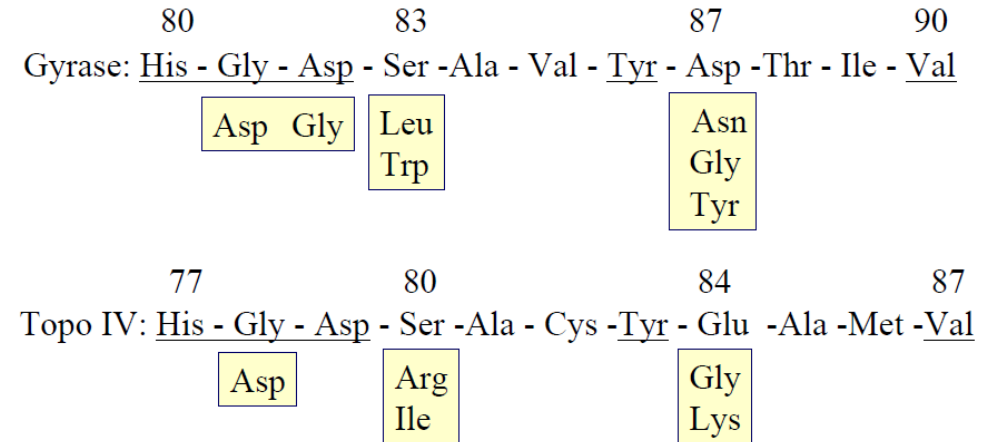
- Les résistances chromosomiques sont les plus fréquentes
- Les résistances plasmidiques sont les plus récentes

Plusieurs mutations doivent s'additionner

↪ R de haut niveau ↪ Effet clinique

1- Résistance par modification de la cible

- **Principal mécanisme**
- Mutations sélectionnées en présence de quinolones avec une **fréquence 10^{-8}**
- Mutations ↪ plus souvent sur ***gyrA* ou *parC***, plus rarement sur *gyrB* ou *parE*
- Région spécifique **QRDR: site actif de l'enzyme**



Chez bactéries GN:

gyrA = Site privilégié des mutants de 1^{ier} niveau

Mutation ponctuelle
dans le gène d'une cible]

Serine-83 in *gyrA*

(Thr) A	(Stop) A	(Ser) A
(Ala) G	T C G	(Ser) C
(Pro) C	(Trp) G	(Leu) T

Chez *Salmonella*:
mutations isolées au niveau de ParC
(Ling et al. AAC 2003)

Chez *E. coli*:

- Mutations les plus fréquentes: 83 (Ser83Leu) et 87 (Asp87His) de GyrA
↳ HNR à NA et BNR aux FQ
- Mutations au niveau du codon 81 (exceptionnelle)
↳ Phénotype atypique : S à NA et R aux FQ (Cattoir V, JAC 2006)
- Dans mutations en dehors de QRDR: rapportées

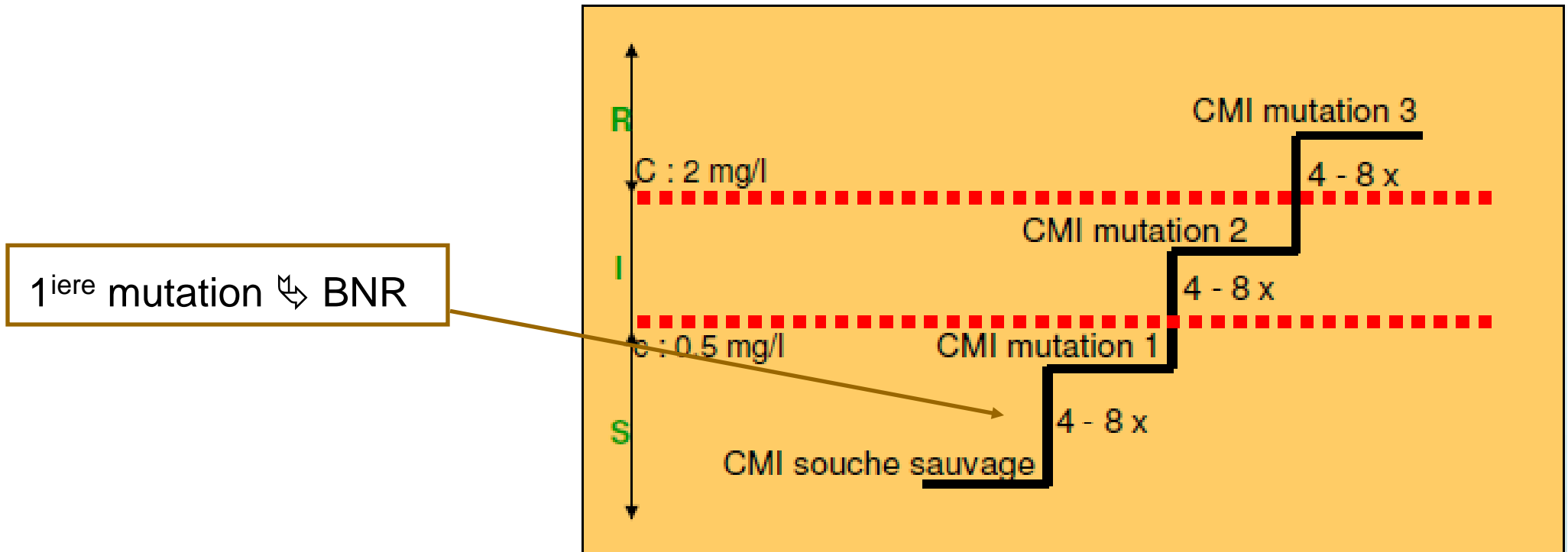
Chez les bactéries Gram positif:

Tableau II – Cibles préférentielles des fluoroquinolones chez *S. aureus*, *S. pneumoniae*.

Quinolones	Cible préférentielle : site privilégié des mutations observées chez les mutants de 1 ^{er} niveau	
	<i>S. aureus</i>	<i>S. pneumoniae</i>
Acide nalidixique	GyrA	Non déterminé
Péfloxacin	ParC	ParC
Norfloxacin	ParC	ParC
Ciprofloxacine	ParC	ParC
Lévofloxacine	ParC	ParC
Sparfloxacine	ParC	GyrA
Moxifloxacine	ParC	GyrA
Gatifloxacine	ParC	GyrA
Garénoxacin	GyrA	GyrA

Le **site privilégié** des mutations observées chez les **mutants de 1^{er} niveau** est **variable** en fonction de la cible préférentielle de FQ

Notion de « palier » ou « marche d'escalier »



Évolution progressive des résistances se fait par **mutations successives**

Chaque marche représente une mutation spontanée qui multiplie par 4 à 8 x CMI

- Chez BGN, une seule mutation dans la QRDR de *gyrA* suffit pour entraîner une résistance de haut niveau à l'acide nalidixique

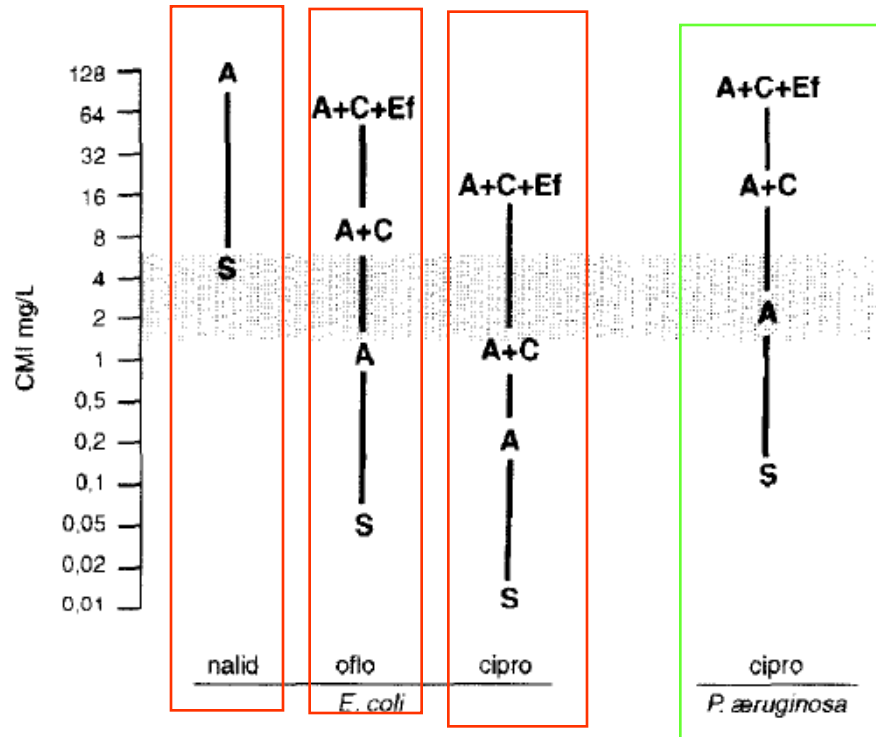


Figure 1. Effet des mutations sur la sensibilité aux quinolones des bactéries à Gram négatif.

En grisé, zone intermédiaire pour les fluoroquinolones ; nalid = acide nalidixique ; oflo = ofloxacin ; cipro = ciprofloxacine ; S = souche sauvage ; A = mutation *gyrA* (sous-unité de l'ADN gyrase) ; C = mutation *parC* (sous-unité de la topo-isomérase IV) ; Ef = mutation d'efflux.

- En revanche, la R à l'ofloxacin peut nécessiter 2 mutations
- alors qu'il en faudra 3 pour la ciprofloxacine

Chez les CGP

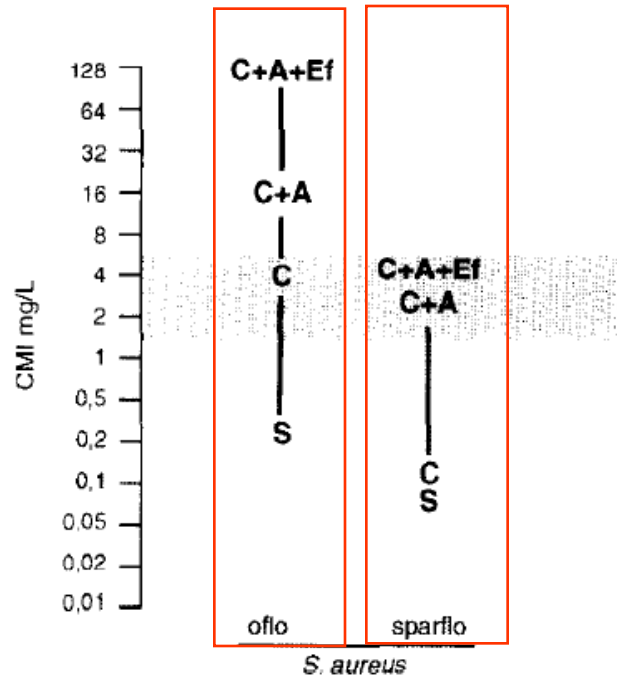


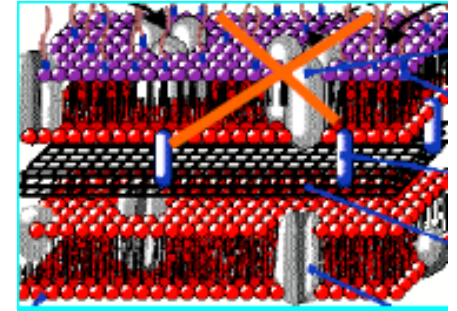
Figure 2. Effet des mutations sur la sensibilité aux quinolones des bactéries à Gram positif.
En grisé, zone intermédiaire ; oflo = ofloxacin ; sparflo = sparfloxacin ; lévoflo = lévofloxacin ; moxiflo = moxifloxacin ; S = souche sauvage ; A = mutation *gyrA* (sous-unité de l'ADN gyrase) ; C = mutation *parC* (sous-unité de la topo-isomérase IV) ; Ef = mutation d'efflux.

Streptocoques une seule mutation entraîne souvent une résistance clinique

2- Résistance par défaut d'accumulation

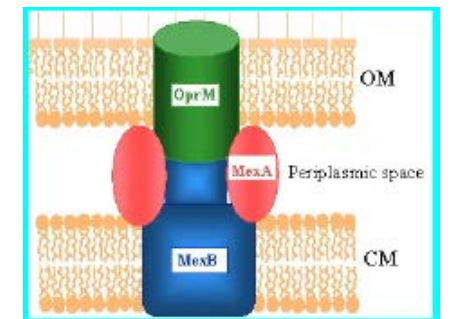
1- Diminution de perméabilité:

Mutation ↪ Porines / OmpF (modification quantitative et/ou qualitative)

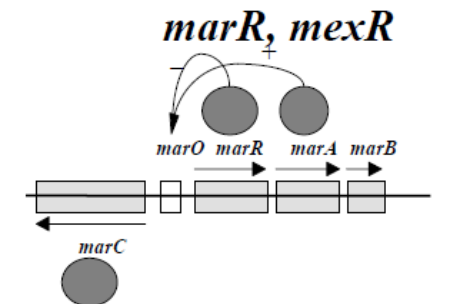


2- Efflux actif

- Mutations dans la région régulatrice
↪ Hyperactivité de ces systèmes



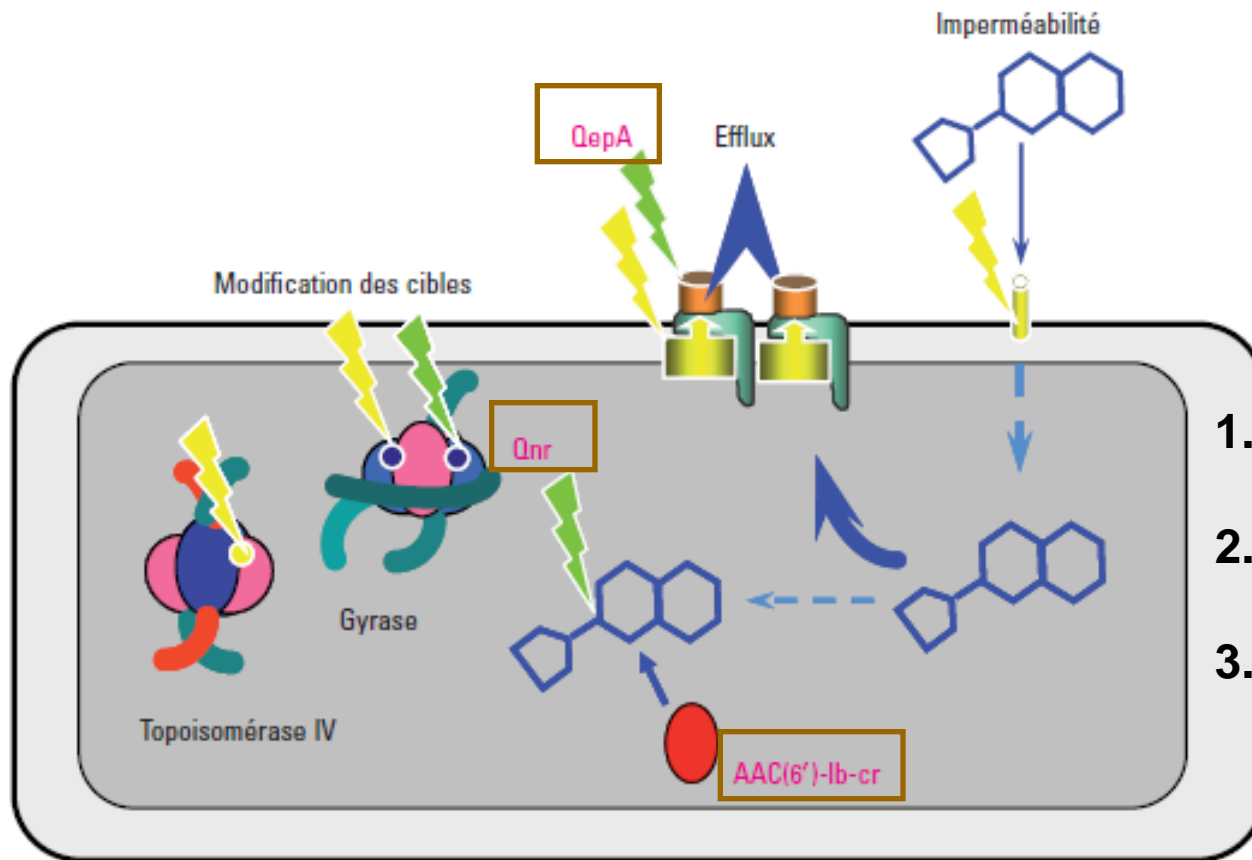
↪ Bas niveau de R
↪ R croisées à plusieurs molécules



Mécanismes de résistance plasmidiques

- Plus récents
 - Chez bacilles à Gram négatif
 - Bas niveau de R ↘ Facilite la sélection des mutants R par FQ et augmente l'effet des mutations
 - Transférable horizontalement entre bactéries
-

Mécanismes de résistance plasmidiques



1. Protection de la cible
2. Modification enzymatique des FQ
3. Pompes à efflux

Les résistances chromosomiques sont les plus fréquentes

Les résistances plasmidiques sont les plus récentes

1- Protection de la cible (1998)

- ***qnrA1*** (quinolone resistance) : *K. pneumoniae* isolée en 1998 aux USA
 - Depuis, nombreux autres gènes *qnr* décrits :
 - ***qnrA, qnrB, qnrS, qnrC et qnrD*** (chacun plusieurs allèles dont la description est consignée sur le site www.lahey.org)
 - **Protéines Qnr**
 - Appartiennent à la famille des protéines à motifs pentapeptidiques répétés (PRP), protéines constituées de séries de répétition en tandem de 5 AA
 - ↳ Protègent les topoisomérases de l'action des Q
-

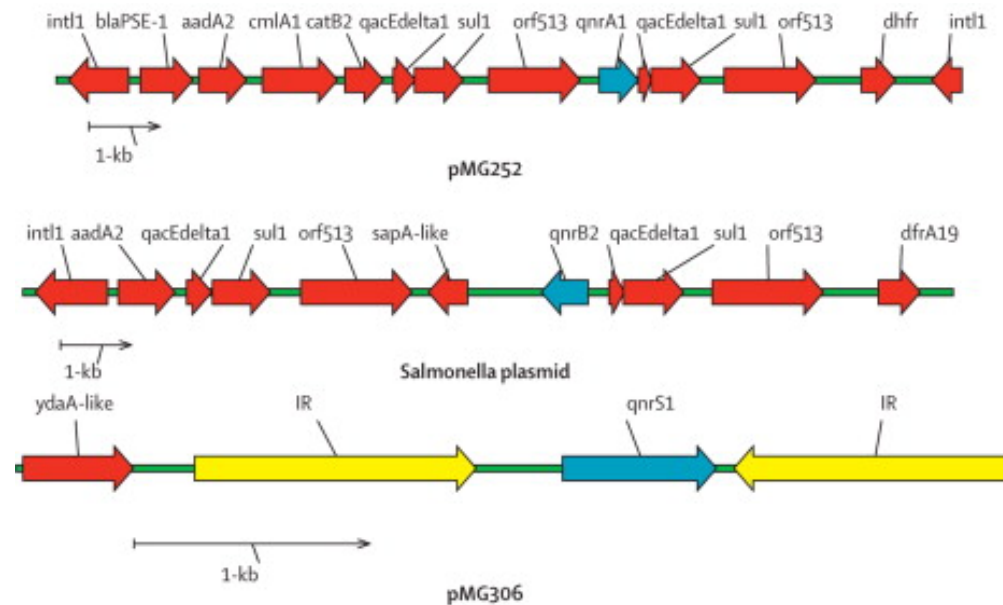
CMI₅₀ de souches cliniques hébergeant *qnrA* / leur transconjugants

Antibiotic	MIC ₅₀ (mg/L)		
	clinical isolates	transconjugants in <i>E. coli</i> J53	<i>E. coli</i> J53
Ciprofloxacin	16	0.25	0.01
Levofloxacin	32	0.5	0.01
Moxifloxacin	32	0.5	0.03
Nalidixic acid	≥256	16	4
Sparfloxacin	32	1	0.01

Qnr ↪ HNR à NA et BNR aux FQ

↪ Transconjugants restent S aux FQ d'après les critères officiels des comités experts malgré des CMI multipliées parfois par 30

Support génétique: Plasmides transférables



qnr + d'autres marqueurs de R / BLSE : intégrons de type *sul1(orf513 / orf1)*:
codant **recombinases** ↪ **Mobilisation +++**

Origine des *qnr*

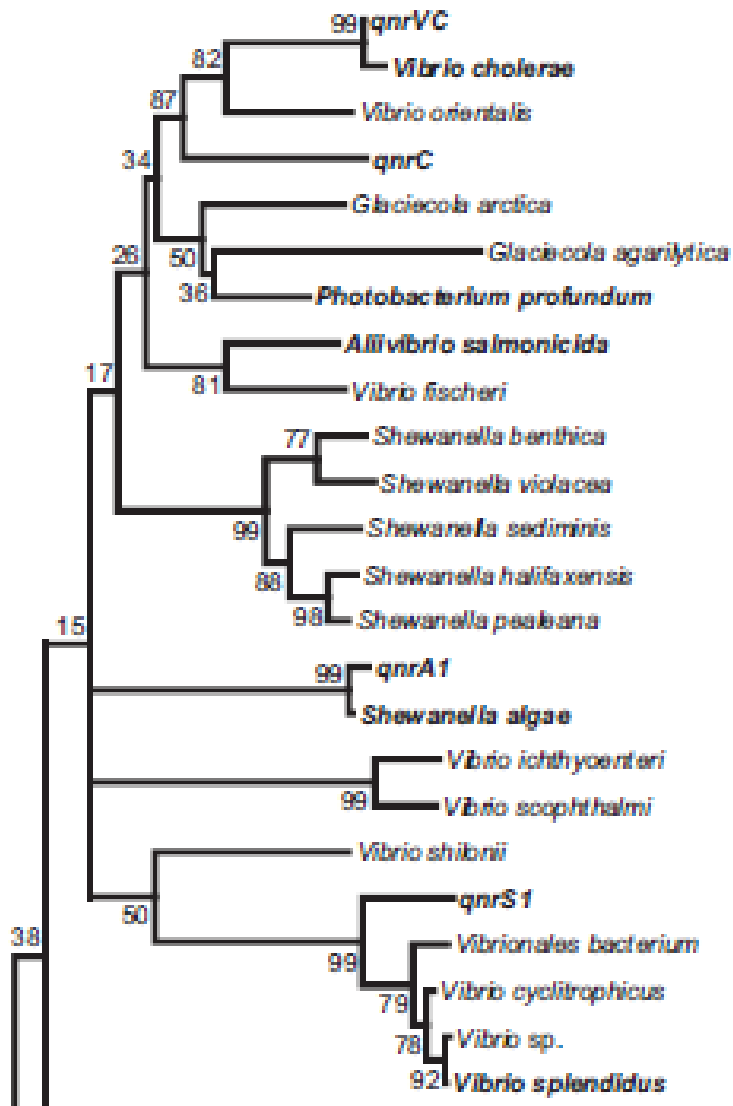
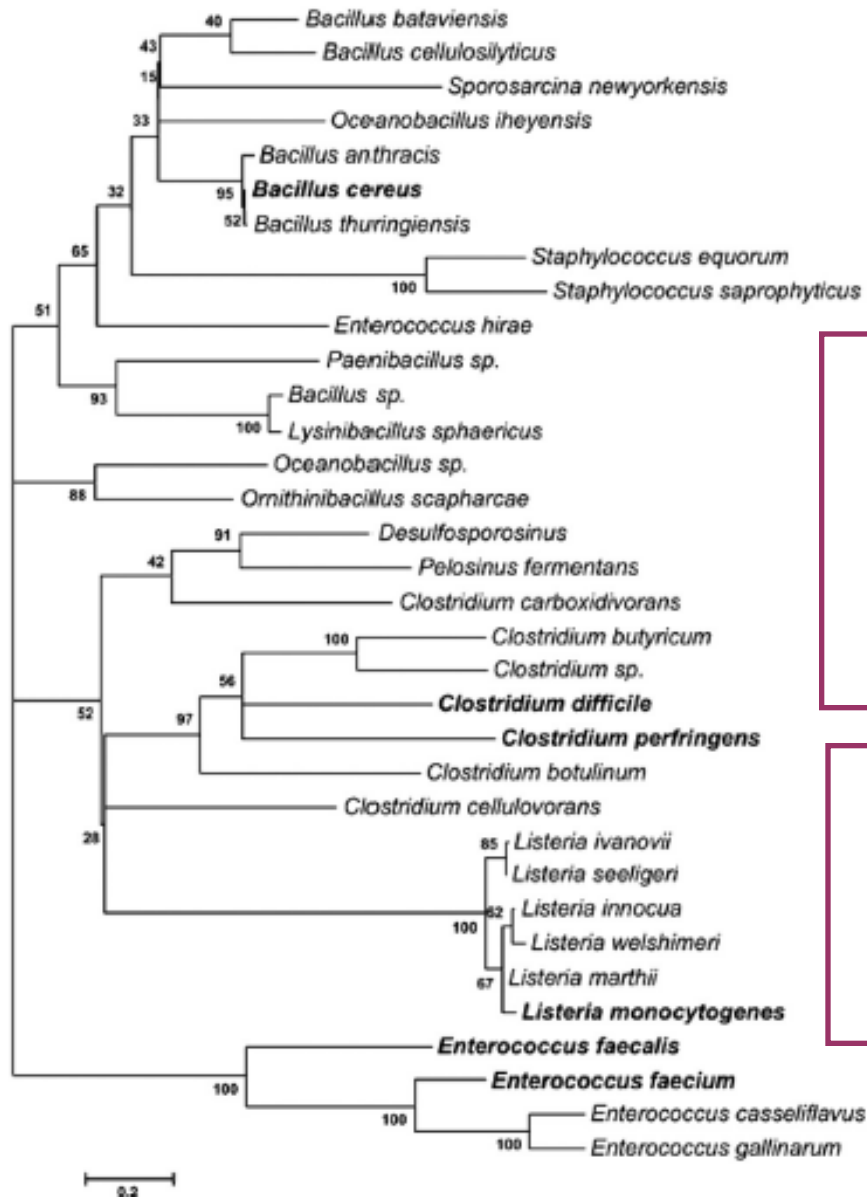


FIG 1 Phylogenetic tree of Qnr from gammaproteobacteria.

qnr auraient été mobilisés à partir de gènes ***qnr* chromosomiques** présents chez des bactéries de l'environnement hydrique/
Vibrionaceae* et *Shewanella algae

Gènes *qnr* chromosomiques
En 2008, chez *S. maltophilia* : *smqnr*
En 2010, chez *S. marcescens*: *smaqnr*



Plusieurs gènes ***qnr-like*** chromosomiques: McbG et MfpA (20% identité) ont été décrits chez certaines bactéries à Gram positif ***E. faecalis*** ou chez les mycobactéries (***M. smegmatis***, ***M. tuberculosis***)

↪
Pourraient être impliqués dans la résistance intrinsèque de bas niveau aux FQ chez ces espèces

FIG 2 Phylogenetic tree of Qnr from Gram-positive bacteria, derived as described for Fig. 1. Qnr from the organisms shown in bold was used to initiate the search.

Epidémiologie

- QNR ↪ Décrit chez > 300 espèces
 - Entérobactéries +++
 - *A. baumannii*, *Pseudomonas sp*
 - Jamais chez *P. aeruginosa* !
 - Diffusion mondiale +++
 - Prévalence de 0,2 à 94% (Cattoir, Curr Med Chem,2009)
 - **Association fréquente aux β -lactamases (BLSE, Amp C, KPC, VIM ...)**
 - **En Tunisie**
-

Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants in *Enterobacteriaceae* from Tunisia

S. Dahmen^{1,2}, L. Poirel¹, W. Mansour², O. Bouallègue² and P. Nordmann¹

1) Service De Bactériologie-Virologie, INSERM U914 'Emerging Resistance to Antibiotics', Hôpital de Bicêtre, Assistance Publique/Hôpitaux de Paris, Faculté de Médecine et Université Paris-Sud, France and 2) Unité des Infections à Bactéries Multirésistantes aux Antibiotiques, UR/29/04, Laboratoire de Microbiologie, CHU Sahloul, Sousse, Tunisia

- 281 entérobactéries R à NA (Septembre 2005 et Décembre 2010)
 - ↳ 45 (16%) hébergeaient *qnr*
 - 12 *qnrA6*
 - 11 *qnrB1*
 - 7 *qnr S1*

Full Length Research Paper

First characterisation in Tunisia of plasmid mediated AmpC bêta-lactamase DHA-1 coexpressed TEM-24 and QnrA6 in a multidrug resistant *Proteus mirabilis* clinical strain

Sihem Mahrouki^{1*}, Hela Chihi¹, Amel Bourouis¹, Mohamed Ben-Moussa², Farouk Barguelli²
and Omrane Belhadj¹

¹Laboratoire de Biochimie et de Technobiologie, Faculté des Sciences de Tunis, Université Tunis El-Manar, 2092 El-Manar II, Tunis, Tunisia.

²Service de Bactériologie, Hôpital Militaire de Tunis, 1089 Monfleury, Tunisie.

Hôpital Charles Nicolle de Tunis

- **Entre 2006-2009: 300 *E. coli* uropathogènes**
 - 5 *qnr* (1.61%): 1 *qnrS1*, 1 *qnrA6* et 3 *qnr B1*
 - **2010:**
 - 40 *E. coli* BLSE ↪ 3 *qnr B1*
 - 40 *E. cloacae* BLSE ↪ 19 *qnr* (1 *qnr S1*, 16 ***qnrB1***, 1 *qnrB4* et 1 *qnrB13*)
 - 40 *K. pneumoniae* BLSE ↪ 8 *qnr* (1 *qnrS1*, 7 ***qnrB1***)
-

2- Modification enzymatique de la cible (2006)

- *aac(6')-Ib-cr* = variant du classique gène *aac(6')-Ib* :
2 mutations (Trp102 Arg et Asp179Tyr)

AAC(6')-Ib avec 2 substitutions : AAC(6')-Ib-cr :

```
AAV59012.1 -----MINSNDSVTLRLMTEHDLAHLVEKLNRS HIVEWGCEEARP 41
BAD73861.1 -----MINSNDSVTLRLMTEHDLAHLVEKLNRS HIVEWGCEEARP 41
AAF27724.1 -----MTEHDLAHLVEKLNRS HIVEWGCEEARP 29
AAC46343.1 MLESSESRFKTKLGI TKYSIVTNSD SVTLRLMTEHDLAHLVEKLNRS HIVEWGCEEARP 60
AAC23553.1 -----MLVEKLNRS HIVEWGCEEARP 22
AAC(6')-Ib-cr ---MENA KTKLGI TKYSIVTNSD SVTLRLMTEHDLAHLVEKLNRS HIVEWGCEEARP 56
AAN77713.1 -----MTEHDLAHLVEKLNRS HIVEWGCEEARP 29
AAL93141.1 --MSIQHPQTKLGI TKYSIVTNSD SVTLRLMTEHDLAHLVEKLNRS HIVEWGCEEARP 58
A28388 --MSIQHPQTKLGI TKYSIVTNSD SVTLRLMTEHDLAHLVEKLNRS HIVEWGCEEARP 58
*****

AAV59012.1 TLADVQBQYLPFVLAQESVTPYIAMLNCEPIGYAQS TVALGSCDGNWEEETDQVRCIDQ 101
BAD73861.1 TLADVQBQYLPFVLAQESVTPYIAMLNCEPIGYAQS TVALGSCDGNWEEETDQVRCIDQ 101
AAF27724.1 TLADVQBQYLPFVLAQESVTPYIAMLNCEPIGYAQS TVALGSCDGNWEEETDQVRCIDQ 89
AAC46343.1 TLADVQBQYLPFVLAQESVTPYIAMLNCEPIGYAQS TVALGSCDGNWEEETDQVRCIDQ 120
AAC23553.1 TLADVQBQYLPFVLAQESVTPYIAMLNCEPIGYAQS TVALGSCDGNWEEETDQVRCIDQ 82
AAC(6')-Ib-cr TLADVQBQYLPFVLAQESVTPYIAMLNCEPIGYAQS TVALGSCDGNWEEETDQVRCIDQ 116
AAN77713.1 TLADVQBQYLPFVLAQESVTPYIAMLNCEPIGYAQS TVALGSCDGNWEEETDQVRCIDQ 89
AAL93141.1 TLADVQBQYLPFVLAQESVTPYIAMLNCEPIGYAQS TVALGSCDGNWEEETDQVRCIDQ 118
A28388 TLADVQBQYLPFVLAQESVTPYIAMLNCEPIGYAQS TVALGSCDGNWEEETDQVRCIDQ 118
*****

AAV59012.1 SLANASQLGKGLGTELVRALVELLFNDPEVTKIQTD PPSDSLPAIRCYEKACFERQGTVT 161
BAD73861.1 SLANASQLGKGLGTELVRALVELLFNDPEVTKIQTD PPSDSLPAIRCYEKACFERQGTVT 161
AAF27724.1 SLANASQLGKGLGTELVRALVELLFNDPEVTKIQTD PPSDSLPAIRCYEKACFERQGTVT 149
AAC46343.1 LLANASQLGKGLGTELVRALVELLFNDPEVTKIQTD PPSDSLPAIRCYEKACFERQGTVT 180
AAC23553.1 SLANASQLGKGLGTELVRALVELLFNDPEVTKIQTD PPSDSLPAIRCYEKACFERQGTVT 142
AAC(6')-Ib-cr LLANASQLGKGLGTELVRALVELLFNDPEVTKIQTD PPSDSLPAIRCYEKACFERQGTVT 176
AAN77713.1 LLANASQLGKGLGTELVRALVELLFNDPEVTKIQTD PPSDSLPAIRCYEKACFERQGTVT 149
AAL93141.1 LLANASQLGKGLGTELVRALVELLFNDPEVTKIQTD PPSDSLPAIRCYEKACFERQGTVT 178
A28388 LLANASQLGKGLGTELVRALVELLFNDPEVTKIQTD PPSDSLPAIRCYEKACFERQGTVT 178
*****

AAV59012.1 TFDGDAVIMVQTRQAFERTEDA 184
BAD73861.1 TFDGDAVIMVQTRQAFERTEDA 184
AAF27724.1 TFDGDAVIMVQTRQAFERTEDA 172
AAC46343.1 TFDGDAVIMVQTRQAFERTEDA 203
AAC23553.1 TFDGDAVIMVQTRQAFERTEDA 165
AAC(6')-Ib-cr TFDGDAVIMVQTRQAFERTEDA 199
AAN77713.1 TFDGDAVIMVQTRQAFERTEDA 172
AAL93141.1 TFDGDAVIMVQTRQAFERTEDA 201
A28388 TFDGDAVIMVQTRQAFERTEDA 201
*****
```

Robicsek et al., Nat Med 2006

2- Modification enzymatique de la cible (2006)

- **Enzyme AAC(6')-Ib-cr :**

- ↳ Inactiver les aminosides et les FQ par acétylation

- FQ les plus touchées = les plus hydrophiles: **ciprofloxacin** et **norfloxacin**, alors que la lévofloxacin n'est pas touchée

- Aminosides touchés: **tobramycine** , **amikacin**, **kanamycine**

- Bas niveau de résistance: CMI x 2-4

- Prévalence de 0,4 à 34% : 14% des entérobactéries CAZ R

En Tunisie

- Detection of **Unrelated *Escherichia Coli* Strains Harboring Genes of CTX-M-15, OXA-1, and AAC(6')-Ib-Cr** Enzymes in a Tunisian Hospital and Characterization of Their Integrons and Virulence Factors.
Jouini, A et al. [Journal of Chemotherapy](#). 2010;(5):318-23

18 *E. coli*: Hôpital militaire de Tunis, en 2007

Hôpital Charles Nicolle de Tunis

■ Entre 2006-2009: 300 *E. coli* uropathogènes

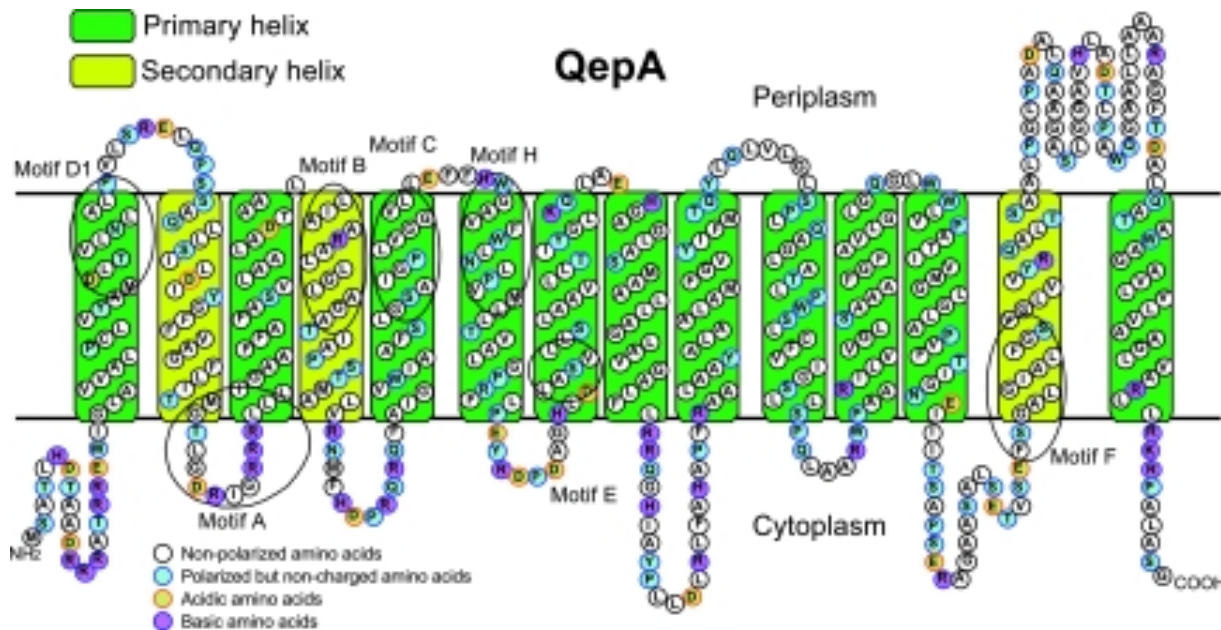
- 5 *qnr* (1.61%): 1 *qnrS1*, 1 *qnrA6* et 3 *qnr B1*
- 68 *aac(6')-lb-cr* (60 *bla*_{CTX-M-15}, 4 *bla*_{CMY-38} et 2 *bla*_{TEM-1})

■ 2010:

- 40 *E. coli* BLSE ↘ 3 *qnr B1* et 17 *aac(6')-lb-cr*
- 40 *E. cloacae* BLSE ↘ 19 *qnr* (1 *qnr S1*, 16 *qnrB1*, 1 *qnrB4* et 1 *qnrB13*) et 1 *aac(6')-lb-cr*
- 40 *K. pneumoniae* BLSE ↘ 8 *qnr* (1 *qnrS1*, 7 *qnrB1*) et 3 *aac(6')-lb-cr*

3- Pompes à efflux plasmidiques (2007)

- *qepA* codant QepA appartenant à la famille MFS (Major Facilitator Superfamily)

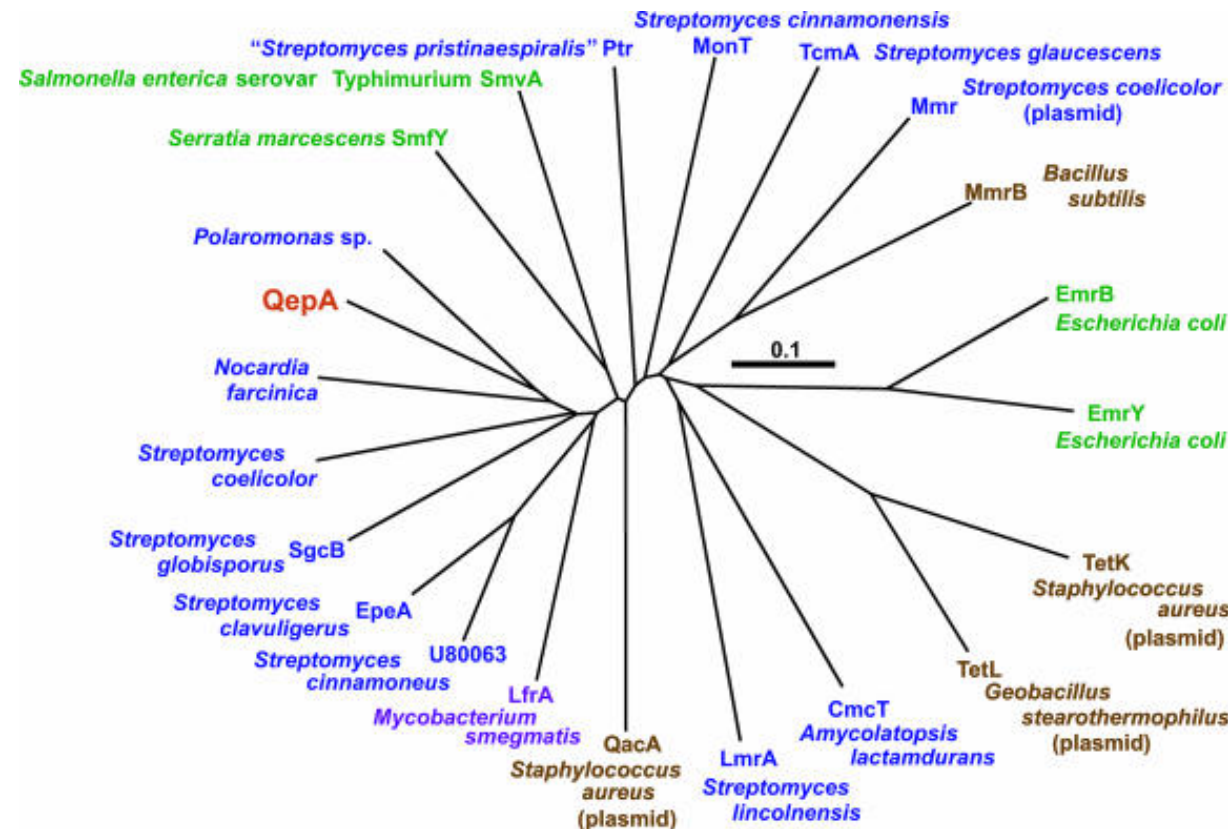


- Association à méthylase RmtB



3- Pompes à efflux plasmidiques (2007)

- Origine : Actinomycètes



- ↷ R aux FQ hydrophiles : norfloxacine et ciprofloxacine
- ↷ Augmentation des CMI 10 - 23 x
- Prévalence faible <1 %, non rapportée en Tunisie

3- Pompes à efflux plasmidiques (2007)

- **OqxAB** de la famille des RND (Resistance Nodulation Cell Division)
 - Codée par *oqxA* & *oqxB*
 - ↙ R aux quinoxalines croisée à de nombreux agents incluant cotrimoxazole, chloramphénicol et FQ
 - Initialement, souches *E. coli* d'origine porcine (Danemark et Suède)
-

3- Pompes à efflux plasmidiques (2007)

- En 2009, Corée du Sud, 1^{ière} souches humaines:
 - *E. coli* (n=1), *E. cloacae* (n=3) et *K. pneumoniae* (n=100)
 - Plasmide conjugatif (pOLA52) chez *E. coli* et *E. cloacae*
 - Support chromosomique chez *K pneumoniae*
 - ↳ ***K. pneumoniae* réservoir !!!**
 - **2012, Chine** (5,2% d'*E. coli* humaines)
 - **En Tunisie (2010):** sur 40 *K. pneumoniae* BLSE: 26 ↳ *oqxAB*
-

∇ le mécanisme de R plasmidique ↪ BNR Mais facilite la sélection de HNR aux FQ

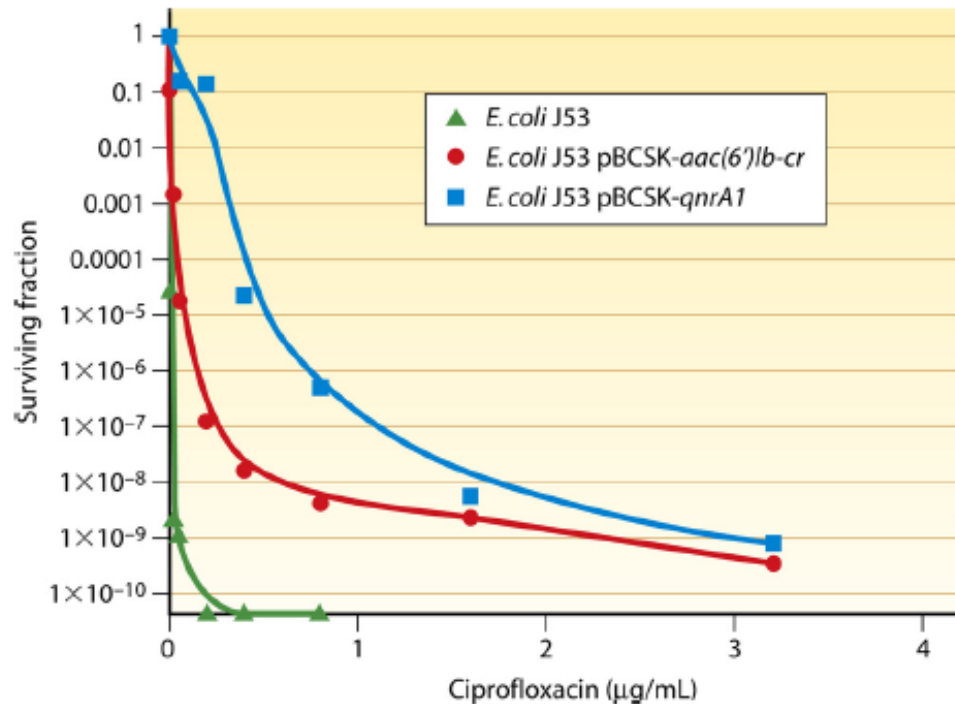


FIG. 2. MPC assay. About 10^{10} organisms and appropriate dilutions were applied onto Mueller-Hinton agar plates containing the indicated concentrations of ciprofloxacin. Surviving colonies were counted after incubation for 72 h at 37°C. The lowest concentration of ciprofloxacin at which no mutant colonies were seen was 0.2 µg/ml for J53 and 3.2 µg/ml for J53 pBC SK-*aac*(6')*Ib-cr* or J53 pBC SK-*qnrA1*. (Reprinted from reference 163 with permission from Elsevier.)

La plus faible [Cip]^o pour laquelle: pas de sélection de mutants R est:

0,2 µg/ml pour *E. coli* J53

3,2 µg/ml pour *E. coli* + *qnrA1*

3,2 µg/ml pour *E. coli* + AAC-(6')-1b-cr

Le plus souvent, association de **plusieurs mécanismes de R**
(chacun étant acquis indépendamment)

↳ **R clinique**

1. **Sélection de mutants résistants +++**
2. **Transmission de souches résistantes**
3. **Transmission de gène de résistance chez certaines bactéries**
 - Par transformation et recombinaison homologue (streptocoques)
 - Par transfert de gènes plasmidiques (entérobactéries)

1- Sélection de mutants résistants

Toute prise antérieure de FQ



Risque individuel plus élevé d'être infecté
par des bactéries résistantes aux FQ

Exposition aux FQ et sélection de mutants résistants

E. coli: sensibilité et exposition aux ATB
Présence ou non d'une antibiothérapie dans les 6 mois

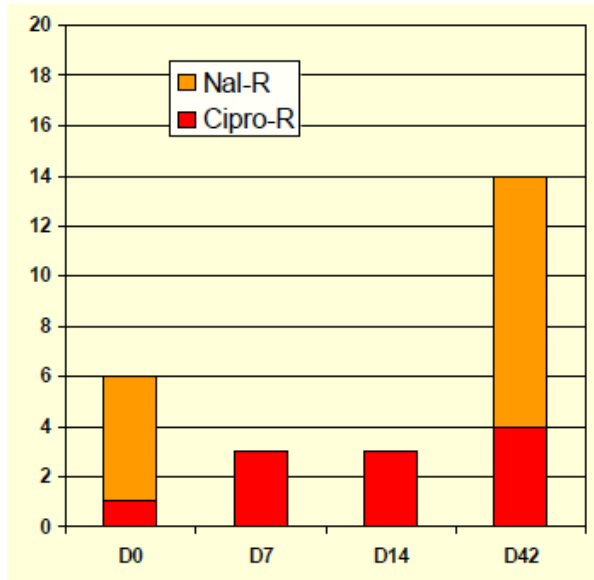
	β -lactamine		Quinolone	
	oui	non	oui	non
Amoxicilline	41	64	54	60
Co-Amoxiclav	41	67	59	62
Ac nalidixique	84	87	63	91
Ciprofloxacine	94	94	78	97

ONERBA - JNI - Nice juin 2005

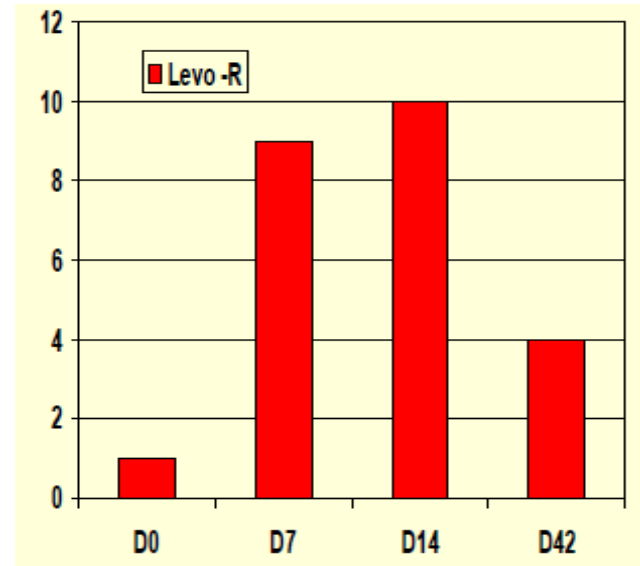
Impact de la prescription de FQ

- **Emergence de R aux FQ**
 - Au sein du foyer infectieux
 - Sur les flores commensales +++
-

Impact de la prescription des FQ sur les flores commensales +++



Dans la Flore Féciale: *E. coli* R



Dans la Flore Pharyngée : SNG R

Phénomène survient au hasard ↪ Ne peut être prévenue par l'optimisation du mode d'administration des FQ

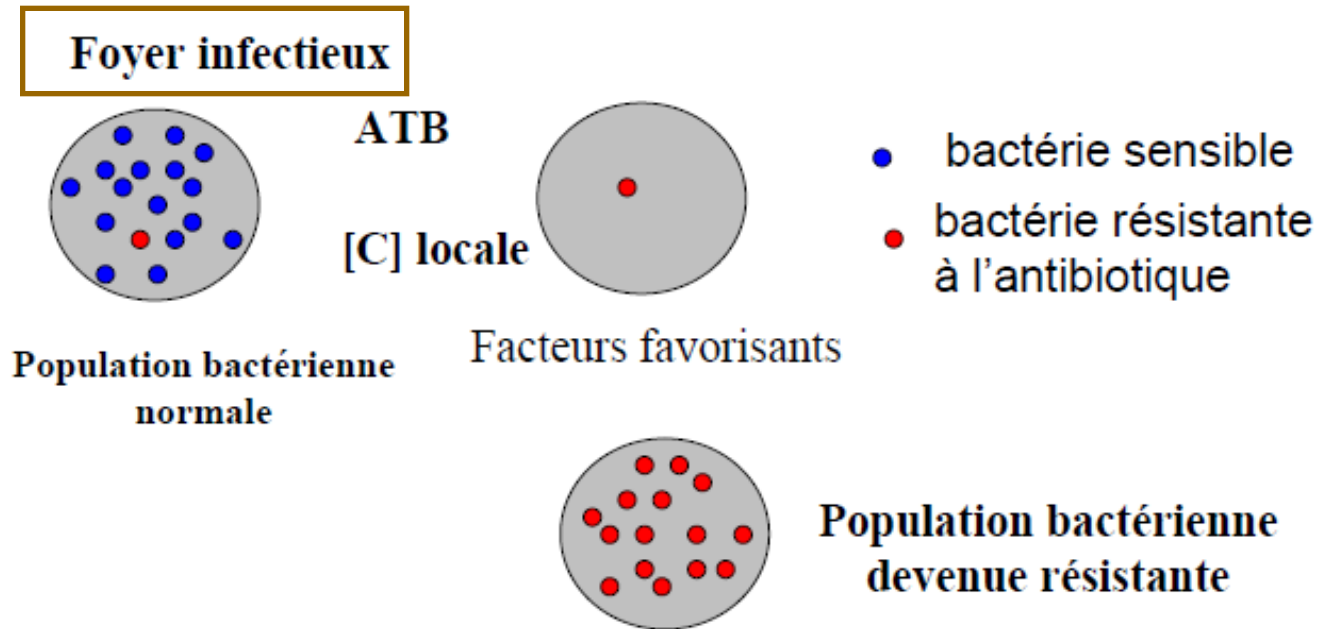
Les souches commensales peuvent soit:

Devenir pathogènes par translocation

Transférer leurs mécanismes de résistance à des souches pathogènes

Participer à la dissémination interindividuelle de la résistance

Schéma de sélection de mutants résistants



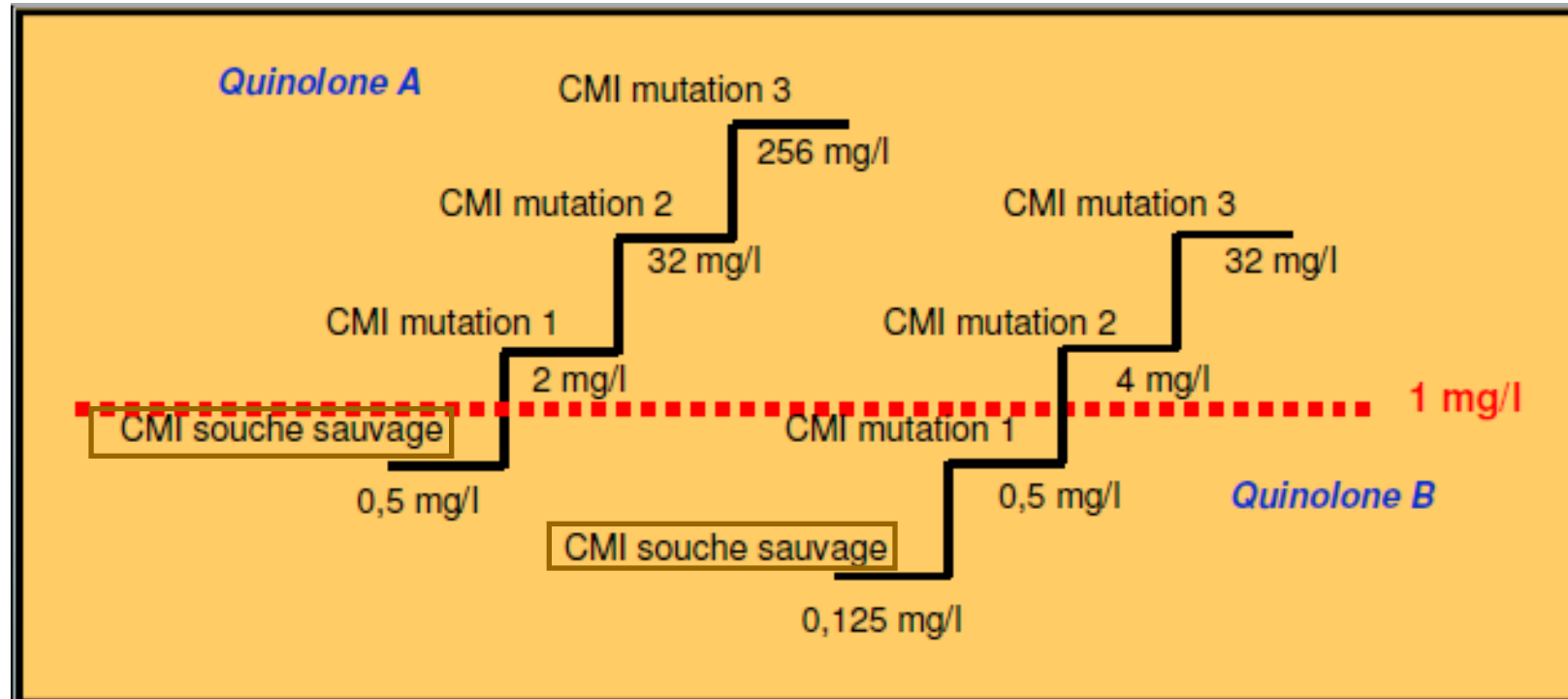
Évènement possible mais rare

Fonction du nombre de bactéries présentes (taux de mutation)

Sélection de mutants résistants sous traitement par FQ

- Rôle de souche bactérienne: **son niveau de résistance naturelle**
 - Rôle de la **posologie**
-

Activité initiale des FQ sur la souche bactérienne +++



↪ Intérêt de détecter le bas niveau de résistance :
risque de sélection de mutant résistant

Rôle de la posologie dans sélection mutants R aux FQ

Journal of Antimicrobial Chemotherapy (2007) 60, 795–801
doi:10.1093/jac/dkm265
Advance Access publication 16 July 2007

JAC

Dose-related selection of fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli*

Sara K. Olofsson^{1*}, Linda L. Marcusson², Ann Strömbäck¹, Diarmaid Hughes² and Otto Cars¹

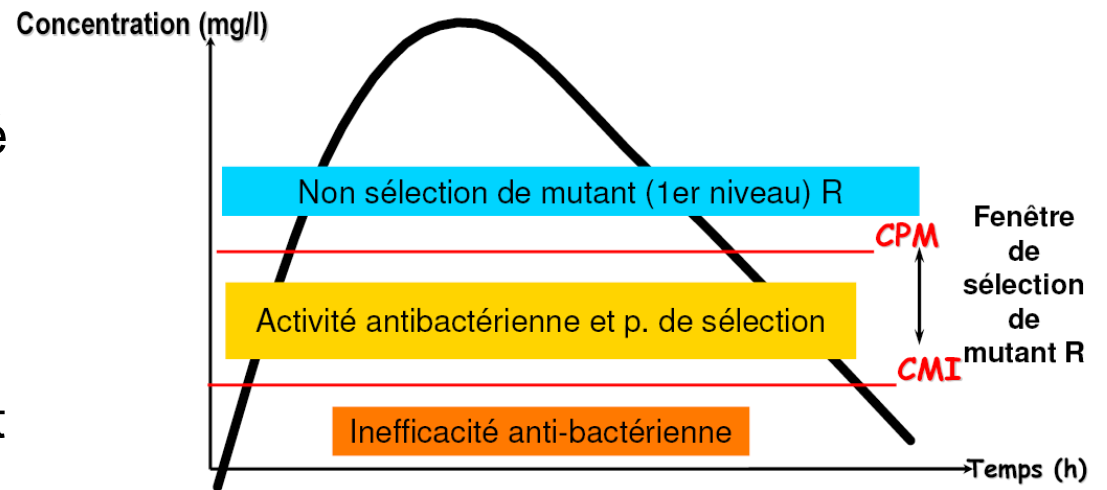
Dose (mg)	Cmax (mg/l)	Croissance bactérienne à 24 H		
		Sauvage (CMI _{CIP} =0.012, S)	Simple mutant (CMI _{CIP} =0.19, S)	Double mutant (CMI _{CIP} =0.75, I)
CIP 100X2	0.39	-	+	+
CIP 250X2	0.98	-	-	+
CIP 500X2	1.54	-	-	+
CIP 750X2	2.94	-	-	-

Prévention de mutants résistants aux FQ

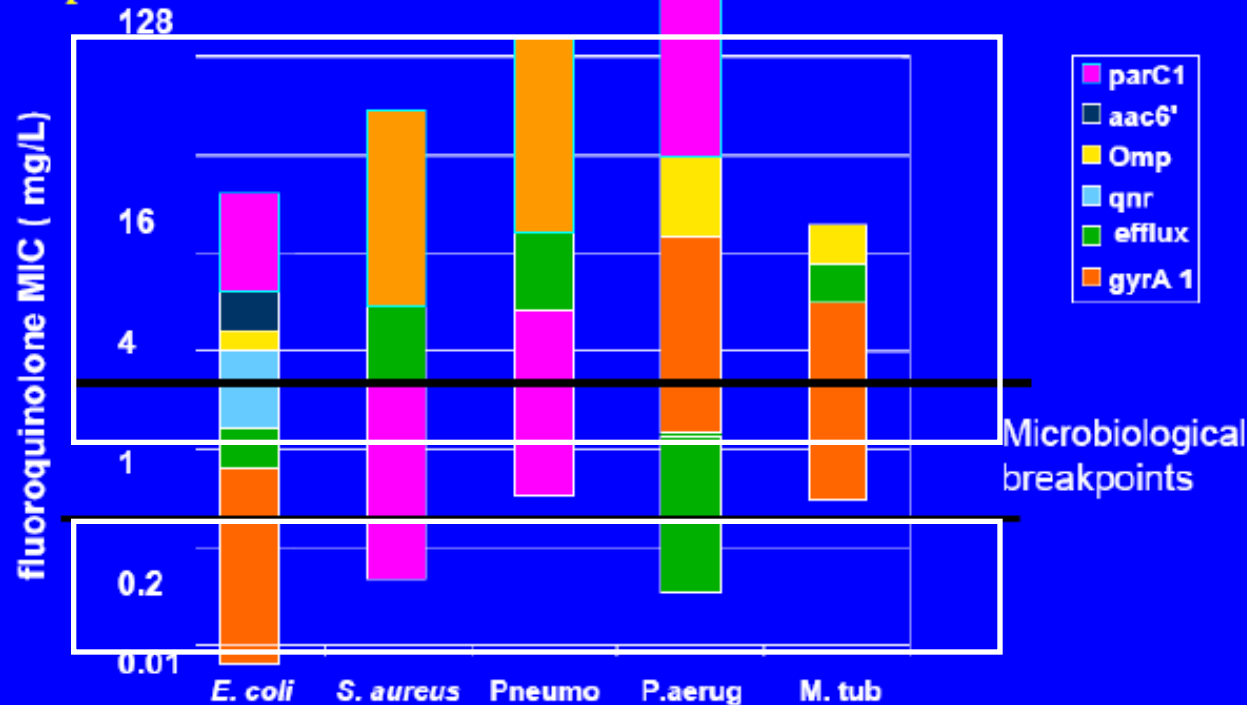
■ Principe de la CPM (C° de prévention des mutants)

= Seuil à partir duquel la probabilité de sélectionner un mutant résistant est extrêmement faible

= [FQ]^o avec laquelle aucun mutant ne peut être obtenu, même lorsqu'un inoculum bactérien de 10¹⁰ UFC/ml est utilisé



Combined mechanisms are necessary to achieve a high level of quinolone resistance



Pr E. Cambau

- R acquise aux FQ = par étapes successives
 - ↪ **Très important** de pouvoir **détecter les BNR** (acquisition 1^{ier} mécanisme de R)
 - ↪ **Exposant à l'acquisition d'un HNR** (résistance clinique)

Rôle du Biologiste:

Devant la progression constante des résistances aux FQ

↳ Biologiste:

↳ Dépistage rapide des mutants de 1^{er} niveau soit par:

- ❑ Mesure des **CMI**
- ❑ Détection d'une résistance à l'acide nalidixique pour les entérobactéries, *H. influenzae* et *N. gonorrhoeae*: ou d'une résistance à la norfloxacin pour les pneumocoques, afin d'avertir le clinicien du risque de bactéricidie diminuée

↳ Conseil en antibiothérapie: doit essayer d'épargner au maximum cette classe thérapeutique dès que d'autres alternatives sont possibles

Recommandations des Comités de l'antibiogramme (CA-SFM)

Tableau V – Synthèse des concentrations critiques basses et hautes.

Quinolones	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Pseudomonas spp.</i>	<i>Staphylococcus spp.</i>
Ciprofloxacine	0,5 / 1	0,5 / 1	1 / 1
Lévofloxacine	1 / 2	1 / 2	1 / 2
Moxifloxacine	0,5 / 1	-	0,5 / 1
Norfloxacine	0,5 / 1	-	-
Ofloxacine	0,5 / 1	-	1 / 1
	<i>S. pneumoniae</i>	<i>H. influenzae</i>	<i>N. gonorrhoeae</i>
Ciprofloxacine	0,12 / 2	0,5 / 0,5	0,03 / 0,08
Lévofloxacine	2 / 2	1 / 1	-
Moxifloxacine	0,5 / 0,5	0,5 / 0,5	-
Norfloxacine	-	-	-
Ofloxacine	0,12 / 4	0,5 / 0,5	0,12 / 0,25

Recommandées par l'European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing et le CA-SFM en 2010 pour la catégorisation clinique des bactéries vis-à-vis des fluoroquinolones. Concentrations critiques (S ≤ / > R) en mg/L.

Interprétation selon valeurs critiques **progressivement harmonisées** avec celles recommandées par le Comité européen EUCAST et le CLSI

Bas niveau de résistance : Détection +++

Tableau I – Phénotypes de résistance aux quinolones chez *E. coli* [8-10, 12, 13].

CMI Nal ^{a,c} (mg/L)	CMI Cip ^{b,c} (mg/L)	Mécanisme(s) de résistance probable(s)
2-4 [S]	0,01 [S]	Sauvage
2-4 [S]	0,04-0,08 [S]	AAC(6')-Ib-cr
2-4 [S]	0,12-0,25 [S]	QepA
8-32 [I/R]	0,12-0,25 [S]	Qnr
128-256 [R]	0,25 [S]	1 mutation GyrA ± efflux
512-> 2 000 [R]	1-4 [I/R]	1 mutation GyrA + 1-2 mutation(s) ParC 1 mutation GyrA + 1 mutation GyrB + 1 mutation ParC
> 2 000 [R]	8-64 [R]	2 mutations GyrA + 1 mutation ParC
> 2 000 [R]	64-128 [R]	2 mutations GyrA + 2 mutations ParC

^a Nal, acide nalidixique.

^b Cip, ciprofloxacine.

^c [], rendu au clinicien : S, sensible ; I, intermédiaire ; R, résistant.

Corrélation entre **diamètres d'inhibition** autour des disques de ciprofloxacine (5µg), d'ofloxacine (5µg) et d'acide nalidixique (30µg) et **CMI: faible**



Résistance de bas niveau aux fluoroquinolones par surexpression
de l'efflux chez *Pseudomonas aeruginosa* : conséquences thérapeutiques
et détection au laboratoire

Low-level resistance to fluoroquinolones conferred
by efflux overproduction in *Pseudomonas aeruginosa*:
clinical significance and routine detection

D. Hocquet ^{a,*}, I. Patry ^a, P. Dupont ^a, M. Bize ^a, K. Jeannot ^a, P. Chavanet ^b, P. Plésiat ^a

CMI ciprofloxacin $\geq 0,25$ mg/L

Utilisation de milieu MH contenant 0,2mg/l de ciprofloxacin: sensible
Les souches qui poussent sur cette gélose ont BNR ↪ Alerter le clinicien

« Attention, souche présentant BNR aux FQ.
L'utilisation des FQ en monothérapie, même à forte dose
↪ Expose à des échecs thérapeutiques ».

Epidémiologie mondiale

(A. Dalhoff. Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases 2012)

- Partout dans le monde: ↑↑° Fréquences de R aux FQ
- **Entérobactéries:**
 - Communautaires & nosocomiales
 - Taux > 50%, particulièrement en Asie
 - Entérobactéries R aux C3G ↪ Plus fréquemment R aux FQ
- ***S. aureus* (SASM < 5% / >90% SARM)**
- **Pneumocoque:** Taux R aux FQ actives sur le pneumocoque encore bas dans le monde (entre 1 et 7 %), à l'exception de Hong Kong (> 17 %)
- **Gonocoque:** <10% en Europe et Amérique du Nord → 100% en Asie

Epidémiologie de la résistance en Tunisie: Données LART

% de R à la ciprofloxacin

	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella*</i>
1999	7,90%	4%	32%	9%	-
2000	7,90%	7,90%	28%	9%	-
2001	8,80%	20,20%	32%	6%	15,30%
2002	8,90%	22,30%	31%	8%	5,50%
2003	14,60%	29,50%	34%	7%	5,40%
2004	14%	31,20%	26%	6,60%	4,40%
2005	14,20%	33,40%	18%	8,90%	10,30%
2006	16,90%	38,60%	19,50%	14,20%	10,30%
2007	16,50%	41,90%	16,50%	9,30%	6%
2008	15,30%	32,50%	23,80%	4,50%	11%
2009	16,50%	42,40%	22,20%	5,90%	13%
2010	17,40%	34,70%	22,10%	3%	29,20%

* % de R à l'acide nalidixique

Epidémiologie de la résistance en Tunisie: Données LART % de R à la ciprofloxacine

	<i>K. pneumoniae</i> R C3G	<i>P. aeruginosa</i> IMP R	SARM
1999	11,7%	74%	35%
2000	20,6%	84%	35%
2001	41,9%	73%	58%
2002	47,1 %	70%	37%
2003	63,3%	71%	43%
2004	45,6%	60,7%	33,9%
2005	57,3%	66,9%	42,6%
2006	46,7%	70,5%	39,9%
2007	74,6%	59,5%	36,3%
2008	57,4%	82,4%	30,6%
2009	69%	64,9%	33,4%
2010	65,6%	58,7%	36,6%

CONCLUSION

- **R acquises aux FQ : ≠ mécanismes**
 - **R chromosomique**
 - BNR
 - Effet multiplicatif des mutations ↪ HNR
 - Concentrations prévenant les mutations +++
 - **R plasmidique :**
 - **BGN (entérobactéries +++)**
 - BNR ↪ Facilite sélection des mutants R
 - Important à évaluer en termes d'épidémiologie
-

Règles pour le traitement par FQ

↳ Eviter l'apparition des résistances acquises

1. Dépister les bas niveaux de résistance
2. Choisir la FQ la plus active / bactérie présumée ou isolée
3. Choisir la FQ qui a la pharmacocinétique la plus adéquate / localisation du foyer infectieux (urines, LCR, poumon)
4. Utiliser une posologie élevée pour que la $[FQ]^{\circ}$ locale soit $> CPM$
5. Diminuer l'inoculum bactérien pour diminuer la probabilité de la présence de mutants (Taux de mutation)
 - ❑ Drainage
 - ❑ Association d'un 2^{ème} antibiotique d'une autre famille pendant les 1^{ères} 24-48 h
6. Raccourcir la durée totale du traitement

MERCI
