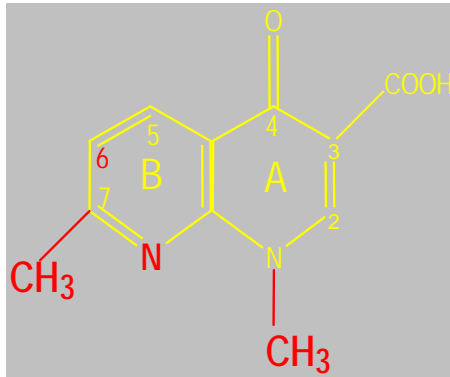


Conséquences écologiques de la prescription des fluoroquinolones

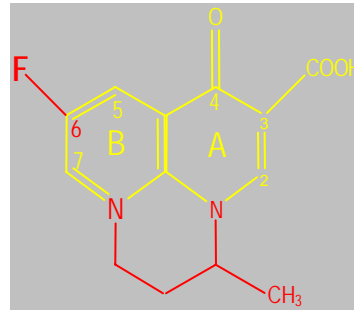
Pr Emmanuelle CAMBAU
Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène
CHU Henri Mondor, Université Paris XII

Utilisation des quinolones en thérapeutique humaine

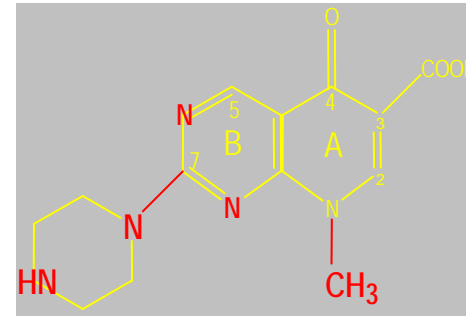
- 1967 acide nalidixique → Infections urinaires basses
- 1975 acide pipémidique
- 1985 péfloxacine
- 1986 norfloxacin
- 1988 ofloxacin → Infections urinaires hautes et infections systémiques
- 1988 ciprofloxacine
- 1994 sparfloxacine
- 1996 lévofloxacine
- 1997 grépafoxacine
- 1998 trovafloxacine → Infections respiratoires ± autres infections
- 2000 moxifloxacine
- 2002 gatifloxacine
- ? gémifloxacine,
- ? garénoxacine....



Acide nalidixique

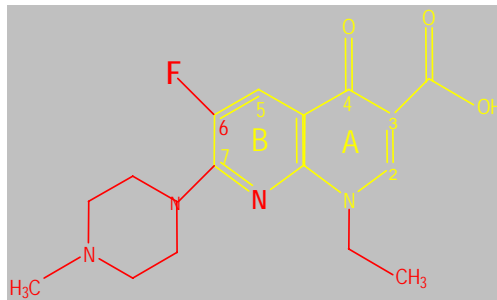


fluméquine

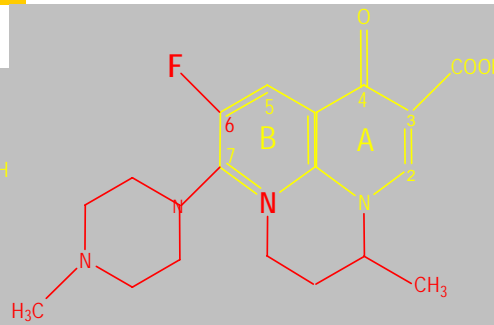


acide pipémidique

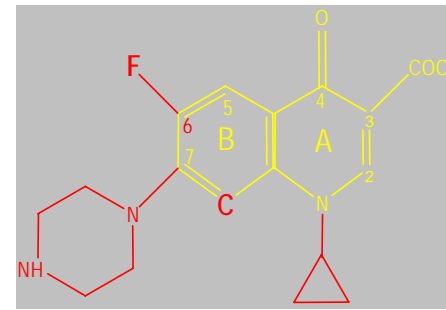
Quinolones classiques



**péfloxacine
(méthylnorfloxacine)**

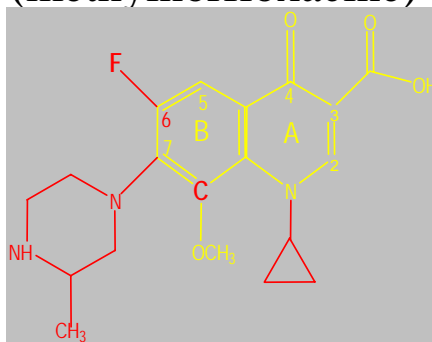


(lev) ofloxacine

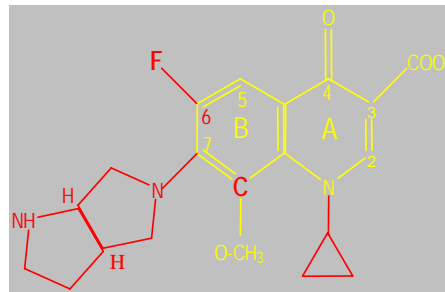


ciprofloxacine

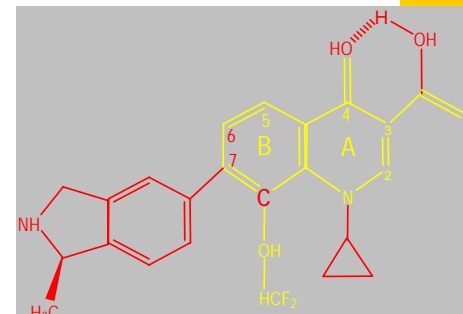
Fluoroquinolones



gatifloxacine



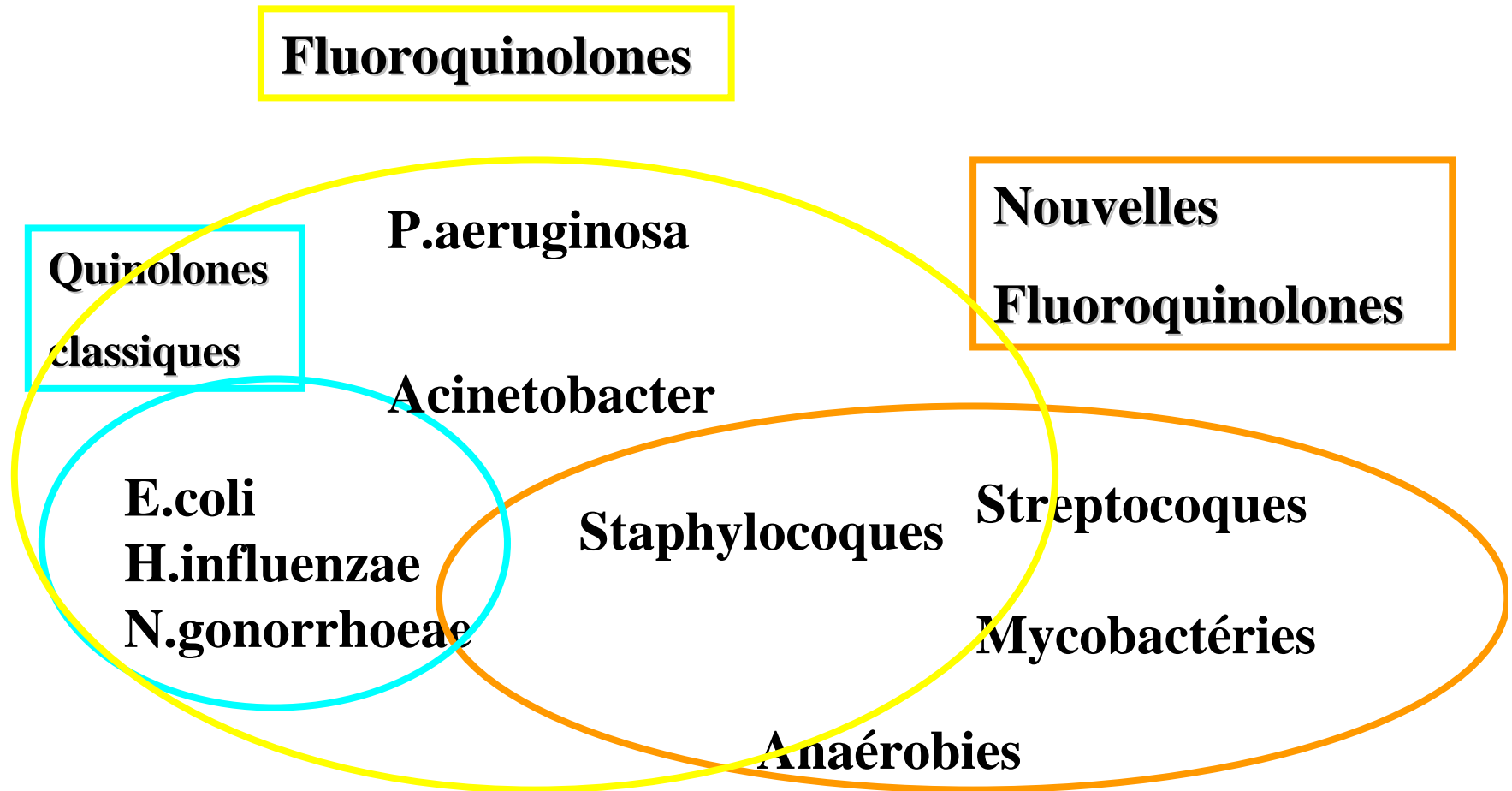
moxifloxacine



garénoxacine

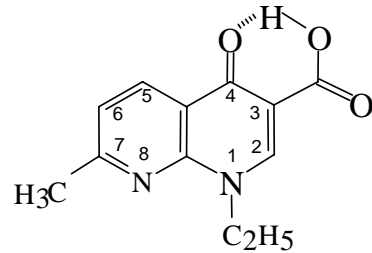
Nouvelles fluoroquinolones

Spectre naturel d'activité antibactérienne

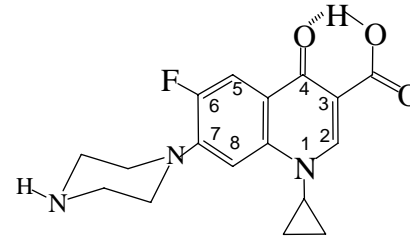


Relation structure-activité

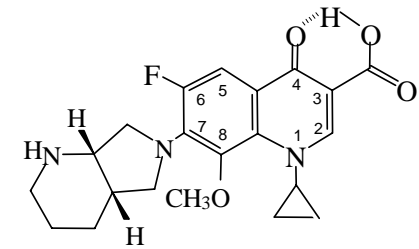
(CMI en mg/l)



Nalidixic acid
Acide nalidixique



Ciprofloxacin
Ciprofloxacin



Moxifloxacin

E.coli

4

0.01

0,06

S.aureus

32

0.5

0.03

S.pneumoniae

> 512

2

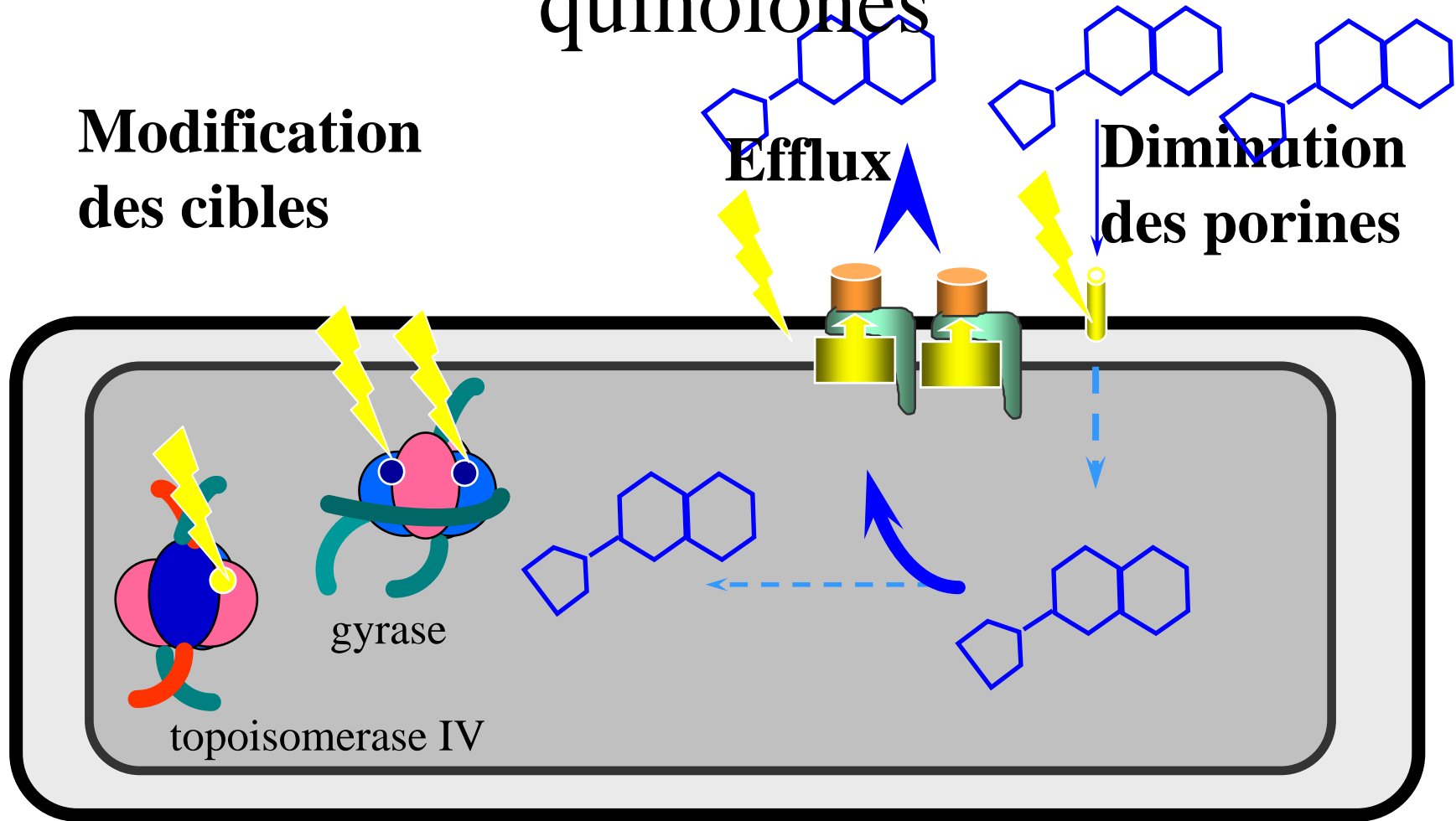
0.12

Mécanismes de résistance aux quinolones

**Modification
des cibles**

Efflux

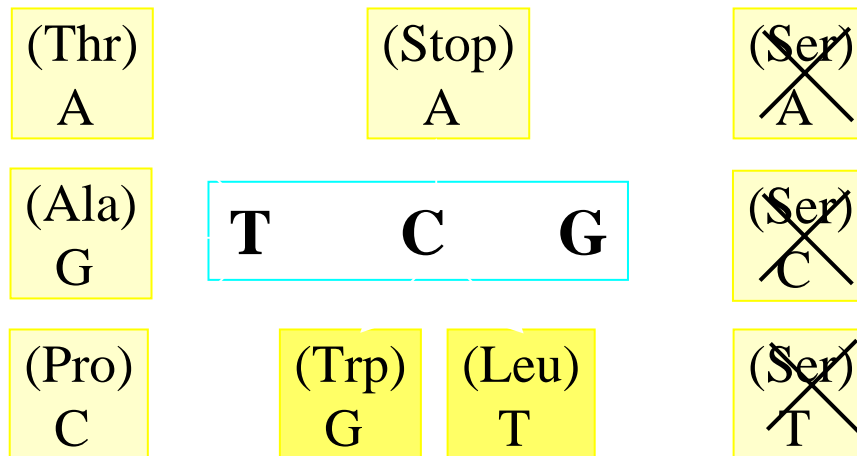
**Diminution
des porines**



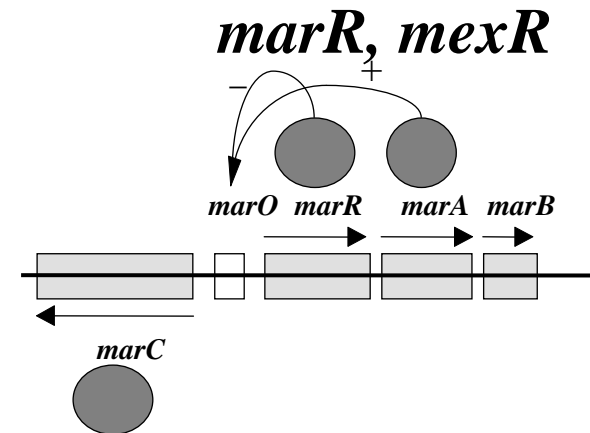
Mode d'acquisition de la résistance aux quinolones = mutation chromosomique

Mutation ponctuelle dans le gène d'une cible

Serine-83 in *gyrA*



Mutation ponctuelle dans un gène régulateur pour l'accumulation



Fréquence de mutation :
1 mutant pour 10 à 100 millions de bactéries

Modifications de Gyr A et de ParC impliquées dans la résistance aux quinolones

80 83 87 90
Gyrase: His - Gly - Asp - Ser - Ala - Val - Tyr - Asp - Thr - Ile - Val

Asp Gly

Leu
Trp

Asn
Gly
Tyr

77 80 84 87
Topo IV: His - Gly - Asp - Ser - Ala - Cys - Tyr - Glu - Ala - Met - Val

Asp

Arg
Ile

Gly
Lys

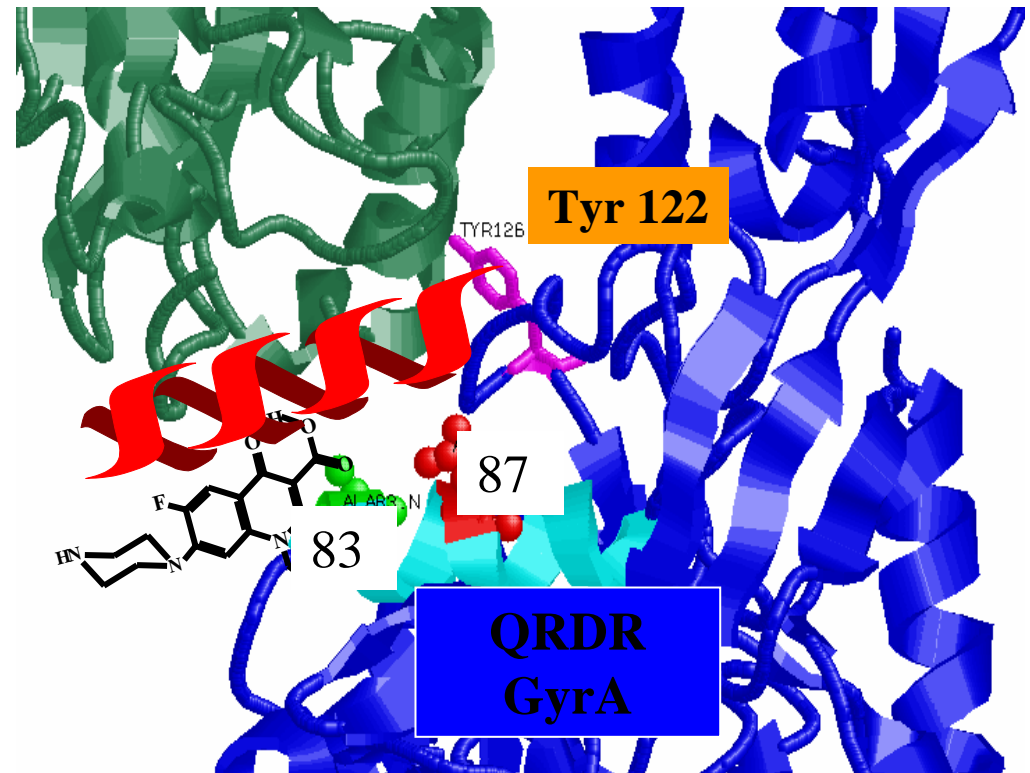
Site d'interaction entre l'ADN gyrase et les quinolones

Quinolone resistance-determining region ou QRDR

QRDR GyrA : 67-106
(Yoshida 1990)
En fait mutations 46-196

QRDR GyrB : 426-446
(Yoshida 1991)
En fait 397-466

QRDR ParC : 23-177
QRDR ParE : 420-467 +
20-120 (N-ter)



Résistance acquise aux quinolones par modification de la sous-unité ParC de la topoisomérase IV

exemple de *Neisseria gonorrhoeae* (d'après Belland 1994)

Souches	Ciprofloxacine CMI (mg/L)	GyrA		ParC	
		83	87	81	84
sauvage	0,002	Ser	Asp	Ser	Glu
mutant 1 ^{ère} étape	0,015	-	-	-	-
2 ^{ème} étape	0,25	Phe	-	-	-
3 ^{ème} étape	0,5	Phe	Asn	-	-
4 ^{ème} étape	4	Phe	Asn	Pro	-
5 ^{ème} étape	16	Phe	Asn	Pro	Lys

**Modifications de l'ADN gyrase et de la topoisomérase IV
chez les mutants résistants de *Staphylococcus aureus*
sélectionnés in vitro par la ciprofloxacine
(Ferrero et al. 1995)**

Souches avant et après sélection	CMI (µg/ml) Cip	GyrA		ParC	
		83*	87*	79*	83*
sauvage	0.5	Ser	Glu	Ser	Glu
1 ^{ère} étape	8	-	-	Tyr -	- Lys
2 ^{ème} étape	128	- -	Lys -	- Tyr	Lys -
3 ^{ème} étape	>128	Leu Leu	- -	Tyr -	- Lys

*numérotation de *Escherichia coli* Emmanuelle CAMBAU 24/05/2005

Modifications de l'ADN gyrase et de la topoisomérase IV chez les mutants résistants de *Streptococcus pneumoniae* sélectionnés in vitro par la sparfloxacine (Pan et al. 1997)

Souches avant et après sélection	CMI (µg/ml)		GyrA		ParC	
	Cip	Spfx	83*	87*	79*	83*
sauvage	1	0.25	Ser	Glu	Ser	Asp
1 ^{ère} étape**	1	2	Phe Tyr	-	-	-
2 ^{ème} étape***	32	16	Phe	-	-	Asn
	64	32	Phe	-	Tyr	-

*numérotation de *Escherichia coli*

** fréquence de $5 \cdot 10^{-10}$

*** fréquence de 10^{-8}

Emmanuelle CAMBAU 24/05/2005

Cibles préférentielles des quinolones selon la molécule ex. du pneumocoque

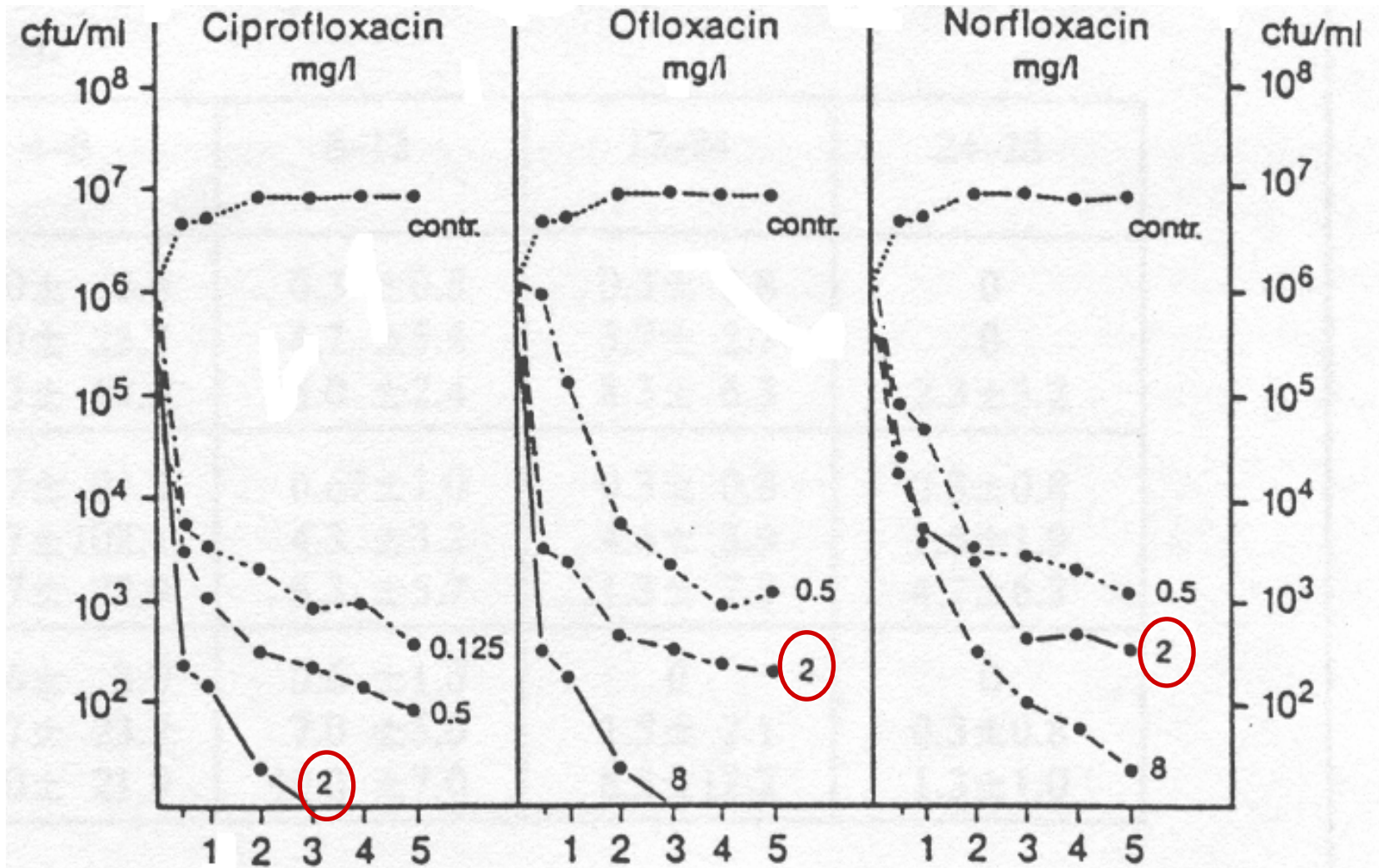
Topoisomerase IV

- Ciprofloxacin
- (lev) ofloxacin
- Péfloxacin
- Norfloxacin
- Trovafloxacin

ADN gyrase

- Sparfloxacin
- Gatifloxacin
- Moxifloxacin
- Gémifloxacin
- Clinafloxacin
- grépafloracin

COURBES COMPARATIVES DE BACTERICIDIE



Killing curves with *Escherichia coli* C14 in 100% fresh human blood.

H.J. Zeller, D. Beermann, W. Wingender, D. Förster, P. Schacht. Bactericidal Activity of Ciprofloxacin, Norfloxacin and Ofloxacin in Serum and Urine after Oral Administration to Healthy Volunteers. Infection 16 (1988) Suppl. 1 : 19-23

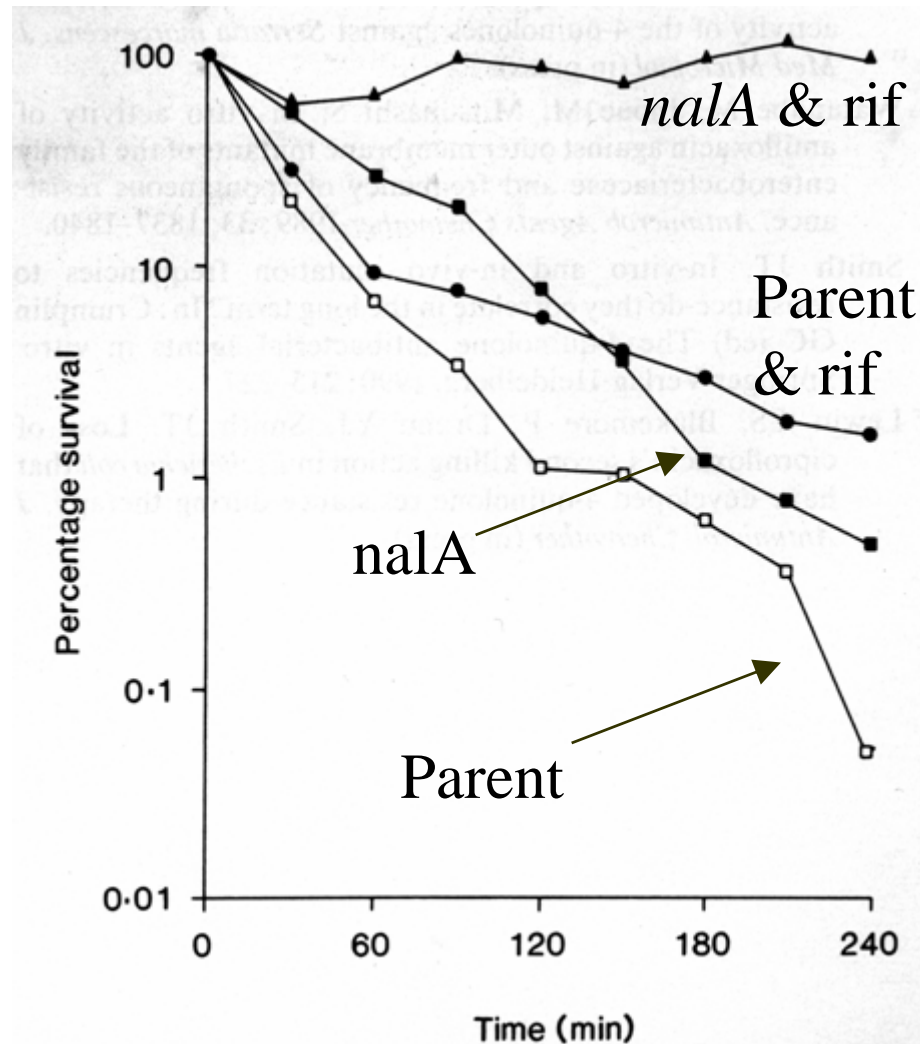
Bactéricidie

(d'après Morrissey 1999)

	NAL	CIP	TRO*	SIT
<i>E. coli</i> KL16	A only	A & B	A & B	A & B
<i>S. aureus</i> E3T	?	A only	A & B	A & B
<i>S. pneum</i> C3LN4	?	A only	A only	A & B

*également Moxi, gémi et Clina

Bactéricidie chez les mutants *gyrA*



Ciprofloxacin at CMB
against *E. coli* KL16

gyrA responsible for
mechanism B/B₁

Lewin *et al* (1991) J.
Med. Micro. 34: 19

Étapes d'acquisition de la résistance aux quinolones chez *E. coli*

CMI [mg/l]	acide nalidixique		Mécanisme (mutation)
0.015	4	sauvage	
0.5	256 Nal R	Mutant 1ère étape	mutation ADN gyrase (gyrA ou gyrB)
2 Cip I	1,024	Mutant 2ème étape	Efflux ou pénétration (acrB ou marR)
64 Cip R	>2,048	Mutant 3ème étape	2ème mutation gyrase ou topoisomérase IV (parC ou parE)

Conséquences phénotypiques des mécanismes de résistance aux quinolones

Staphylocoque doré

Espèce	CMI (mg/L)				
	Cip	Lévo	Spx	Grépa	Gémi
Staphylococcus aureus					
. sauvage	0,25	0,12	0,06	0,12	0,03
. efflux (norA)	2	0,5	0,06	0,12	0,06
. parC	4	2	0,06	0,5	0,25
. parC + gyrA	16	8	2	16	1
. parC + gyrA + norA	28	64	2	16	2

Conséquences phénotypiques des mécanismes de résistance aux quinolones

Souches isogéniques	CMI ($\mu\text{g/ml}$)					
	PEF	NOR	CIP	SPX	LVX	MXF
R6	8	8	1	0.25	1	0.125
TrParC	64	128	4	0.5	2	0.25
TrGyrA	8	8	1-2	1	1	0.5-1
TrEff	8	32	4	0.25	2	0.125
TrParC+GyrA	128	128	32-64	8-128	8-128	2-128

Varon *et al.*, AAC 1999 ; Houssaye *et al.*, AAC 2002

Etude moléculaire des souches de pneumocoques
isolées en France Varon, CNRP 2003; Drugeon 2003

2325 souches, 1.7 % R quinolones

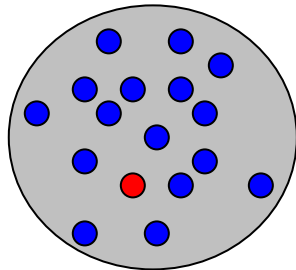
Mutation	Resp	Hémoc	OMA	LCR
	N= 675	N = 1012	N= 302	N = 336
ParC	11	5	1	0
efflux	6	5	0	0
gyrA	0	0	0	0
Par + Gyr	7	4	0	0
Total	24	14	1	0

Acquisition de la résistance aux quinolones

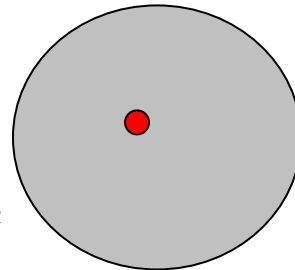
1. sélection de mutants résistants
2. transmission de souches résistantes
3. Transmission de gène résistant chez certaines bactéries
 - par transformation et recombinaison homologue (streptocoques)
 - Par gène plasmidique transférable (entérobactéries)

Schéma de sélection de mutants résistants

Foyer infectieux



ATB

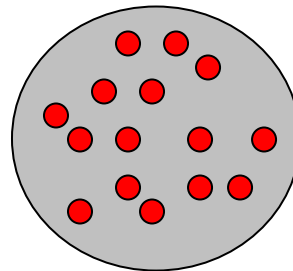


[C] locale

- bactérie sensible
- bactérie résistante à l'antibiotique

Population bactérienne normale

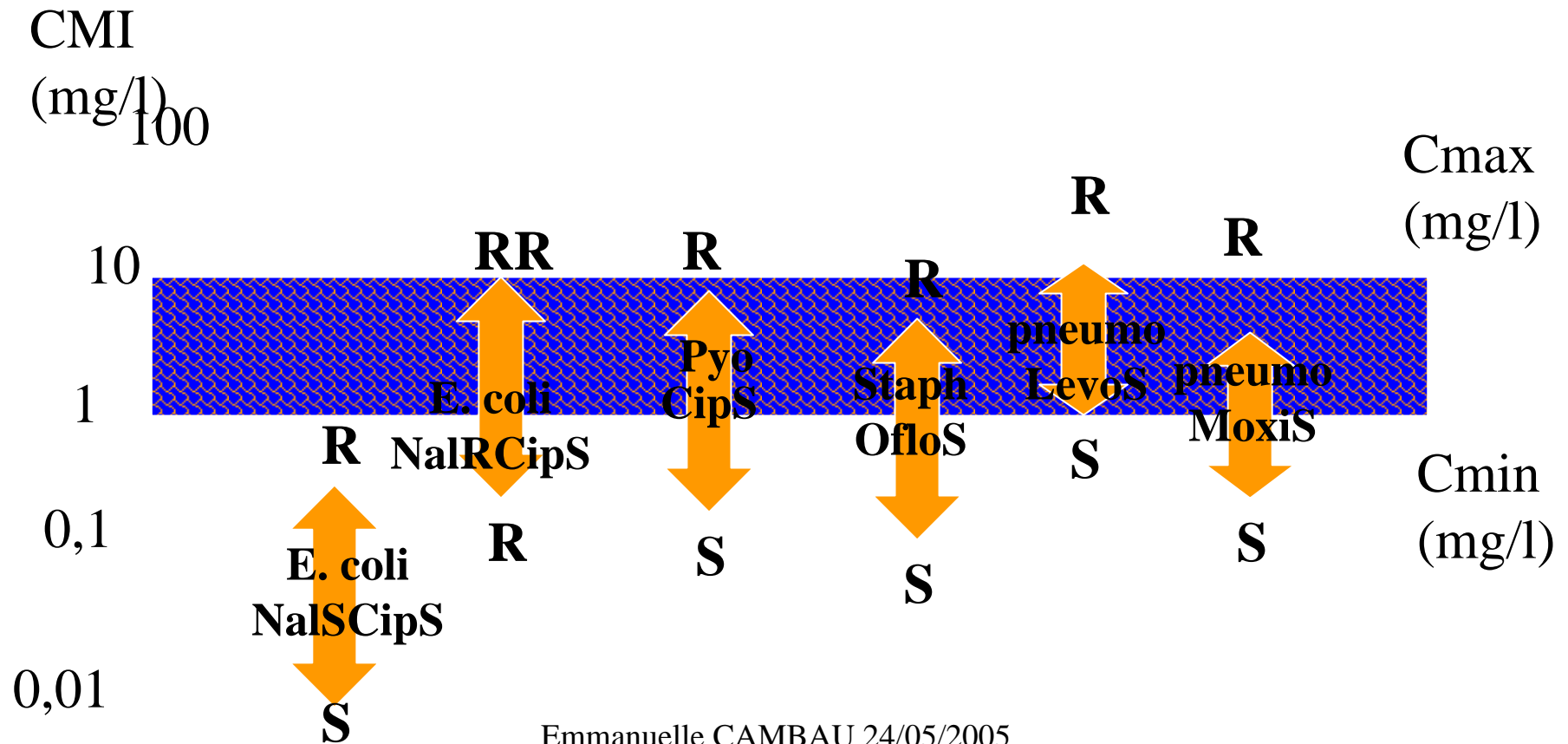
Facteurs favorisants



Population bactérienne devenue résistante

Sélection* in vivo de mutants résistants lors du traitement par quinolones d'infections tissulaires

* Dépend de la taille de la population bactérienne (>10 millions bactéries), de la localisation de l'infection, de l'état des défenses immunitaires



Concentration de fluoroquinolones Prévenant l'apparition des mutants chez *P. aeruginosa*

<u>Fluoroquinolone</u>	CPM	Dose unitaire	Cmax (mg/L)	t _{1/2}
Norfloxacin	2	400	1.2	3-4
Ciprofloxacin	2	500	2.4	4-6
Ciprofloxacin	2	750	3.6	4-6
Ofloxacin	9.6	400	3-4.5	8
Levofloxacin	4.8	500	5-6	8

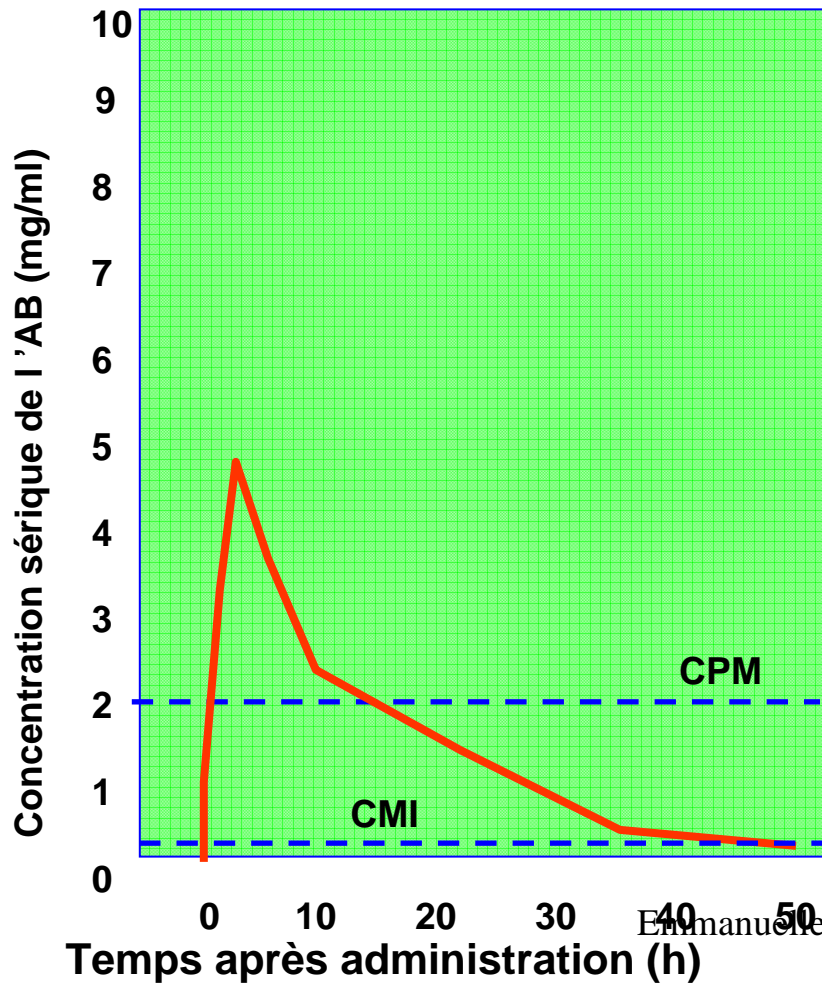
Concentration de fluoroquinolones Prévenant l'apparition de pneumocoques Mutants chez *S. pneumoniae*

<u>Fluoroquinolone</u>	CPM	Dose unitaire	Cmax (mg/L)	t _{1/2}
Moxifloxacin	2	400	4.5	12
Gatifloxacin	4	400	4.2	8
Trovafloxacin	4	200	3.1	12
Grepafloxacin	8	600	<2.7	14
Levofloxacin	8	500	5.7	8

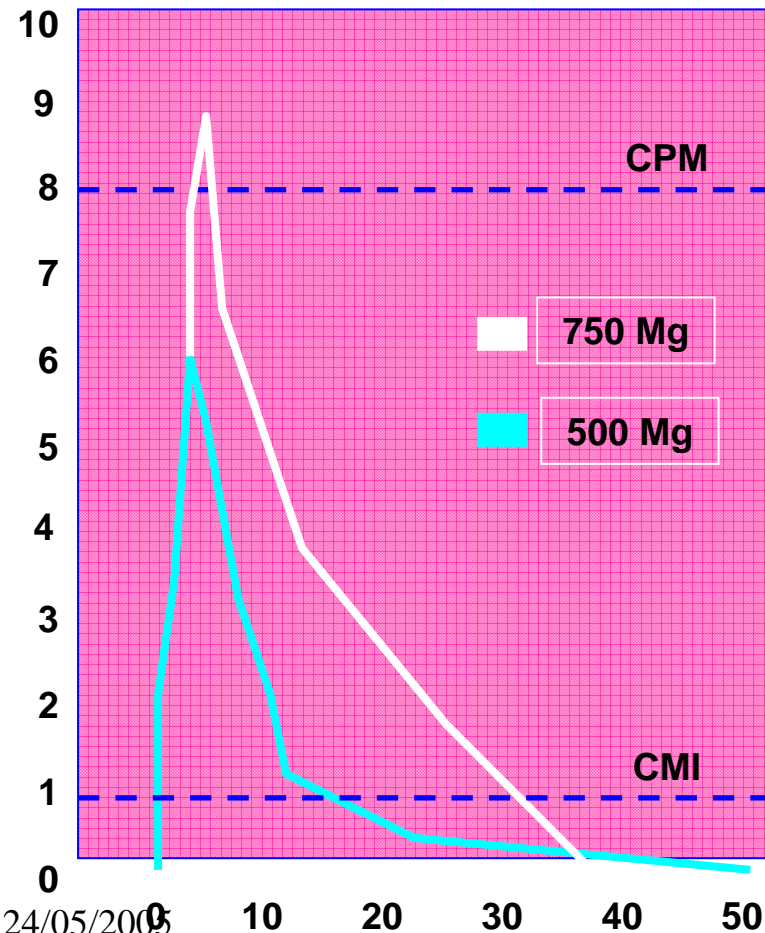
Mutant Prevention Concentration of Fluoroquinolones for Clinical Isolates of *Streptococcus pneumoniae*.
Joseph M. Blondeau et al, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Feb. 2001 (45), 433-438

PNEUMOCOQUE : Prévention de la mutation de premier niveau avec deux fluoroquinolones

Moxifloxacin 400 mg

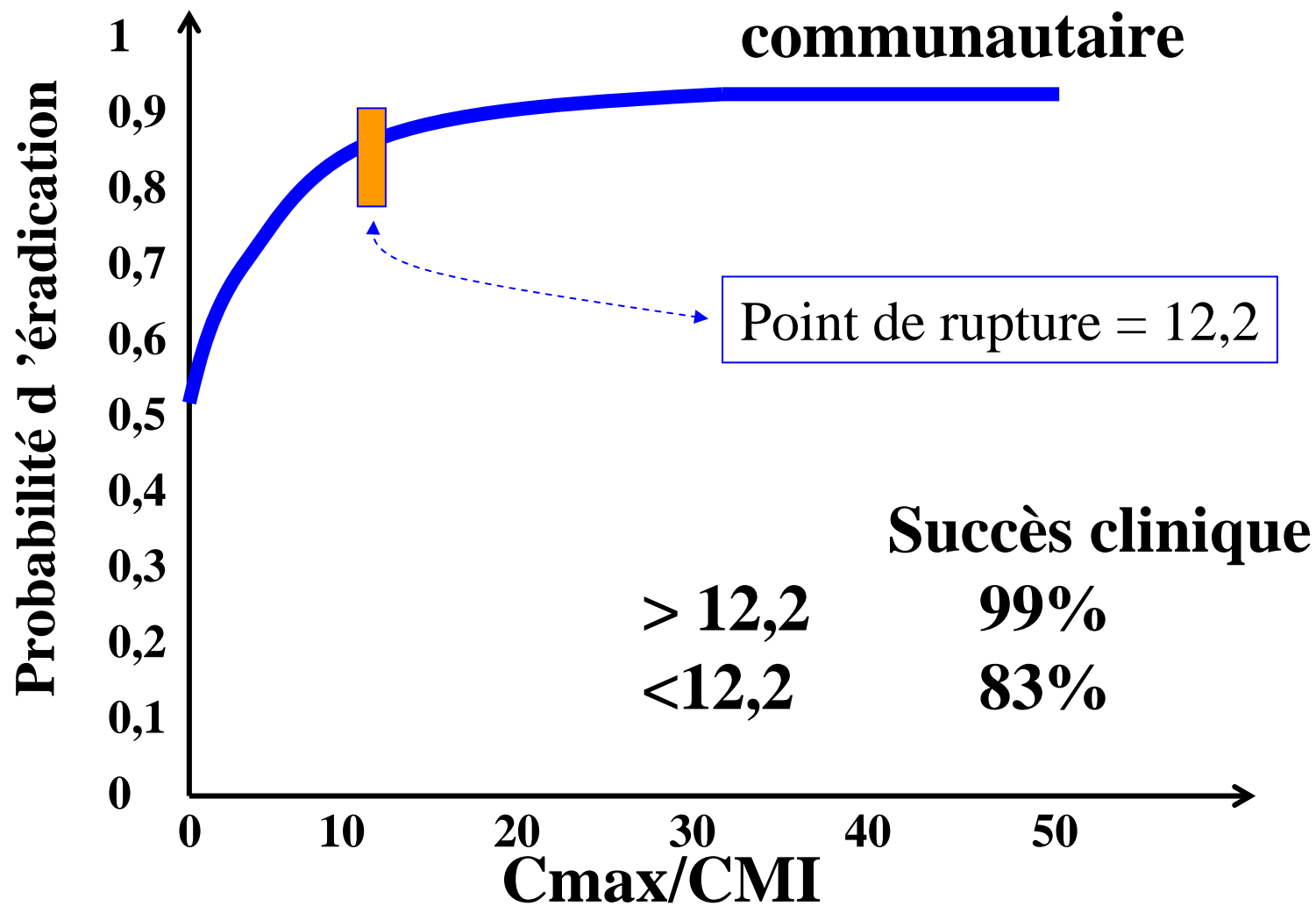


Levofloxacin

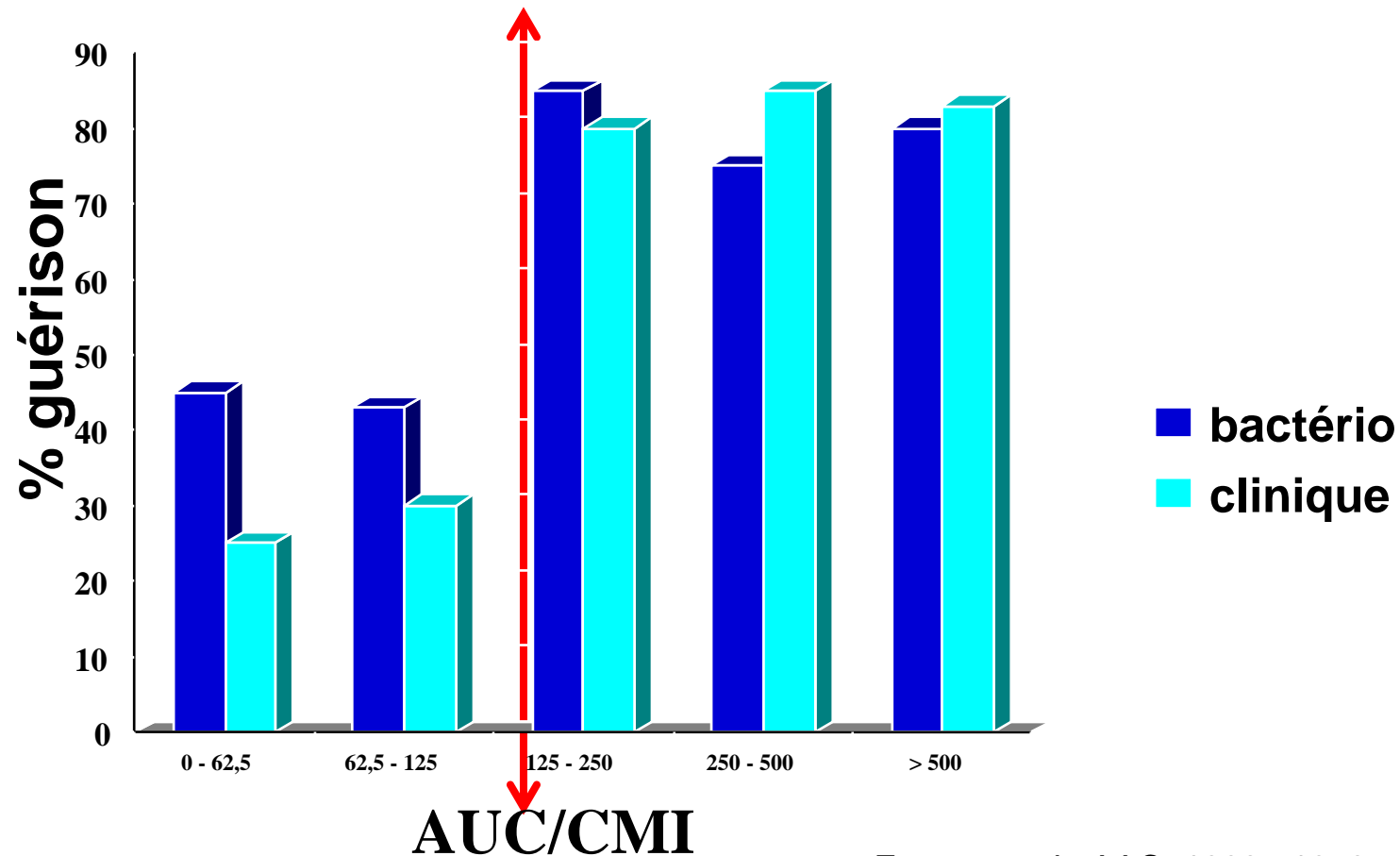


chez l'homme

Fluoroquinolone vs Pneumonie communautaire



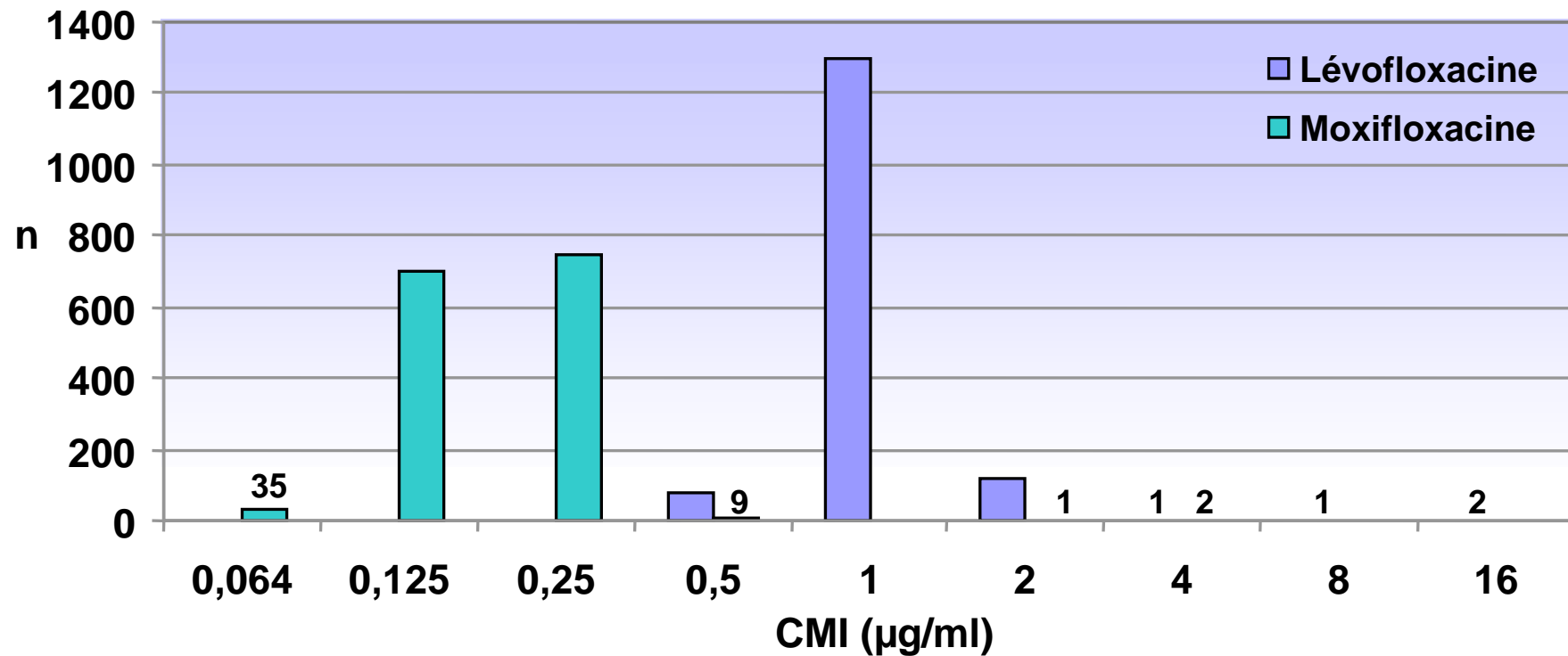
DEMONSTRATION DU ROLE DU RAPPORT AUC_{90} : FLUOROQUINOLONE EN CLINIQUE CHEZ L'HOMME (Pneumopathie nosocomiale)



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

Emmanuelle CAMBAU 24/05/2005

Distribution des CMI de FQ



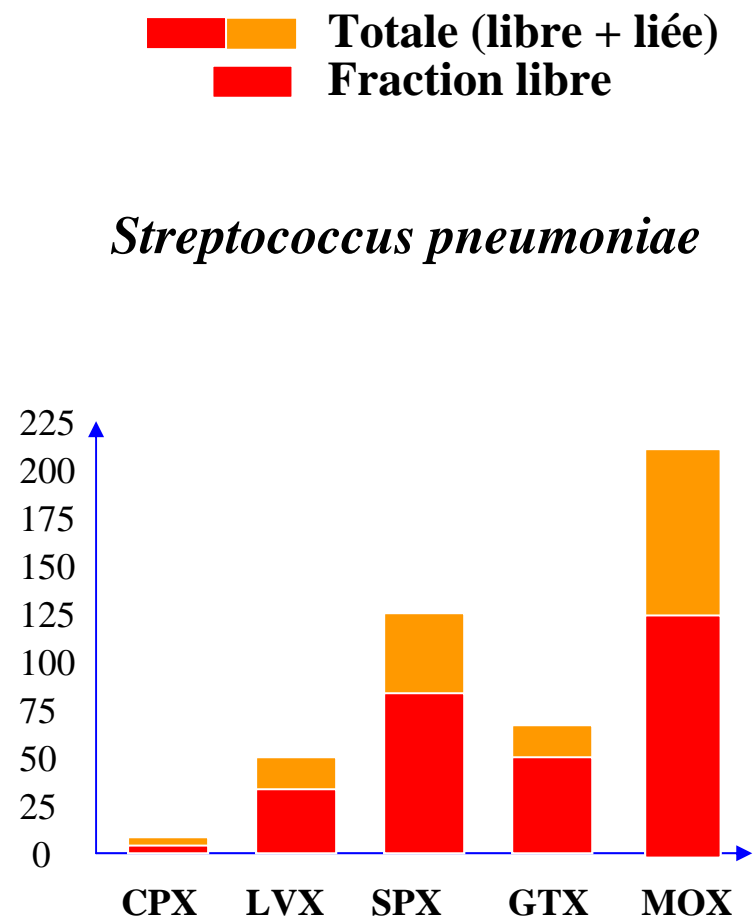
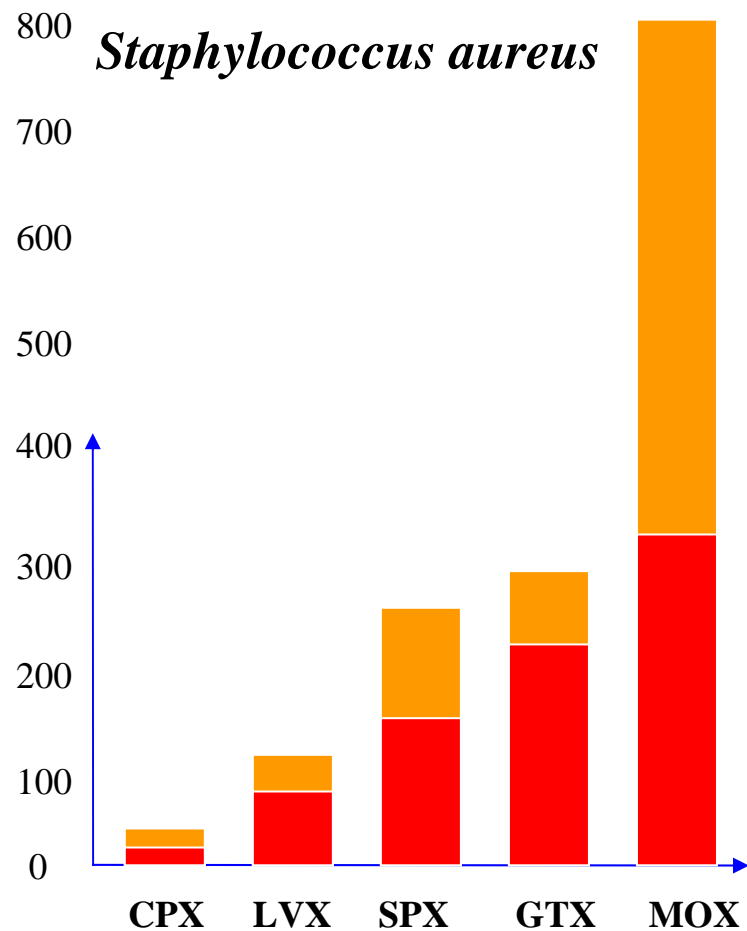
CNRP, Rapport d'activité 2003

Emmanuelle CAMBAU 24/05/2005

Quotients inhibiteurs et AUIC des quinolones

	Levo 500	Lévo 1 g	Moxi 200	Moxi 400
C _{max}	5	10	1.5	3
AUC	50	100	15	30
CMI Ec	0.03	0.03	0.03	0.03
CMI Sa	0.25	0.25	0.06	0.06
CMI Sp	1	1	0.25	0.25
QI	5 – 160	10 – 320	4 – 25	10- 50
AUIC	50 – 800	100 – 1000	60 – 200	120- 400

Pharmacodynamie : Comparaison des AUC_{90}



Règles pour le traitement par quinolones afin d'éviter l'apparition de résistance acquise

1. Choisir la quinolone la plus active/bactérie présumée ou isolée
2. Choisir la quinolone qui a la pharmacocinétique la plus adéquate/localisation du foyer infectieux (urines, LCR, poumon)
3. Administrer une posologie adéquate (plutôt élevée) pour que $C_{max}/CMI > 10$ ou $AUC / CMI > 100$
4. Associer avec un 2ème antibiotique d'une autre famille pendant les 1ères 24-48 heures et raccourcir la durée totale du traitement

PREVENTION DES MUTATIONS EN PRATIQUE

Dépister les bas niveaux de résistance

Ne pas exposer aux FQ les moins actives

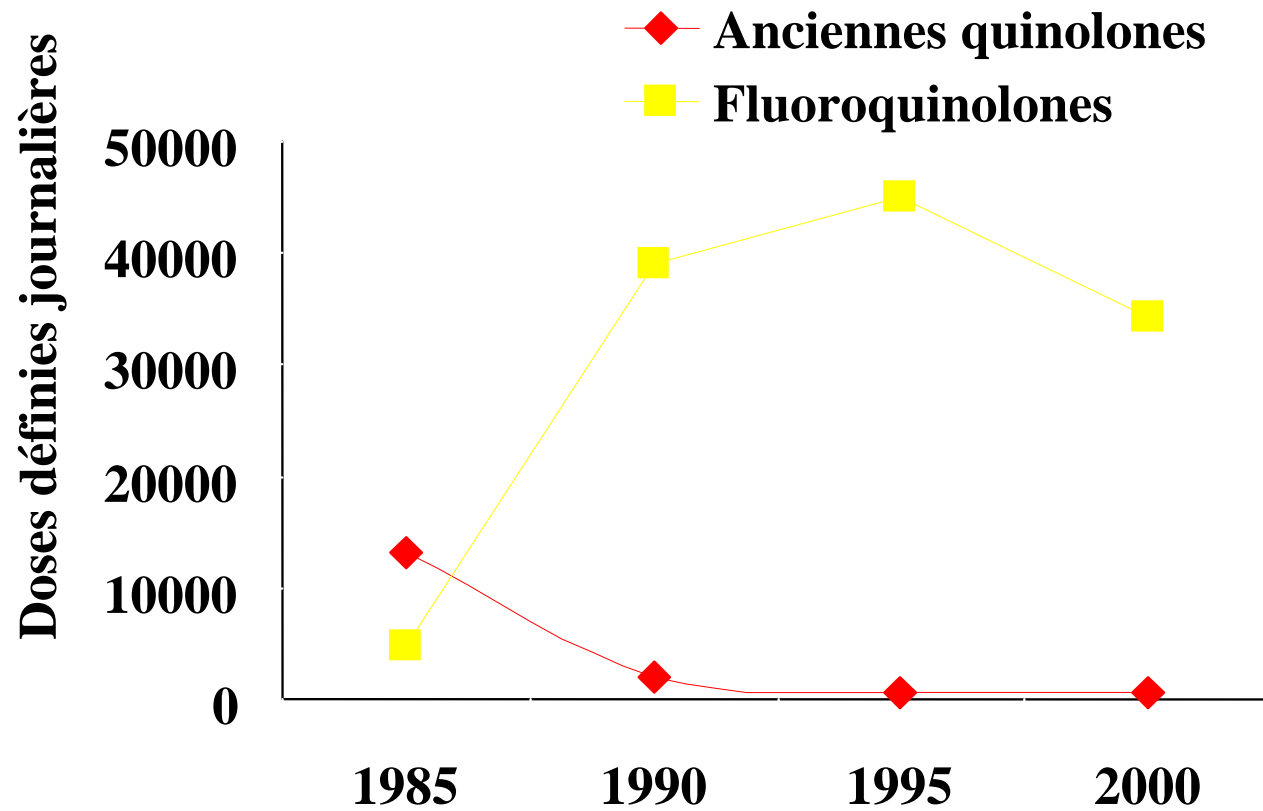
Ne pas prescrire deux fois de suite dans la
même classe

Revoir les posologies des FQ ?

P. Chavanet et al, RICAI 12/2003

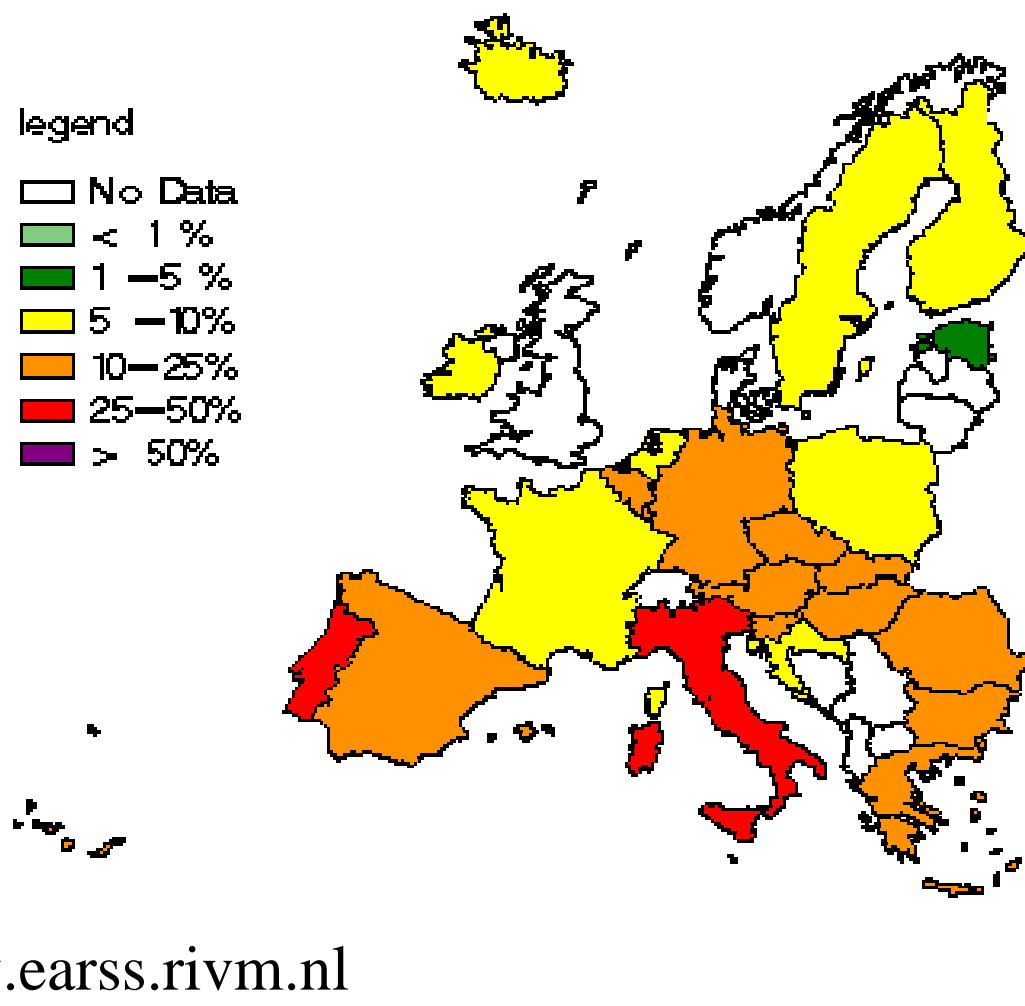
Consommation des quinolones

Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière

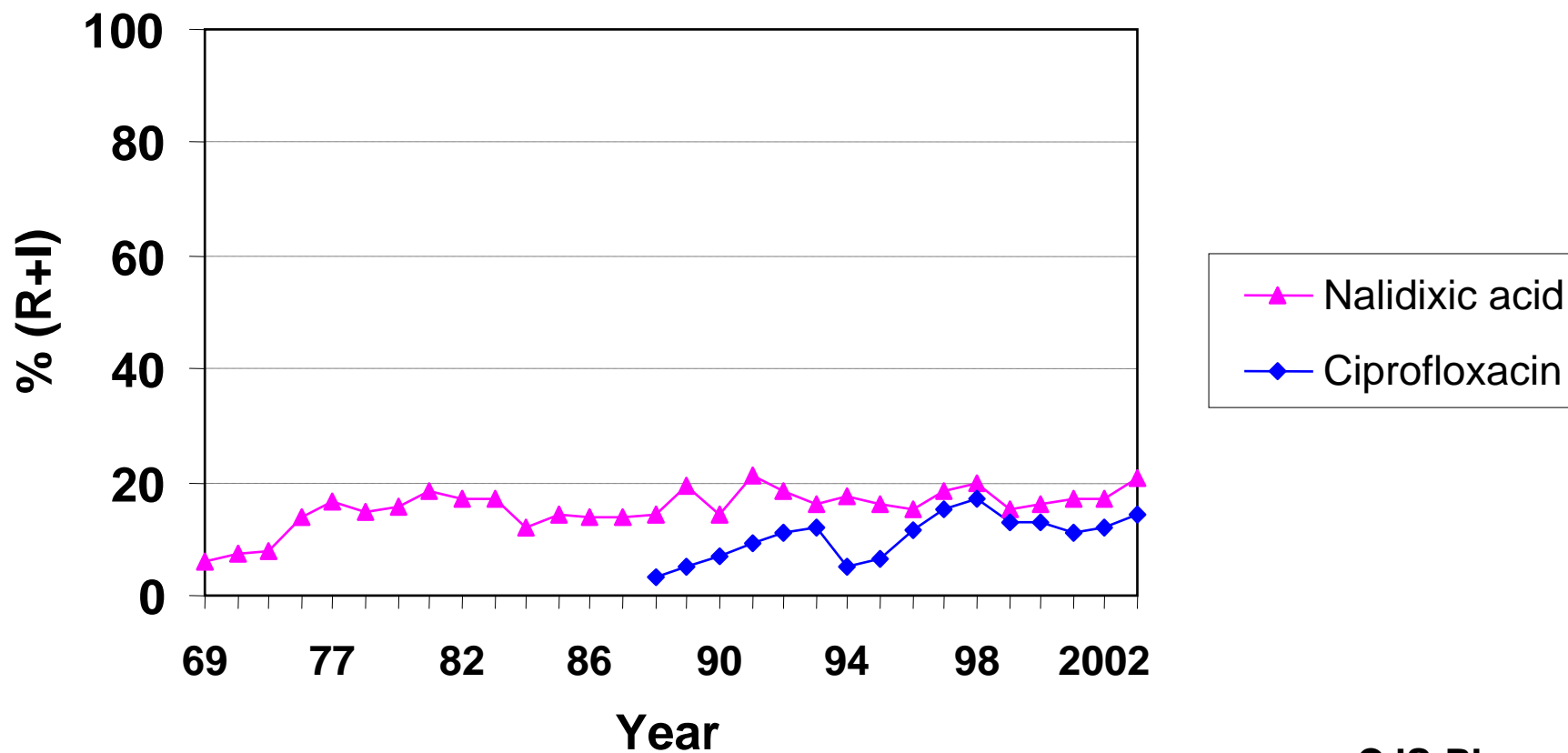


Emmanuelle CAMBAU 24/05/2005

Résistance aux fluoroquinolones en 2003 chez *Escherichia coli* (EARSS)



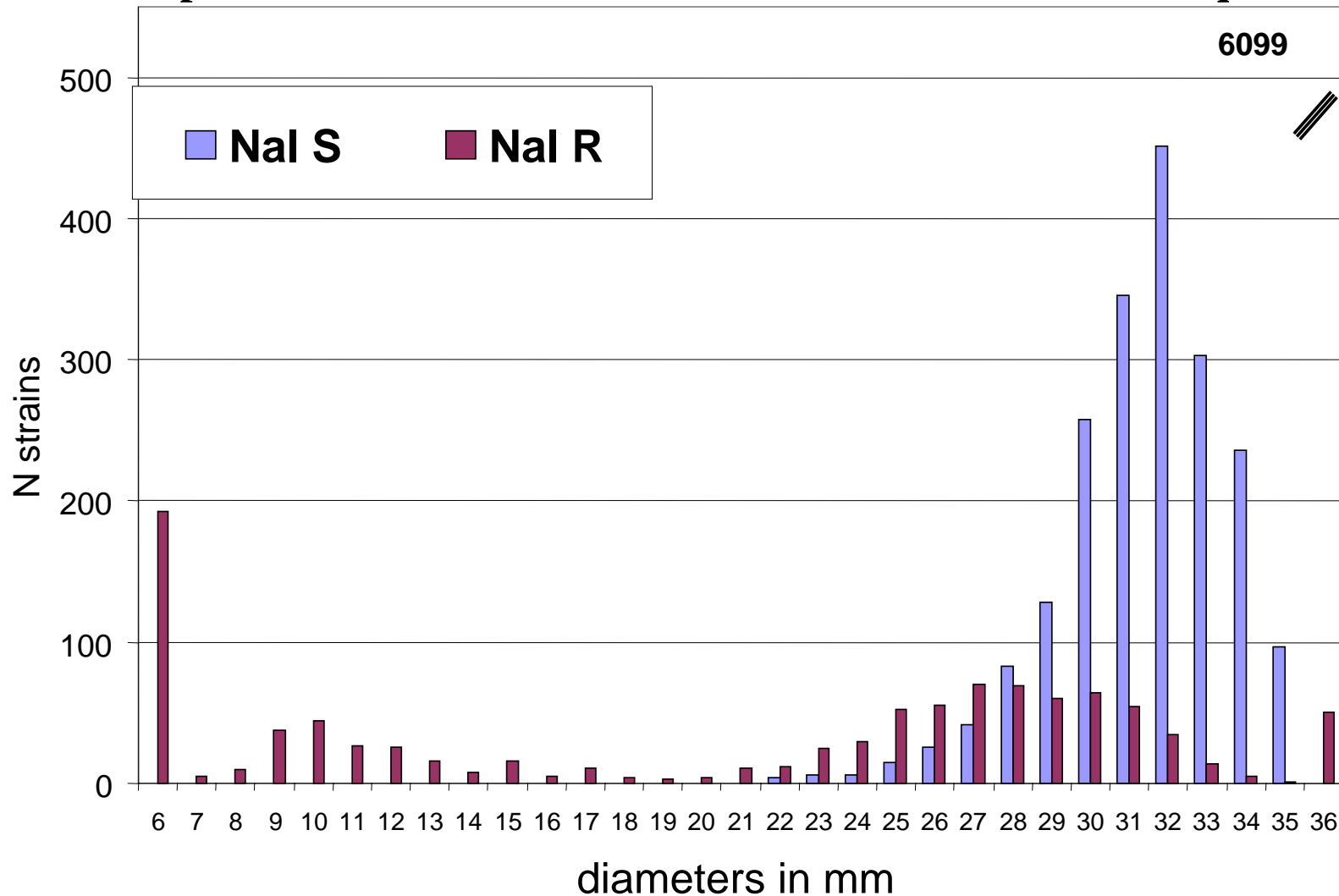
Evolution de la résistance à l'acide nalidixique et à la ciprofloxacine chez les entérobactéries CHU Henri Mondor 1969-2003



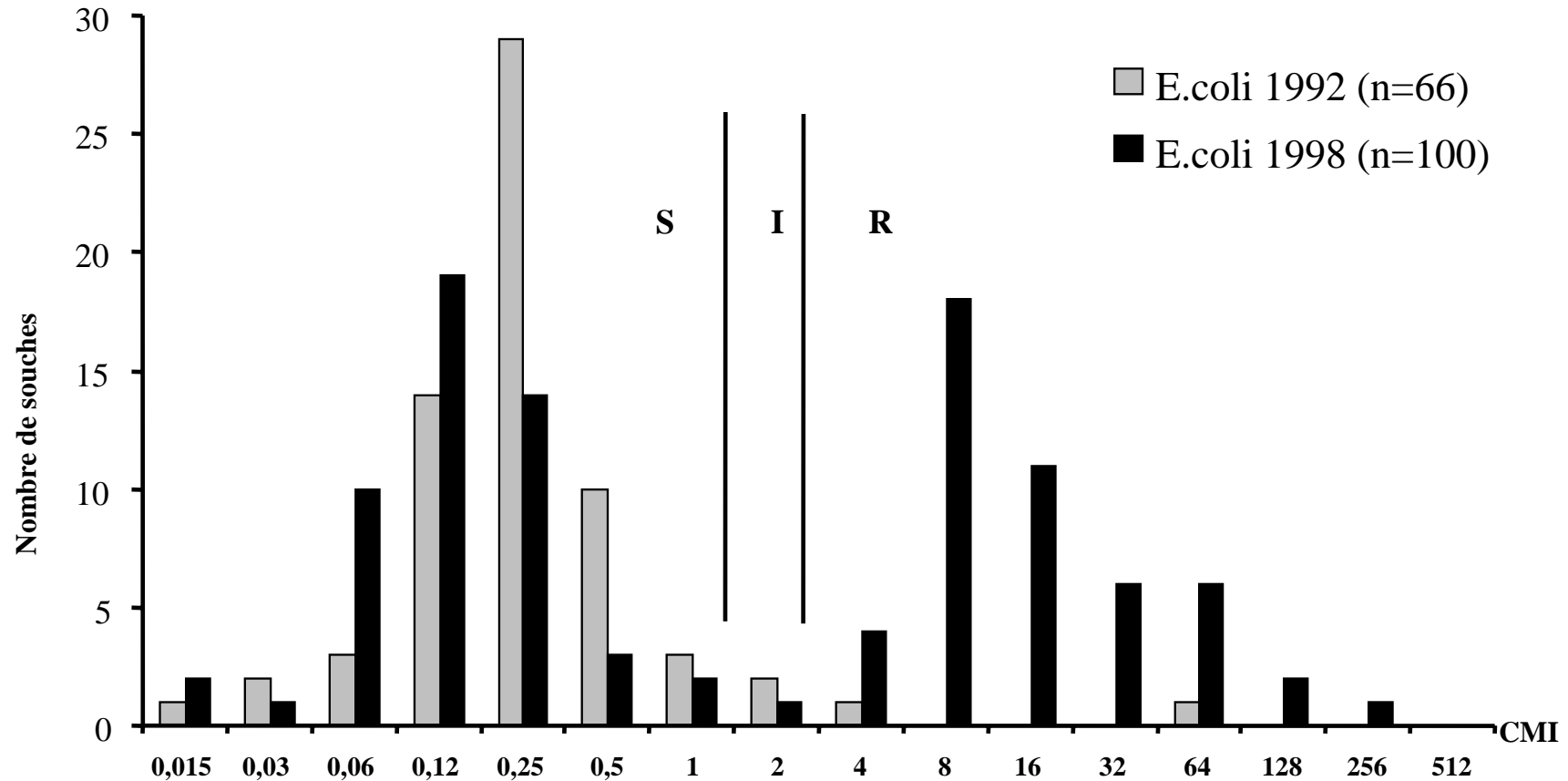
CJS-PL

Emmanuelle CAMBAU 24/05/2005

***E.coli* en France (REUSSIR - 1998)**
Diamètres d'inhibition (mm) pour la Ciprofloxacin
pour les souches sensibles et résistantes à l'acide nalidixique



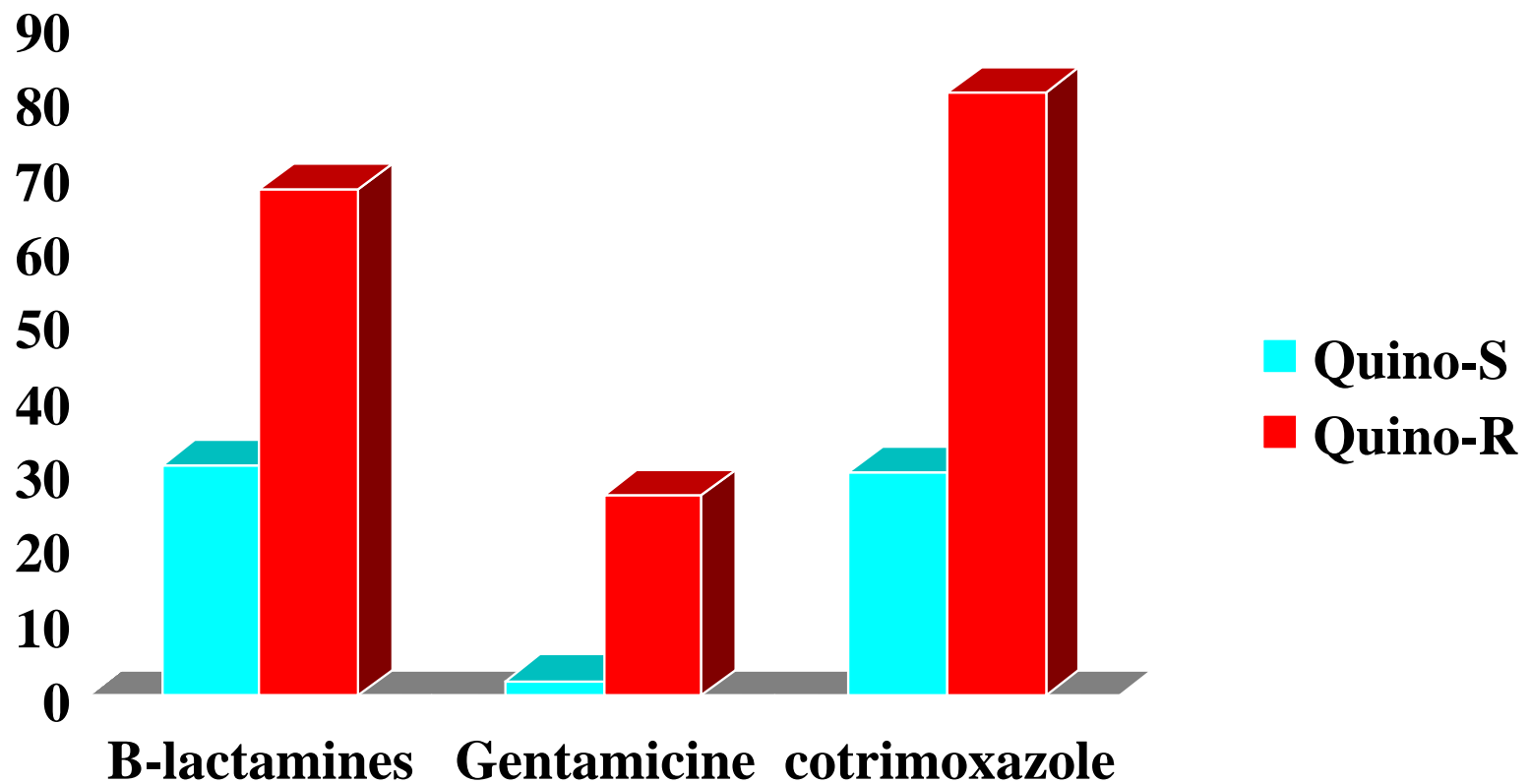
Sensibilité à la ciprofloxacine (CMI en mg/l) des souches de *E. coli* résistantes à l'acide nalidixique



Emmanuelle CAMBAU 24/05/2005

Robert et al. CMI 2001, 7:1-9

Co- Résistance entre les quinolones et les autres antibiotiques GH Pitie-Salpetriere 1998



Résistance (%) aux antibiotiques chez *Escherichia coli* « en ville » (Aquitaine 1999)

Antibiotique	Ambulatoire (n= 1298)	Ambulatoire Urines (n= 1217)	Cliniques (n=622)	Cliniques urines (n=503)
Amoxicilline	41.9 *	42	50.5**	51
Amoxi+clav	21.8 *	21.9	22.7**	23
Cefotaxime	0.1	0.1	0.8	1
gentamicine	1.8	2	4.8	4.8
ofloxacine	5.1	5.3	10.9	11.7
cotrimoxazole	19.6	19.9	27.2	26

•* 37% HPase, 3% RCCase, 2% oxa, 0.1 BLSE

•** 42 HPase, 4% RCCase, 3% oxa, 0.8 BLSE

www.onerba.org

Résistance (%) de *Escherichia coli* : bactériémies
communautaires et nosocomiales (C.CLIN Paris Nord)

	Communautaires			Nosocomiales		
	1998 N=575	2000 N=844	2002 N=856	1998 N=342	2000 N=412	2002 N=435
Amoxicilline	44	-	50.5	51.5	-	53.4
Amoxi+clav	33	39	41.8	42	47	45
Cefotaxime	1	1	1.1	2	1	4.2
Gentamicine	1	3	1.9	6	5	4
ciprofloxacine	3	5	5.4	8	7	9.2

Résistance (%) chez *Escherichia coli* « à l'hôpital » en fonction du type de séjour
Hôpital Charles Foix 2002

Antibiotique	Court séjour N=553	SSR + SLD N=576
Amoxi+clav	36	55
Ceftriaxone	1	12
Ofloxacine	11	39
Gentamicine	5	17

Résistance (%) de *Escherichia coli* isolé des infections urinaires communautaires, selon les antécédents d'antibiothérapie (Réseau Aforcopi-Bio 2000)

	β -lactamines < 6 mois		Quinolones < 6 mois	
	oui n = 66	non n = 340	oui n = 56	non n = 354
AMX	59	36	36	40
AMC	59	33	41	38
NAL	17	13	37	9
CIP	6	6	22	3

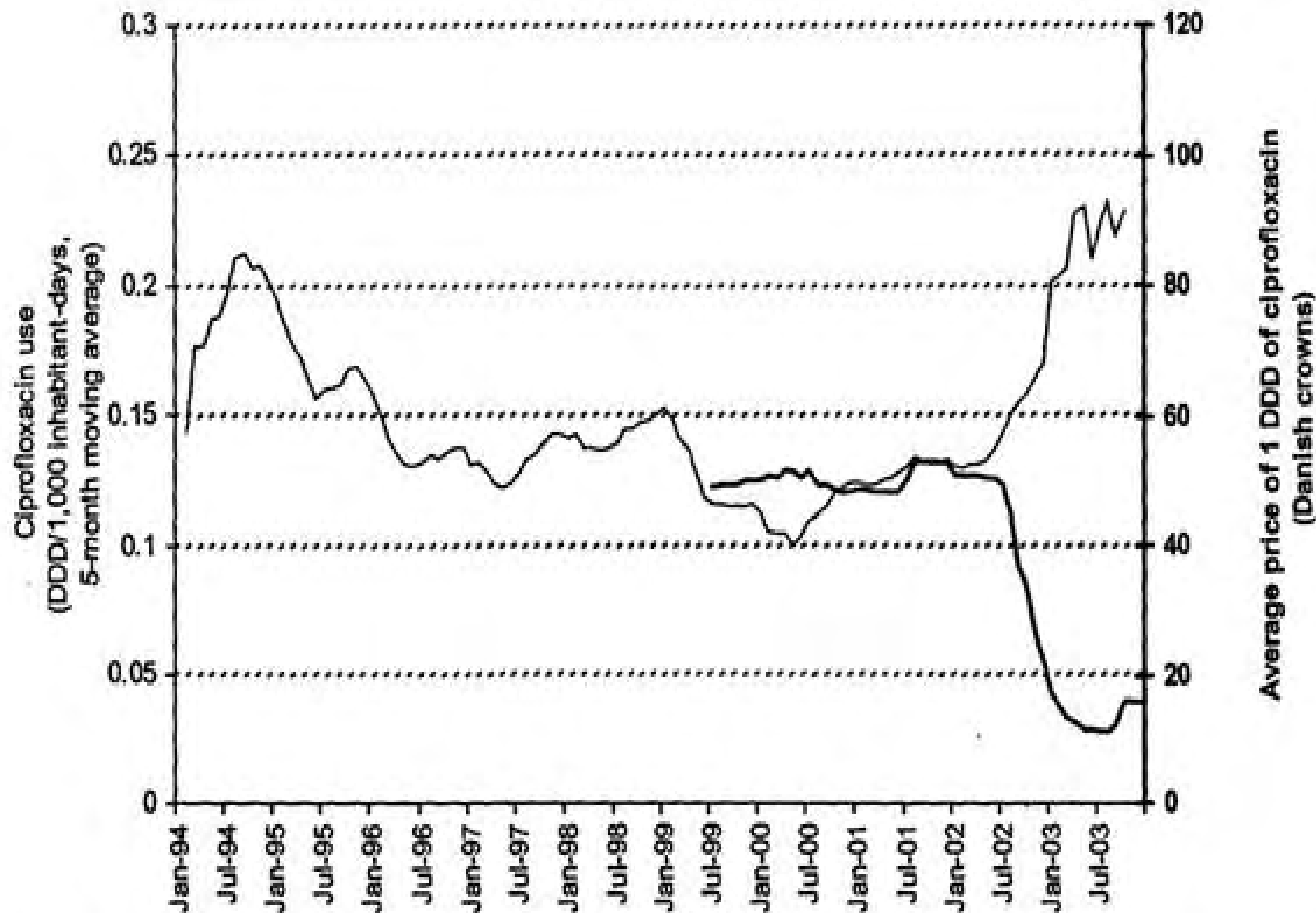
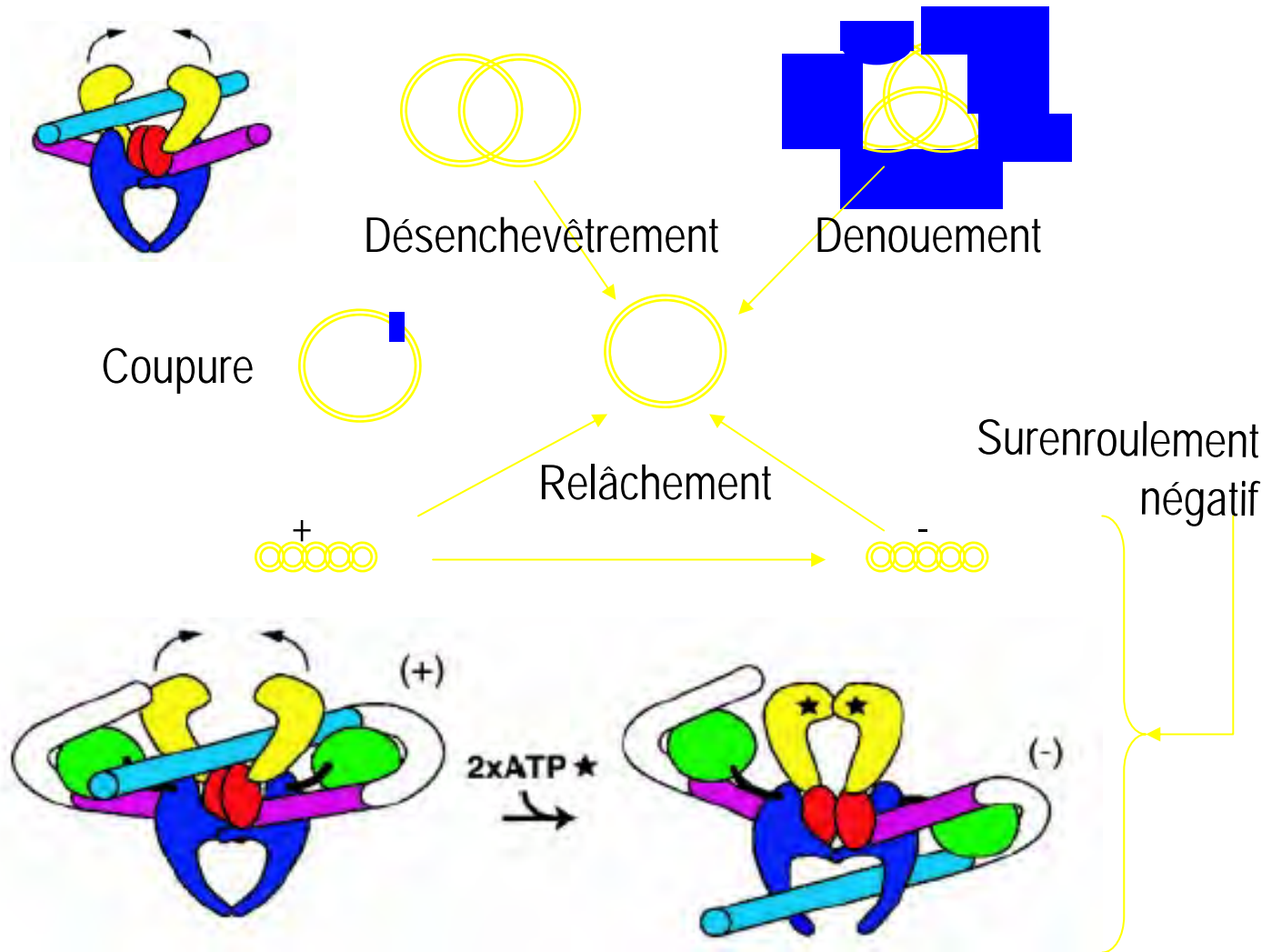


Figure 6. Comparison between the monthly average price and the monthly consumption of ciprofloxacin (J01MA02) in primary health care, Denmark. Line in bold refers to average price.

Emmanuelle CAMBAU 24/05/2005

Fonctions de l'ADN gyrase et de la topoisomérase IV

Topo IV
Intermoléculaire



Evolution de la résistance à la ciprofloxacine - GH Pitié Salpêtrière

Bactérie	1992		1998		p
	N	% R	N	% R	
Total					
entérobactéries	1603	4	1549	8	<0.001
<i>E. coli</i>	926	1	924	6	<0.001
<i>Proteus mirabilis</i>	141	12	140	15	0.88
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	167	10	125	5	0.06
<i>Enterobacter cloacae</i>	103	6	100	13	0.01

IMPORTANCE DU RAPPORT AUC_{24h}/CMI_{90}

Délai médian d'éradication bactérienne

- **AUIC < 125** ⇐ **32 jours**
- **AUIC 125 - 250** ⇐ **6,6 jours**
- **AUIC > 250** ⇐ **1,9 jours**

☞ **Guérison clinique et bactériologique :**
AUIC entre 125 - 250

☞ **Réduction importante du délai d'éradication bactérienne**
AUIC > 250

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