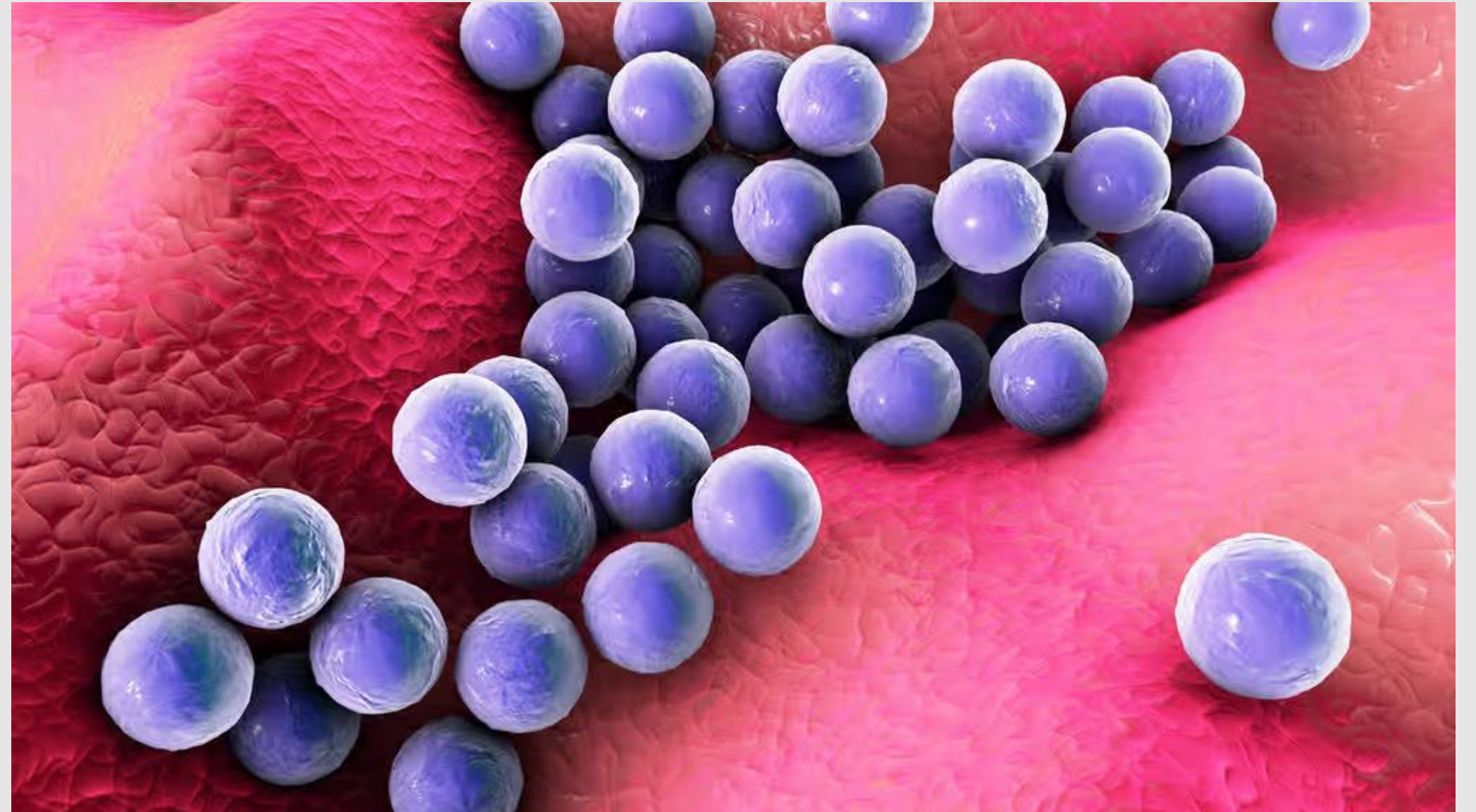


Mécanismes de résistance du Staphylocoque

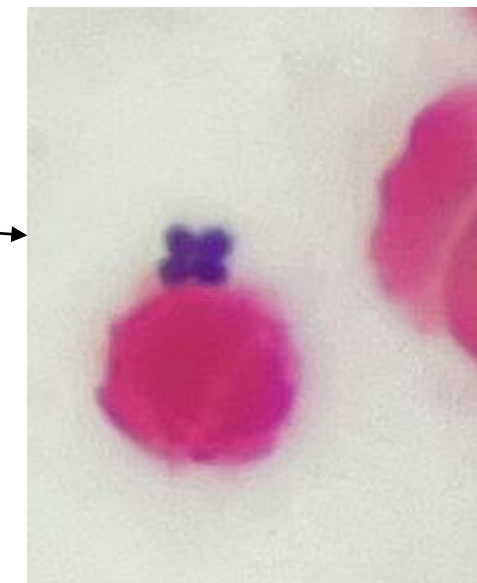
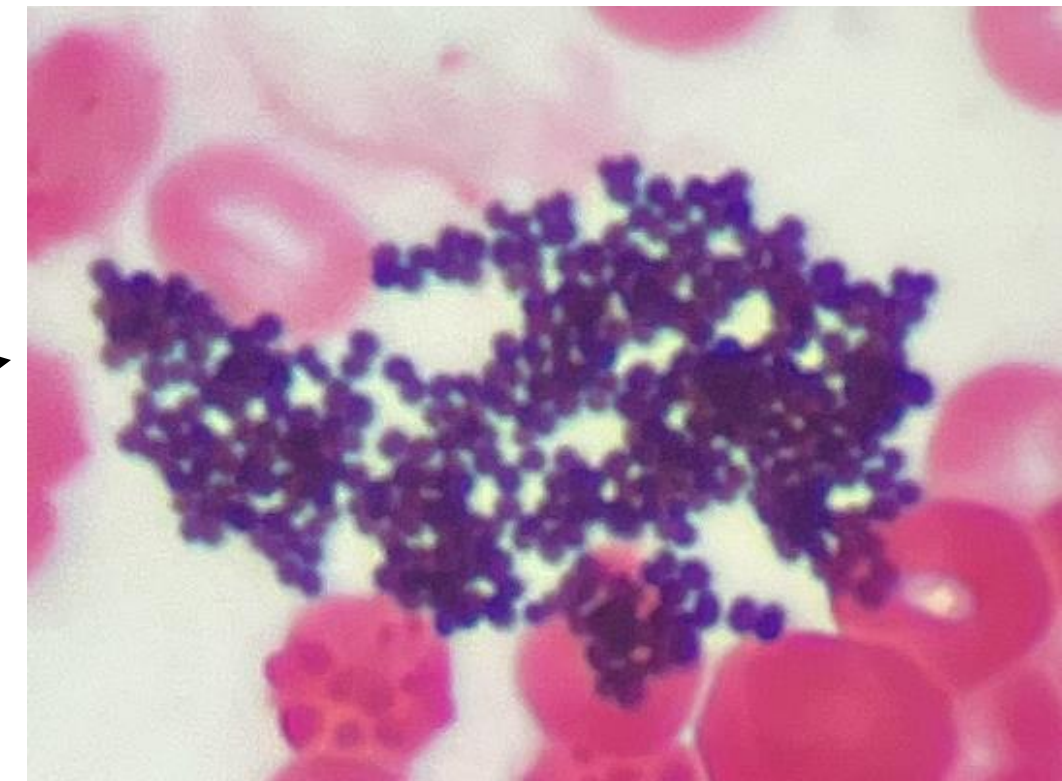
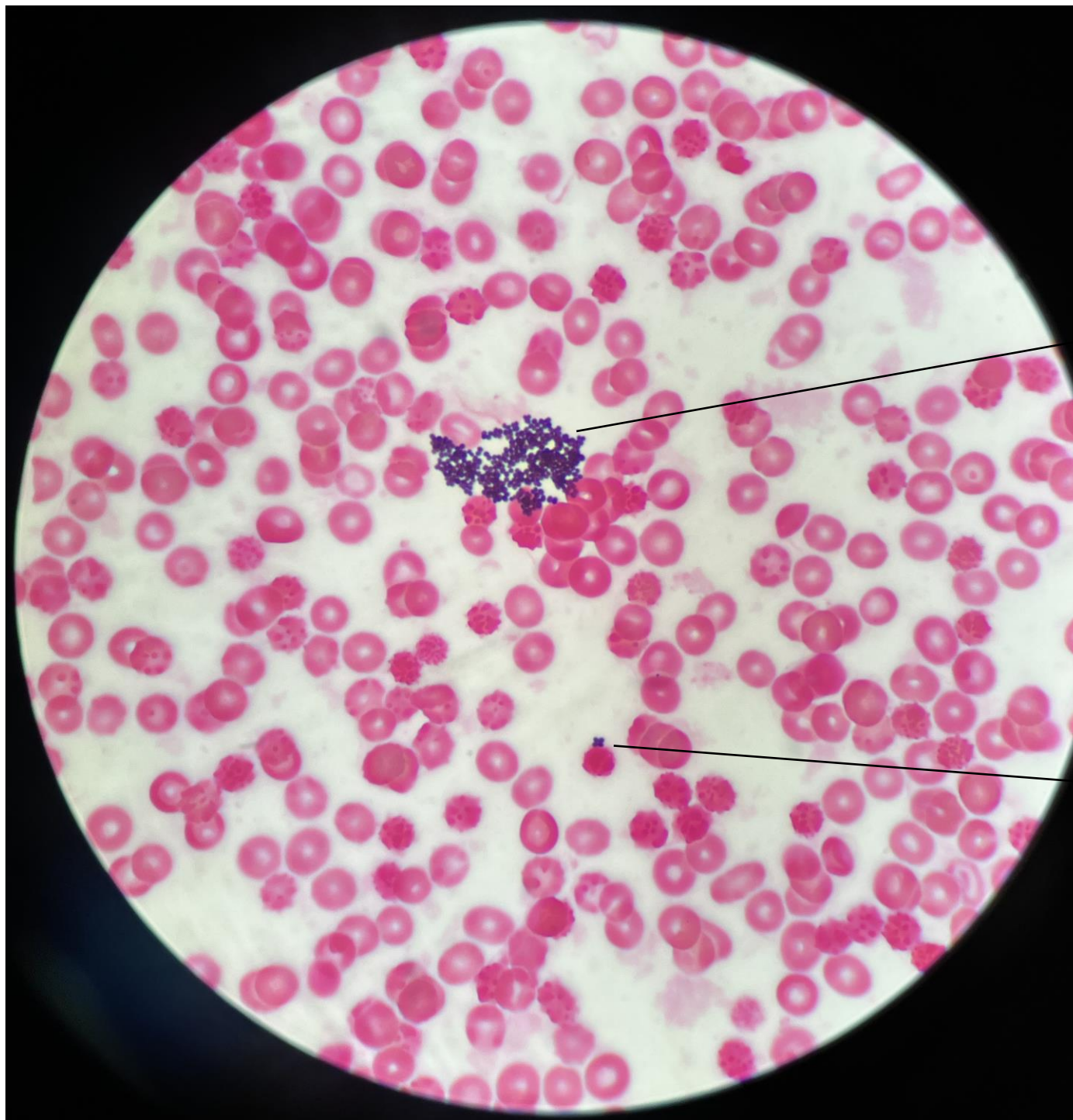
**DIU Stratégies Thérapeutiques et
Préventives en Pathologie Infectieuse**

Typhaine Billard-Pomares
Laboratoire de microbiologie
Hôpital Beaujon
Novembre 2024



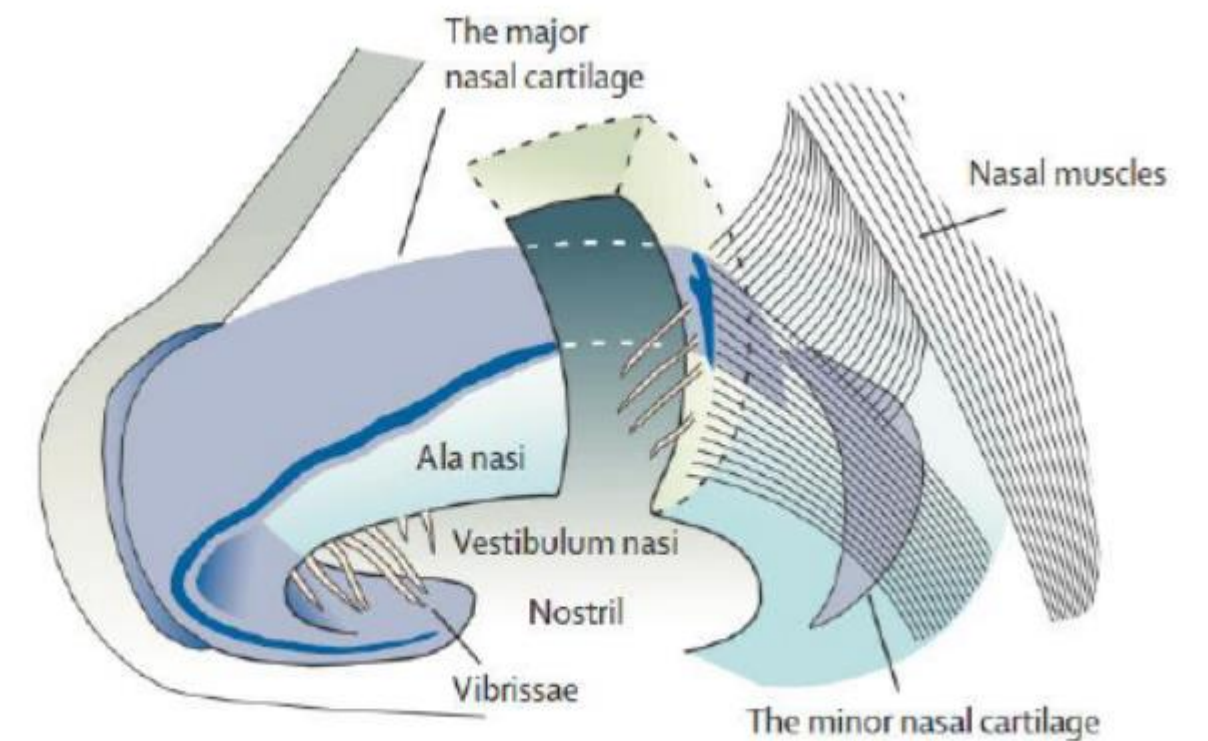
Les staphylocoques

- **Genre *Staphylococcus*** (du grec staphylê, grappe de raisins) : + de 60 espèces
- Cocci à Gram positif groupés en tétrade ou en amas (grappe de raisin)



Staphylococcus aureus

- **Commensal** permanent (~ 20%) ou intermittents (~ 30%) de la peau et des muqueuses de l'homme
 - Nez: région antérieure des fosses nasales (27%)
 - Pharynx (10-20%)
 - Peau (27%)
 - Périnée (22%)
 - Digestif (20%)

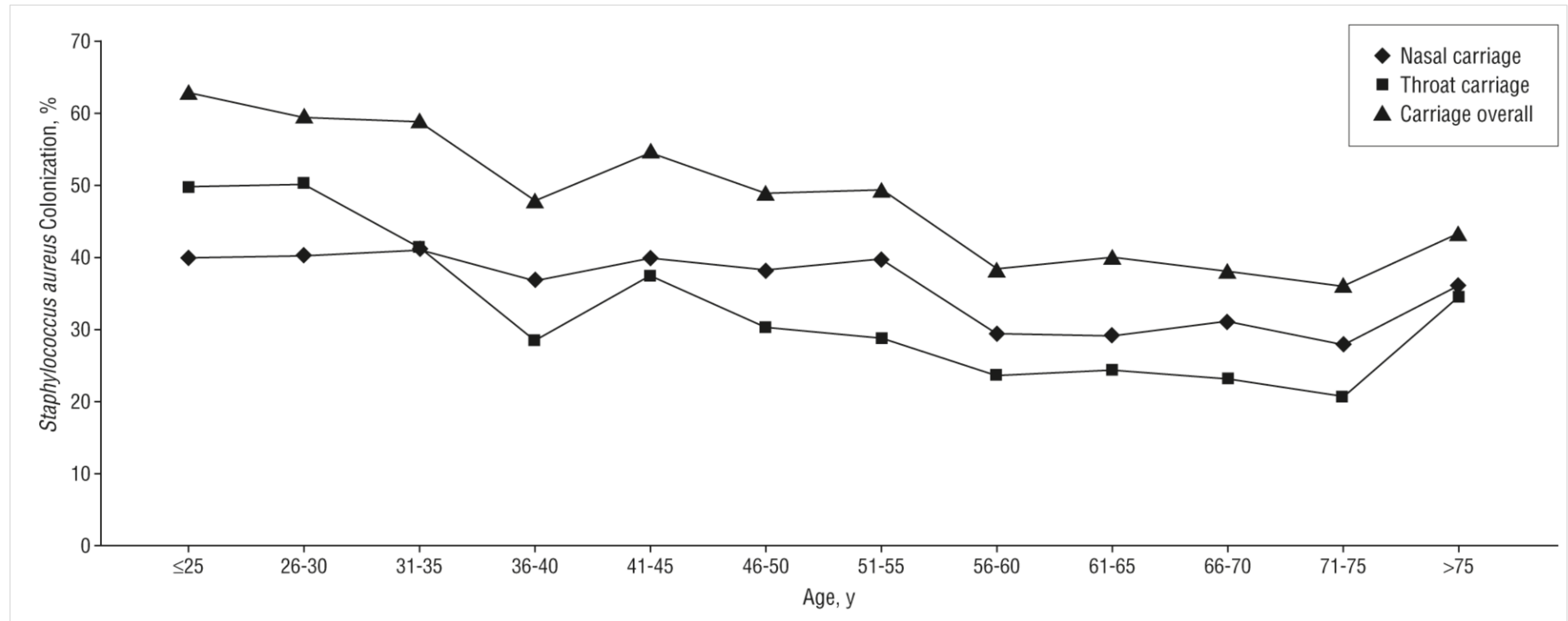


Wertheim et al. Lancet Infect Dis 2005

Ce type de portage est normal et le staphylocoque est considéré comme un membre de la flore bactérienne naturelle de la peau et des muqueuses.

Staphylococcus aureus

- **Commensal** permanent (~ 20%) ou intermittents (~ 30%) de la peau et des muqueuses de l'homme



Staphylococcus aureus

- **Pathogène pour l'homme responsable d'infections communautaires et nosocomiales**
- **Porte d'entrée des infections**
 - Lésions cutanées ou muqueuses
- **Infections suppuratives**
 - Cutanées : folliculite, furoncles, panaris, abcès, impétigo, surinfection de plaie ...
 - Muqueuses : otites, sinusites
 - Généralisées : bactériémies avec ou sans complications (abcès pulmonaires, pleurésies, IOA, ostéomyélite, endocardite...)
- **Infections toxiques**
 - Toxiinfections alimentaires : gastroentérite aiguë (sans fièvre) → entérotoxine thermostable
 - Syndromes staphylococciques cutanés bulleux : Syndrome d'exfoliation généralisée (syndrome de la peau ébouillantée du nouveau-né), impétigo bulleux → exfoliatines
 - Choc toxique staphylococcique → TSST-1

Staphylococcus aureus

- **Facteurs de virulence**

- **Facteurs d'adhésion (colonisation des tissus)**

- Protéine A : se lie au vWF
- Clumping factor (ClfA, ClfB) (protéines de liaison au fibrinogène)

- **Enzymes protégeant la bactérie de la phagocytose**

- Coagulase libre : active prothrombine en thrombine
- Staphylolysine : active plasminogène en plasmine (libération d'embolies septiques)
- Hyaluronidase

- **Toxines**

- Hémolysine
- **Leucocidine de Panton-Valentine** (LPV) (infections cutanées nécrosantes et pneumonie nécrosante, ostéomyélite)
- Entérotoxines (intoxications alimentaires)
- Exfoliatines A et B (syndrome d'exfoliation généralisé, impétigo bulleux localisé)
- **TSST-1** (choc toxique staphylococcique, scarlatine staphylococcique, REDD syndrome) ➔

activité superantigénique (activation polyclonale des lymphocytes T) et libération massive de cytokines



Staphylocoques non aureus



- Staphylocoques non *aureus*: **pathogènes opportunistes** essentiellement responsables d'infections nosocomiales
 - *Staphylococcus epidermidis* : l'espèce la plus fréquemment isolée en milieu hospitalier
 - Infections sur prothèses ostéo-articulaires
 - Infections sur cathéters veineux
 - Septicémies, endocardites sur prothèse valvulaire cardiaque
 - Infections sur valve de dérivation de LCR
- Deux espèces sont responsables d'infections communautaires
 - *S. saprophyticus* : cystite chez la jeune femme
 - *S. lugdunensis* : infections cutanées et endocardites



Résistance naturelle des Staphylocoques

- Les Staphylocoques sont naturellement sensibles aux β -lactamines
- Résistances naturelles
 - Colistine
 - Acide nalidixique
 - Mécillinam
 - Aztréonam
 - Témocilline



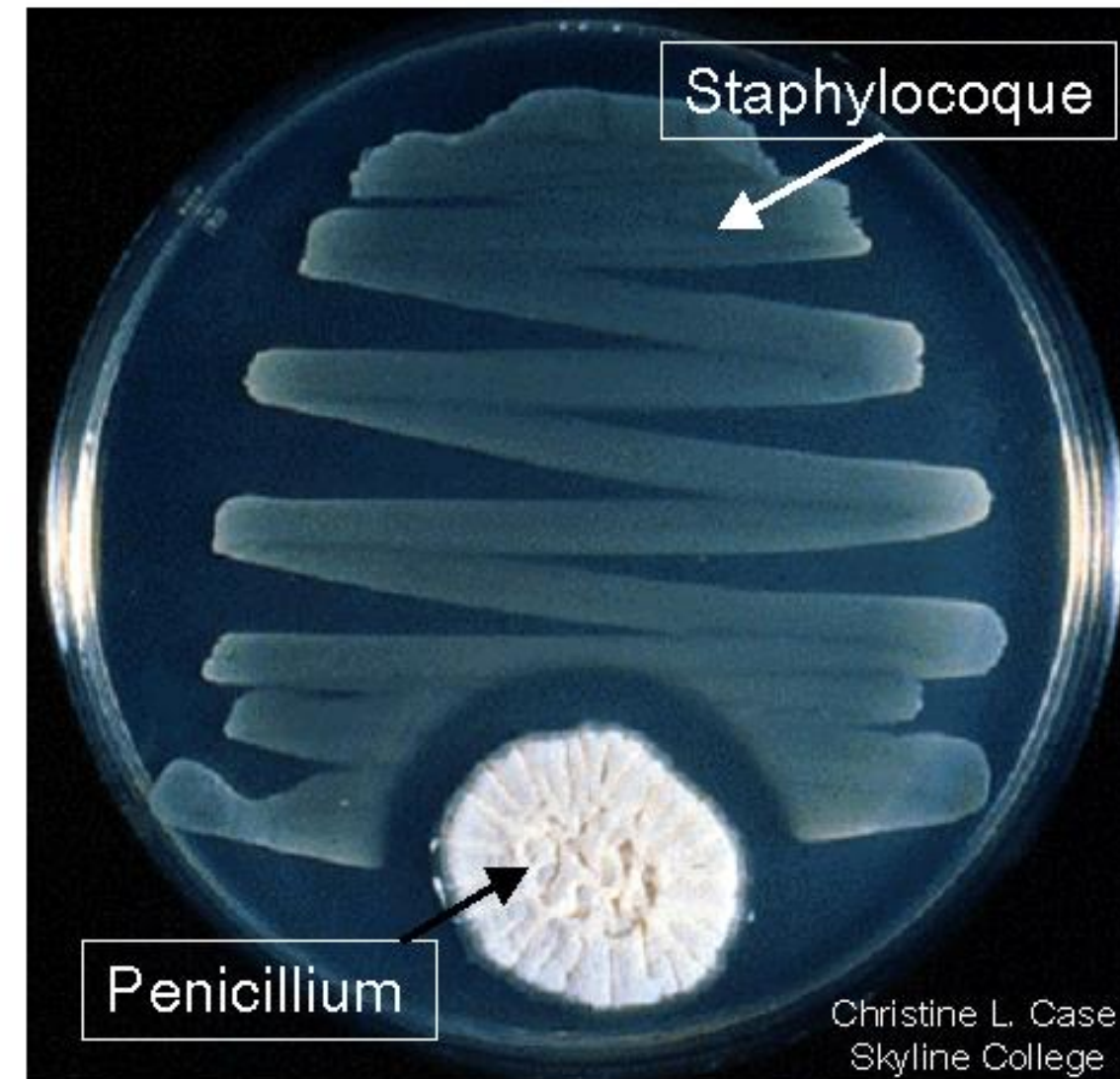
Un peu d'Histoire ...



- Les Staphylocoques sont naturellement sensibles aux β -lactamines



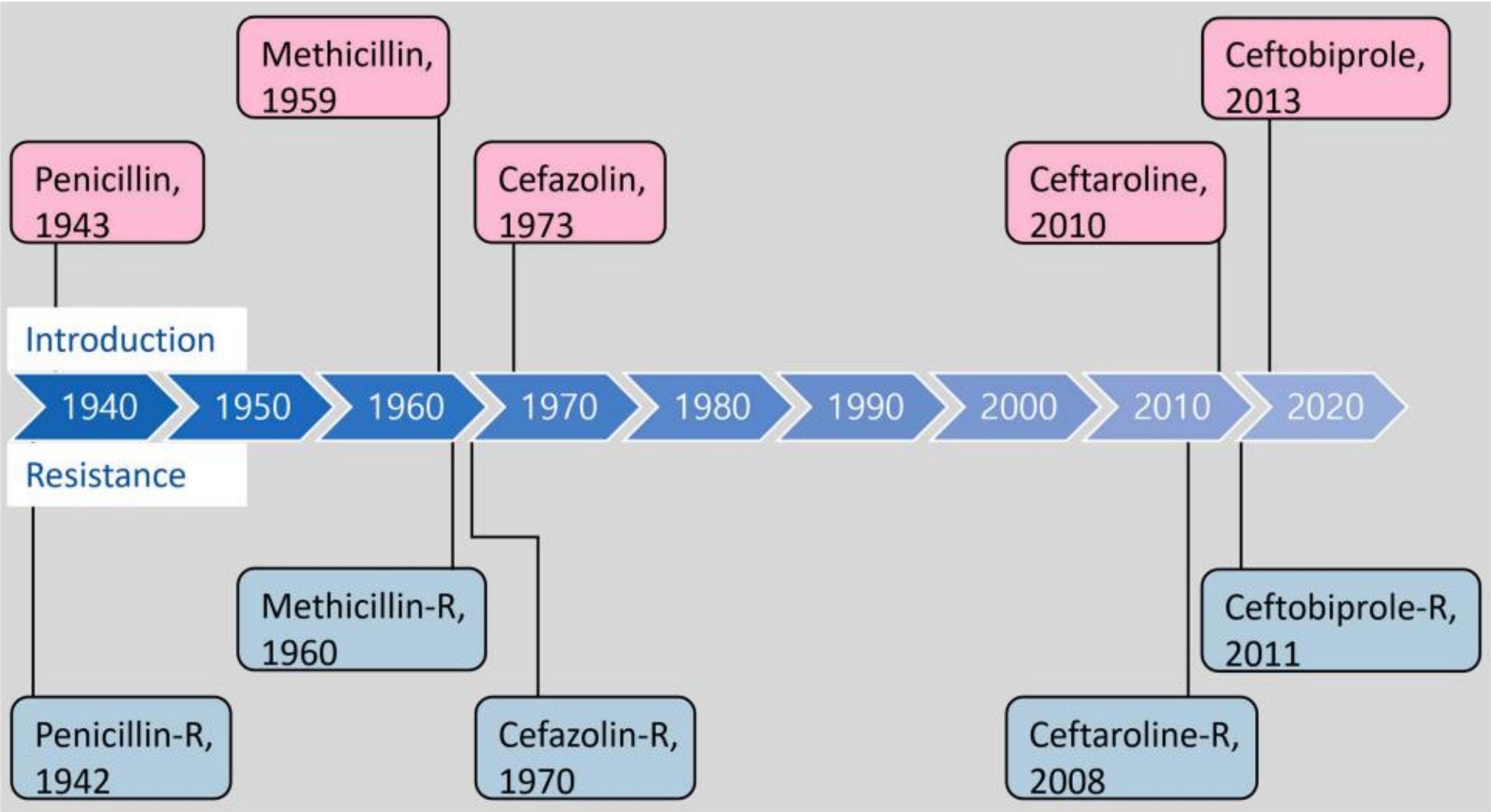
Alexander Fleming (1881 –1955)



On observe que les Staphylocoques ne peuvent pas se développer à proximité de *Penicillium notatum* : en d'autres termes, le *Penicillium* présente toute les caractéristiques d'un antibiotique.

3 Septembre 1928

Histoire de la résistance



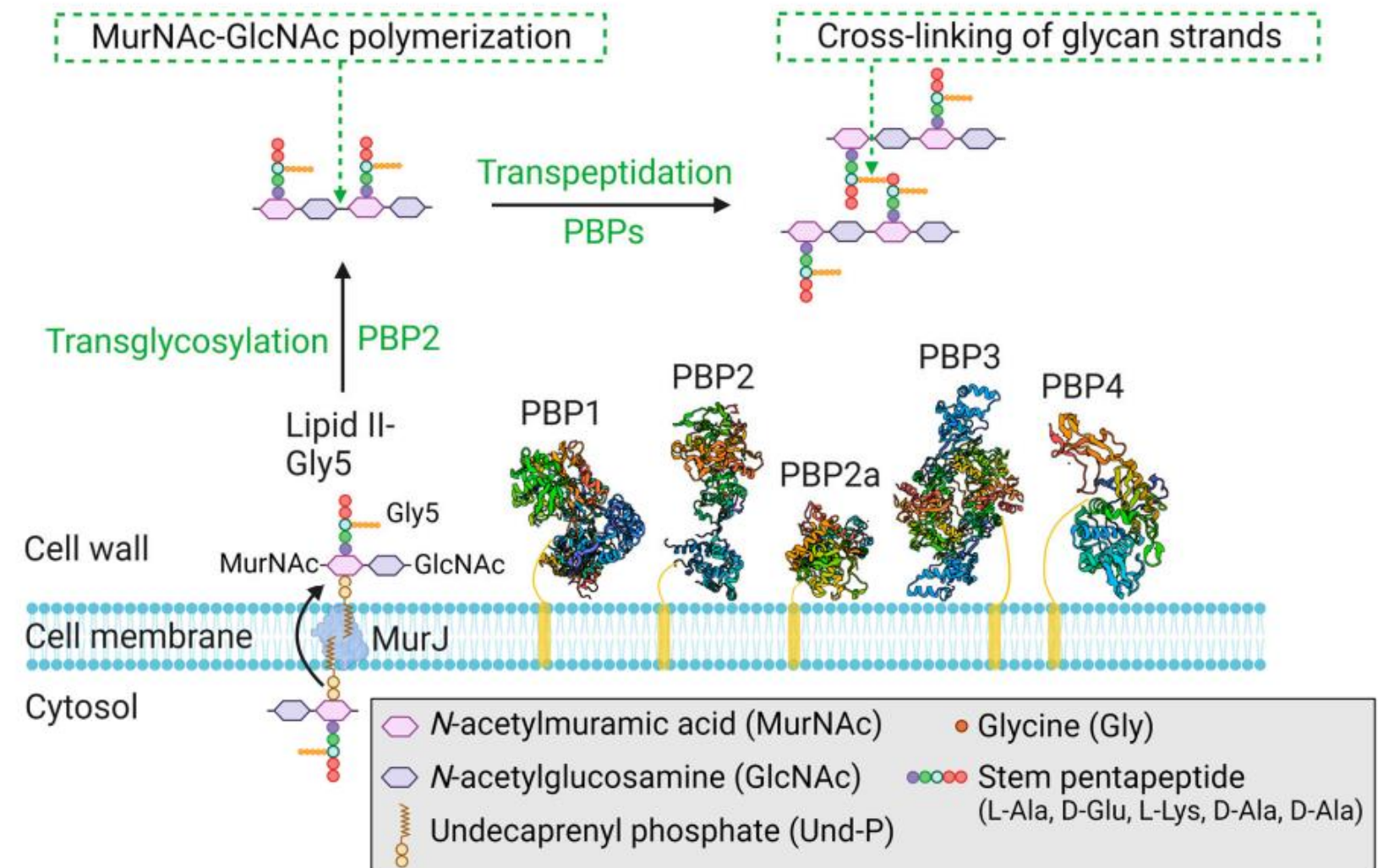
Mode d'action des β -lactamines

- Les Staphylocoques sont naturellement sensibles aux β -lactamines
- Mode d'action des β -lactamines :
 - Affinité pour les PLP (Protéines de Liaison à la Pénicilline)
 - PLP : responsables de la synthèse du peptidoglycane, composant de la paroi (PLP1, PLP2, PLP3, PLP4).



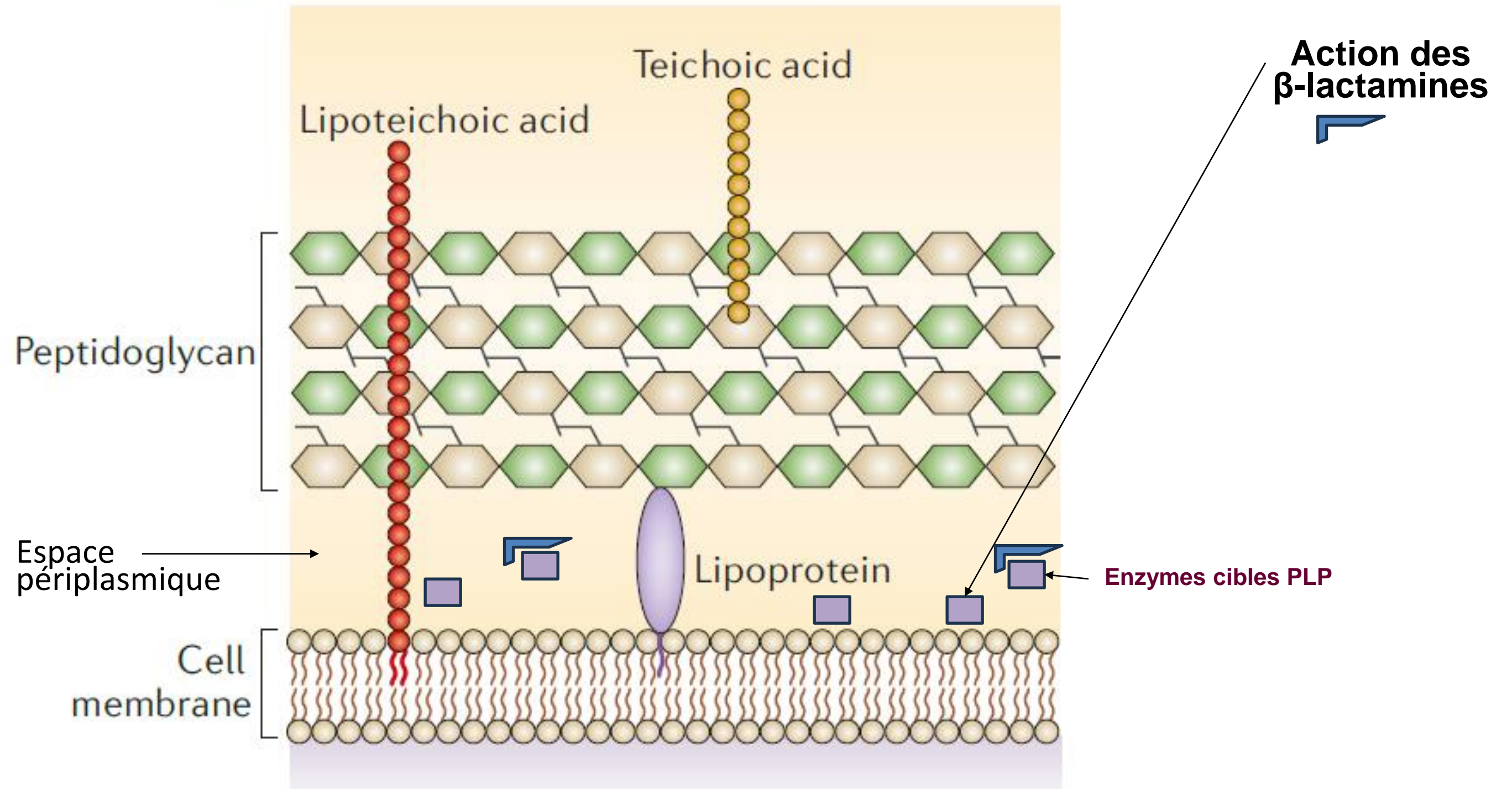
Inhibition de la synthèse de la paroi
lyse bactérienne

- 2 mécanismes de résistance :
 - 1 Production de pénicillinase
 - 2 Modification de la cible (PLP)



Structure de la paroi bactérienne

b Gram-positive bacteria

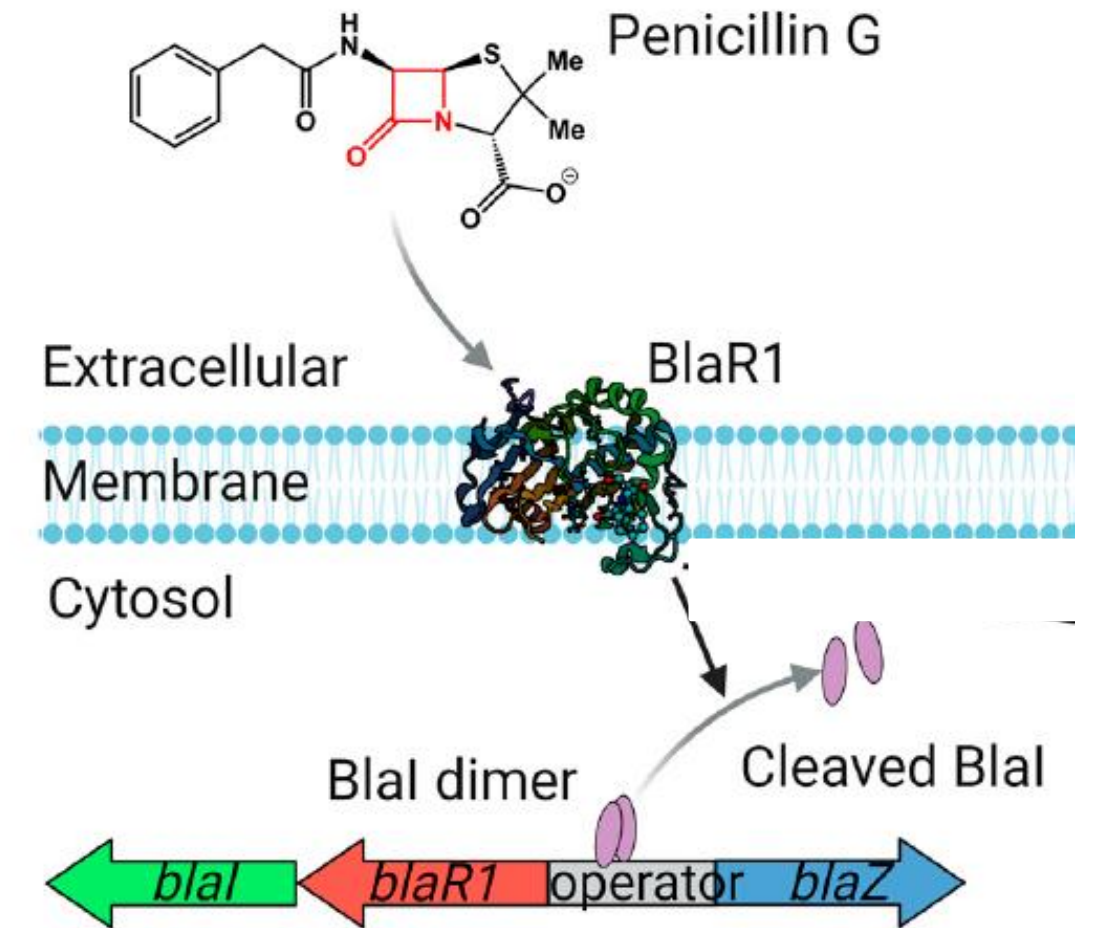


*CMI (mg/L) des β -lactamines vis à vis de souches sauvages de *S. aureus**

β -lactamine	CMI médiane	CMI extrêmes
Pénicilline G	0,03	0,03-0,06
Ampicilline	0,06	0,06-0,12
Oxacilline	0,5	0,25-1
Céfalotine	0,25	0,12-0,5
Céfamandole	0,5	0,12-1
Céfotaxime	2	1-8
Céfoxitine	2	2-4
Moxalactam	8	4-8
Imipénème	0,03	0,01-0,06

1 Production d'une pénicillinase

- Production d'une pénicillinase 90%
- Gène plasmidique *blaZ*
- Enzyme plasmidique inductible
- Résistance Pénicilline G, Amoxicilline, Ticarcilline, Pipéracilline
- Inhibée par l'acide clavulanique
- Sensible à la méticilline (oxacilline et cloxacilline)

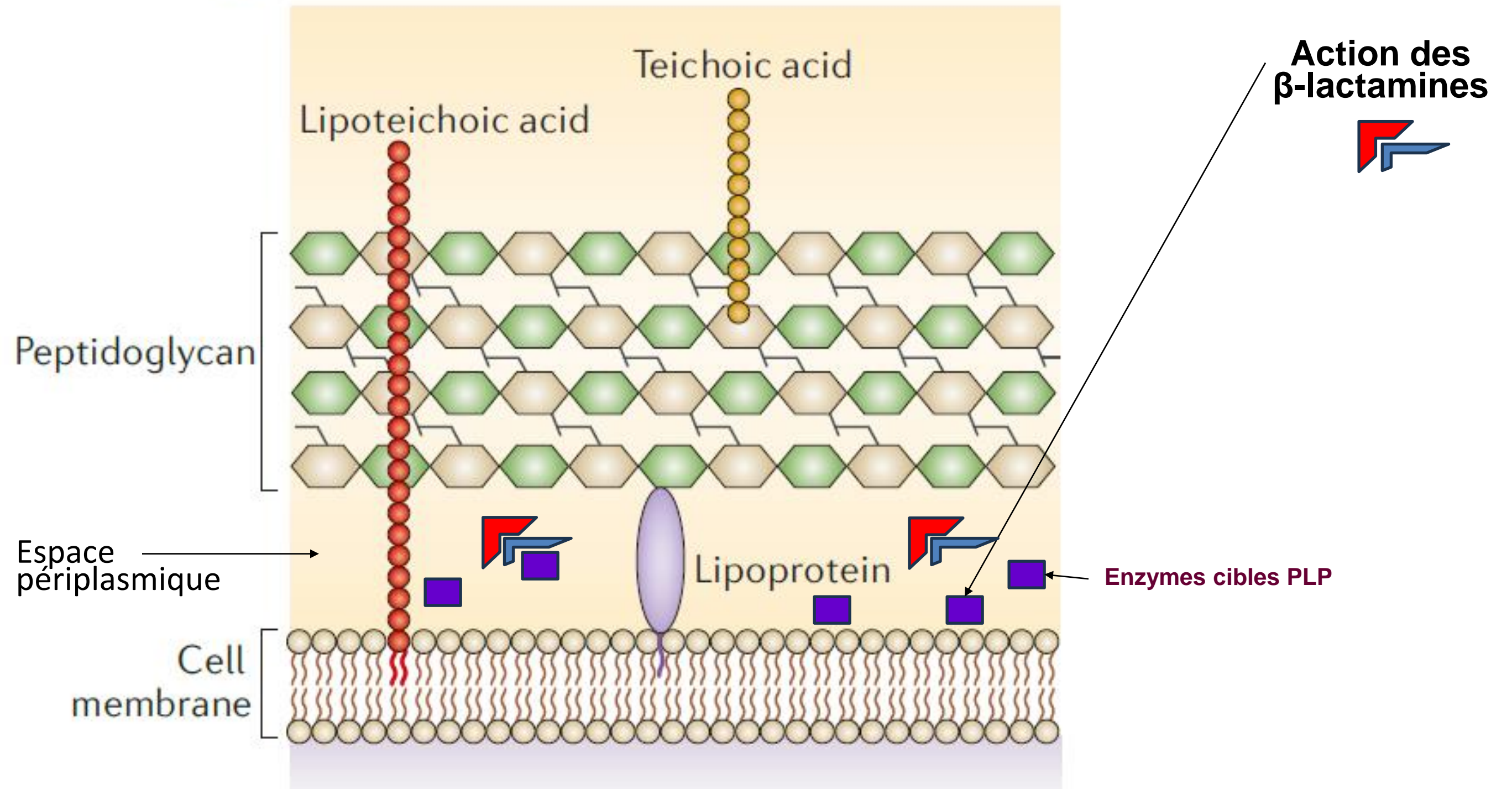


Harshad Lade and Jae-Seok Kim, *Antibiotics*, 2023

Mécanisme	Pénicilline G, Pénicilline A, Carboxipénicilline, Uréidopénicilline	Antibiotique + Inhibiteur de B-lactamase	Pénicilline M	Céphalosporines Carbapénème	Ceftaroline Ceftobiprole (C5G)
Sauvage	S	S	S	S	S
Pénicillinase	R	S	S	S	S

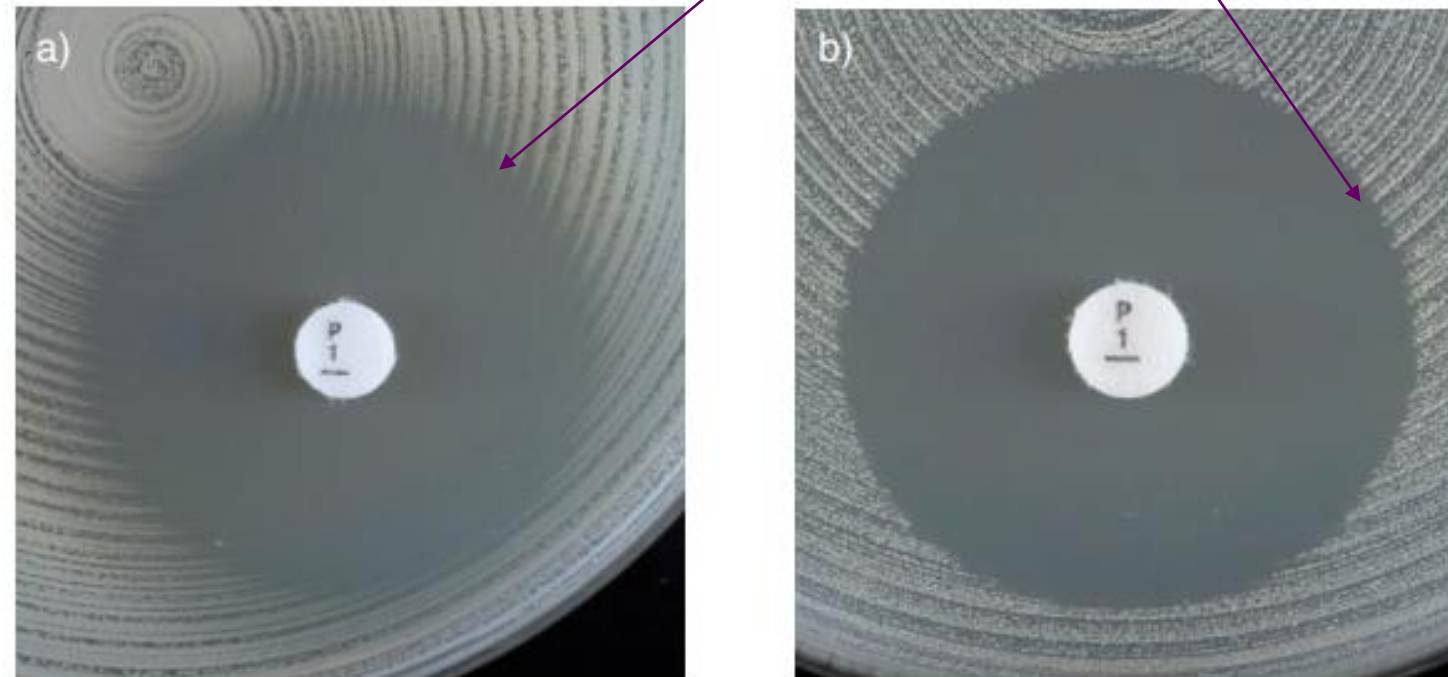
1 Production d'une pénicillinase

b Gram-positive bacteria



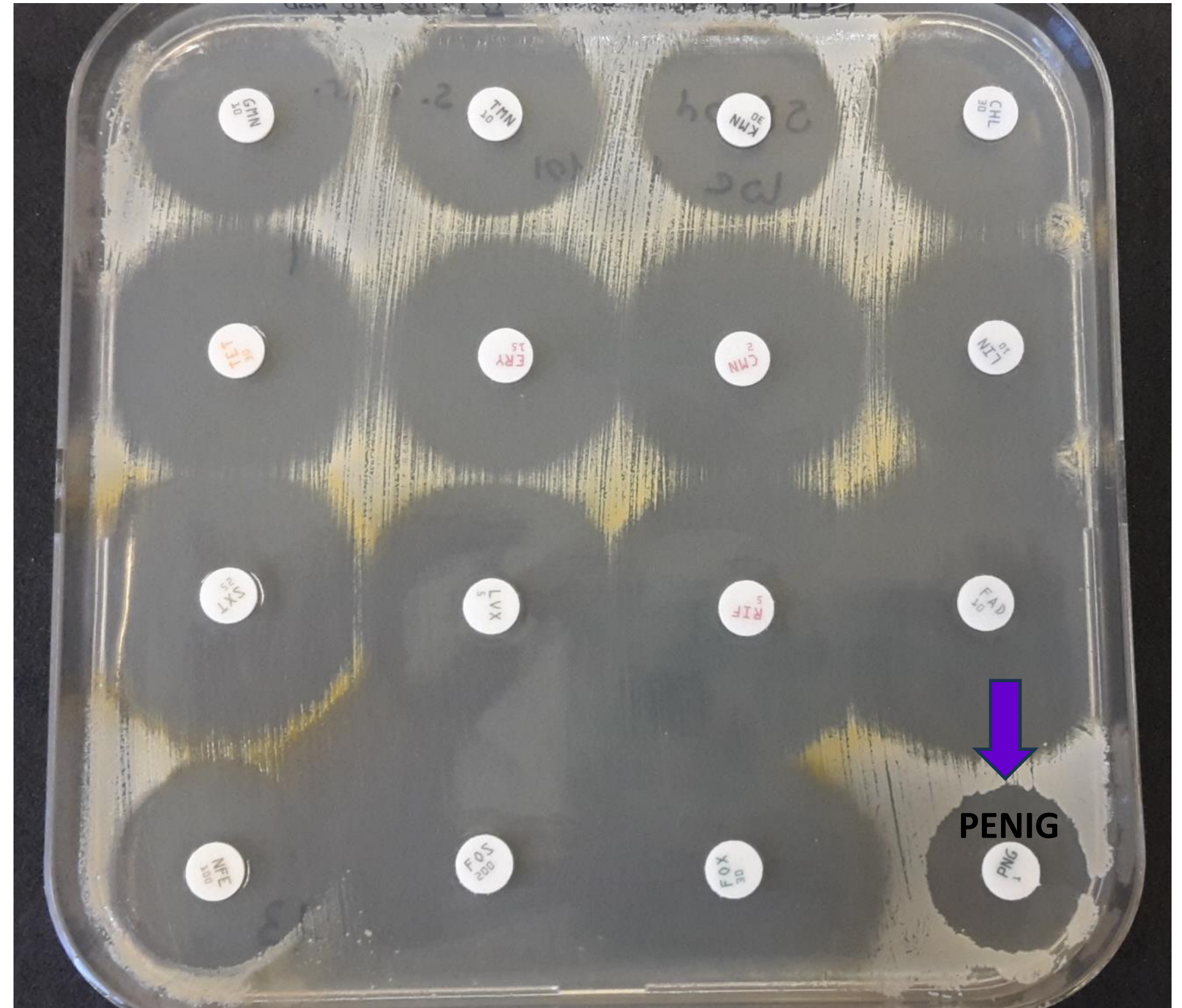
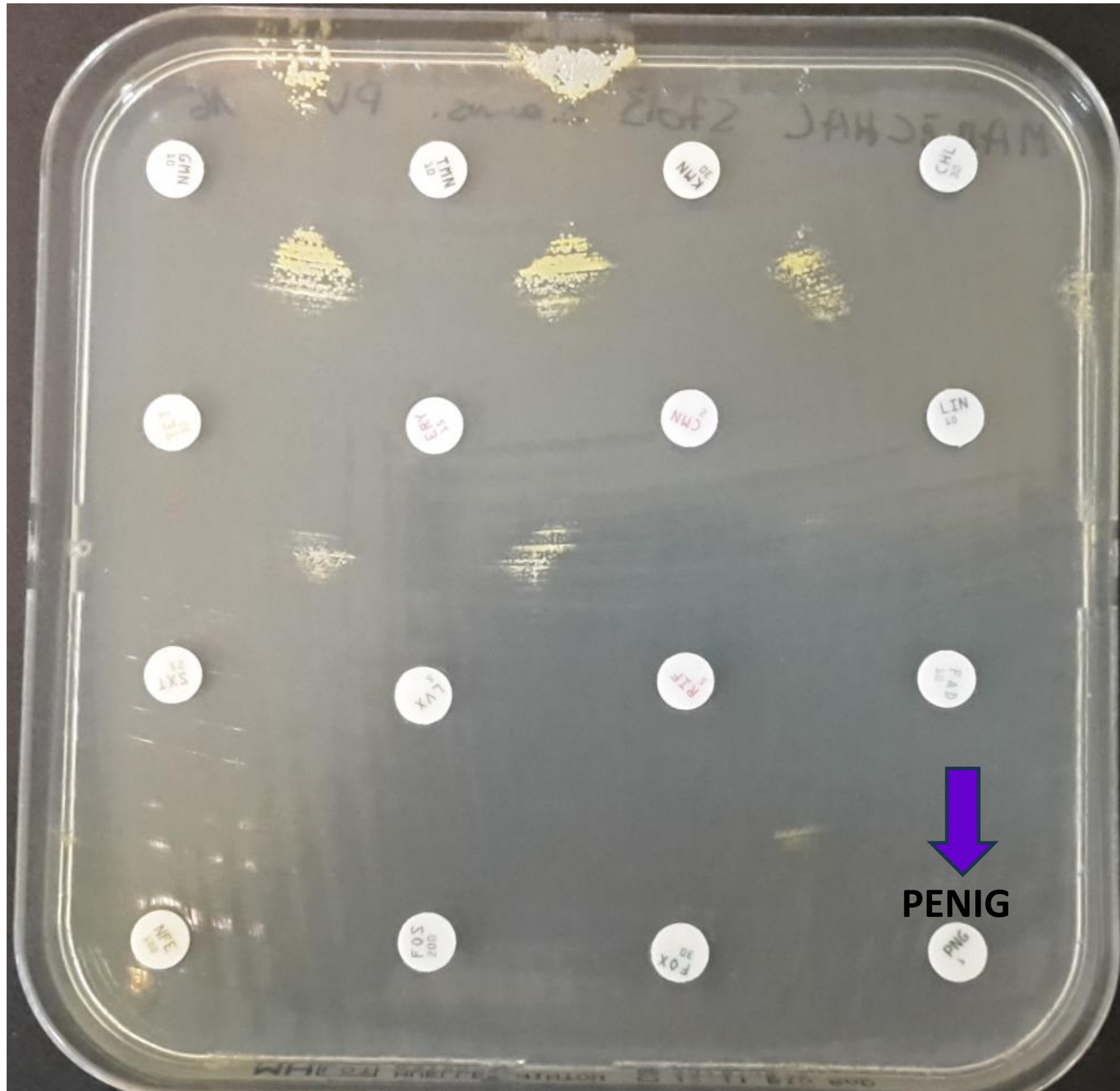
1 Production d'une pénicillinase

- Mise en évidence de la résistance (Recommandations CA-SFM EUCAST 2024)
 - Antibiogramme par diffusion en milieu gélosé pour visualiser le diamètre d'inhibition de la Pénig 1U et **l'aspect de la bordure**
 - $\emptyset < 26$ mm : **résistant**
 - $\emptyset \geq 26$ mm ET si la bordure est floue : **sensible**
 - $\emptyset \geq 26$ mm ET si la bordure est nette : **résistant**

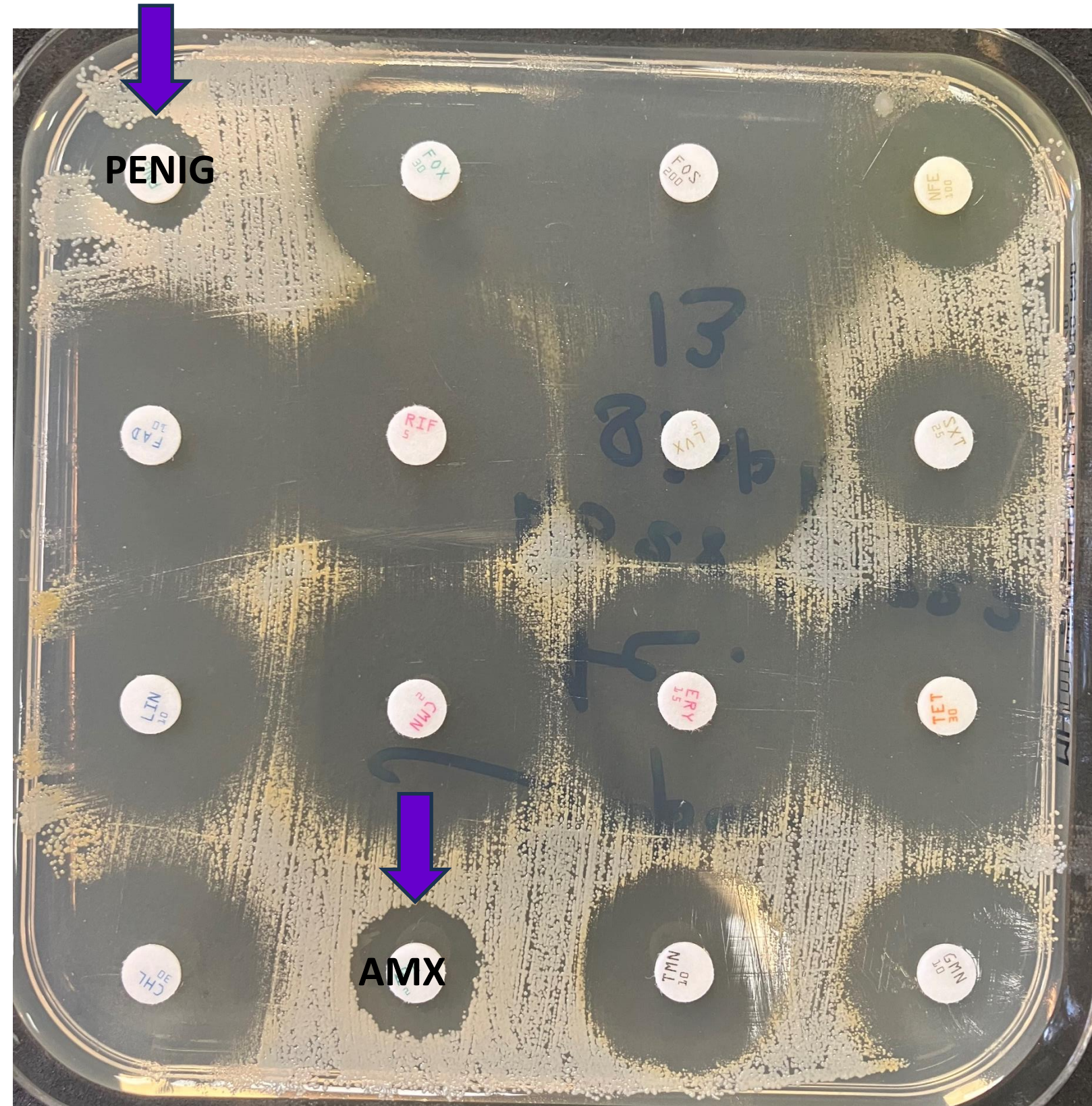


Uniquement pour *S. aureus* et
lugdunensis

1 *Production d'une pénicillinase*

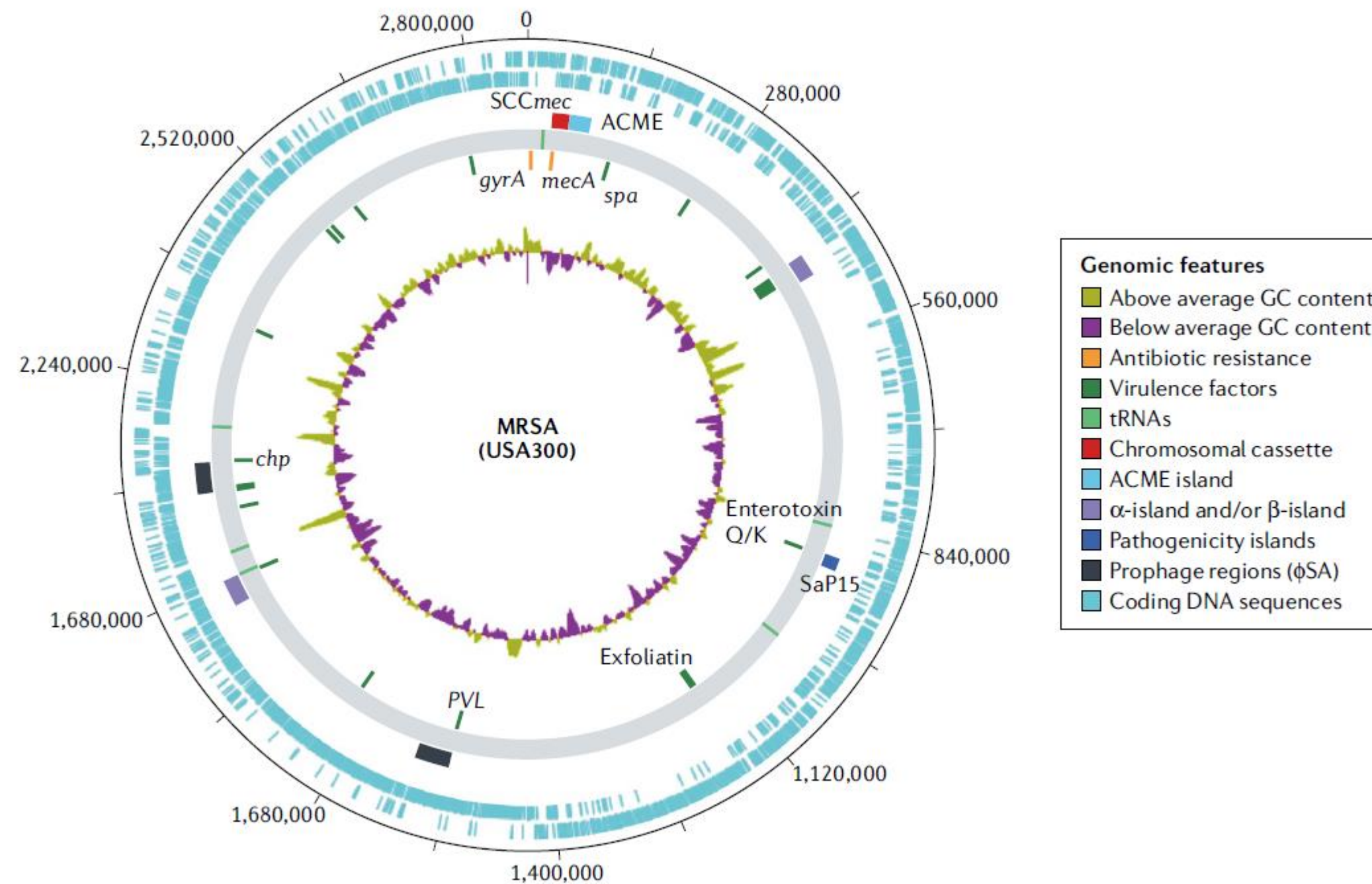


1 *Production d'une pénicillinase*



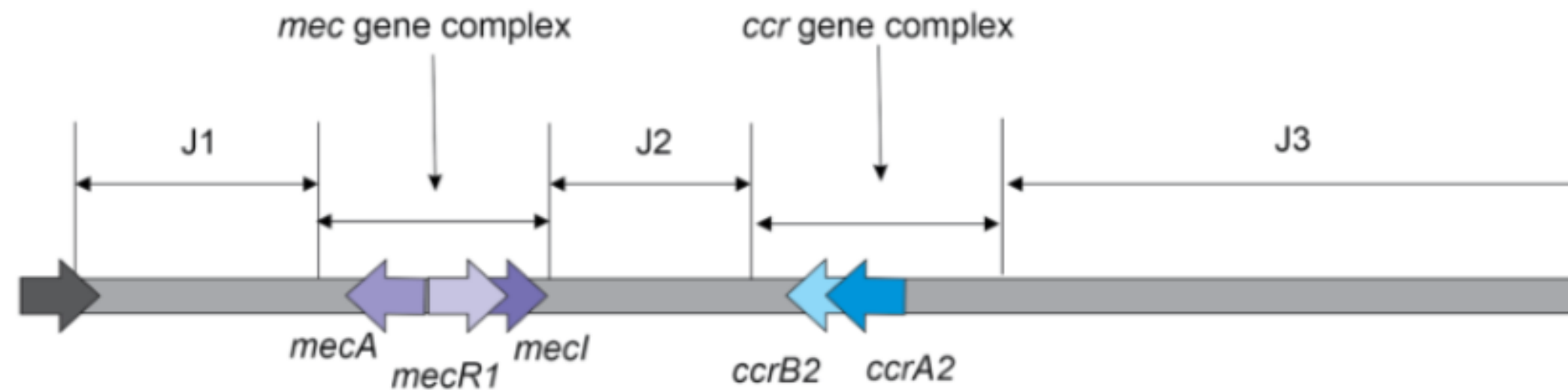
2 *Modification de la cible*

- Présence d'une PLP additionnelle **PLP2a**
- Résistance chromosomique : liée à la présence du **gène *mecA***



2 *Modification de la cible*

- Gène *mecA* = fragment d'ADN 2,1 kb codant la protéine liant la pénicilline additionnelle (**PLP2a**)
- Gène inclus dans la cassette staphylococcique SCCmec (Staphylococcal Cassette Chromosome)



- Expression du gène (donc la quantité de PLP2a produite) complexe :
 - gènes régulateurs : *mecI* (répresseur) *mecR1* (co-inducteur)
 - 6 autres gènes régulant l'expression (*fem* ou *aux*) situés sur le chromosome




2 Modification de la cible

- La combinaison des différentes classes de complexe *mec* et de complexe recombinauses permet de définir 15 types de cassettes



CRITICAL REVIEWS IN MICROBIOLOGY
2024, VOL. 50, NO. 6, 1020–1036
<https://doi.org/10.1080/1040841X.2023.2274841>

REVIEW ARTICLE

Current types of staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) in clinically relevant coagulase-negative staphylococcal (CoNS) species

Mariola Wolska-Gębarzewska^{a,b} , Jacek Międzobrodzki^a  and Maja Kosecka-Strojek^a 



 OPEN ACCESS  Check for updates

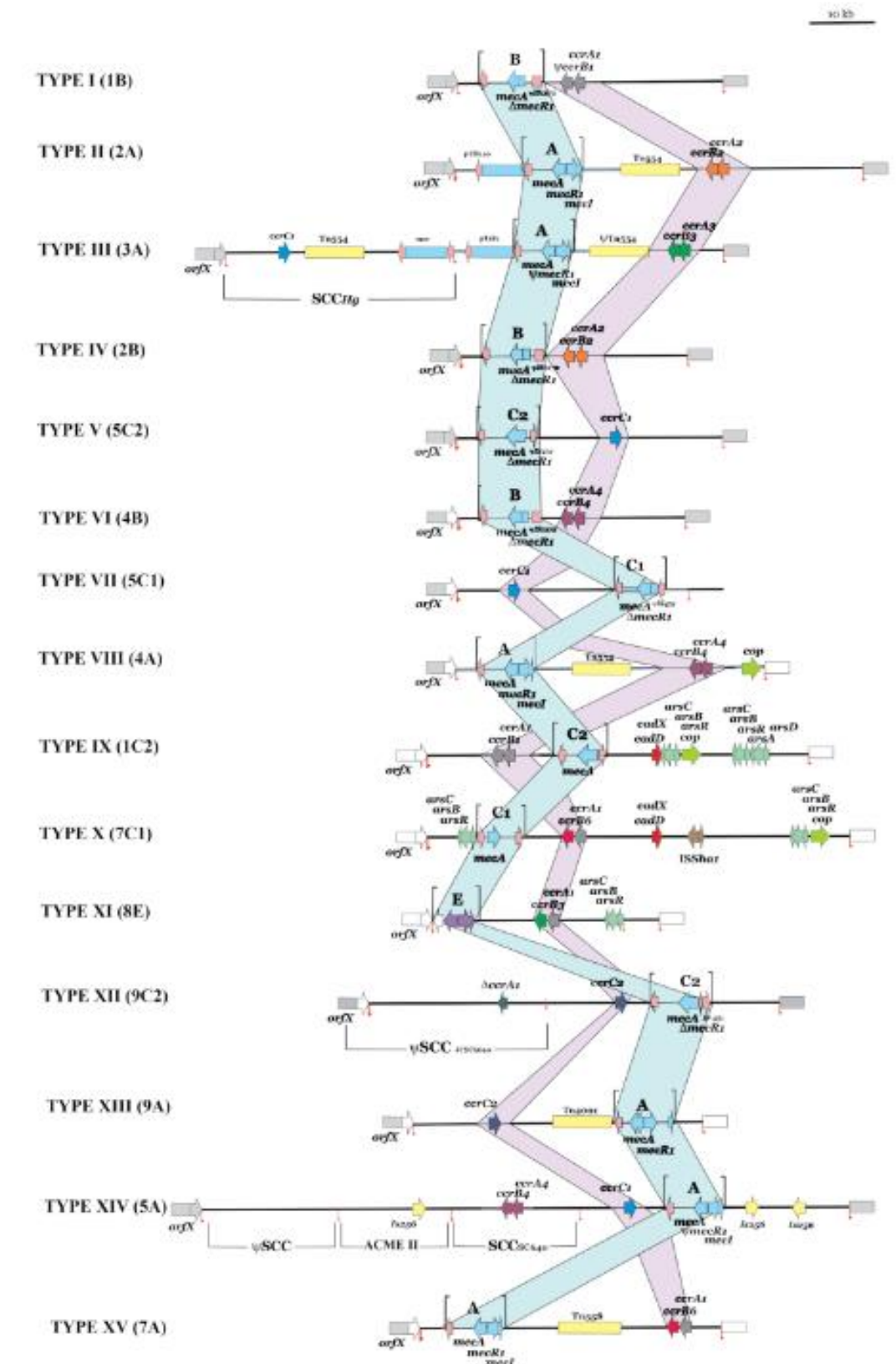
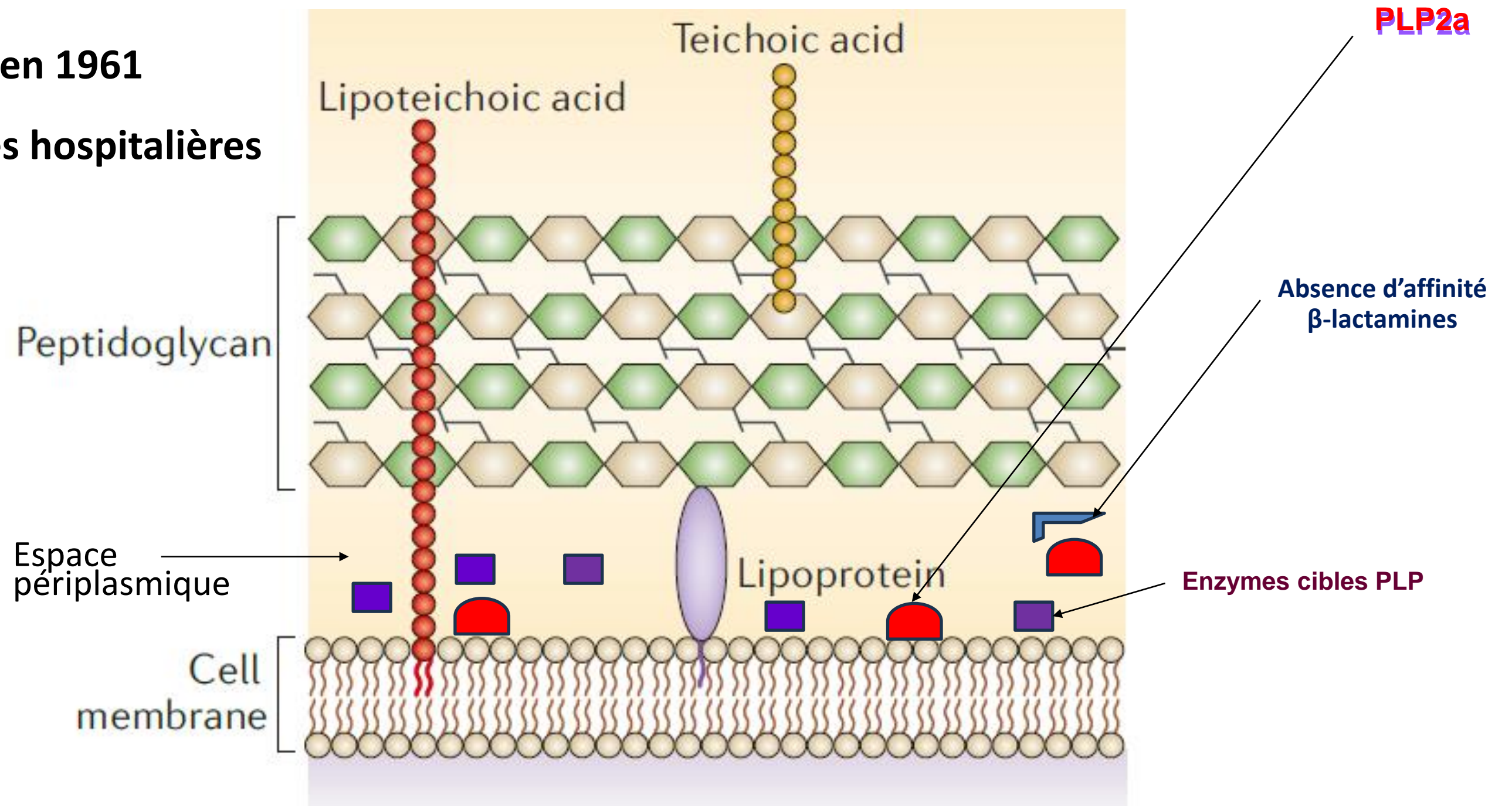


Figure 3. Structures of current SCC*mec* types. The *mec* and *ccr* gene complexes are shaded pink and blue, respectively. The figure is adapted from IWG-SCC commentary, 2009, ASM and Balg et al. (2018) with authors permission.

2 *Modification de la cible*

- La **PLP2a** a une faible affinité pour la **méticilline** et les autres **β -lactamines**
- « Méricillino-résistance »
- Résistance apparue en 1961
- Surtout chez souches hospitalières



2 *Modification de la cible*

- Résistance à **TOUTES** les β -lactamines sauf ceftaroline et ceftobiprole
- Activité **NON RÉCUPÉRÉE** par les inhibiteurs de β -lactamases
- Résistance peut être :
 - **homogène** : toute la population exprime la résistance
 - **hétérogène** : une fraction de la population exprime la résistance (1 sur 10^4 ou 10^6).
- Souvent résistance à d'autres antibiotiques



Mécanisme	Pénicilline G, Pénicilline A, Carboxipénicilline, Uréidopénicilline	Antibiotique + Inhibiteur de β -lactamase	Pénicilline M	Céphalosporines Carbapénème	Ceftaroline Ceftobiprole (C5G)
Sauvage	S	S	S	S	S
Pénicillinase	R	S	S	S	S
Modification des PLP gène <i>mecA</i>	R	R	R	R	S

/!\ Très rares souches résistantes décrites : mutations PLP4 pour SASM et mutations PLP2a pour SARM

CASFM-2024

2/D. Les souches catégorisées « sensibles à forte posologie » ou « résistantes » à la ceftaroline ou résistantes au ceftobiprole sont rares. Vérifier le résultat ainsi que l'identification, et envoyer la souche à un laboratoire référent pour expertise si les résultats sont confirmés.

Détection de la résistance

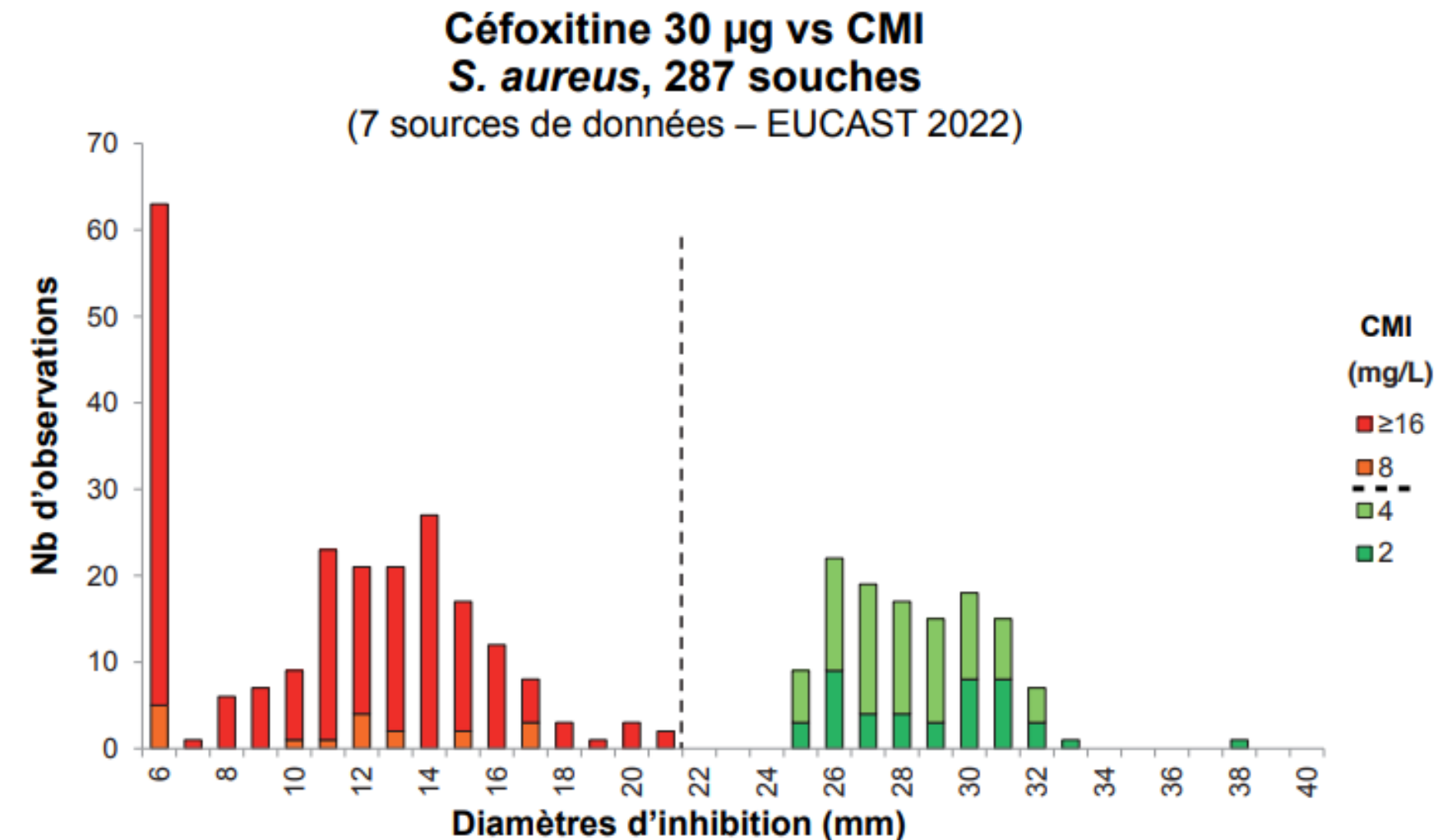
➤ Mise en évidence de la méticillino-résistance (Recommandations CA-SFM EUCAST 2024)

• Antibiogramme par diffusion en milieu solide (gélose MH) à partir de colonies

➤ Test de dépistage avec la **céfoxitine** (30 µg) :

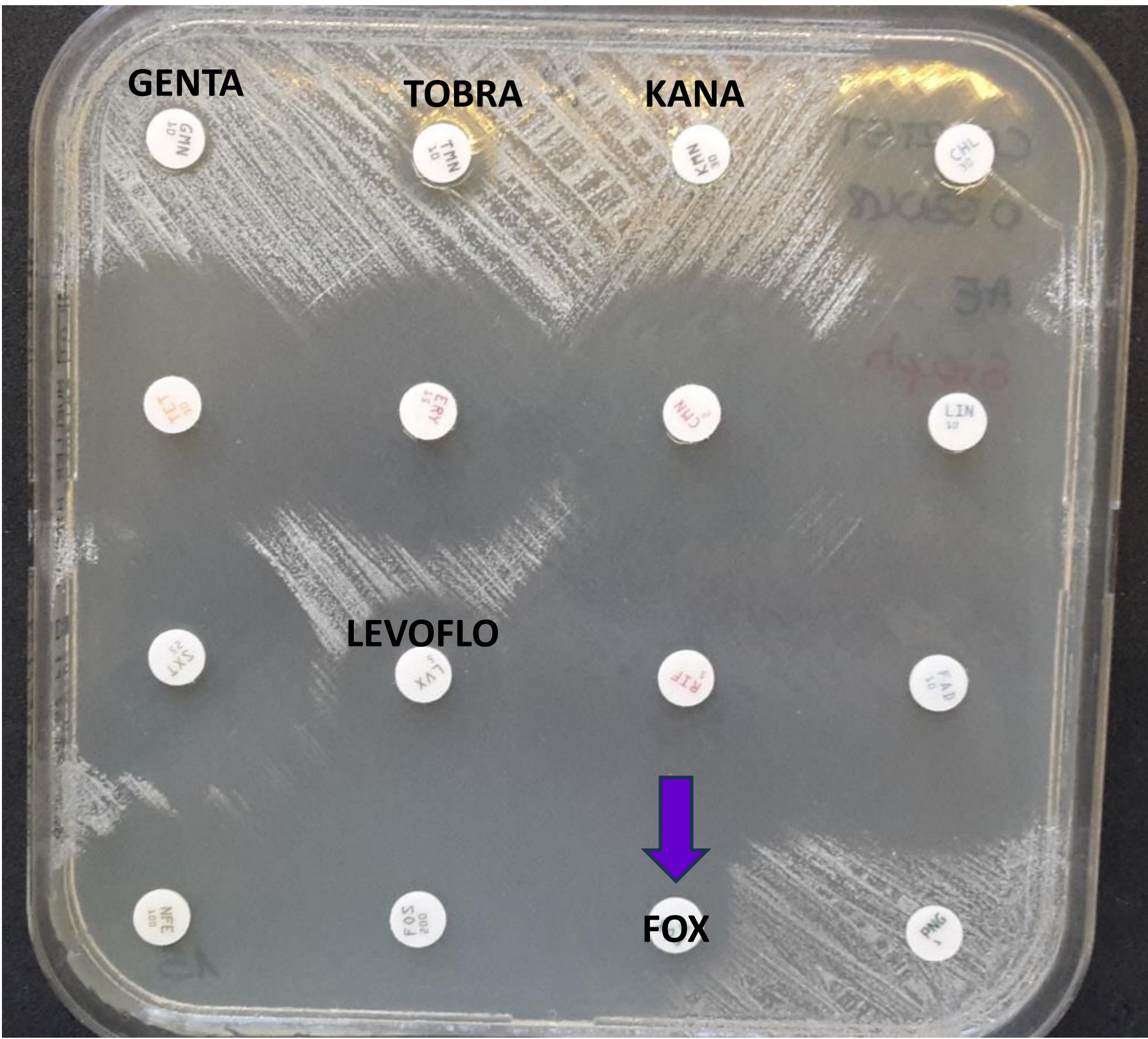
Ø < 22 mm : **résistant** *Staphylococcus aureus*
Ø ≥ 22 mm : **sensible**

Ø < 27 mm : **résistant**
Ø ≥ 27 mm : **sensible** *Staphylococcus epidermidis*, *S. lugdunensis*

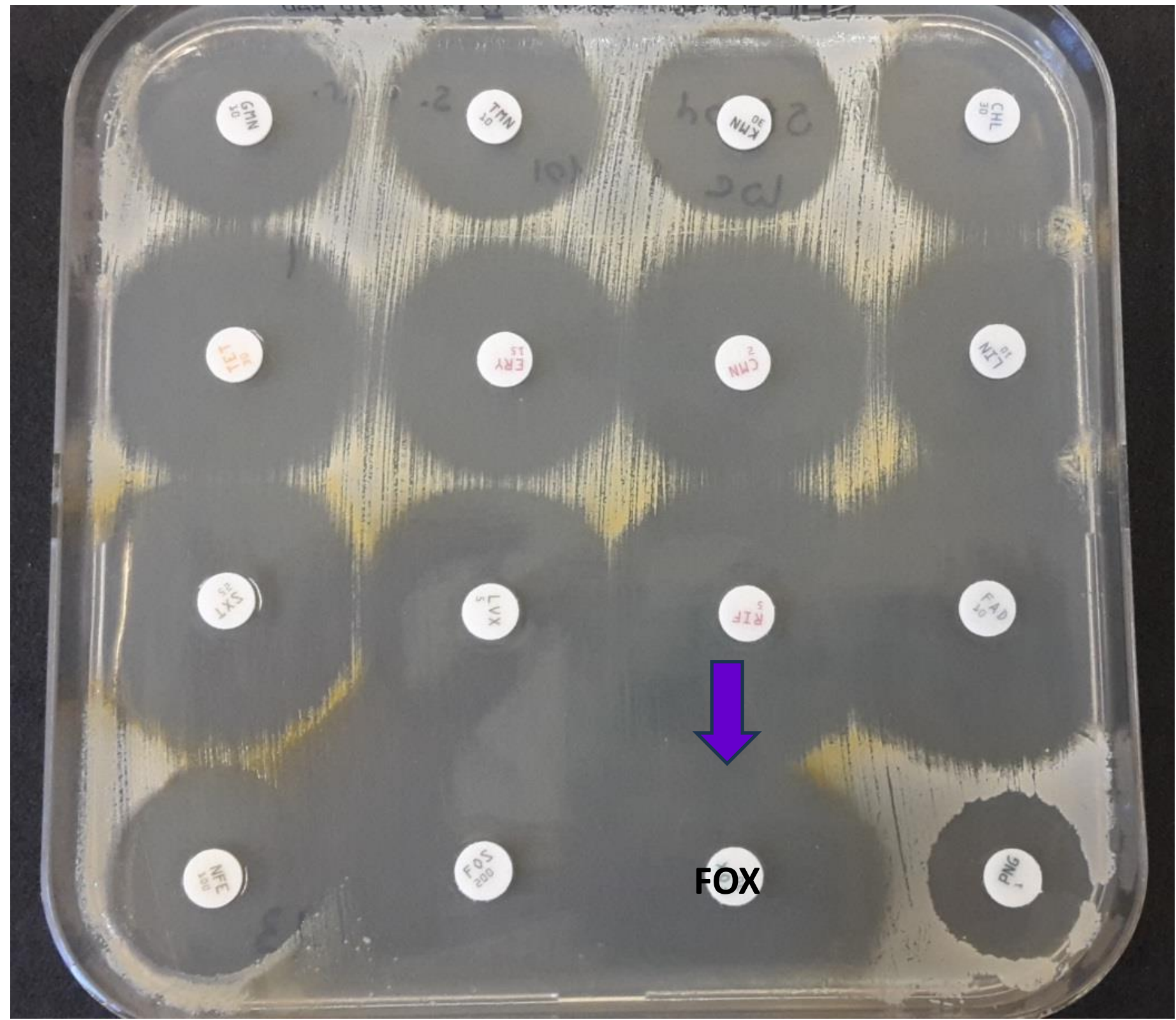


Détection de la résistance

SARM



SASM



Détection de la résistance

➤ Ensemencement sur milieu chromogène à partir des échantillons

- Nombreux milieux développés
- Performances différentes selon milieu
- Résultats en 24H



TABLE 1 Summary of the diagnostic performance of both media^a

Performance	Direct culture at incubation time of:		
	SMART	chromID	OX2
No. with result of			
True positive	71	54	65
False negative	36	53	42
True negative	1,102	1,105	1,110
False positive	11	8	3
Sensitivity (% [no./total no.])	66.4 (71/107)	50.5 (54/107)	60.7 (65/107)
Specificity (% [no./total no.])	99.0 (1,102/1,113)	99.3 (1,105/1,113)	99.7 (1,110/1,113)
PPV (% [no./total no.])	86.6 (71/82)	87.1 (54/62)	95.6 (65/68)
NPV (% [no./total no.])	96.8 (1,102/1,138)	95.4 (1,105/1,158)	96.4 (1,110/1,152)
High selectivity (%)	88.2	89.0	92.5

^a Total number of samples, 1220; no. of MRSA isolates, 107.



Prospective Two-Center Comparison of Three Chromogenic Agars for Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Screening in Hospitalized Patients

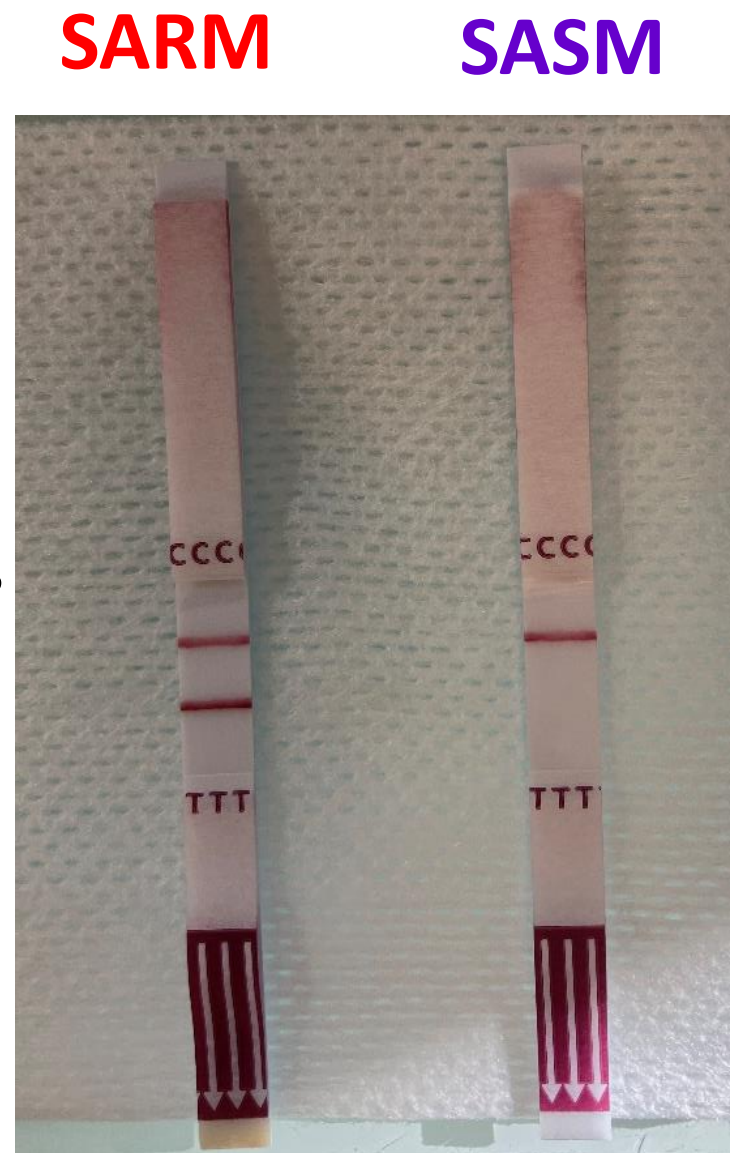
Magali Dodémont,^a Carlo Verhulst,^b Claire Nonhoff,^a Carole Nagant,^a Olivier Denis,^a Jan Kluytmans^b

National Reference Centre-*Staphylococcus aureus*, Department of Microbiology, Hôpital Erasme, Université Libre de Bruxelles, Brussels, Belgium^a; Amphia Hospital, Breda, The Netherlands^b

Détection de la résistance

➤ Tests rapides de détection de la résistance à la métilcilline

- Détection de la PLP2a par immunochromatographie
- A partir de colonies de *S. aureus*
- Principe : Utilisation d'anticorps monoclonaux recombinants pour détecter la protéine PLP2a
- Test réalisé en 5 min
- Sensibilité 100%
- Spécificité 98,5%

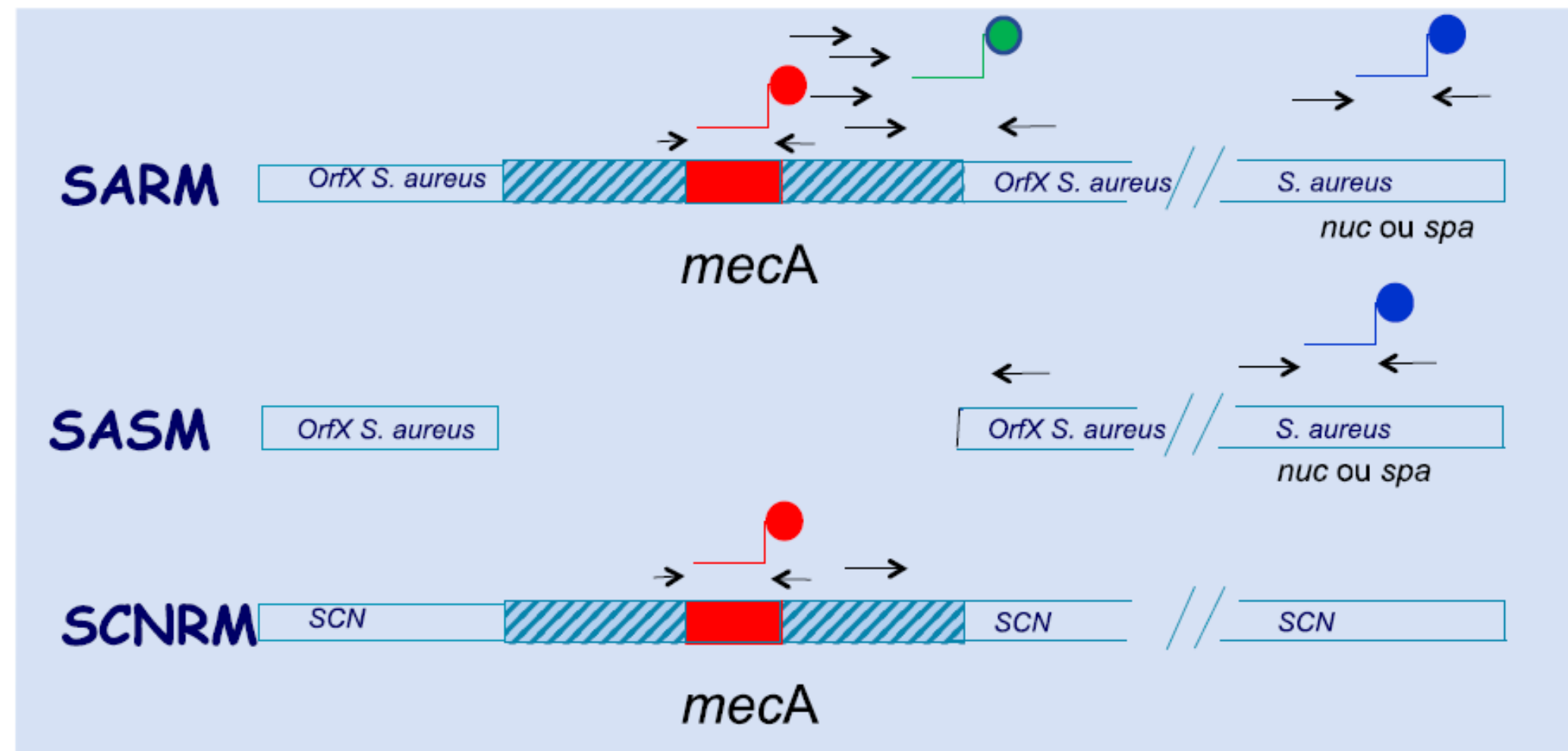


Détection de la résistance

➤ Tests rapides de détection de la résistance à la métilcilline

- Diagnostic rapide par PCR en temps réel
- Excellentes sensibilités et spécificités

- Amplification du gène **mecA**
- Détection à partir de :
 - Flacons d'hémocultures
 - Cultures et antibiogrammes
 - Biopsies
- Sondes utilisées :
 - **spa** : protéine A spécifique de *S. aureus*
 - **mecA**
 - **Cassette SCC mec (site attB)**



Attention au variant *mecC*

Review

Cell
PRESS

The emergence of *mecC* methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

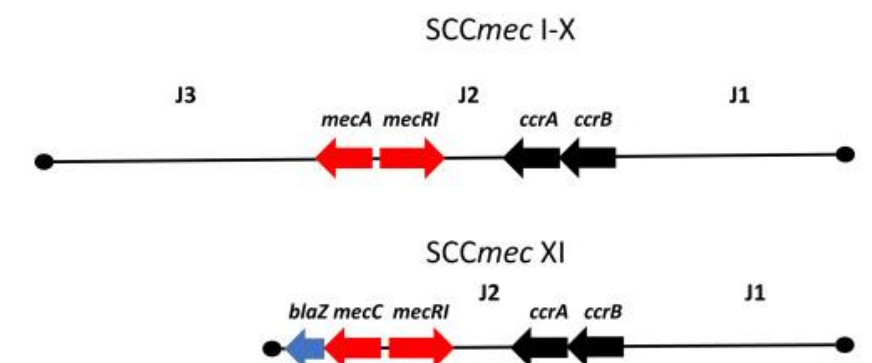
Gavin K. Paterson, Ewan M. Harrison, and Mark A. Holmes

Department of Veterinary Medicine, University of Cambridge, Cambridge CB3 0ES, UK

MRSA Harboring *mecA* Variant Gene *mecC*, France

Frederic Laurent, Hubert Chardon,
Marisa Haenni, Michele Bes,
Marie-Elisabeth Reverdy, Jean-Yves Madec,
Evelyne Lagier, François Vandenesch,
and Anne Tristan

- *mecC* ~69% d'homologie avec *mecA*
- *mecC* code une **PLP2c** (faible affinité pour les β -lactamines)
- PLP2C ~63% d'homologie versus PLP2A au niveau des acides aminés
- Souvent résistance isolée à la méticilline (pas multirésistant)
- Prévalence faible en France (2018-2022 : 38 souches reçues au CNR, données CNR des Staphylocoques, Lyon)
- Retrouvé chez l'homme et l'animal (Diaz R et al. 2016. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying the new *mecC* gene—a meta-analysis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 84:135–140)



[Sign in to download full-size image](#)

Figure 2. Organization of SCCmec elements. The filled circles represent insertion of the mobile genetic element into the same site within *orfX*. *mecA* and *mecC* encode PBP2a variants. *mecRI* encode regulatory genes that are disrupted in some SCCmec variants. *ccrA* and *ccrB* specify site-specific recombinases. J1, J2 and J3 denote joining regions into which a variety of insertions occur in different SCCmec variants.

[Encyclopedia of Dairy Sciences \(Third Edition\), 2022](#)

Attention au variant *mecC*

➤ Détection des souches *mecC*

- Antibiogramme par diffusion : ne compter que sur le disque de céfoxitine
- Détection immunochromatographique : après induction par la céfoxitine+++
(Sans induction : 14% de positif ; avec induction : 100% de positif)

TABLE 1 Comparison of the sensitivities of the PBP2a CCT and the PBP2' LAT for a collection of 115 *mecC*-positive isolates

Multilocus sequence typing clonal complex	No. of isolates tested	<i>spa</i> types	PBP2' LAT (Oxoid)		Immunochromatographic PBP2a CCT (Alere)	
			No. positive without cefoxitin induction	No. positive with cefoxitin induction	No. positive without cefoxitin induction	No. positive with cefoxitin induction
CC130	92	t373, t528, t843, t1048, t1532, t1535, t3218, t3256, t3570, t5970, t6220, t6293, t7734, t7485, t7946, t7947	1	1	10	92
CC1943	14	t978, t2345, t3391, t7945, t8835	0	0	0	14
CC425	5	t742, t6386, t6292, t6300	0	0	0	5
CC49	4	t208, t15799	0	0	0	4
Sensitivity (%)			<1	<1	8.7	100



Detection of *mecC*-Positive *Staphylococcus aureus*: What To Expect from Immunological Tests Targeting PBP2a?

Céline Dupieux,^{a,b} Coralie Bouchiat,^{a,b} Anders Rhod Larsen,^c Bruno Pichon,^d Mark Holmes,^e Christopher Teale,^e Giles Edwards,^d Robert Hill,^d Jean-Winoc Decousser,^f Sophie Trouillet-Assant,^a Andreas Petersen,^c Robert Skov,^c Angela Kearns,^d Frédéric Laurent^{a,b}

Attention au variant mecC

➤ Détection des souches *mecC*

- Non détecté par certains tests de Biologie moléculaire
- Adaptation des tests moléculaires



Journal of
Clinical Microbiology



Detection of *mecA*- and *mecC*-Positive Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Isolates by the New Xpert MRSA Gen 3 PCR Assay

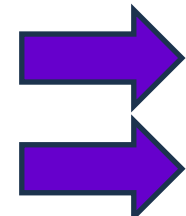
Karsten Becker,^a Olivier Denis,^b Sandrine Roisin,^b  Alexander Mellmann,^c Evgeny A. Idelevich,^a Dennis Knaack,^a Sarah van Alen,^a André Kriegeskorte,^a Robin Köck,^a Frieder Schaumburg,^a Georg Peters,^a Britta Ballhausen^a

Autres mécanismes de résistance aux β -lactamines

- **BORSA (Borderline Oxacillin resistant *S. aureus*)**
 - Pénicillinase hyperproduite capable d'hydrolyser partiellement les pénicillines M
 - Pas de gène *mecA* (pas de PLP2a)

- **MODSA (Modified penicillin binding protein *S. aureus*)**
 - Modification de la synthèse de la PLP4 +++
 - Bas niveau de résistance à la méticilline , difficile à détecter
 - Exclure gène *mecA* (pas de PLP2a)

Mécanisme	Pénicilline G, Pénicilline A, Carboxipénicilline, Uréidopénicilline	Antibiotique + Inhibiteur de B-lactamase	Pénicilline M	Céphalosporines Carbapénème	Ceftaroline Ceftobiprole (C5G)
Sauvage	S	S	S	S	S
Pénicillinase	R	S	S	S	S
Modification des PLP gène <i>mecA</i>	R	R	R	R	S
BORSA	R	R/S	R	S	S
MODSA	S	S	R	S	S



Résistance aux C5G



Analysis of *Staphylococcus aureus* clinical isolates with reduced susceptibility to ceftaroline: an epidemiological and structural perspective [Get access >](#)

Richard A. Alm ✉, Robert E. McLaughlin, Veronica N. Kos, Helio S. Sader, Joseph P. Iaconis, Sushmita D. Lahiri

Journal of Antimicrobial Chemotherapy, Volume 69, Issue 8, August 2014, Pages 2065–

Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* displaying increased MICs of ceftaroline [Get access >](#)

Rodrigo E. Mendes, Athanassios Tsakris, Helio S. Sader, Ronald N. Jones, Donald Biek, Pamela McGhee, Peter C. Appelbaum, Klaudia Kosowska-Shick ✉

Journal of Antimicrobial Chemotherapy, Volume 67, Issue 6, June 2012, Pages 1321–1324, <https://doi.org/10.1093/jac/dks069>

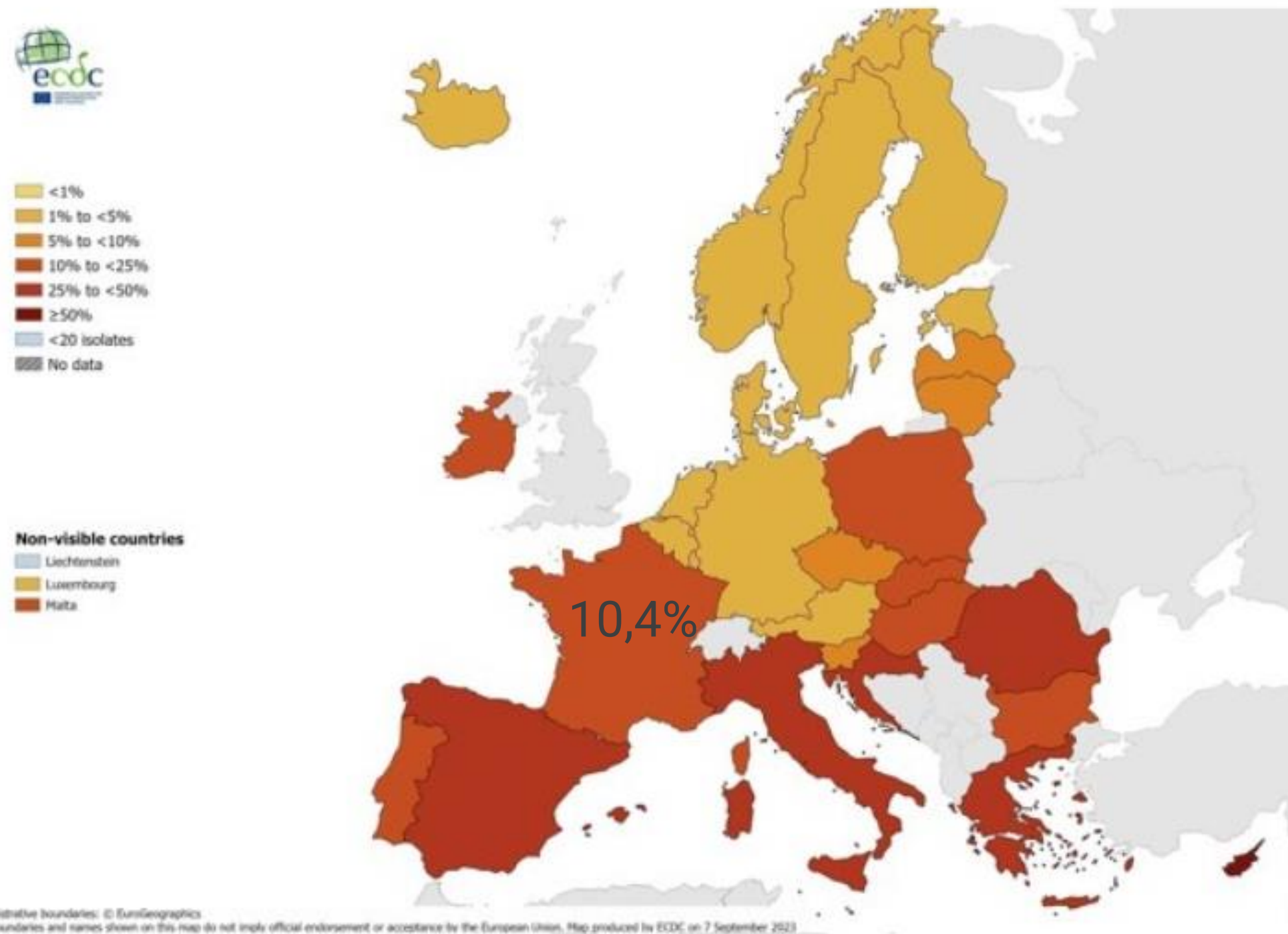


Whole-Genome Sequencing of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Resistant to Fifth-Generation Cephalosporins Reveals Potential Non-*mecA* Mechanisms of Resistance

Alexander L. Greninger^{1,2*}, Som S. Chatterjee^{3*}, Liana C. Chan³, Stephanie M. Hamilton³, Henry F. Chambers³, Charles Y. Chiu^{1,2*}

Epidémiologie de la résistance

Proportion de résistance à la methicilline chez les souches de *Staphylococcus aureus* isolées d'infections invasives, Europe, 2022



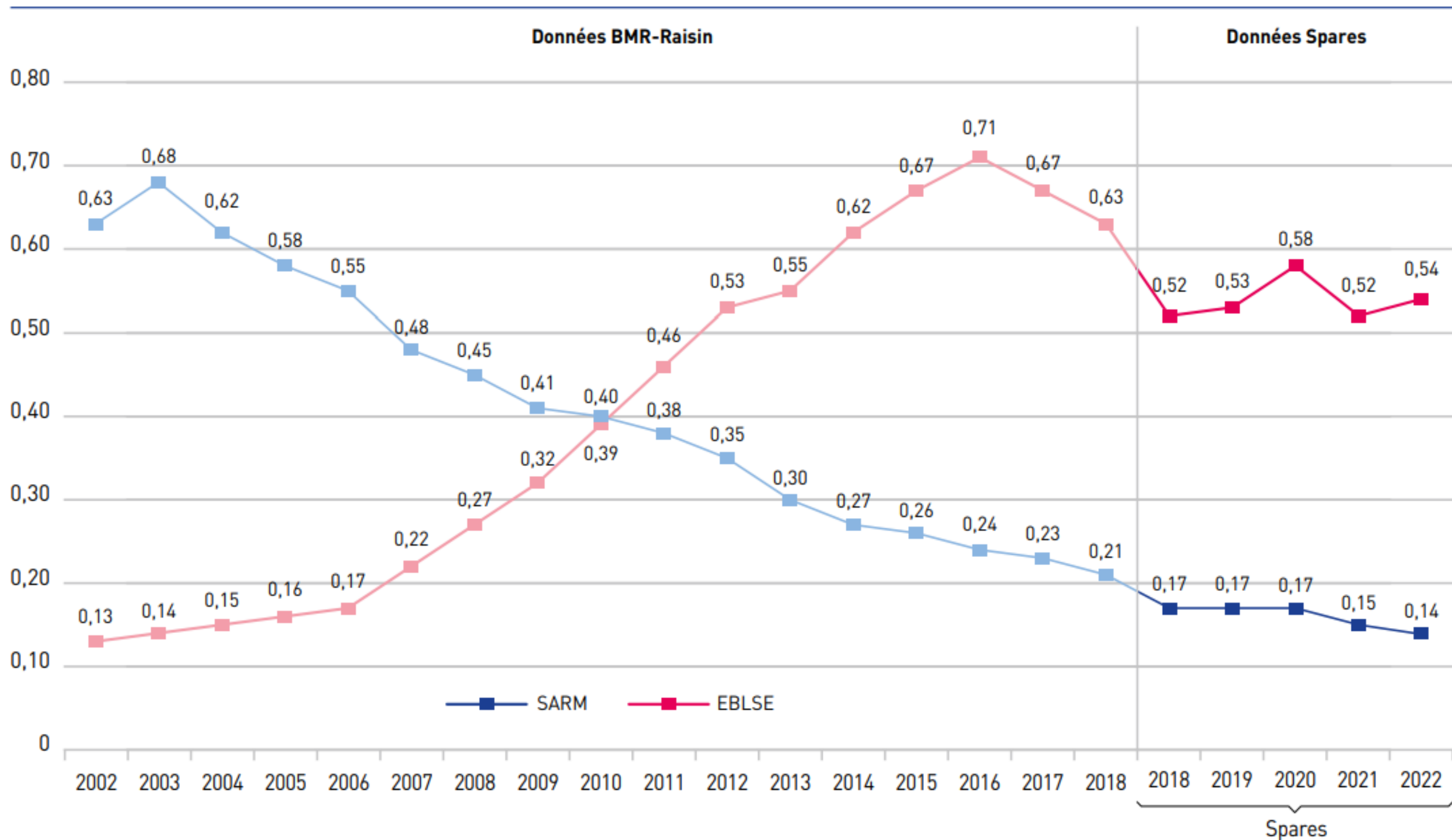
Epidémiologie de la résistance

TABLEAU 5 | SARM: pourcentage et incidence par secteur d'activité (N = 7 457). France, mission nationale Spares, données 2022

Secteur d'activité	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline		
	Nb souches	SARM/ <i>S. aureus</i> (%)	Incidence pour 1 000 JH
Court séjour	6 263	10,9	0,21
<i>Médecine</i>	3 055	13,1	0,18
<i>Chirurgie</i>	2 124	10,4	0,29
<i>Réanimation</i>	604	7,6	0,54
<i>Gynécologie-Obstétrique</i>	118	6,4	0,05
<i>Pédiatrie</i>	362	9,0	0,19
Psychiatrie	21	17,9	< 0,01
SSR	862	23,9	0,07
SLD	311	50,2	0,07
Total	7 457	12,0	0,14

Epidémiologie de la résistance

FIGURE 2 | Évolution entre 2002 et 2022 de l'incidence (nombre de souches pour 1 000 JH) des SARM et des EBLSE. France, mission nationale Spares, données 2022
Nombre d'établissements participants variable chaque année, changement de méthode de surveillance en 2018



Epidémiologie de la résistance

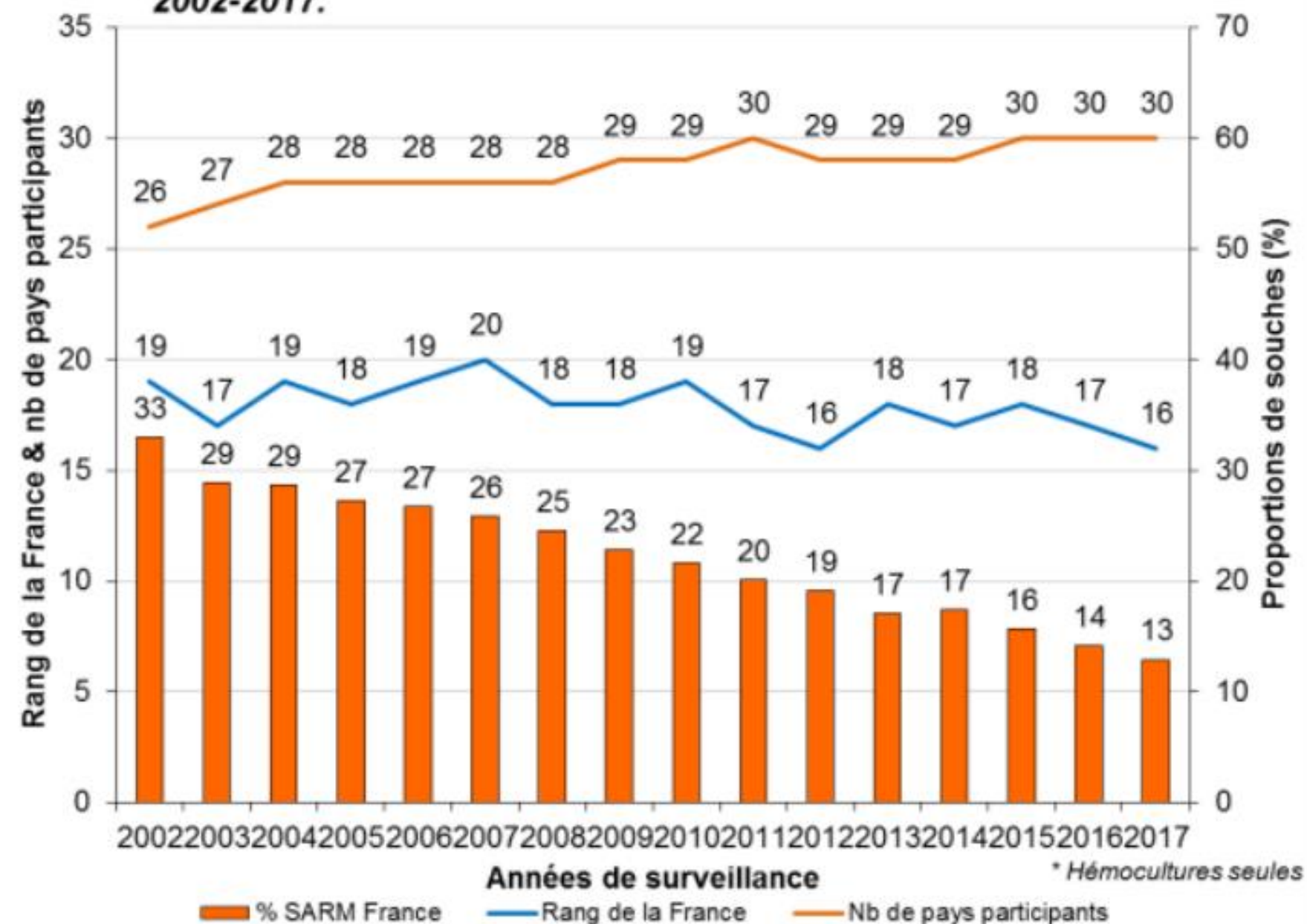
EARS-Net France, 2002-2017

Staphylococcus aureus

4 621 souches par an en moyenne, 6 472 souches en 2017

Staphylococcus aureus

Prélèvements d'infections invasives*, EARS-Net France
2002-2017.



Epidémiologie de la résistance

Tableau 37. SARM : pourcentage et répartition des souches par type de prélèvement (n=8 227)

Type de prélèvement	Nb souches <i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline		
		Nb souches	Répartition (%)	SARM/ <i>S. aureus</i> (%)
Hémoculture	12 512	1 422	15,7%	11,4%
Dispositif intravasculaire	1 877	189	2,1%	10,1%
Urine	6 759	1 745	19,2%	25,8%
Prélèv. respi. non protégé	10 571	1 005	11,1%	9,5%
Prélèv. respi. protégé ou distal	3 747	296	3,2%	7,9%
Pus profond et séreuses	19 150	2 091	23,1%	10,9%
Autre ¹	20 183	2 318	25,6%	11,5%
Tous prélèvements confondus	66 974²	8 227	100,0%	12,3%

¹ Comprend essentiellement à des prélèvements superficiels.

² Correspond au nombre de souches de *S. aureus* pour lesquelles la résistance à la méticilline était connue.

Cas pratique

Un jeune patient de 25 ans, sans antécédents particuliers, se présente aux Urgences avec un abcès cutané de l'avant-bras, sans fièvre ni frissons. Son médecin de ville lui avait prescrit une antibiothérapie par amoxicilline-acide clavulanique pendant une semaine mais l'évolution n'est pas favorable.

Que faites-vous ?

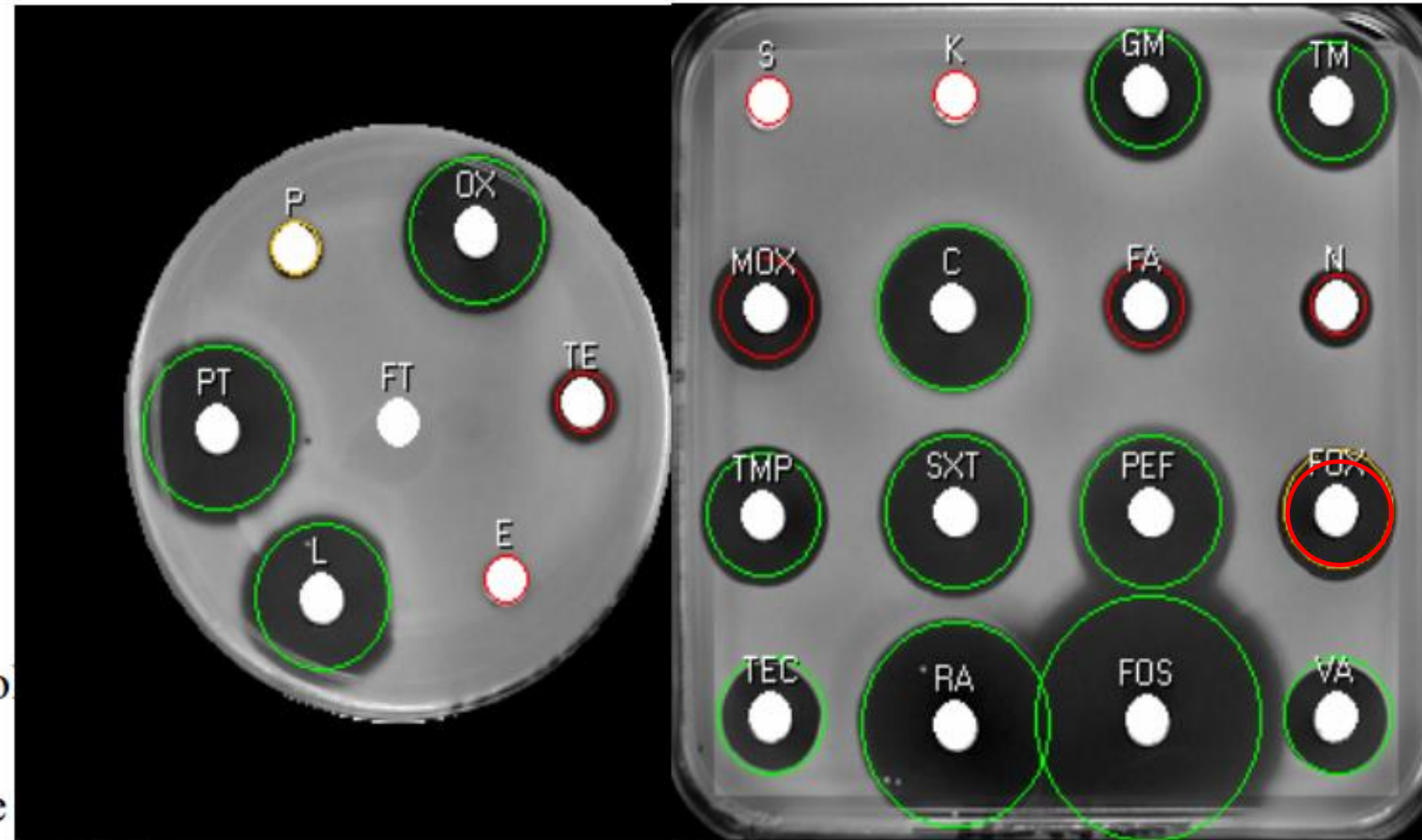
1. Prescription d'hémocultures en Urgence
2. Instauration immédiate d'un traitement antibiotique par Cotrimoxazole
3. Prélèvement à visée bactériologique
4. Prescription de soins locaux chlorhexidine 2 fois /j et sortie à domicile
5. Prescription d'Acide Fusidique



Cas pratique

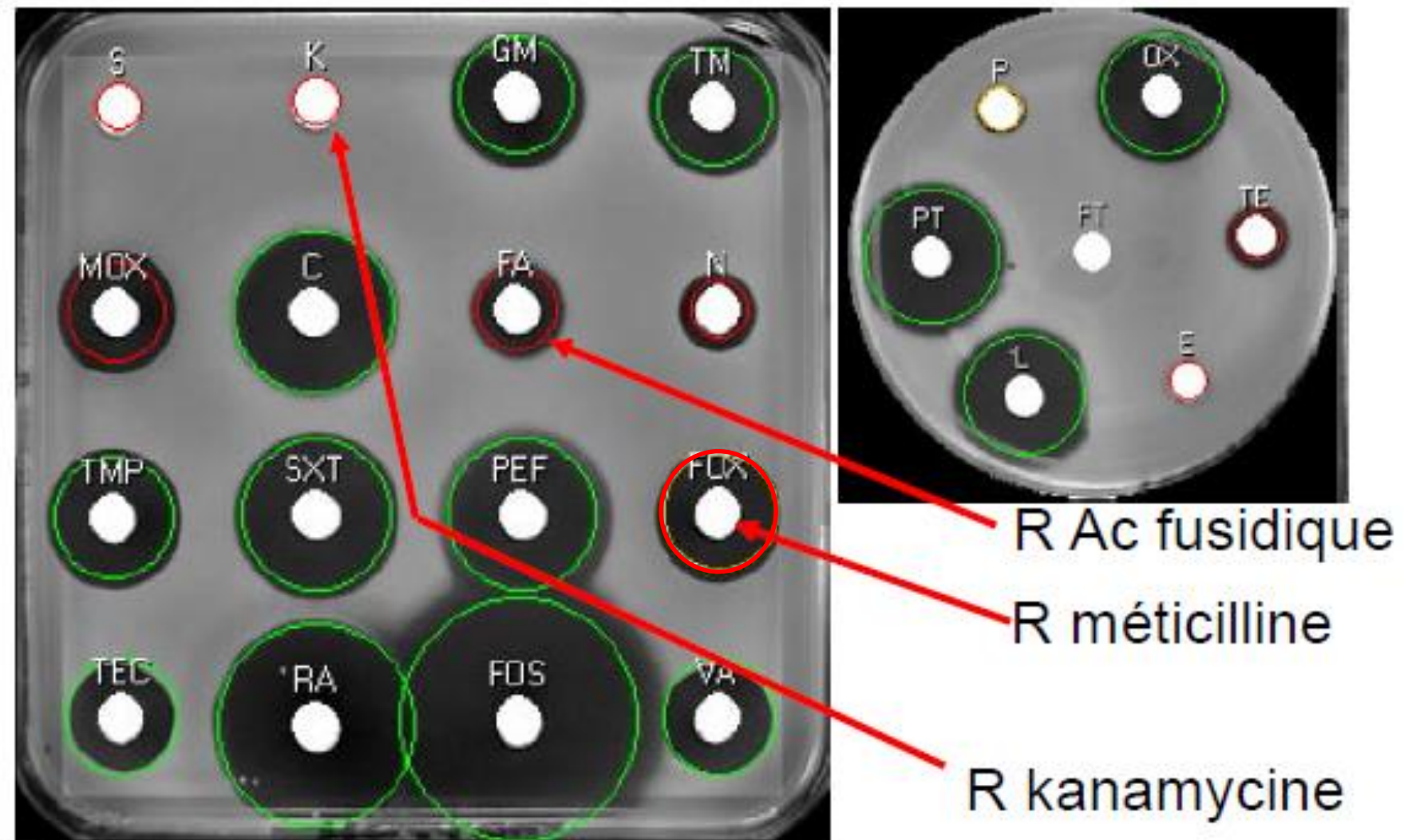
Un antibiogramme est réalisé au laboratoire dont voici le résultat.
Quelles est votre interprétation ?

P: penicillin G
OX: oxacillin
Fox: cefoxitin
Va: vancomycin
L: lincomycin
E: erythromycin
Pt: pristinamycin
Tet: tetracycline
FA: fusidic ac.
C: chloramphenicol
PEF: pefloxacin
Sxt: cotrimoxazole
Ft: furans
RA: rifampicin
TM: tobramycin
GM: gentamicin
FOS: fosfomicin



Cas pratique

Un antibiogramme est réalisé au laboratoire dont voici le résultat.
Quelles est votre interprétation ?



(± Rérythromycine, tétracyclines)
S à FQ, tobramycine et gentamicine

SARM communautaire « *SARM-Co* »

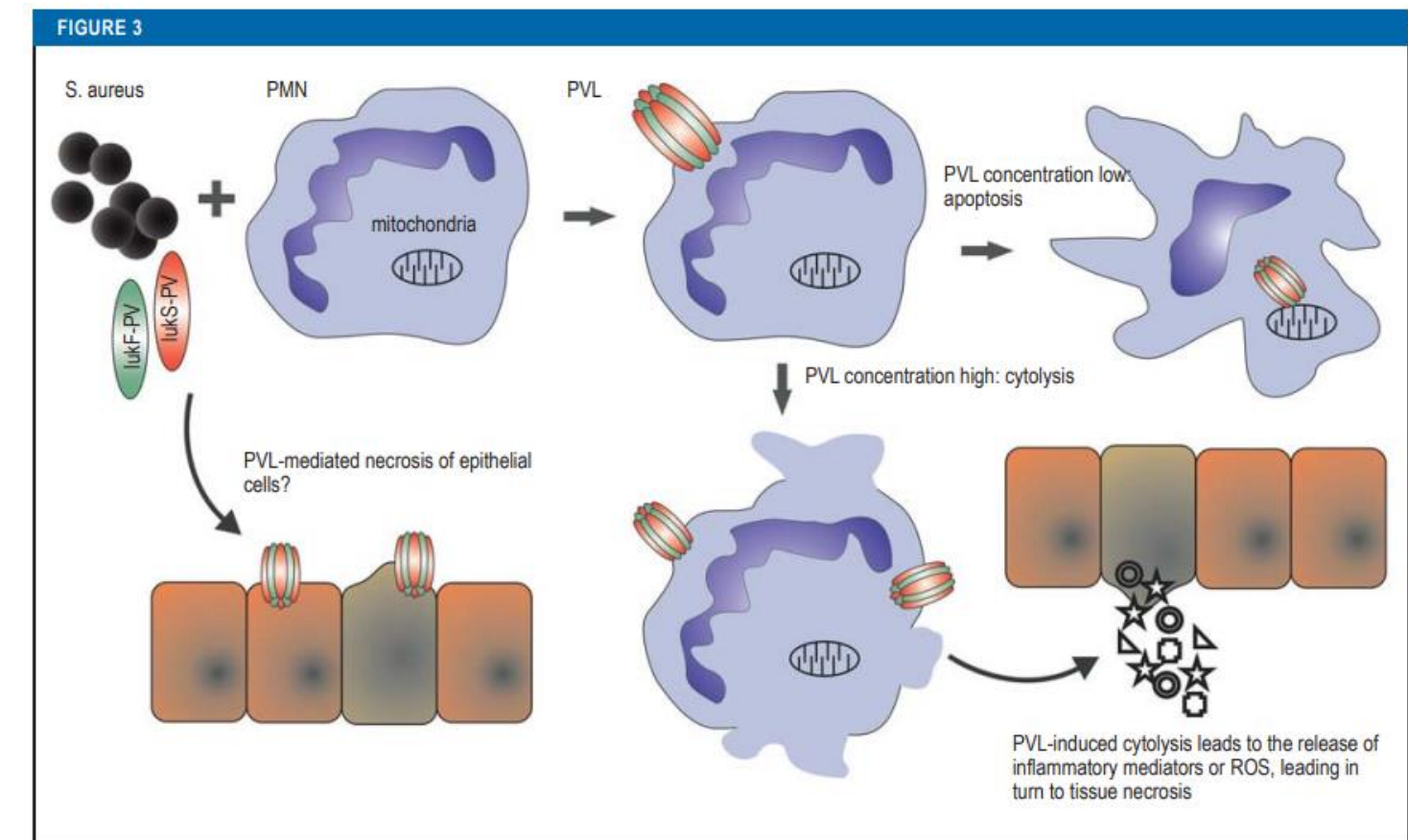
- **Epidémiologie des souches communautaires SARM-Co**

- <3% des *S. aureus*
- En France : clone « sequence type » ST80 (diffusion communautaire en Europe)
- Cassette SCCmec de type IV ou V
- Souvent PVL+ : **Leucocidine de Panton Valentine**
 - Toxine Synergohyménotrope
 - Intégrée via un phage dans le chromosome bactérien



Leucotoxine à 2 composantes **LukS** & **LukF**

- Toxicité cellulaire par formation de pores, lyse cellulaire (PNN, macrophages, monocytes..)
 - À faible concentration : activité pro-apoptotique sur les PNN
 - À forte concentration : activité nécrosante
- Action pro-inflammatoire



Molecular pathogenesis of PVL-SA infection, PVL pore formation on cell membrane, leukocytes and epithelial cells
PMN, polymorphonuclear leukocytes; PVL, Panton-Valentine leukocidin; PVL-SA, Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* strains; ROS, reactive oxygen species

SARM communautaire

- **Profil caractéristique de résistance**

- Résistant pénicilline, méticilline, kanamycine, tétracycline
- Acide fusidique

Clone ST80

Diffusion communautaire en Europe

SARM sécréteur de LPV

Co-marqueurs de R

Meticilline	Kana	Tobra	Genta	Ery	Tétra	Acide Fusidique	FQ	Toxines suspectées
R	R	S	S	S	R	R	S	PVL+
R	R	S	S	R	R	R	S	PVL+

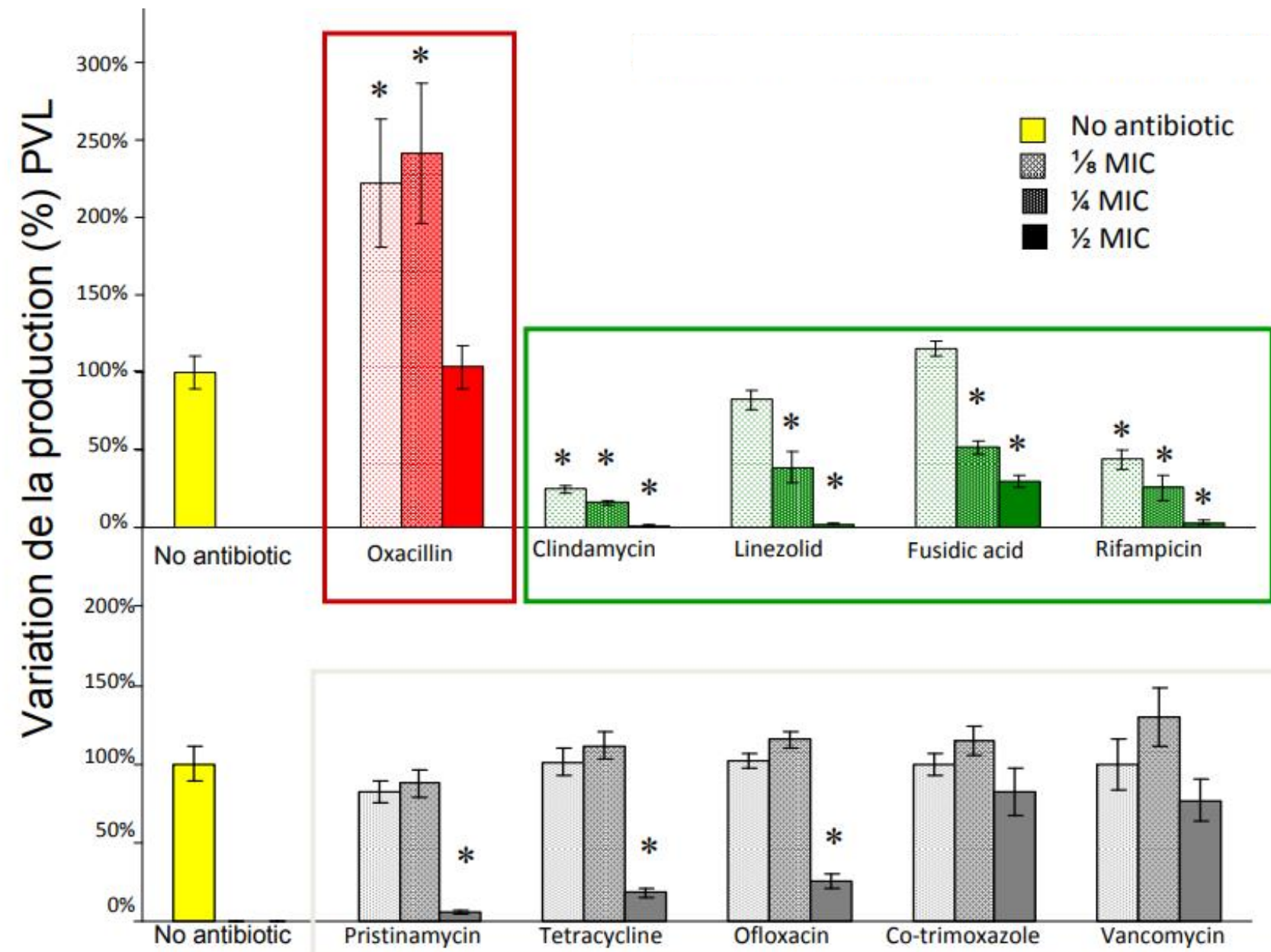
- **Clinique**

- Furonculoses récidivantes
- Infections cutanées nécrosantes, infections graves à point de départ cutané (folliculite..)
- Infections ostéo-articulaires
- Pneumopathies communautaires nécrosantes et hémorragiques (mortalité élevée ≈ 60%, adulte jeune)

SARM communautaire

- **Impact sur la prise en charge**

- Traitement anti-toxinique : Clindamycine, Linézolide inhibant la synthèse de la toxine
- Décontamination nasale et cutanée (furonculose récidivante ou après échec d'un premier traitement ATB et/ou chirurgical) : chlorhexidine, mupirocine



Effect of antibiotics, alone and in combination, on Panton–Valentine leukocidin production by a *Staphylococcus aureus* reference strain

O. Dumitrescu, C. Badiou, M. Bes, M.-E. Reverdy, F. Vandenesch, J. Etienne and G. Lina

Clinical Microbiology and Infection, Volume 14 Number 4, April 2008

SARM communautaire

- **Le clone Géraldine (clone communautaire et hospitalier)**

- Cassette SCCmec type I tronquée
- Profil caractéristique de résistance
 - Résistant pénicilline, méticilline, kanamycine, tobramycine
 - Acide fusidique

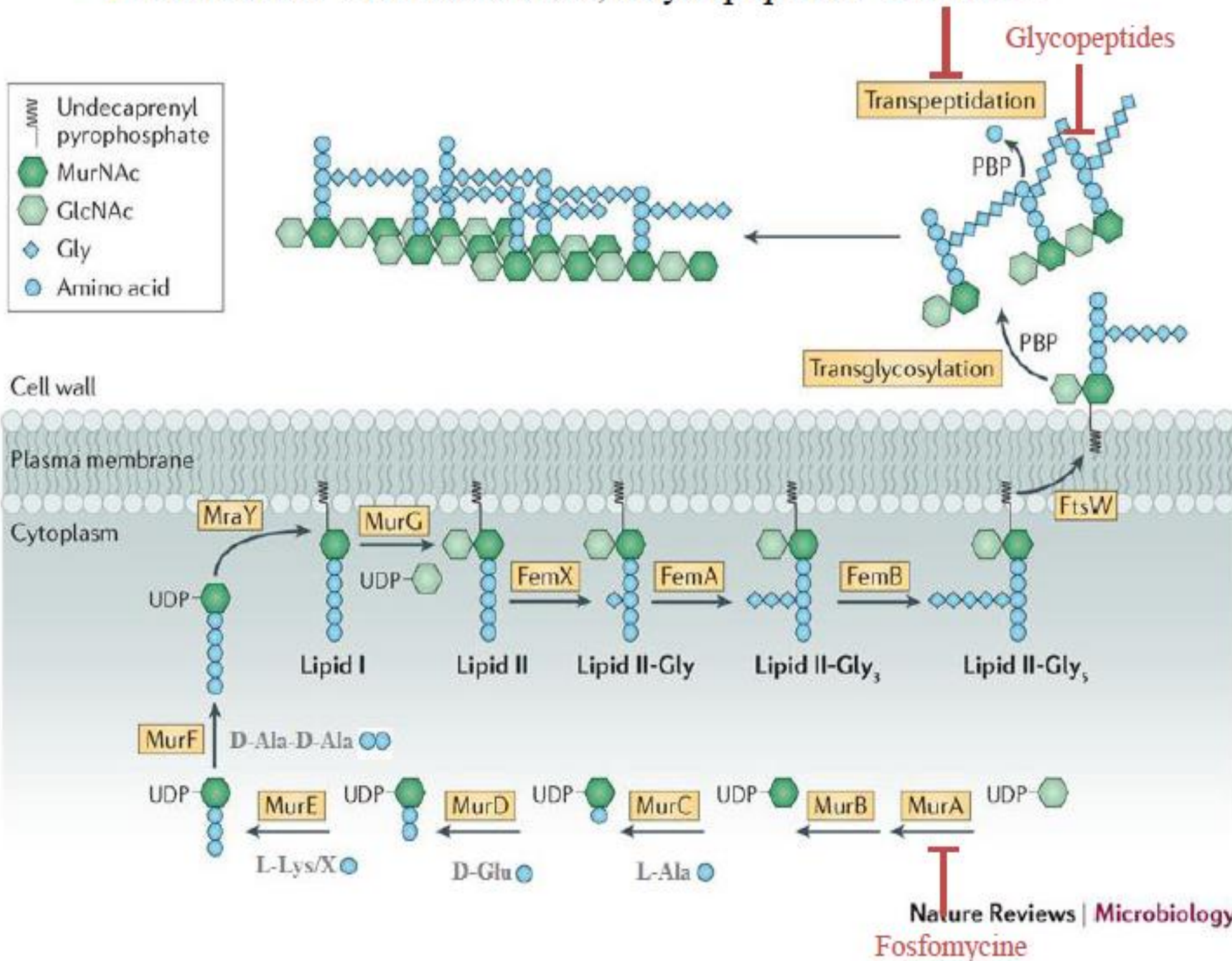
Meticilline	Kana	Tobra	Genta	Ery	Tétra	Acide Fusidique	FQ	Toxines suspectées
R	R	R	S	S	S	R	S	TSST-1

- Gène de la toxine du **choc toxique staphylococcique TSST-1**
 - Fièvre > 39°C, Hypotension
 - Erythrodermie scarlatiniforme généralisée puis desquamation
 - Manifestations systémiques
 - ATB anti-toxiniques : clindamycine, linézolide
 - Anticorps neutralisants (dans les 48h)

Résistance aux Glycopeptides

Mécanisme d'action des Glycopeptides

→ Cible ATB : B Lactamines, Glycopeptides B Lactamines



Synthèse du PG :

espace périplasmique

réaction glycosyltransférase pour liaison au PG en formation, transpeptidase, carboxypeptidase pour réguler la synthèse du PG

membrane cytoplasmique

formation du disaccharide de base transféré dans l'espace périplasmique = phase d'élongation (puis largué par le transporteur)

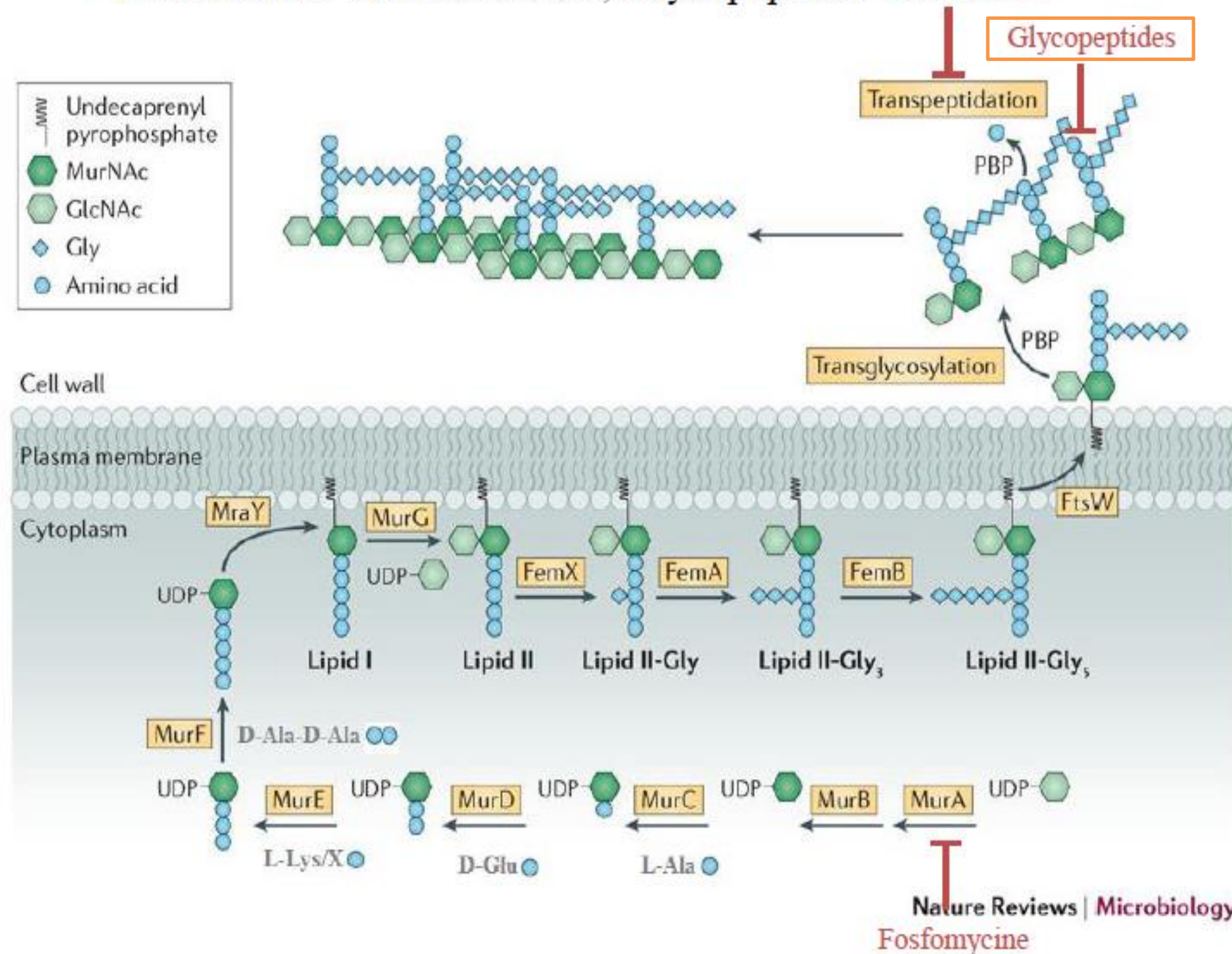
cytoplasme

formation d'acide UDP-N-acétylmuramique puis fixation des acides aminés pour former 1 pont ⇒ transport lipidique vers la mb cytoplasmique.

Résistance aux Glycopeptides

Mécanisme d'action des Glycopeptides

→ Cible ATB : B Lactamines, Glycopeptides B Lactamines

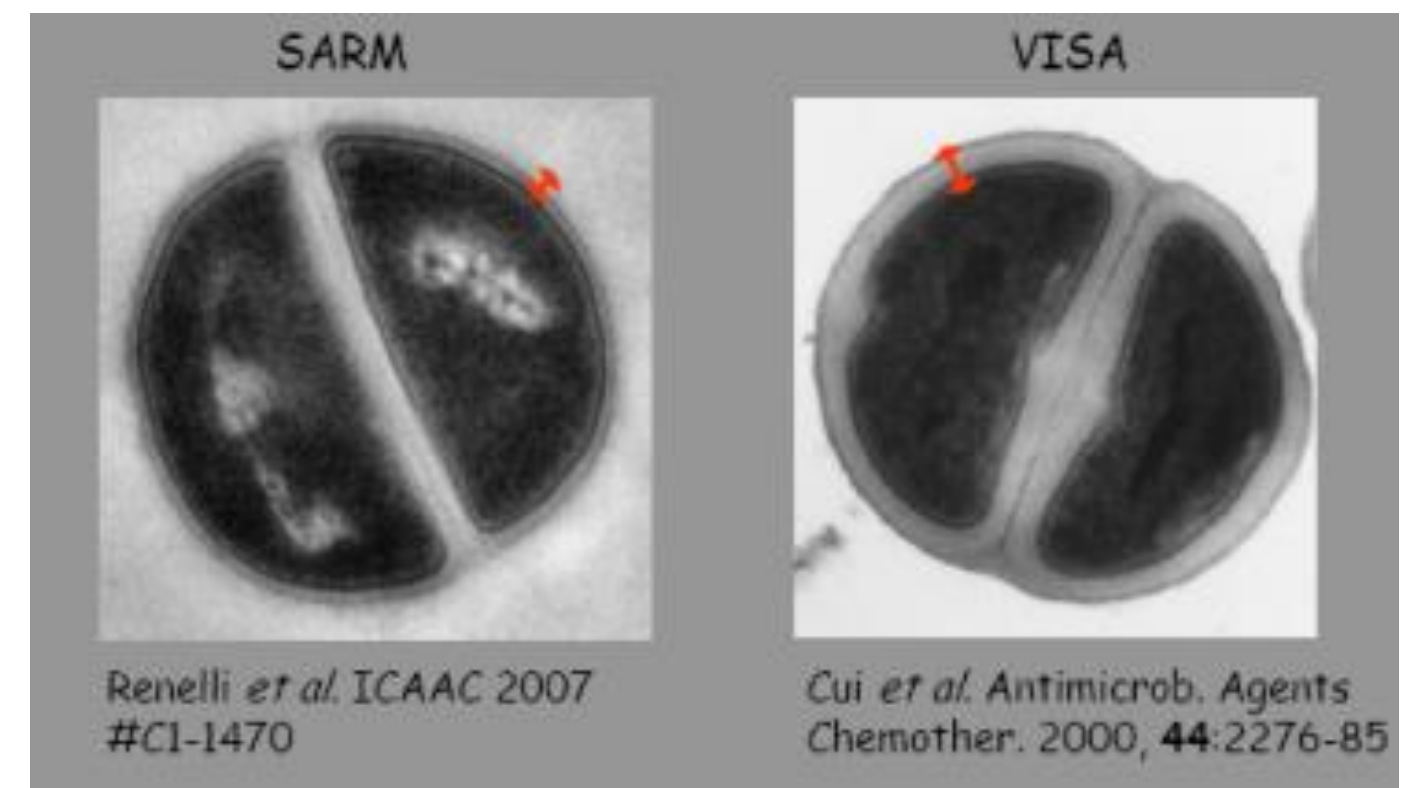


Glycopeptides

- Poids moléculaire élevé
 - Inhibition de la synthèse du peptidoglycane
 - Fixation sur dipeptide D-ala-D-ala
 - Encombrement stérique
 - Inhibition de la transglycosylation et de la transpeptidation
- Action bactéricide lente temps-dépendante

Résistance aux Glycopeptides

- **GISA / VISA (Glycopeptide/Vancomycine Intermediate resistant *S. aureus*)**
 - Sensibilité diminuée, population **homogène** : la majorité de la population est de sensibilité diminuée
- **hGISA / hVISA (heterogenous-GISA/VISA)**
 - Sensibilité diminuée, population **hétérogène** : une fraction de la population (10^{-6} à 10^{-9}) exprime la résistance
- Mécanisme complexe : épaissement de la paroi, biosynthèse du PG accrue, augmentation des couches polysaccharidiques
- ➔ Augmentation du nombre de cibles des glycopeptides
 - Inductible par les glycopeptides
 - Pas de support génétique connu
 - Résistance non transférable



Résistance aux Glycopeptides

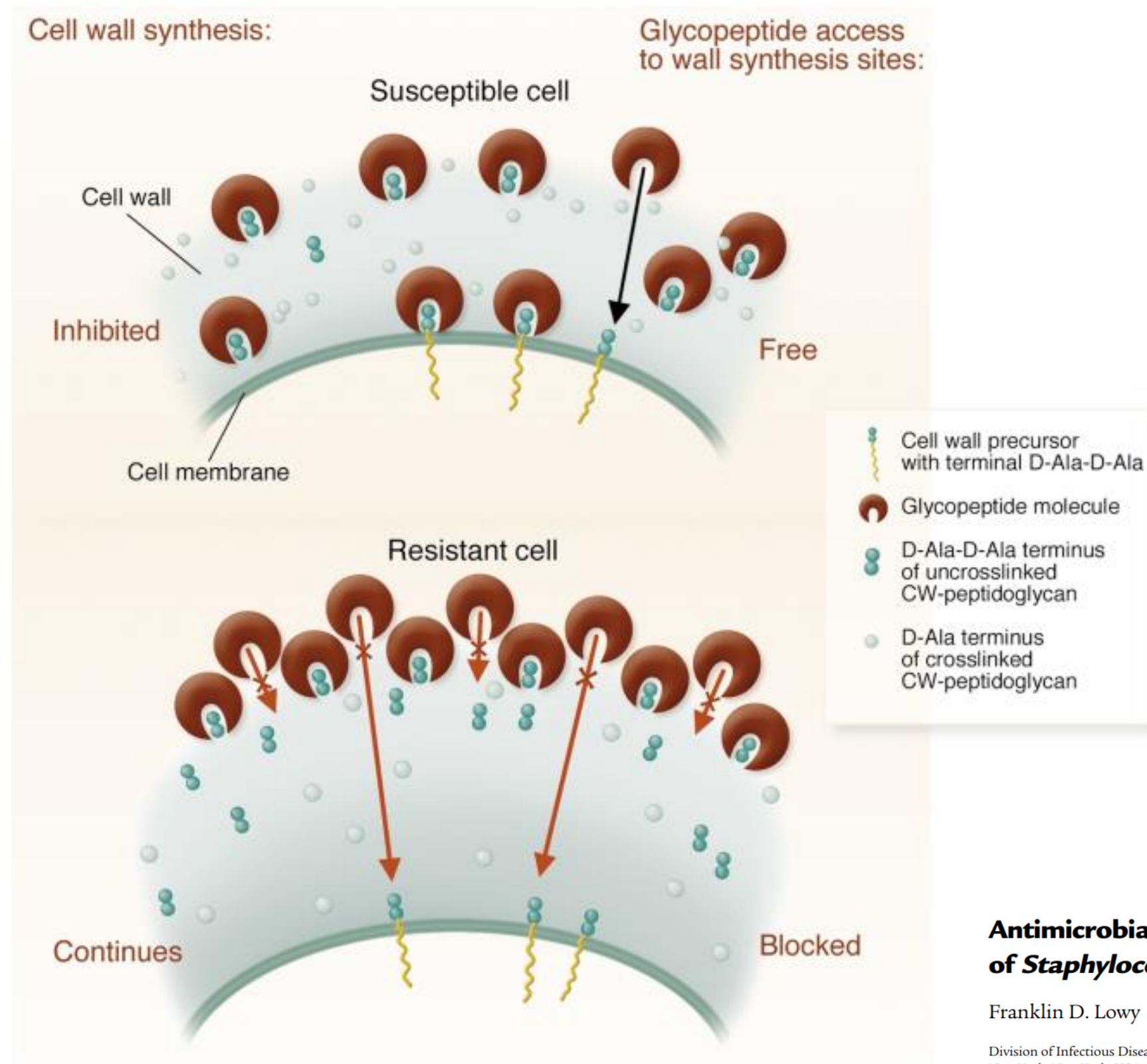


Figure 3

Mechanisms of *S. aureus* resistance to vancomycin: VISA strains. VISA strains appear to be selected from isolates that are heterogeneously resistant to vancomycin. These VISA strains synthesize additional quantities of peptidoglycan with an increased number of D-Ala-D-Ala residues that bind vancomycin, preventing the molecule from getting to its bacterial target. Adapted from ref. 98.

Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*

Franklin D. Lowy

Division of Infectious Diseases, Departments of Medicine and Pathology, Columbia University, College of Physicians and Surgeons, New York, New York, USA

J. Clin. Invest. 111:1265-1273 (2003). doi:10.1172/JCI200318535.

Résistance aux Glycopeptides

- **VRSA (Vancomycine Resistant *S. aureus*)**
 - Haut niveau de résistance
 - Acquisition du gène *vanA* des entérocoques résistant à la vancomycine (ERV)
 - Précurseurs sans affinité (dipeptide D-ala-D-lac)

 - 1ère description en 2002 (Michigan, EU)
 - 52 souches décrites dans le monde en 2020 (USA, Inde, Iran, Pakistan, Brésil, Portugal)

[J Adv Res.](#) 2020 Jan; 21: 169–176.

Published online 2019 Oct 12. doi: [10.1016/j.jare.2019.10.005](https://doi.org/10.1016/j.jare.2019.10.005)

PMCID: PMC7015472

PMID: [32071785](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32071785/)

Vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* infections: A review of case updating and clinical features

[Yanguang Cong](#),^a [Sijin Yang](#),^{b,*} and [Xiancai Rao](#)^{c,*}

Résistance aux Glycopeptides

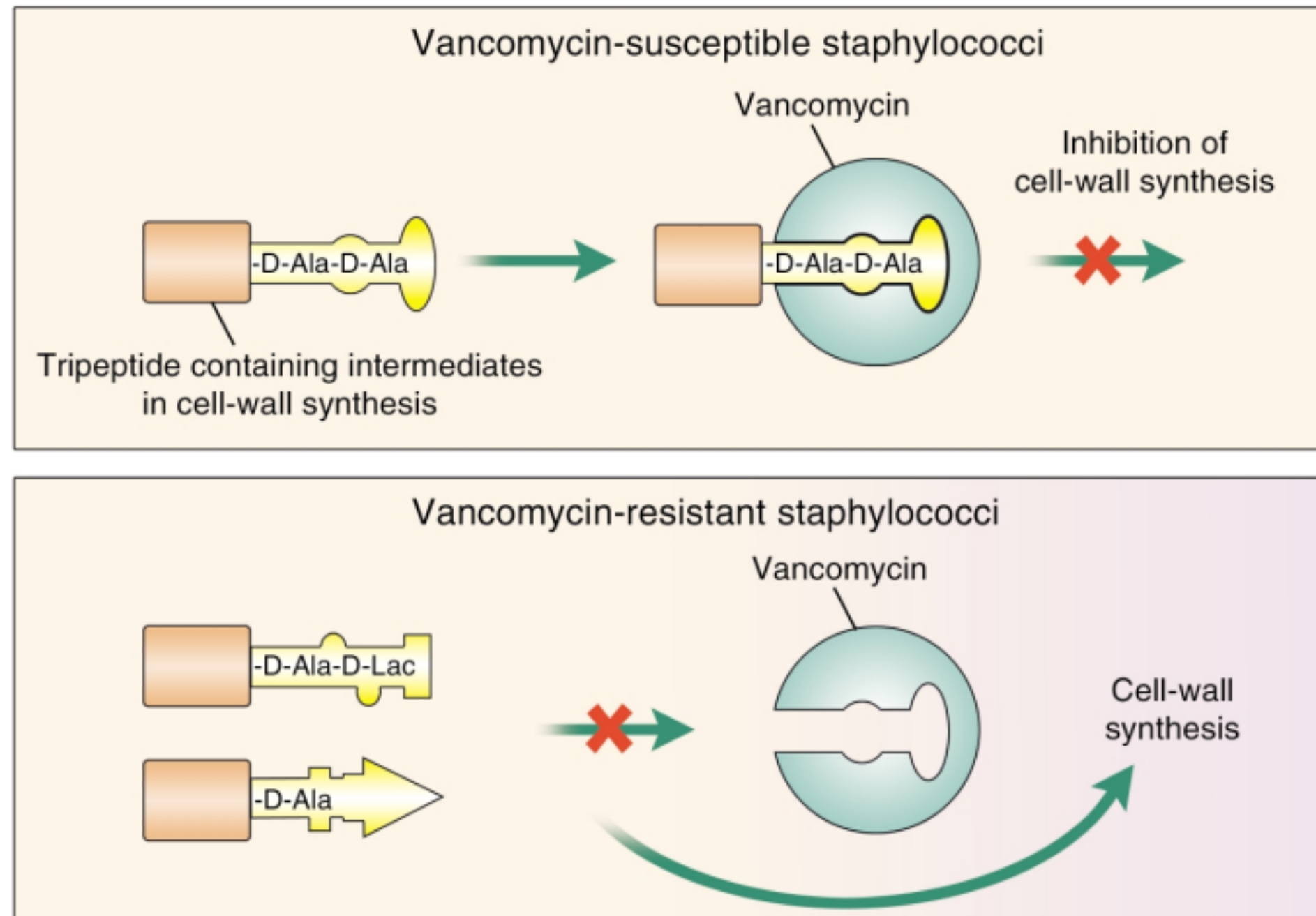


Figure 4

Mechanisms of *S. aureus* resistance to vancomycin: VRSA strains. VRSA strains are resistant to vancomycin because of the acquisition of the *vanA* operon from an enterococcus that allows synthesis of a cell wall precursor that ends in D-Ala-D-Lac dipeptide rather than D-Ala-D-Ala. The new dipeptide has dramatically reduced affinity for vancomycin. In the presence of vancomycin, the novel cell wall precursor is synthesized, allowing continued peptidoglycan assembly. Adapted from ref. 99.

Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*

Franklin D. Lowy

Division of Infectious Diseases, Departments of Medicine and Pathology, Columbia University, College of Physicians and Surgeons, New York, New York, USA

J. Clin. Invest. 111:1265–1273 (2003). doi:10.1172/JCI200318535.

Résistance aux Glycopeptides

➤ Détection de la résistance aux Glycopeptides (recommandation CASFM EUCAST 2024)

- La méthode de référence pour la détermination des CMI des glycopeptides est la **microdilution en milieu liquide** (référence ISO 20776)



- Pour *S. aureus* : CMI Vancomycine et Teicoplanine ≤ 2 mg/L → Sensible
- Si CMI > 1 mg/L → Envoi au CNR
- Pour SCN : CMI Vancomycine ≤ 2 mg/L et Teicoplanine ≤ 4 mg/L → Sensible

Résistance à la Dalbavancine

- Lipoglycopeptide de longue durée d'action
- $\frac{1}{2}$ vie d'élimination très longue (en moyenne 14 jours)
 - **Détection de la résistance (recommandation CASFM EUCAST 2024)**
- Détermination de la CMI par micro-dilution, le milieu doit être supplémenté avec du polysorbate-80 à la concentration finale de 0,002%.
- **/!\ Modification des recommandations en 2024 :**
 - Des souches sensibles aux glycopeptides (vancomycine, téicoplanine) peuvent être résistantes à la dalbavancine ; la dalbavancine (et par extension oritavancine et télavancine) doivent être testés séparément, même si les glycopeptides apparaissent sensibles.
- <1% des souches cliniques résistantes

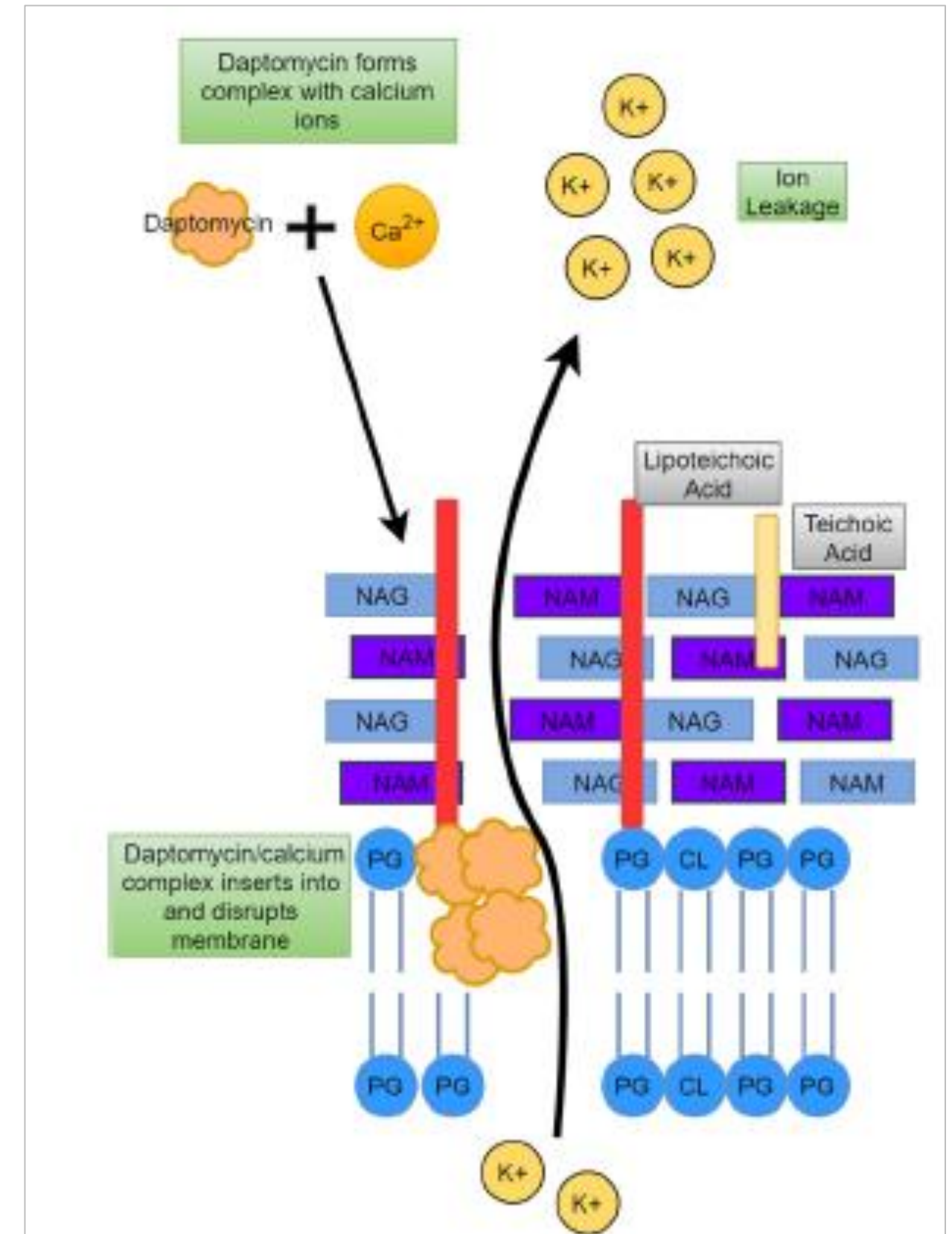
Résistance à la Daptomycine

• Mécanisme d'action de la Daptomycine

- **Glycolipopeptide** agissant sur la membrane cytoplasmique
- Formation d'un complexe Daptomycine + Ca^{2+} → incorporation de la Daptomycine dans la membrane cytoplasmique
- Formation de pores dans la membrane
- Action bactéricide et active sur le biofilm

• Mécanismes de résistance

- **Mutations chromosomiques** impliquant un changement de composition (et de charge) de la membrane (Miller et al. 2016. Mechanism of action and resistance to daptomycin in *Staphylococcus aureus* and *Enterococci*. Cold Spring Harb. Perspect. Med.)
- Gène ***mprF*** +++ : augmentation de la charge membranaire positive (Bayer et al. 2013. Mechanisms of daptomycin resistance in *Staphylococcus aureus*: role of the cell membrane and cell wall)



Résistance à la Daptomycine

- Résistance **exceptionnelles**

➤ Détection de la résistance (recommandation CASFM EUCAST 2024)

- Détermination de la CMI par micro-dilution en milieu liquide (milieu doit être supplémenté en Ca^{2+} (50 mg/L)



- $\text{CMI} \leq 1 \text{ mg/mL}$ → Sensible
- $\text{CMI} > 1 \text{ mg/mL}$ → Résistant = **Envoi au CNR**

Résistance aux tétracyclines

- **Mécanisme d'action**

- Liaison au ribosome au niveau de la sous-unité 30S inhibant la synthèse protéique
- Activité bactériostatique

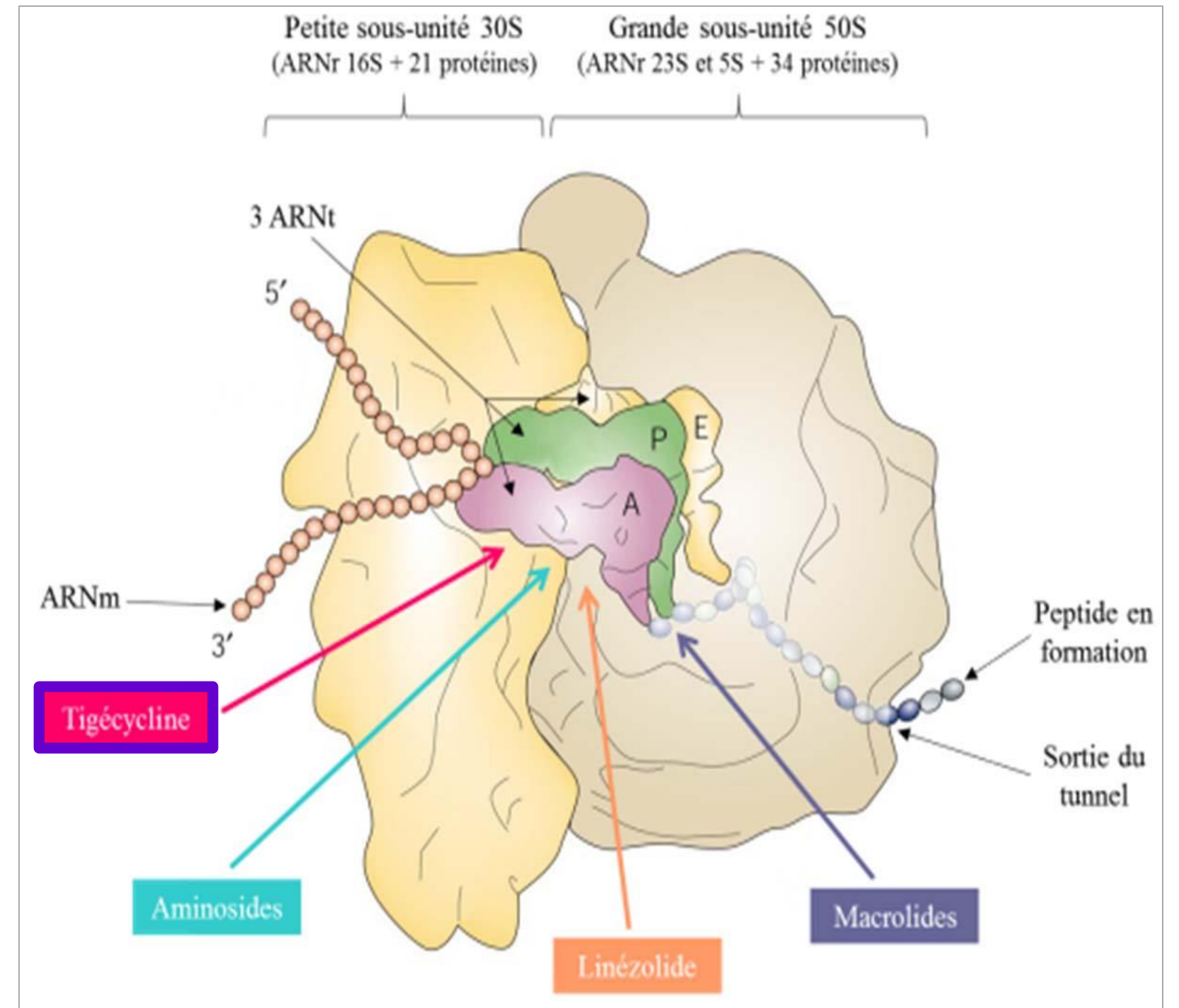
- **Mécanisme de résistance**

- **Phénotype T** : efflux actif (gène *tetK*, *tetL*)
- **Phénotype TM** : modification de la cible (gène *tetM*)
- Inactivation enzymatique (TetX) : (Nguyen et al. 2014. *Tetracycline antibiotics and resistance mechanisms.*)

- **Recommandations EUCAST 2024**

- Si S tétracycline → S doxycycline et S minocycline
- Si R tétracycline → CMI à déterminer

- Résistance à la tigécycline **rare**

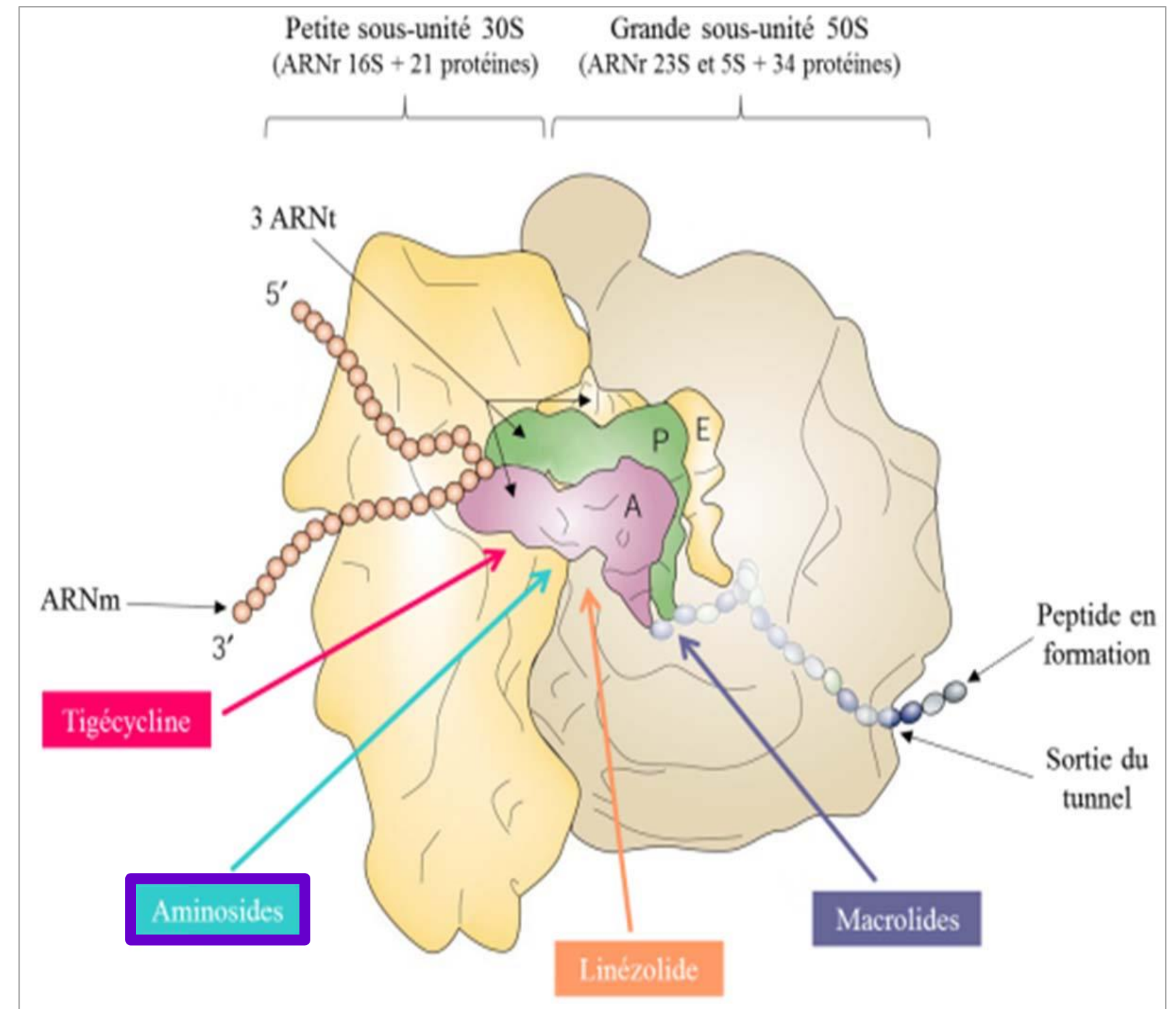


Résistance aux aminosides

• Mécanisme d'action des aminosides

- Fixation à l'ARNr 16S de la sous-unité 30S du ribosome induisant une altération de la synthèse protéique
- Incorporation erronée d'acides aminés
- Protéines anormales non fonctionnelles
- Membrane cytoplasmique altérée par intégration de protéines anormales modifiant sa structure

→ Action bactéricide (concentration dépendante)



Résistance aux aminosides

- **Mécanismes de résistance**

- **Inactivation enzymatique**



- Mécanisme de résistance le plus fréquent
 - Modification des groupements fonctionnels des aminosides
 - **Phosphotransférases (APH)**
 - **Acétyltransférases (AAC)**
 - **Nucléotidyltransférases (ANT)**
 - Les antibiotiques modifiés ne peuvent plus se fixer sur leur cible ribosomale
 - Plus d'une centaine d'enzymes décrites
 - Support génétique : transposons ou plasmides

- **Modification de la cible**

- Rare, ne concerne que la Streptomycine

- **Imperméabilité**

Aminoglycoside modifying enzymes

Maria S. Ramirez, Marcelo E. Tolmasky  

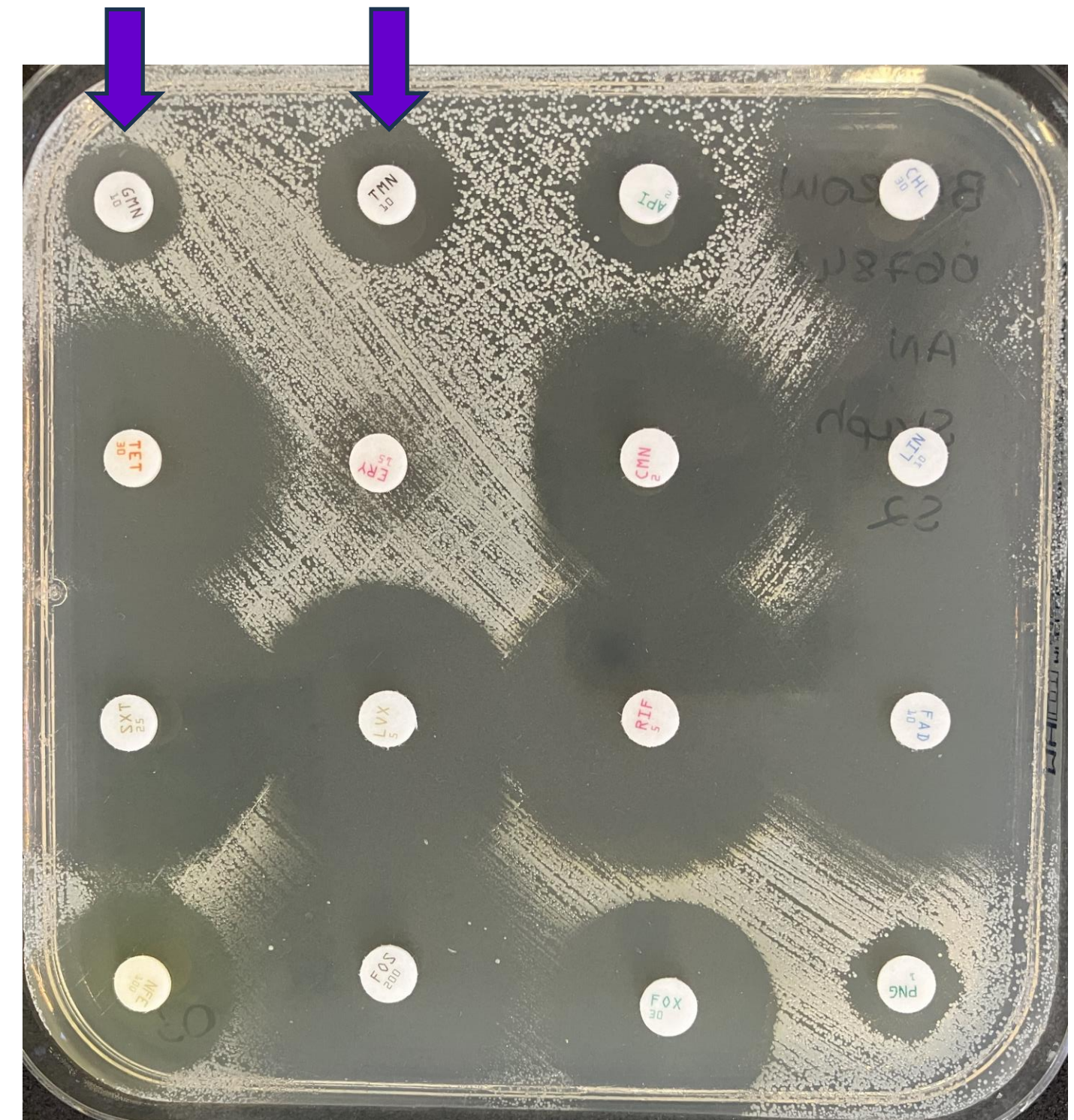


Résistance aux aminosides

➤ Phénotypes de résistances aux aminosides

Phénotype	Enzyme	Kana	Tobra	Genta
K	APH (3')	R	S	S
KT	ANT (4')	R	R	S
KTG	AAC(6')-APH(2'')	R	R	R

- Les souches résistantes à la tobramycine sont résistantes à la kanamycine et à l'amikacine
- Les souches résistantes à la gentamicine sont résistantes à tous les aminosides



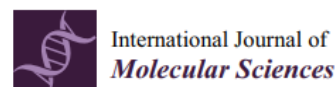
Résistance aux oxazolidinones

• Mécanisme d'action

- Liaison au ribosome au niveau de l'ARNr 23S de la sous-unité 50S inhibant la synthèse protéique
- Action bactériostatique
- Les souches sensibles au linézolide sont aussi sensibles au tédizolide

• Mécanisme de résistance

- Mutation de l'ARNr et de la protéine 50S ribosomale. R
- Résistance croisée linézolide/tédizolide
- Plasmidique : Méthylation de l'ARNr (gène *cfr*, chloramphenicol-florfenicol resistance)
- Protection ribosomale : protéines OptrA, PoxTA



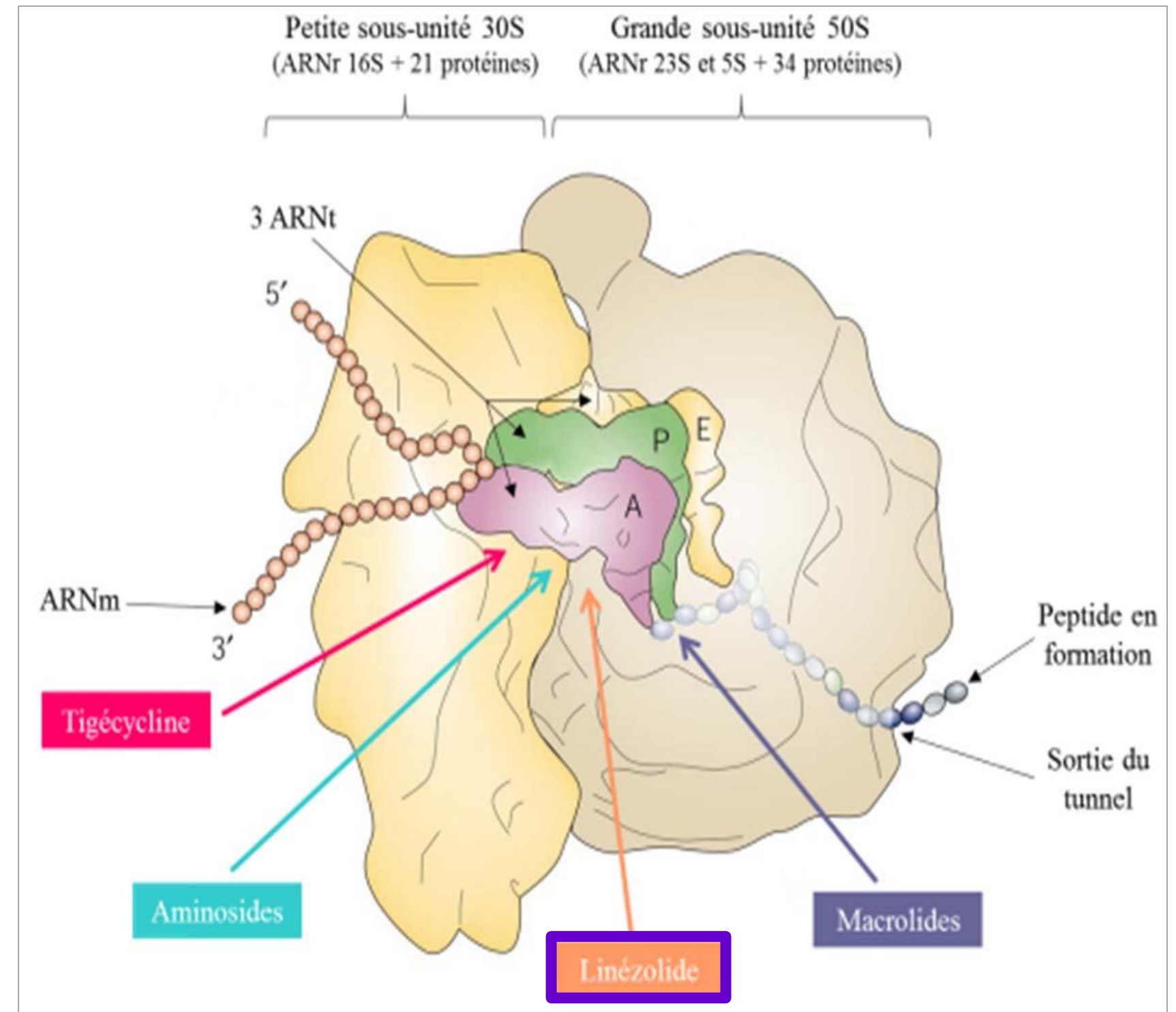
Review

Ribosome Protection Proteins—“New” Players in the Global Arms Race with Antibiotic-Resistant Pathogens

Rya Ero ^{1,2,*}, Xin-Fu Yan ² and Yong-Gui Gao ^{2,3,*}



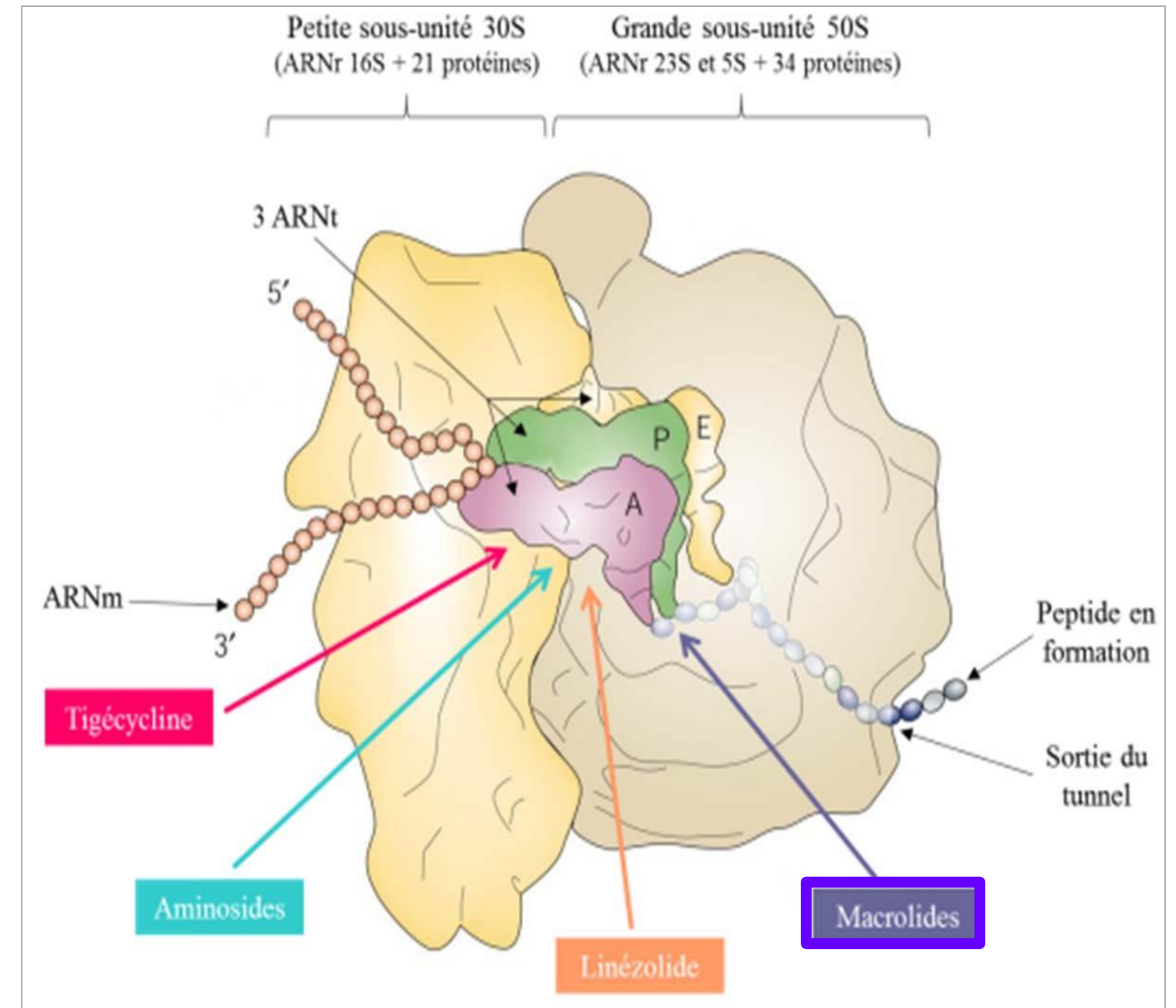
- Résistance **rare** chez *S. aureus*
- Emergence de clones résistants (chez SCN ++)



Résistance aux macrolides (MLS)

• Mécanisme d'action des macrolides

- Fixation à l'ARNr 23S de la sous-unité 50S du ribosome
- Macrolides: inhibition de la translocation du complexe ARNt-peptide
- Lincosamides : inhibition de la formation des liaisons peptidiques



Résistance aux macrolides (MLS)

Macrolides			Lincosamides	Streptogramines	Kétolides
C14	C15	C16			
Erythro- Roxithro- Clarithro- Dirithro-	Azithro-	Josamycine Spiramcyine	Clindamycine Lincomycine	Pristinamycine = Streptogramine A + B Quinupristine + Dalfopristine	Télithromycine

Résistance aux macrolides

- Mécanismes de résistance

- Modification de la cible +++

- Production d'une méthylase (gènes *ermA*, *ermC*)
- Méthylation au niveau de l'ARNr 23S
- phénotype MLS_B :
 - **constitutif** : R C14/15, C16, lincosamides, streptogramine B (pristinamycine S)
 - **inductible** (image d'antagonisme) : R C14/15

- Efflux ++

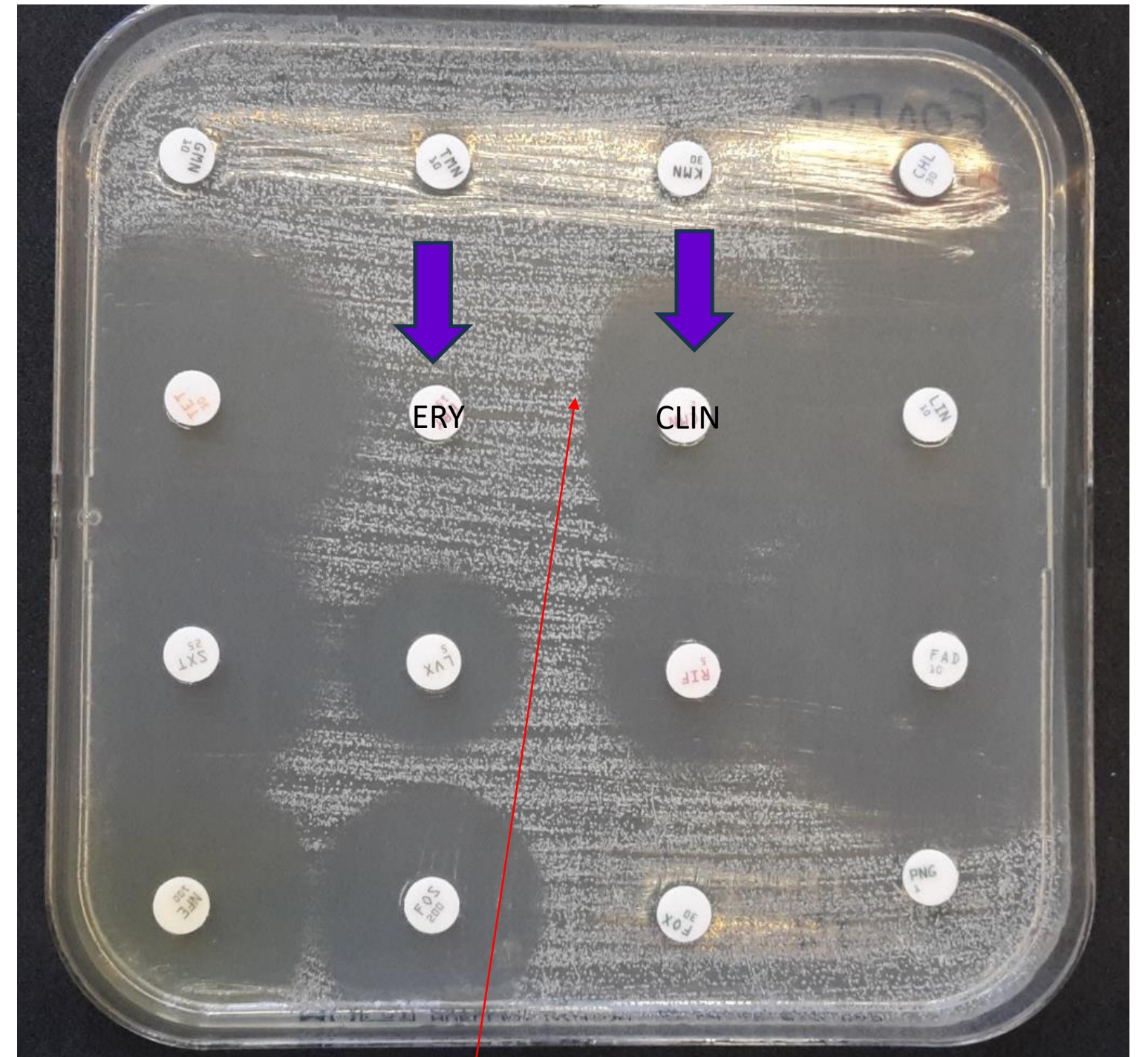
- Phénotype MS_B (gène *mrsA*) : touche l'érythromycine (C14 C15)

- Inactivation enzymatique (rare)

- Phénotype L (gène *InuA*) : touche uniquement les lincosamines

- En France

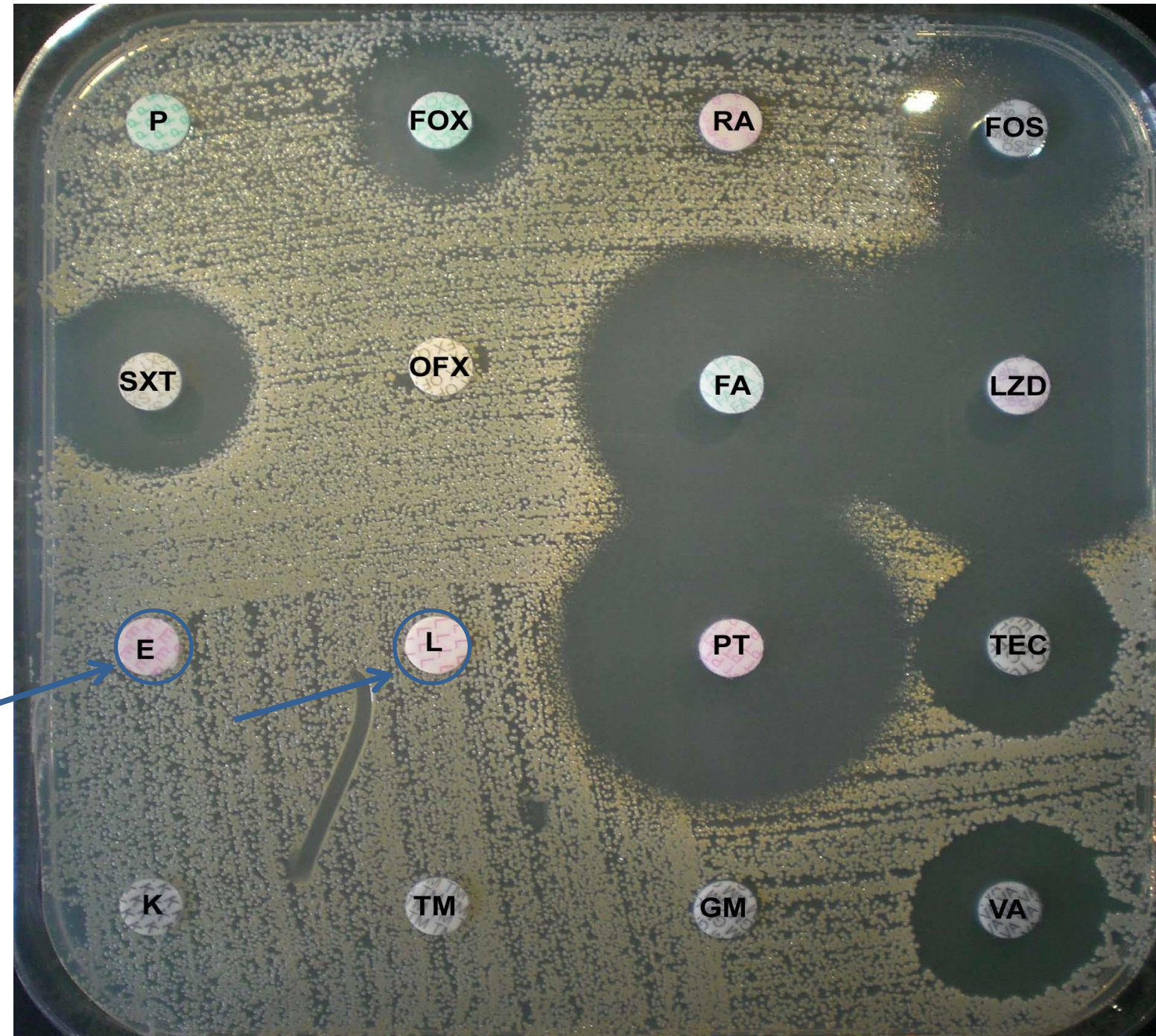
- Résistance à l'érythromycine fréquente : 1/3 des cas chez les *S. aureus* tous prélèvements confondus



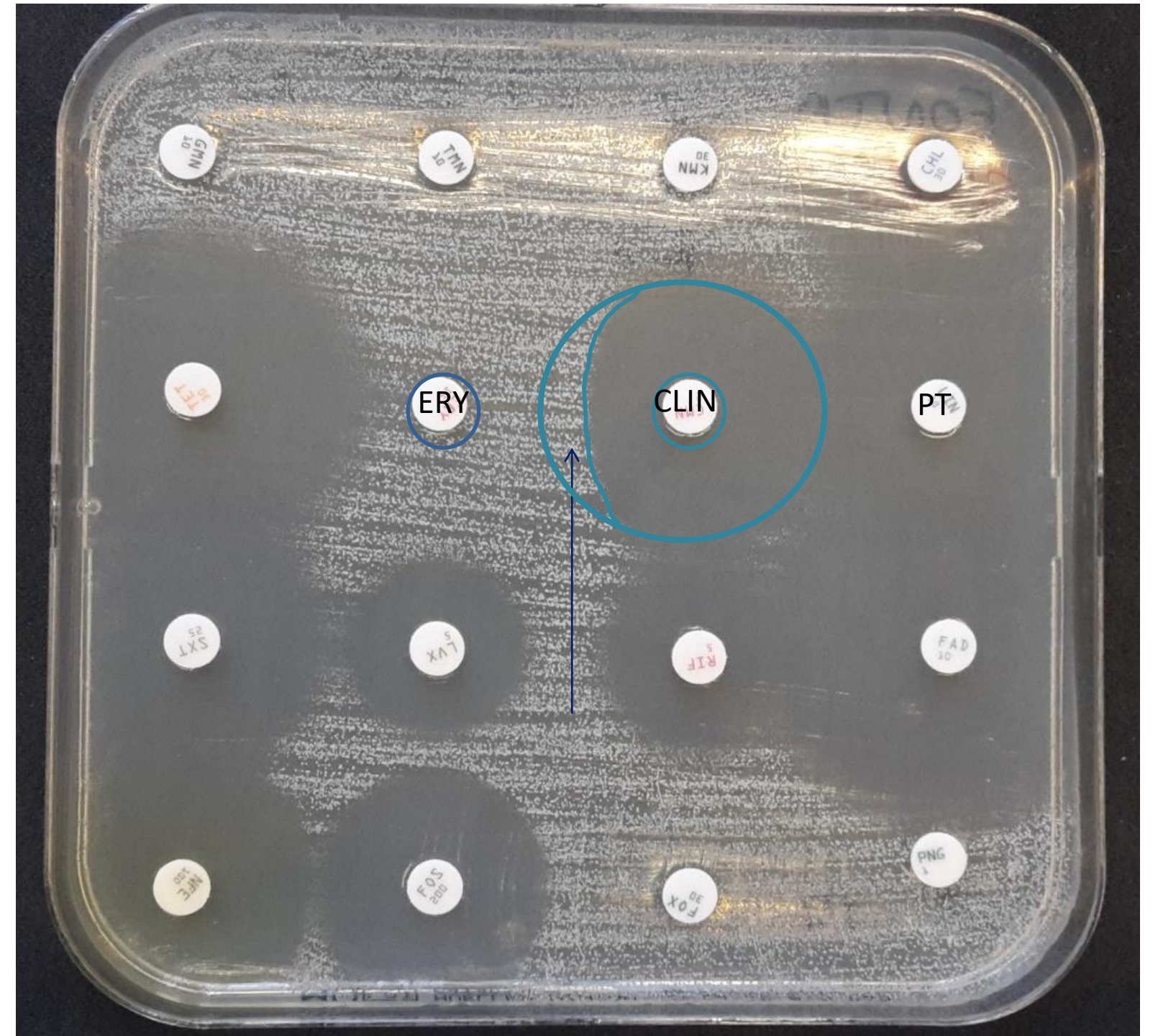
Recommandations CASFM 2024 si MLS_B inductible :
Sensibilité à la clindamycine mais « **risque de sélection de mutants résistants et d'échec clinique** »

Résistance aux macrolides

MLS_B constitutif



MLS_B inducible



Résistance aux Fluroquinolones

- **Mécanisme d'action**

- Inhibition des topoisomérases
- Inhibition de la synthèse d'ADN : effet bactéricide

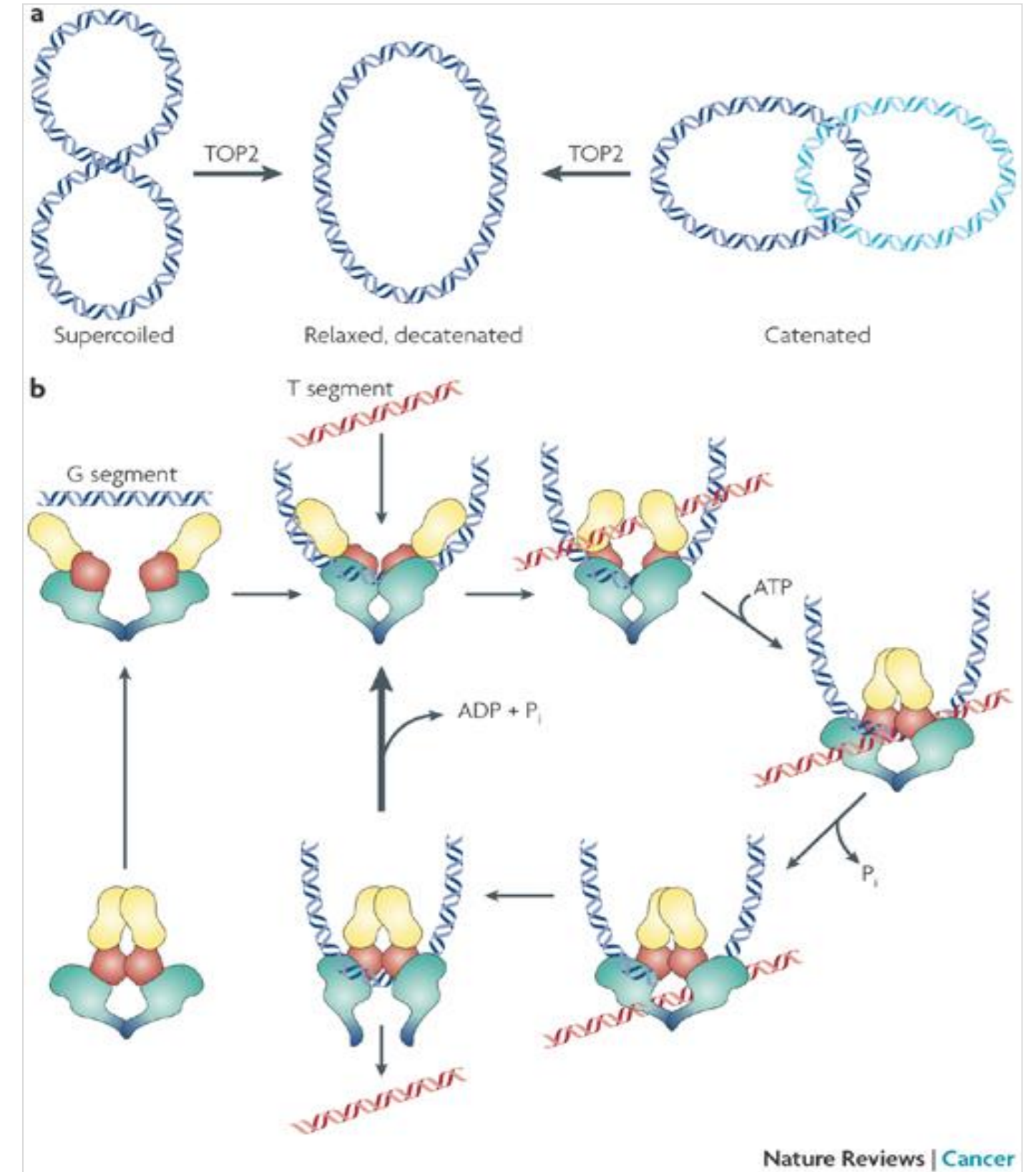
- **Mécanisme de résistance**

- Résistance naturelle : quinolones de 1ère génération
- Mutation de la cible (parC de la topoisomérase IV)
→ résistance croisée à toutes les FQ
- Efflux : ne touche que la ciprofloxacin et norfloxacin rareté du phénotype.

- **Recommandations EUCAST 2024**

- Si S Norfloxacin → S moxifloxacin et délafloxacin, SFP ciprofloxacin et lévofloxacin
- Si R Norfloxacin → tester les molécules individuellement

- SARM : ~80% de résistance aux FQ



Staphylocoques et autres antibiotiques

- **Rifampicine**

- Mutation de la cible ARN polymérase *rpoB*

- **Fosfomycine**

- Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne par action sur la pyruvyltransférase.
- Molécule hydrophile traverse la membrane cytoplasmique par des systèmes de transport actif
- Mutation du transporteur
- Mesure de la CMI

- **Acide fusidique**

- Inhibition de la synthèse protéique en ciblant le facteur d'élongation G (EF-G)
- Résistance par modification de la cible (gène *fusA*, *fusB*, *fusC*)



Ne jamais utiliser en monothérapie
car sélection de mutants résistants

Tableau 34. *S. aureus* : résistance aux antibiotiques, tous prélèvements confondus (n=68 632) et hémocultures (n=12 825)

Antibiotique	Tous prélèvements confondus		Hémocultures	
	Nb total de souches	% (R+I)	Nb total de souches	% (R+I)
Méticilline	66 974	12,3	12 512	11,4
Kanamycine	45 100	4,8	8 424	4,5
Gentamicine	64 708	2,6	12 087	2,6
Tobramycine	54 824	5,2	10 157	5,2
Fluoroquinolones	65 622	14,5	12 374	13,7
Tétracycline	46 053	4,0	8 435	3,1
Erythromycine	60 371	28,2	11 258	26,9
Pristinamycine	50 658	1,3	8 779	0,9
Cotrimoxazole	60 732	2,1	11 497	1,5
Rifampicine	60 139	2,5	11 415	1,5
Fosfomycine	55 951	1,4	10 286	1,0
Acide fusidique	57 526	5,1	10 971	4,5
Vancomycine	45 820	<0,1	7 401	0,0
Linézolide	50 096	0,2	9 277	0,2
Daptomycine	5 551	0,7	1 005	0,7

Tableau 36. *S. aureus* résistant à la méticilline : résistance aux antibiotiques, tous prélèvements confondus (n=8 227) et hémocultures (n=1 422)

Antibiotique	Tous prélèvements confondus		Hémocultures	
	Nb total de souches	% (R+I)	Nb total de souches	% (R+I)
Kanamycine	5 658	24,7	955	27,2
Gentamicine	7 674	8,2	1 337	9,5
Tobramycine	6 835	23,5	1 175	25,7
Fluoroquinolones	7 913	73,5	1 370	75,5
Tétracycline	5 831	10,1	1 000	7,4
Erythromycine	7 373	27,6	1 295	25,9
Pristinamycine	6 231	5,2	1 031	4,5
Cotrimoxazole	7 217	5,1	1 292	7,0
Rifampicine	7 163	4,8	1 273	4,1
Fosfomycine	6 807	6,1	1 158	4,6
Acide fusidique	7 066	16,2	1 251	14,9
Vancomycine	6 218	0,1	.	.
Linézolide	6 287	0,4	1 056	0,3
Daptomycine	864	1,0	210	0,5

Pour approfondir !



Drug Resistance Updates 77 (2024) 101147



Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Drug Resistance Updates

journal homepage: www.elsevier.com/locate/drup



Mechanism of staphylococcal resistance to clinically relevant antibiotics

Daniela Brdová, Tomáš Ruml, Jitka Viktorová^{*,1}

Department of Biochemistry and Microbiology, University of Chemistry and Technology, Technická 3, Prague 16628, Czech Republic



||| Merci de
votre
attention

