

Staphylocoques: la résistance à la vancomycine, que retenir?

Pr R. LECLERCQ (Caen - Côte de Nacre)

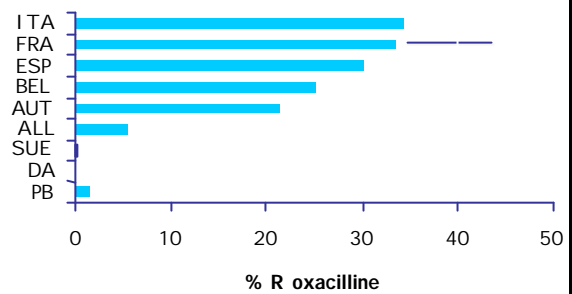
Emergence de la multirésistance aux antibiotiques chez les bactéries Gram-positif dans les années 1990

- Staphylocoques: SARM, staphylocoques à coagulase-négative méti-R
 - Pneumocoques: bêta-lactamines, macrolides, cotrimoxazole (1980-1990)
 - Entérocoques: *E. faecium* résistant à l'ampicilline,
- **place plus importante de la vancomycine**
- Entérocoques résistants aux glycopeptides (1987)
 - Staphylocoques de sensibilité diminuée aux glycopeptides (1995)

Consommation de vancomycine (Assistance Publique-Hôpitaux de Paris)

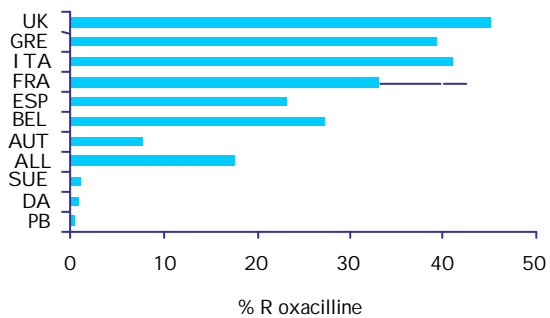
Année	Coût (M FF)	Augmentation (%)
1979	1,06	-
1980	1,59	49,1
1981	2,43	53,1
1982	57,4	57,4
1983	5,87	53,4
1984	9,51	62
1985	13,35	40,3
1986	16,99	27,3
1987	19,59	15,3

SARM en Europe (1994)

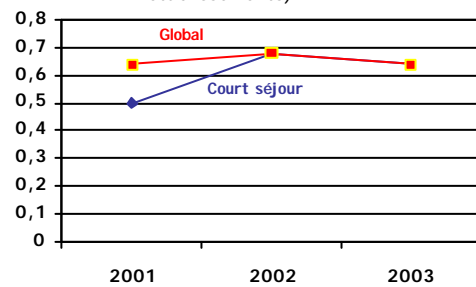


Voss A et al. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1994 (tous échantillons cliniques).

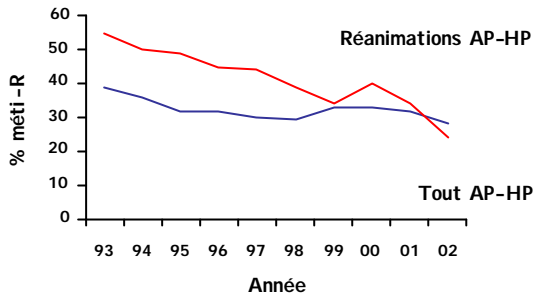
SARM en Europe (2001)



CCLI N-Ouest : évolution du taux d'incidence de SARM 1000 journées d'hospitalisation (cohorte de 48 établissements)

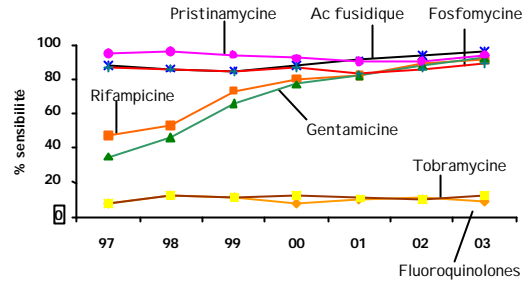


Évolution de la proportion de SARM à l'AP-HP

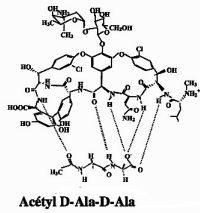


Source : réseau AP-HP.

Sensibilité des SARM aux autres antibiotiques : CHU de Caen (environ 500 souches par an)



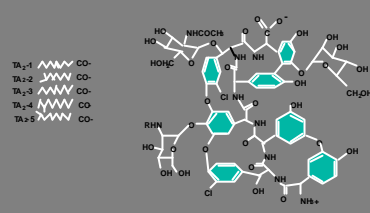
Structure de vancomycine et liaison à sa cible¹



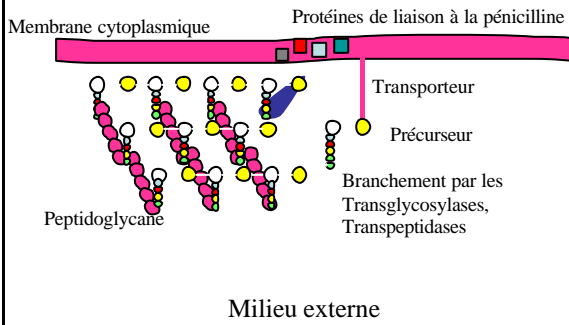
Acétyl D-Ala-D-Ala

Acyl-D-Ala-D-Ala

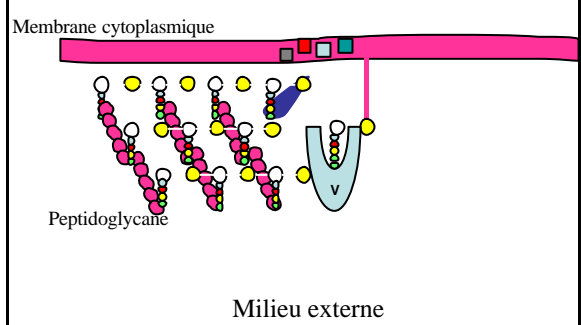
Structure de lateicoplanine

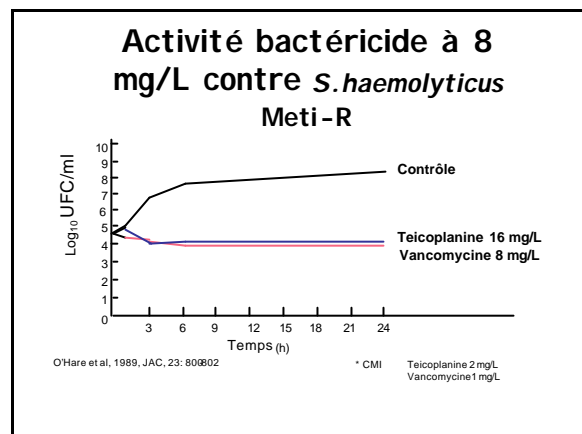
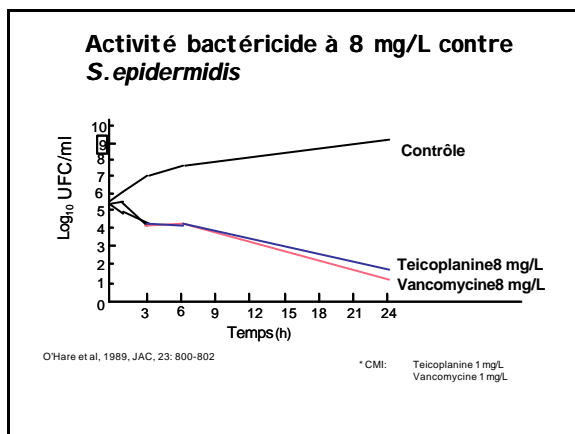
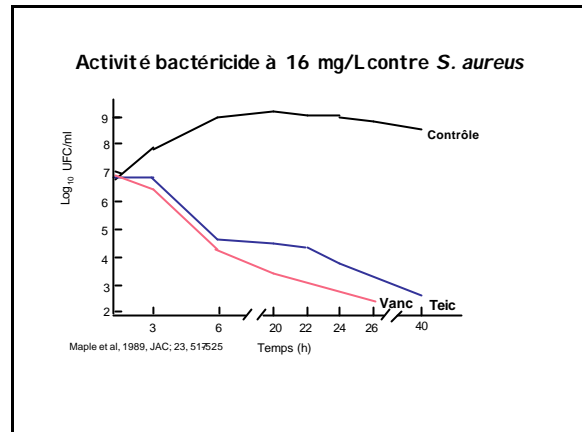
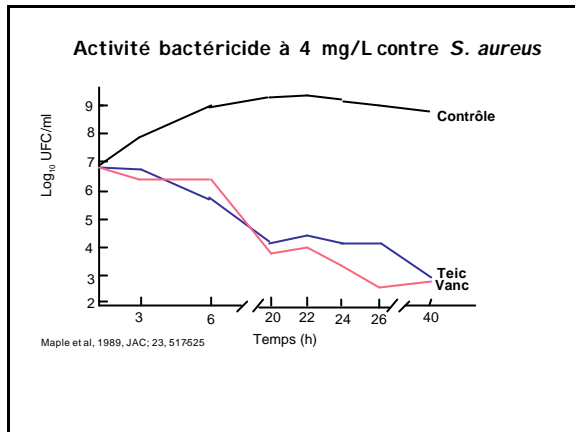


Cytoplasme bactérien



Cytoplasme bactérien





Résistance aux glycopeptides chez les staphylocoques: l'histoire

In vitro:
sélection difficile par la vancomycine ou la teicoplanine de *S. aureus* mutants en un échelon (fréquence <10⁻⁹). Fréquence plus élevée chez *S. haemolyticus*

Isolats cliniques: souches ayant des CMI de teicoplanine >4 mg/L
S. haemolyticus (Pallanza, JAC 1983, Wilson, Lancet 1986, Arioli, Lancet 1987) puis *S. epidermidis* et autres espèces (Goldstein, AAC 1990, Maugein, AAC 1990)

- 1990-1995: rares souches de *S. aureus*
- 1997: VI SA

Résistance à la vancomycine chez les staphylocoques dorés

- 1990-1995: les staphylocoques dorés
 - *S. aureus* méticillino-sensible: sélection d'un mutant I à la téicoplanine (van S) au cours d'une endocardite traitée par Tei faible dose (Katz, JID)
 - *S. aureus* méticillino-résistants I à la téicoplanine (Mainardi JL, et al. J Infect Dis. 1995, 171:1646-50)
 - VI SA (1ère souche isolée à Limoges, puis isolement au Japon en 1996 et en 1997 aux USA)
- 1996
 - Caractérisation des « hetero-VI SA » (Hiramatsu et al., J Antimicrobial Chemother, 1996)

***S. aureus* non sensible aux glycopeptides**

Initialement rapportés dans des pays où l'incidence des SARM est élevée

Japon (50-60% de SARM) (introduction de la vancomycine en 1991, pas d'utilisation de téicoplanine)

USA
France

Description de souches « VI SA » (vancomycin intermédiaire *S. aureus*) (Hiramatsu, 1997)
puis souches « heteroVI SA » (Hiramatsu, 1996)

Définitions

• Définition en termes de catégorisation clinique

Première définition (pays n'utilisant pas la téicoplanine)

VISA (vancomycin intermédiaire *S. aureus*)

I à vancomycine (CMI = 8-16 mg/l)

Puis... pays utilisant la téicoplanine

GISA (glycopeptide intermédiaire *S. aureus*)

I à vancomycine ou téicoplanine (CMI = 8-16 mg/L)

(En France: essentiellement souches Van S et tei 8 mg/L)

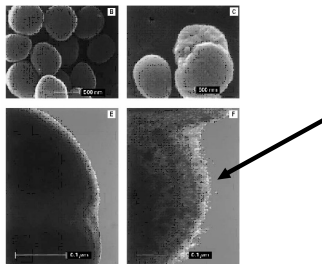
Puis... description des staphylocoques vanA

VRSA (vancomycin résistant *S. aureus*)

• Définition non basée sur une catégorisation clinique

hétéro-VISA

Paroi des souches VISA



K. Hiramatsu

Pas de test génotypique de détection de la résistance

Etude de la sensibilité des staphylocoques dorés aux glycopeptides

• Difficultés des tests de routine

- **Diffusion** en gélose: la diffusion des glycopeptides dans la gélose est considérée comme médiocre
- **Automates**: les méthodes rapides ne conviennent pas car l'expression de la résistance nécessite un temps prolongé d'incubation (au moins 24 h)
- **Méthodes en milieu gélosé** (dilution en agar et diffusion E-test) sont préférables du fait de l'hétérogénéité des sous-populations des souches de sensibilité diminuée aux glycopeptides
- **Effet inoculum** (téicoplanine)
- **Continuum** entre les souches sensibles et les divers types de souches de sensibilité diminuée aux glycopeptides

CA-SFM: critères de suspicion de sensibilité diminuée aux glycopeptides

- Méthodes de routine

- Diamètres <17 mm pour vancomycine ou téicoplanine
- Diamètre téicoplanine <= 3 mm celui de vancomycine
- Colonies dans zone d'inhibition d'un glycopeptide
- Interaction entre un glycopeptide et un disque doxycycline 5 µg
- I/R à vancomycine ou téicoplanine en méthode automatisée

- Test particulier:

- Gélose MH + 5 mg/L téicoplanine 10 µl 2 McF, incubation 35°C-37°C 24 et 48h, + si au moins 4 colonies
- Témoin *S. aureus* ATCC 25923, *S. haemolyticus* CIP 107204

Critères de suspicion de sensibilité diminuée aux glycopeptides: autres tests

- Recommandation NCCLS (VI SA)

En plus des tests de routine

• Vancomycin Agar Screen Test

- BHI A + 6 mg/L vancomycine, 110 µl suspension 0,5 McF, + si au moins 2 colonies
- Témoin *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 51299

- Autres

- E-test BHI , 2McF, CMI vancomycine? 6 mg/L
- Prudence pour les souches de SARM résistantes à la gentamicine et à la rifampicine: dans l'étude GISA 2001, 89 % des 45 GISA identifiés parmi 2066 SARM isolés dans 165 établissements de soins français étaient résistants à la gentamicine (Rapport RAI SIN/CCLIN n°S 2001)

Catégorisation clinique des GISA

- Méthodes à ne pas utiliser
 - Diffusion
 - Automates
- Méthodes recommandées
 - CMI
 - Dilution en gélose MH (10⁴ par spot)
 - Microdilution en bouillon MH
 - E-test (gélose MH et inoculum 0,5 McF)
 - Conditions standards sauf: Lectures à 24 h

Les problèmes de définition

Interprétation pour la vancomycine (mg/L)

	S	I	R
NCCLS	<=4	8-16	>=32
CA-SFM	<=4	8-16	>=32
BSAC	<=4	-	>=8

Interprétation pour la téicoplanine (mg/L)

	S	I	R
NCCLS	<=8	16-32	>=64
CA-SFM	<=4	8-16	>=32

Les infections à VISA

Pays	Site d'isolement	N sem exposition vancomycine	Traitement	Issue
F	Sang	18	Quinu - dalfo	guérison
USA	Peritoine	18	TMP - Su, Rif	infection guérie, décès
USA	Sang	18	Gen-Rif	infection guérie, décès (candidémie)
USA	Sang	6	Van, Tob	décès (à 12h)
USA	Sang	18	Van, Naf, Gen	infection guérie
USA	Abcès	10	Linezolid TMP-Su, Doxy Drainage	décès guérison
F	LCR	0	TMP-Su, Fos Ablation DVE	guérison

Stahl JP, Presse Med, 2002; Fridkin SK, CID, 2001

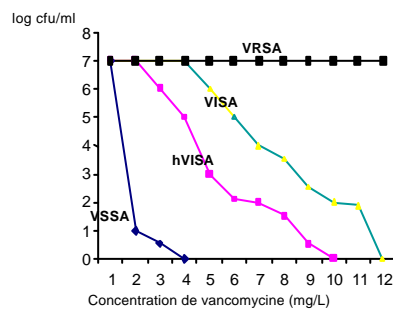
Qu'est ce qu'un hétéro-VISA ?

- Observation initiale d'Hiramatsu (JAC, 1996) :
 - souche de *S. aureus* sensible à la vancomycine (CMI 24 mg/L), mais présence d'une sous-population intermédiaire à la vancomycine (analyse de population)

Souche	CMI van (mg/L)	% sous-population sur gélose BHI + vancomycine (mg/L)		
		4	8	16
S	2	0	0	0
hVISA	4	0,01	0,001	0
VISA	8	100	0,01	0

Les h-VISA ont en général une CMI de téicoplanine 8 mg/L (I)

Analyse de population de *S. aureus* avec diverses sensibilités à la vancomycine



En l'absence de critères validés d'identification des h-VISA, que faire pour la vancomycine?

- Pas de preuve formelle d'échec clinique de la vancomycine incorrectement utilisée
- Cependant ces souches distinguent par leur comportement de la population normalement sensible
- Suspicion si souche sensible à la vancomycine mais ayant l'un des caractères suivants

Vancomycine
h-VISA (analyse de population)
S van mais I/R téicoplanine
CMI 4 mg/l
SARM gentamicine-Rif R

- Dans un cas d'infection par une telle souche, il est souhaitable que bactériologiste avertisse le clinicien pour une meilleure prise en charge du patient

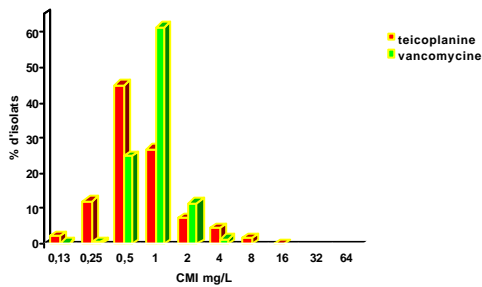
Situation en France

- 1992 isolement de souches de *S. aureus* I/R à la téicoplanine (Mainardi JL, JID 1995)
- 1995 première souche intermédiaire à la vancomycine (infection en réanimation à Limoges)
- Fin 1998 et 1999: épidémies en région parisienne (79 patients dans 9 services d'un hôpital; souches hétéro-VISA) (Guérin F, JCM, 2000); LYON: 0,8% (Reverdy ME) (BEH, 23, 2000)
- Fréquence des hétéro-VISA estimée entre 0 et 25% des *S. aureus* selon le lieu; rareté des VISA

Fréquence des GISA: étude CCLIN/InVS 2001

- Un mois 2000/2001, 165 établissements, dépistage de 2066 SARM
- 2,2 % GISA : tous sensibles vancomycine et I/R téicoplanine
 - Hétérogénéité selon les régions CCLIN : 0 à 3,8 % : possibilité d'épidémies (importance de la surveillance et des statistiques locales); 13 souches chez 48 transplantés avec CMI de Tei = 4-8 mg/L et h-VISA (Bert et al., J Clin Microbiol, 2003)
 - 89 % résistants à la gentamicine [clones gentamicine-rifampicine-R existant depuis 1987 au moins (Chesneau O. JAC 1999)]

Distribution des CMI - *Staphylococcus aureus* (n=2852)



European Glycopeptide Susceptibility Survey 1995

Importance clinique des h-VISA ?

- Échec clinique de la vancomycine chez 12/14 patients de chirurgie orthopédique, infectés par un h-VISA (CMI 1-4 mg/l) contre 1/5 infecté par un non h-VISA
- Mais... présence de matériel chez 12 des 13 échecs et 13 des 14 infectés par un h-VISA
- Aucun des 4 patients infectés par un non h-VISA et guéris n'avait de matériel en place

Ariza et al. Lancet 1999.

Bactériémies à h-VISA

	hVISA SARM	Van-S SARM	p
Echec vancomycine (fièvre, bactériémie >7 j)	5/5	1/48	< 0,001
Temps apyrexie (j)	35 ± 26	2,9 ± 3	< 0,001
Nb Hc positives	8,2 ± 3,3	1,9 ± 1,5	< 0,001
Durée bactériémie	39 ± 32	6,4 ± 9	0,002
Durée vancomycine	31 ± 11	17 ± 18	0,02
Tx vanco < 10 mg/l pendant 7 j initiaux	5/5	11/36	0,06
Collections suppurées non drainées	5/5	10/48	0,001

Charles et al. Clin Infect Dis 2004.

Rôle des h-VISA dans les échecs de traitement par la vancomycine ?

- Ne pas oublier
 - Les facteurs propres à la vancomycine : bactéricidie lente, mauvaise diffusion, pas de pénétration intra-cellulaire, ratio taux sérique/CMI peu favorable
 - Le mauvais usage : sous-dosage fréquent
 - Qui rendent compte de la majorité des échecs (vis-à-vis des souches sensibles)
 - Qui sélectionnent les h-VISA

La sensibilité diminuée des h-VISA vient s'ajouter aux causes précédentes (pour 2% des SARM en France)

VISA et hetero VISA: un continuum?

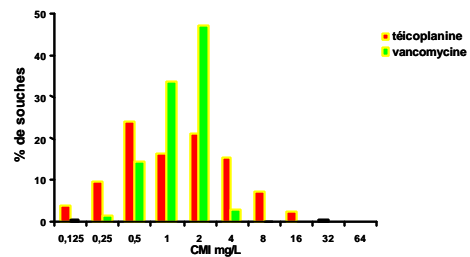
- Distribution des CMI des souches S ou de sensibilité diminuée aux glycopeptides unimodale -> continuum entre les S/hetero VISA/VISA
- Mécanismes: mal connus (hyperproduction de la cible?), peut-être plusieurs mécanismes différents
- Hetero-VISA réservoir pour les VISA?

VRSA

- Défini par une résistance franche à la vancomycine et la téicoplanine (CMI >16 mg/l)
- 3 souches isolées aux USA (Michigan, Pensylvanie, New-York)
- Acquisition de plasmide portant le gène *vanA* d'entérocoque résistant à la vancomycine (au moins pour 1 souche : plasmide hybride entérocoque/staphylocoque)
- Contexte de forte incidence de ERV et de SARM
- Contexte non limité aux USA : par exemple 70 % SARM et 20 % ERV en Corée du Sud
- → Pas de souche identifiée en Europe, surveillance des staphylocoques et aussi des ERV

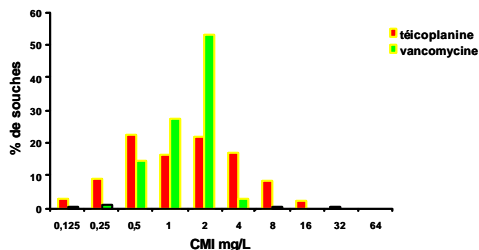
Staphylocoques à coagulase négative

Distribution des CMI des glycopeptides pour les staphylocoques à coagulase négative (n=1444)



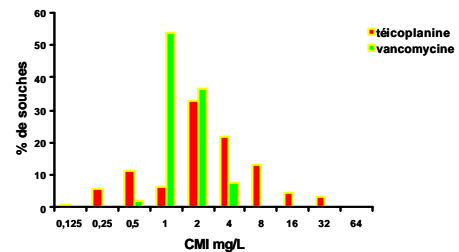
European Glycopeptide Susceptibility Survey 1995

Distribution des CMI des glycopeptides pour *Staphylococcus epidermidis* (n=838)



European Glycopeptide Susceptibility Survey 1995

Distribution des CMI des glycopeptides pour *Staphylococcus haemolyticus* (n=91)



European Glycopeptide Susceptibility Survey 1995

Faut-il délaissier les glycopeptides ?

Les points positifs

- Expérience clinique ancienne (y compris dans les années 90 où les souches hetero-VISA existaient déjà)
- Coût
- Synergie bactéricide in vitro entre vancomycine et céfazoline, céfpirome, céfamandole, imipénème. In vivo?
- Céfotaxime-fosfomycine dans les infections à SARM (méningites post-chirurgicales, infections néonatales) sensibles à la fosfomycine

Les points négatifs

- Vancomycine bactéricidie lente, mauvaise diffusion
- Inefficace contre les VISA
- Hetero-VISA: activité in vivo mal évaluée. Taux élevés, administration continue?

« Nouveaux » antibiotiques actifs contre les bactéries à Gram-positif

- Injectables et actifs contre les bactéries multirésistantes
 - Inhibiteurs des synthèses protéiques
 - Quinupristine-dalfopristine (streptogramine dérivée de la pristinamycine)
 - Linézolide (forme orale) (oxazolidinones initialement développées par Du Pont)
- Orales
 - Kétolides: télichromycine (pneumocoque) pas d'intérêt pour les staphylocoques
 - Nouvelles fluoroquinolones: lévofloxacine (injectable), moxifloxacine, gatifloxacine. Résistance croisée avec l'ofloxacine

Linézolide

- « Nouvelle » classe d'antibiotiques: oxazolidinones
- Spectre: staphylocoques, streptocoques, entérocoques, *Clostridium*, *Peptostreptococcus*
- Fixation sur le ribosome, action sur l'initiation de la synthèse protéique (formation du complexe d'initiation 70S)
- Indications
 - Pneumonie communautaires et nosocomiales
 - Infections compliquées de la peau et des tissus mous

Quelques propriétés du linézolide

- IV 600 mg, 2 fois/j, 10-14 j (max 28 j)
- Biodisponibilité de la forme orale: près de 100%
- Cmax 15-21 mg/L, Cmin 3,7-6 mg/L
- Diffusion: salive, sueurs, liquide revêtement épithélial poumon, cellules alvéolaires (0,1/1 plasma), LCR (0,7/1), os (0,5/1) (Lovering, JAC, 2002)

Activité du linézolide vis-à-vis des staphylocoques multirésistants

Staphylocoques	CMI (mg/l)		
	Dispersion	CMI50	CMI90
SARM	0,03-4	1-2	1-4
Staph. coag-nég méticillino-R	0,5-4	0,5-2	2-4
VISA	0,5-2	-	-

Cercenado E, Henwood CJ, Johnson AP, Noskin GA, Rybak MJ, Soussy CJ, von Eiff C, Wootton M.

Activité bactériostatique du linézolide vis-à-vis des staphylocoques

Staphylocoques

Pas de synergie bactéricide in vitro avec gentamicine, vancomycine, ac fusidique, rifampicine (3 souches SASM, 3 souches SARM) Prévention de l'émergence de mutants résistants à l'acide fusidique ou la rifampicine (AAC, 2003)

Résistance au linézolide par mutation ribosomale

- Mutation de l'ARN23S (codé par le gène *rrl*)
 - Nombre différent de copies du gène *rrl* selon les espèces
 - Entérocoques: 4 - 6
 - Staphylocoques: 5 - 6
 - Pneumocoques: 4
 - Effet dosage de gènes: le niveau de résistance (CMI >4 mg/L) dépend du nombre de copies mutées
 - Mutations séquentielles / recombinaison des copies

Staphylocoques: Résistance au linézolide

- **Rare : 5 souches cliniques dans le monde**
 - USA : Tsiodras et al. *Lancet* 2001 : traitement *per os* d'une infection chez un patient en dialyse péritonéale
 - UK : Wilson et al. *J Antimicrob Chemother* 2001 : 21 jours de traitement d'un empyème
 - USA : Machado et al. 43^e ICAAC : mucoviscidose
 - USA : Patterson et al. 43^e ICAAC : 10 jours linézolide + rifampicine, infection respiratoire chez un patient sous ventilation assistée
 - USA : Meka et al. *J Infect Dis* 2004 : septicémie récidivante chez un hémodialysé, 20 mois de traitement
- **Mécanisme de résistance : mutation du ribosome au niveau de l'ARN ribosomal 23S**

La nécessité de muter au moins la moitié des 5 ou 6 copies de l'ARN ribosomal pour obtenir une résistance franche peut expliquer la rareté des mutants en clinique

Dissémination épidémique des souches résistantes?

- Deux cas reliés d'isolement d'entérocoques résistants à la vancomycine et au linézolide dans une même unité aux USA (NEJM, 2003).

Utilisation du linézolide hors AMM

- Usage compassionnel (Birmingham, CID, 2003): 796 patients

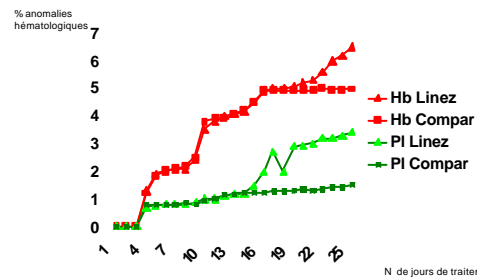
	Clinique			Microbiologie		
	Guérison	Echec	Indéterminé	Guérison	Echec	Indéterminé
Endocardites						
Tous	15	5	3	11	7	0
SARM	3	0	0	4	0	0
EFRV	10	2	1	7	4	0
Os						
Tous	45	9	22	38	7	4
SARM	30	1	9	28	2	1
EFRV	15	2	3	13	2	1

Pas de bactéricidie vis-à-vis des staphylocoques et entérocoques.

Toxicité hématologique

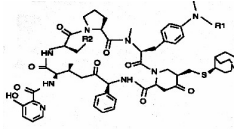
- Utilisation compassionnelle (796 patients) (Birmingham, CID, 2003)
 - Arrêt du traitement: thrombopénie (3,9%), anémie (2%)
 - Parmi 160 patients analysables: 15% ont une thrombopénie (>2/3) avec une chute de 50% en 2-3 semaines
 - 1,9% (16) avaient eu moins de 14 j de traitement
 - 5,1% (42) avaient eu 15-28 j de traitement
 - 7,4% (62) avaient eu plus de 28 j de traitement

Toxicité hématologique

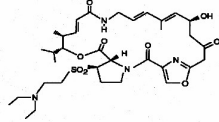


Quinupristine-dalfopristine : streptogramines A + B synergiques

Quinupristine
(facteur B)



Dalfopristine
(facteur A)



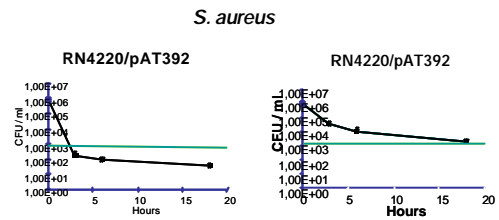
Indications de quinupristine- dalfopristine

- Pneumonie nosocomiale
- Infections de la peau et des parties molles
- Infections dues à *Enterococcus faecium* résistant à la vancomycine

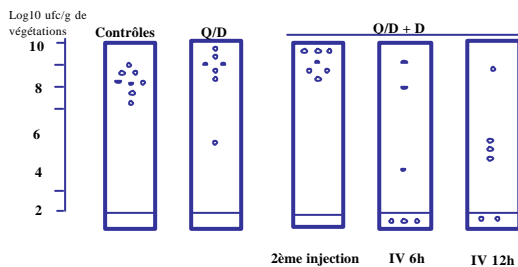
Activité de quinupristine- dalfopristine contre les GISA

N de souches (Pays)	CMI (mg/L)		Référence
	Q-D	Vancomycine	
5 (USA)	-0.25-1	8	Tenover
1 (Japon)	0,5	8	Tenover
1 (France)	0,5	8	Ploy

Activité bactéricide de quinupristine-dalfopristine
contre *S. aureus* sensible ou résistant à la clindamycine



Influence de la résistance aux streptogramines B sur l'activité de quinupristine/dalfopristine in vivo



JM Entenza, H Drugeon, MP Glauser, P Moreillon,
Antimicrob Agents Chemother, 1995

Activité bactéricide des associations à la quinupristine-dalfopristine

- In vitro: synergie bactéricide avec flucoxacilline (SASM et SARM), cefuroxime, céfamandole, céfépime, imipénème (SARM) (Vouillamoz et al. Antimicrob Agents Chemother)
- Modèle d'endocardite aortique chez le rat: synergie avec céfamandole, céfépime, céfpirome pour les SARM résistants à la clindamycine (Vouillamoz et al. Antimicrob Agents Chemother 2000;44:1789-95).
- Synergie in vitro et in vivo avec la vancomycine (endocardite aortique chez le lapin) (Pavie et al. AAC 2002)

« Nouveaux » antibiotiques en développement

- Oritavancine
 - Glycopeptide actif contre les SARM et ERV
- Daptomycine
 - Actif contre les SARM et ERV
- Glycylcyclines
- Antibiothérapie locale (digestif)
 - Ramoplanine: glycolipodepsipeptide non absorbé (prévention des infections à ERV)

Conclusions

- La vancomycine est toujours très utile
- Nécessité pour le clinicien d'un suivi attentif du traitement par la vancomycine (taux, évaluation clinique)
- Nécessité pour le microbiologiste de savoir détecter les GI SA (pratique des CMI «facile») ...et de prévenir le clinicien
- La teicoplanine n'est pas équivalente à la vancomycine
- Utilité des nouveaux antibiotiques dans certains cas (souches multirésistantes, intérêt d'une forme orale)