



**37<sup>ème</sup> RICA - 18-19 décembre 2017**

**Session Antibiogramme : Le jeu des 10 erreurs commentées**

# Cocci à Gram positif : les 10 erreurs

---

**Pr. Vincent CATTOIR**

*Service de Bactériologie-Hygiène hospitalière, CHU de Rennes*

*Faculté de Médecine & Unité Inserm U1230, Université de Rennes 1*

*CNR de la Résistance aux Antibiotiques (laboratoire associé 'Entérocoques')*

*Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM)*

# Erreurs 1 & 2 : Antibiogramme d'*Enterococcus faecalis*



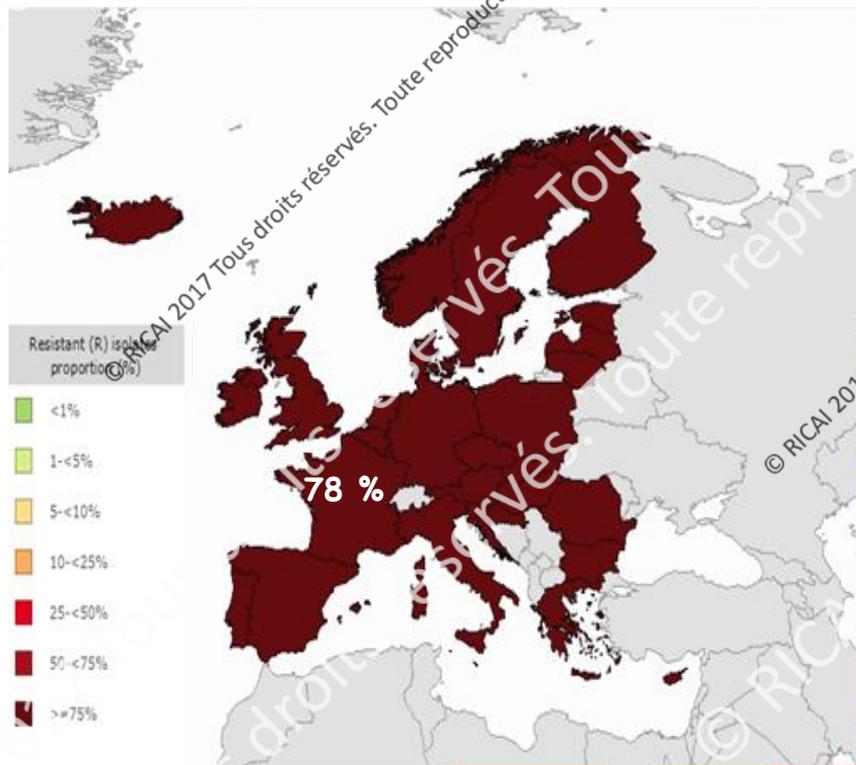
Vert = Rendu S  
Rouge = Rendu R

# Erreurs 1 & 2 :

## Antibiogramme d'*Enterococcus faecalis*

Pas de résistance acquise aux aminopénicillines chez *E. faecalis* !

❖ Fait exceptionnel (1980) : pénicillinase plasmidique (*blaZ*) uniquement décrite aux Etats-Unis, en Argentine et au Liban mais jamais en Europe



95-98 % de souches ampi-R  
parmi les ERV chez *E. faecium*

# Erreurs 1 & 2 :

## Antibiogramme d'*Enterococcus faecalis*

Résistance naturelle de type  $LS_A$  chez *E. faecalis* !

Due au gène *lsa(A)* codant pour un transporteur ABC :

Organism	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )				
	CLI	Q-D	DAL	Quinupristin	ERY
OGIRF	32-48	32	512	16	1
TX5332 (OGIRF $\Delta$ <i>lsa</i> ::pTEX4577)	0.12-0.5 (L)	0.75	4-8 ( $S_A$ )	16	1
TX5333 [TX5332(pWM401: <i>lsa</i> )]	32-48	32	512	16	1

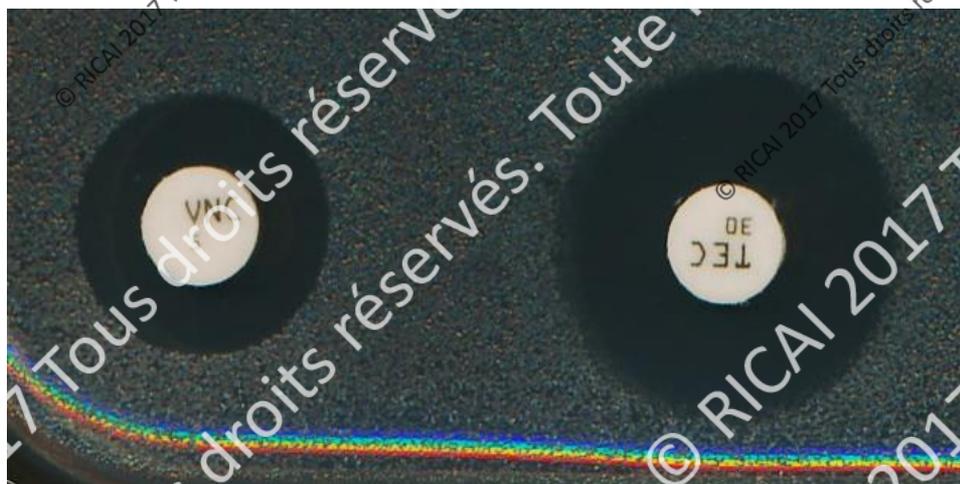
De rares souches de *E. faecalis* sensibles  $LS_A$  ont été décrites (mutations  $\rightarrow$  codons STOP  $\rightarrow$  protéines tronquées)

Résistance naturelle non retrouvée chez *E. faecium* (mais sélection possible *in vitro* et *in vivo*), *E. durans* et *E. hirae*

## Erreurs 3 et 4 : Antibiogramme d'*Enterococcus faecium*



Sensible ou résistant ?

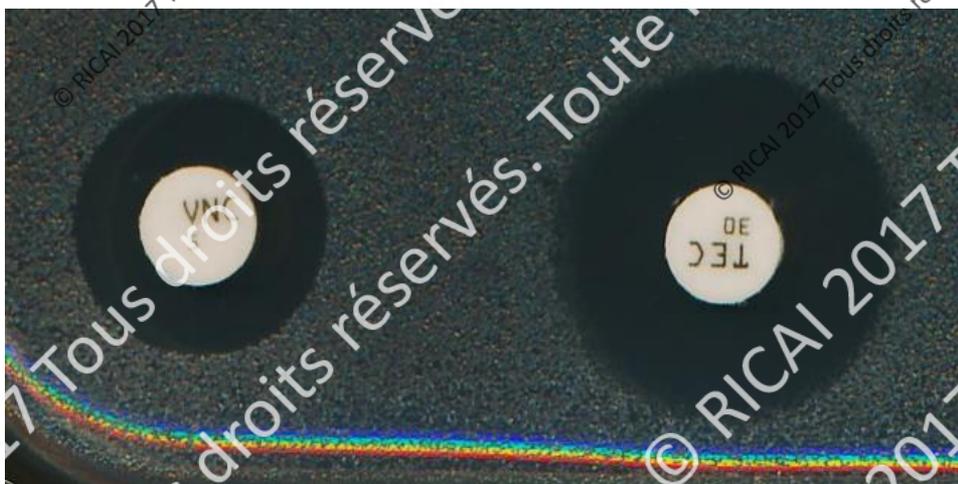


Sensible ou résistant ?

## Erreurs 3 et 4 : Antibiogramme d'*Enterococcus faecium*



Sensible ou **résistant** ?  
Diamètre = 16 mm mais  
contours flous (vanB+)

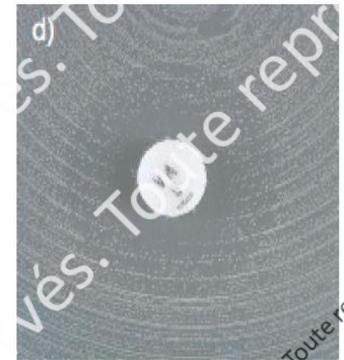


**Sensible** ou résistant ?  
Diamètre = 13 mm et  
contours nets

# Erreurs 3 et 4 :

## Antibiogramme d'*Enterococcus faecium*

Recommandations CA-SFM/EUCAST 2017 : Lecture après au moins 24 h d'incubation



Exemples de zones d'inhibition de souches d'*Enterococcus* spp. avec la vancomycine (disque chargé à 5 µg).

a) Bord à contours nets et diamètre d'inhibition  $\geq 12$  mm. Rendre sensible.

b-d) Bord à contours flous ou présence de colonies dans la zone d'inhibition. Rendre résistant même si la zone d'inhibition est  $\geq 12$  mm.

**A noter que certaines souches vanB+ sont difficiles à détecter et qu'une incubation prolongée à 48 heures peut être nécessaire**

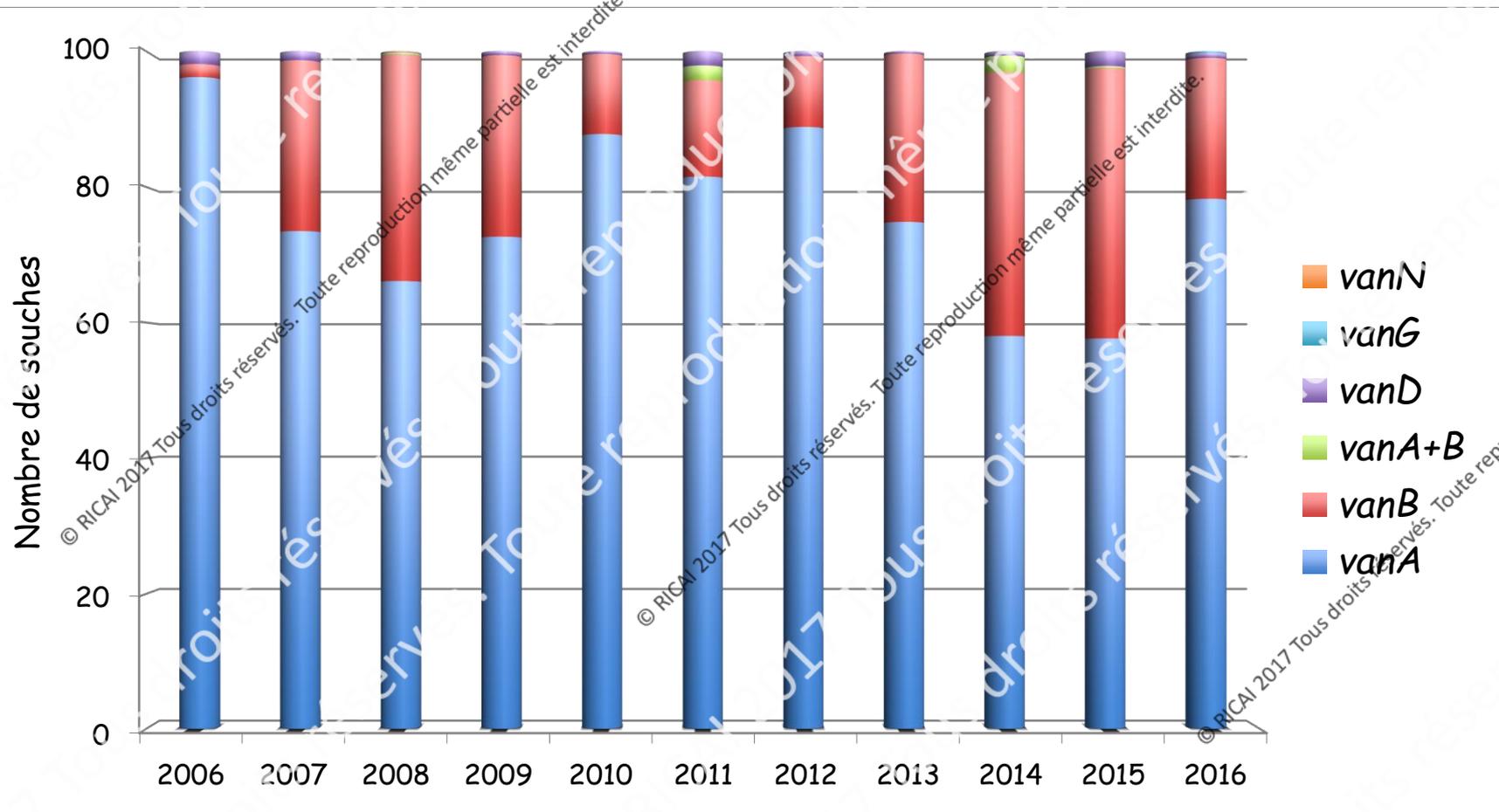
# Erreurs 3 et 4 : Antibiogramme d'*Enterococcus faecium*

## Alphabet Van

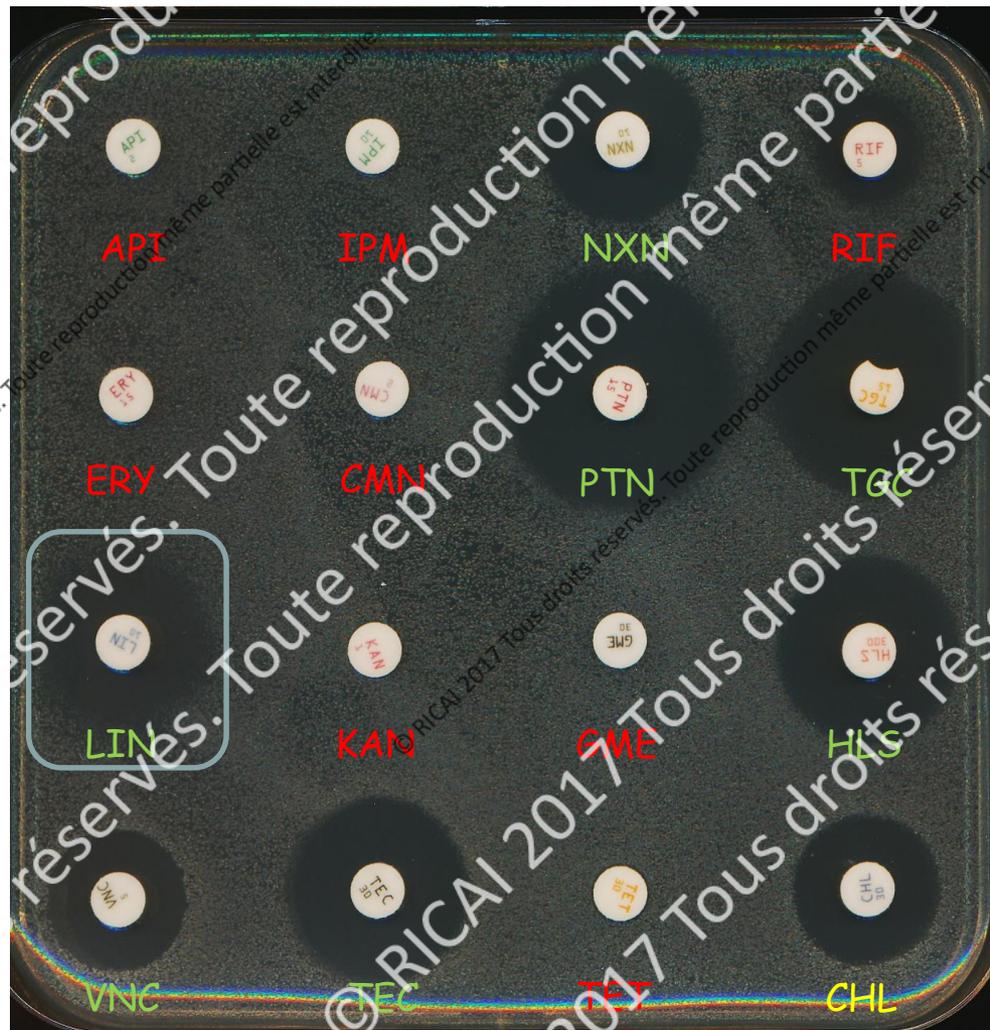
Résistance	Acquise								Naturelle	
	Haut		Variable	Modéré		Bas				
	VanA	VanM	VanB	VanD	VanE	VanG	VanL	VanN		VanC1/C2/C3
<b>Sensibilité</b>										
Vancomycine	R	R	r-R	R	r	r	r	r	r	r
Téicoplanine	R	R	S	r-R	S	S	S	S	S	S
<b>Transférabilité</b>	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-
<b>Principales espèces bactériennes</b>	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i> Diverses espèces d'entérocoques	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i> <i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i> <i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. gallinarum</i> <i>E. casseliflavus</i>	
<b>Expression</b>	Inductible	?	Inductible	Constitutive	Inductible Constitutive	Inductible	Inductible	Constitutive	Constitutive Inductible	
<b>Support du gène de résistance</b>		Plasmide (Chromosome)		Chromosome (Plasmide)	Chromosome	Chromosome	?	Chromosome	Chromosome	
<b>Terminaison des précurseurs</b>			D-Ala-D-Lac						D-Ala-D-Ser	

# Erreurs 3 et 4 :

## Antibiogramme d'*Enterococcus faecium*



# Erreur 5 : Antibiogramme d'*Enterococcus faecium*



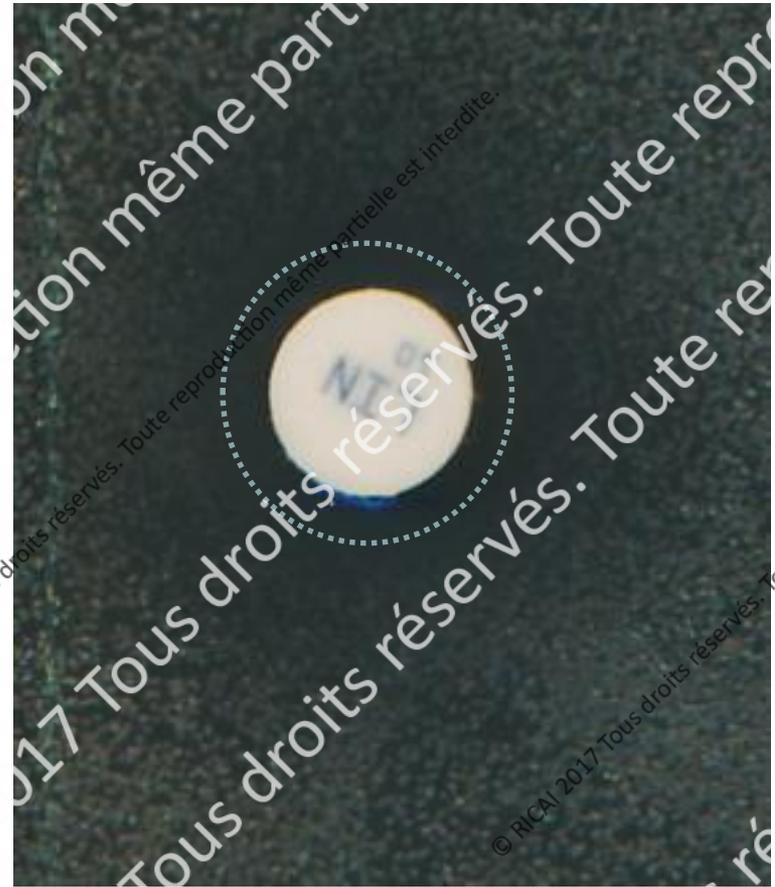
Vert = Rendu S  
Jaune = Rendu I  
Rouge = Rendu R

## Erreur 5 :

### Antibiogramme d'*Enterococcus faecium*



24 h



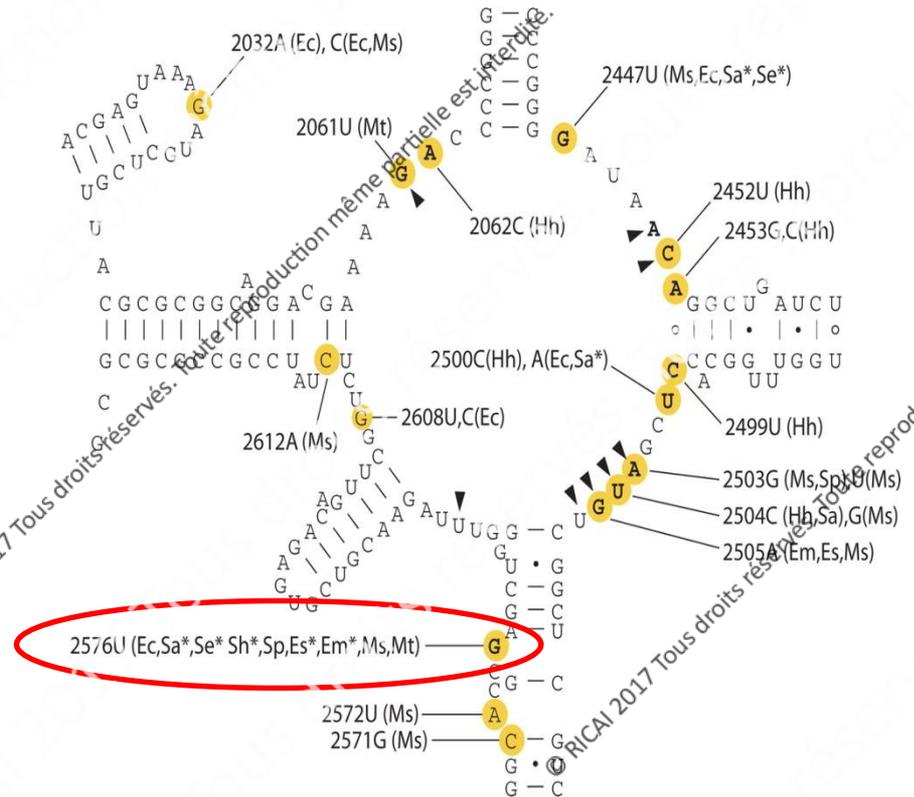
48 h

## Erreur 5 :

# Antibiogramme d'*Enterococcus faecium*

Résistance au linézolide principalement  
acquise par mutations ribosomales

(sélection *in vitro* à basse fréquence,  $10^{-9}$ - $10^{-11}$ )



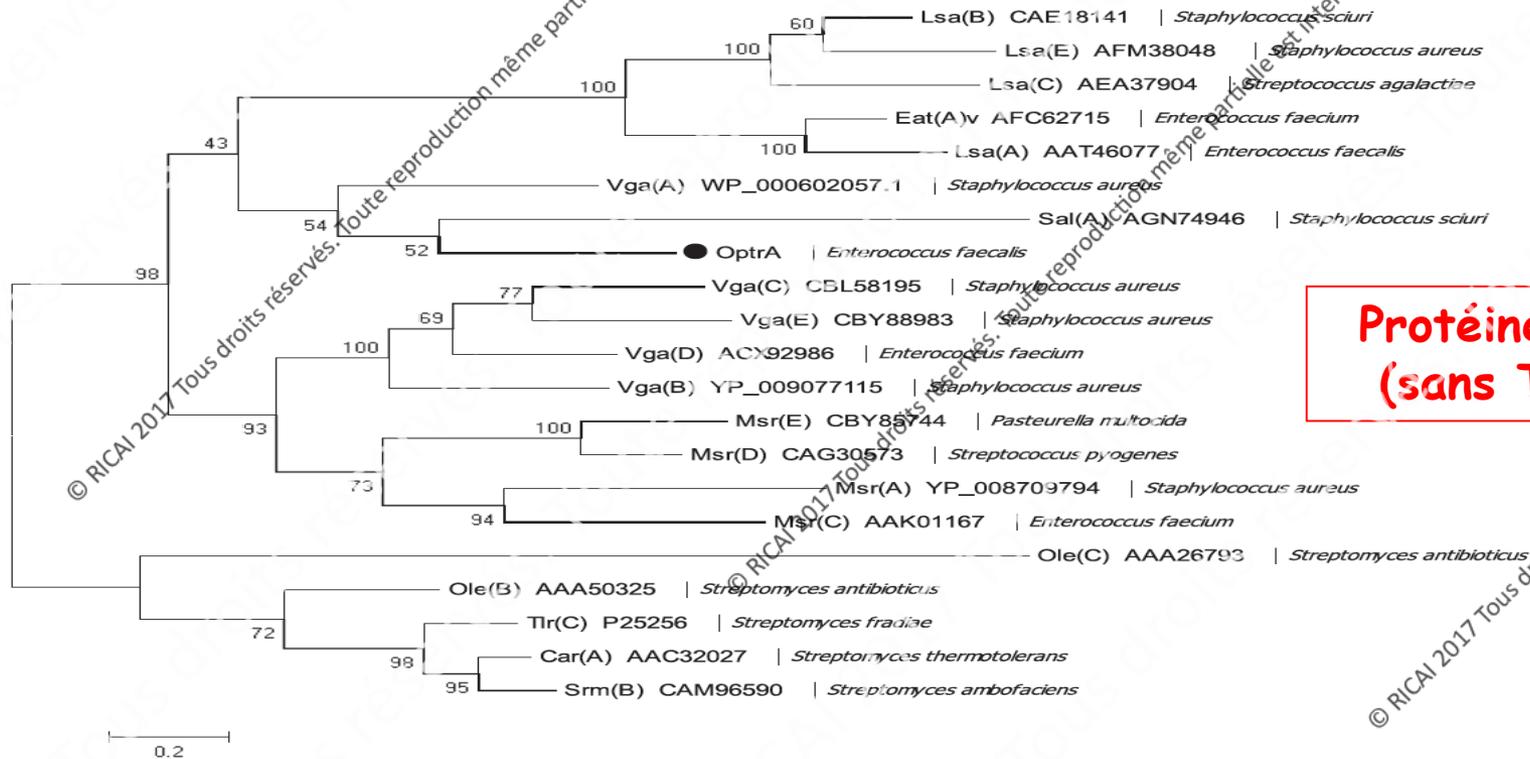
Résistance transférable liée au :

- gène *cfr* → R croisée PhLOPS<sub>A</sub>
- gène *optrA* → R croisée PhO

## Erreur 5 :

# Antibiogramme d'*Enterococcus faecium*

Optra = oxazolidinone phenicol transferable resistance



Protéine ABC  
(sans TMD)

Sur plasmide conjugatif chez *E. faecalis*

## Erreur 5 :

# Antibiogramme d'*Enterococcus faecium*

## Phénotype PhO

Bacterial isolate	MIC (mg/L)				
	CHL	FFC	LZD	TZD	VAN
Clinical <i>E. faecalis</i> E349 (with <i>optrA</i> -carrying pE349)	64	64	8	2	1
<i>E. faecalis</i> FA2-2	4	2	2	0.5	1
Transconjugant <i>E. faecalis</i> FA2-2-E349	32 <b>x8</b>	64 <b>x32</b>	8 <b>x4</b>	2 <b>x4</b>	1
<i>E. faecalis</i> JH2-2	4	4	2	0.5	1
Transformant <i>E. faecalis</i> JH2-2/pE349	64	64	16	2	1
Transformant <i>E. faecalis</i> JH2-2/pAM401	≥128 <sup>a</sup>	4	4	2	1
Transformant <i>E. faecalis</i> JH2-2/pAM401 + <i>optrA</i>	≥128 <sup>a</sup>	64	4	2	1
<i>S. aureus</i> RN4220	8	4	4	2	1
Transformant <i>S. aureus</i> RN4220/pAM401	≥128 <sup>a</sup>	4	4	2	1
Transformant <i>S. aureus</i> RN4220/pAM401 + <i>optrA</i>	≥128 <sup>a</sup>	64	4	2	1
Clinical <i>E. faecium</i> A4 (with <i>vanA</i> -carrying pA4)	4	2	2	2	>128
Transconjugant <i>E. faecium</i> A4-E349	2	128	2	2	>128
Transconjugant <i>E. faecalis</i> E349-A4	64	64	8	2	128

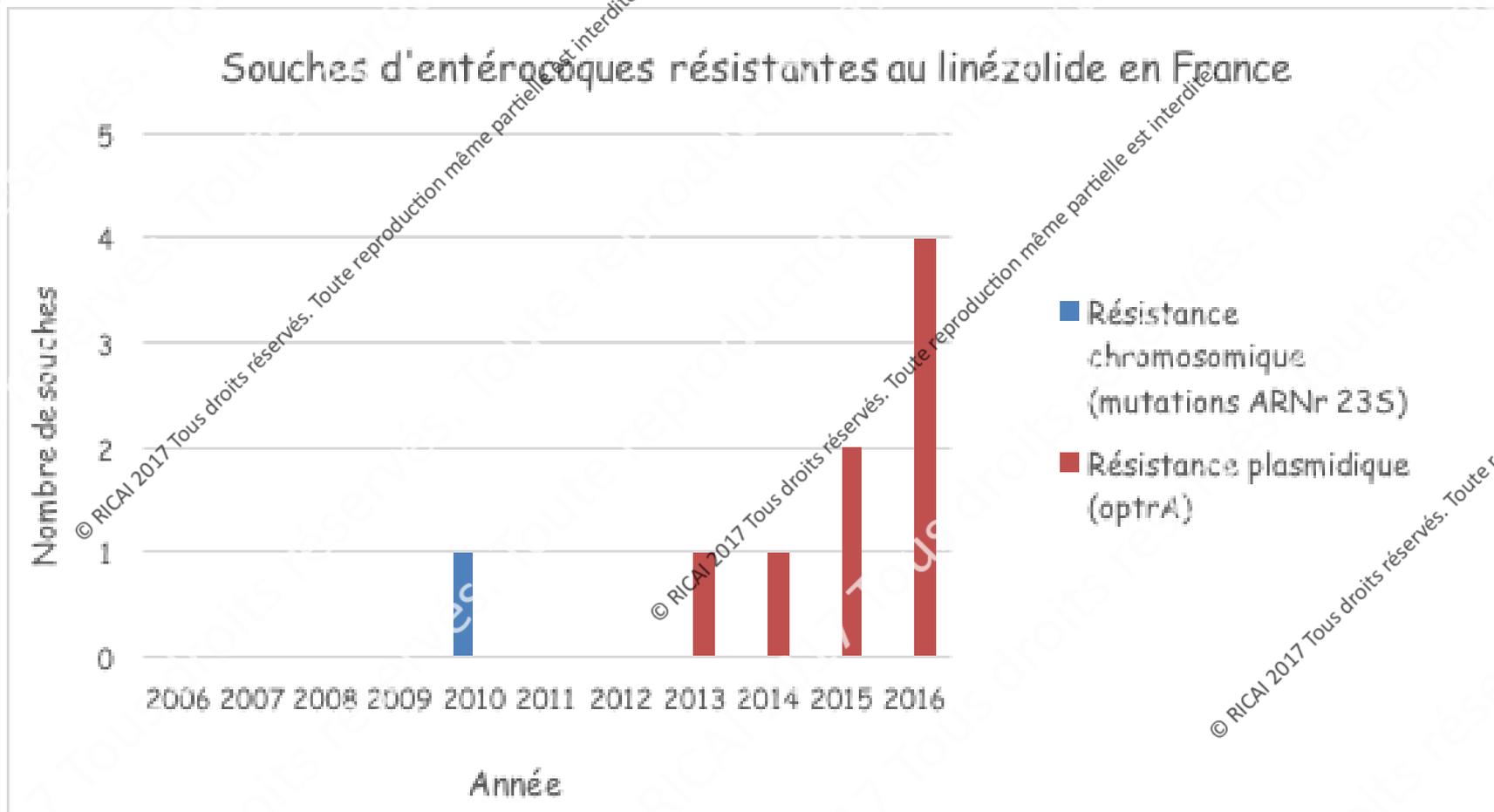
Pas de R à :

- lincosamides
- pleuromutilines
- streptogramines A

Détecté en Chine chez *E. faecalis* et *E. faecium* :

- . Origine alimentaire : 20,3 % et 5,7 %
- . Origine clinique : 4,2 % et 0,6 %

## Erreur 5 : Antibiogramme d'*Enterococcus faecium*



## Erreur 6 :

# Antibiogramme de *Staphylococcus aureus*

Résultats Antibiogramme		Carte : AST-P631	N° de lot : 731356240	Péremption : 14 sept. 2016 13:00 CEST	
Résultats Antibiogramme		Terminé le : 19 sept. 2015 01:31 CEST	État : Final	Heure de l'analyse : 8,50 heures	
Antibiotique	CMI	Interprétation	Antibiotique	CMI	Interprétation
Test céfoxitine screen	POS	+	Pristinamycine	2	I
Benzylpénicilline	> 0,25	R	Linézolide	2	S
Oxacilline	> 2	R	Téicoplanine	16	R
Gentamicine	> 8	R	Vancomycine	2	S
Kanamycine	> 32	R	Tétracycline	> 8	R
Tobramycine	> 8	R	Fosfomycine	> 64	R
Ofloxacine	> 4	R	Nitrofurantoïne	<= 16	S
Résistance inductible à la clindamycine	NEG		Acide fusidique	<= 0,5	S
Érythromycine	> 4	R	Rifampicine	> 2	R
Lincomycine	> 8	R	Triméthoprim/sulfaméthoxazole	<= 10	S

+ = Antibiotique déduit \* = Modification AES \*\* = Modification Utilisateur

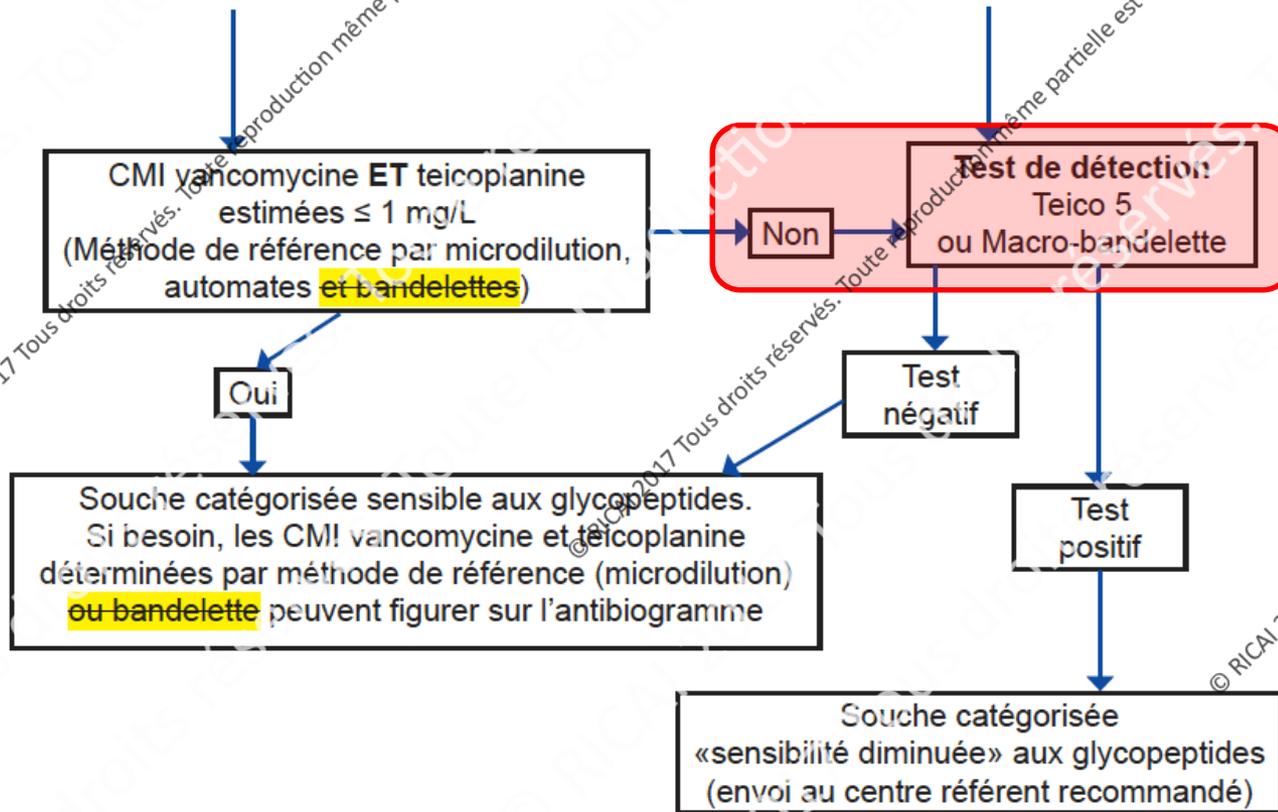
La souche doit-elle être rendue sensible à la vancomycine ?

## Erreur 6 :

# Antibiogramme de *Staphylococcus aureus*

Recommandations CA-SFM/EUCAST 2017 :

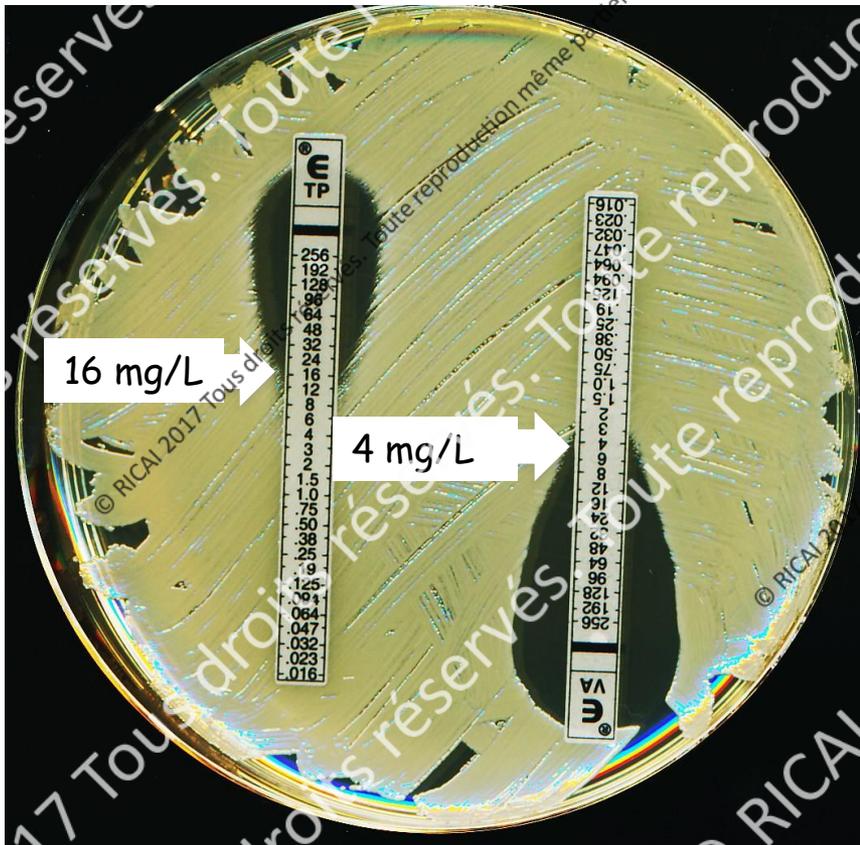
**Glycopeptides : proposition pour *Staphylococcus aureus***



## Erreur 6 :

# Antibiogramme de *Staphylococcus aureus*

## Test à la Macro-bandelette :



Souche de sensibilité diminuée aux glycopeptides (utilisation déconseillée de ces ATB) si TEST positif :  
 **$\geq 8$  mg/L pour VAN et TEC**  
 **$\geq 12$  mg/L pour TEC seule**

Lecture à 24 h si positif, sinon à 48 h

→ Souche hVISA

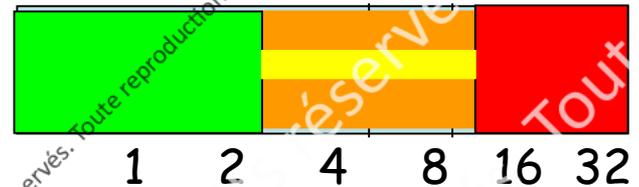
## Erreur 6 :

# Antibiogramme de *Staphylococcus aureus*

- ❖ Phénotype initialement décrit au Japon en 1996

**Vancomycin-intermediate  
*S. aureus* (VISA)**

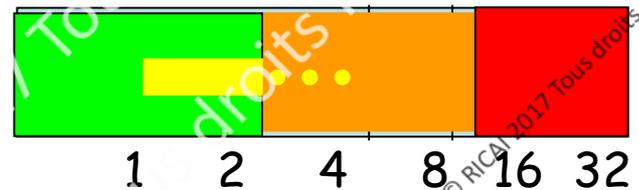
(catégorisé R selon CA-SFM/EUCAST)



Vanco

**Hétéro-VISA (hVISA)**

(sous-population R présente à une fréquence de  $10^{-4}$ - $10^{-6}$ )



Vanco

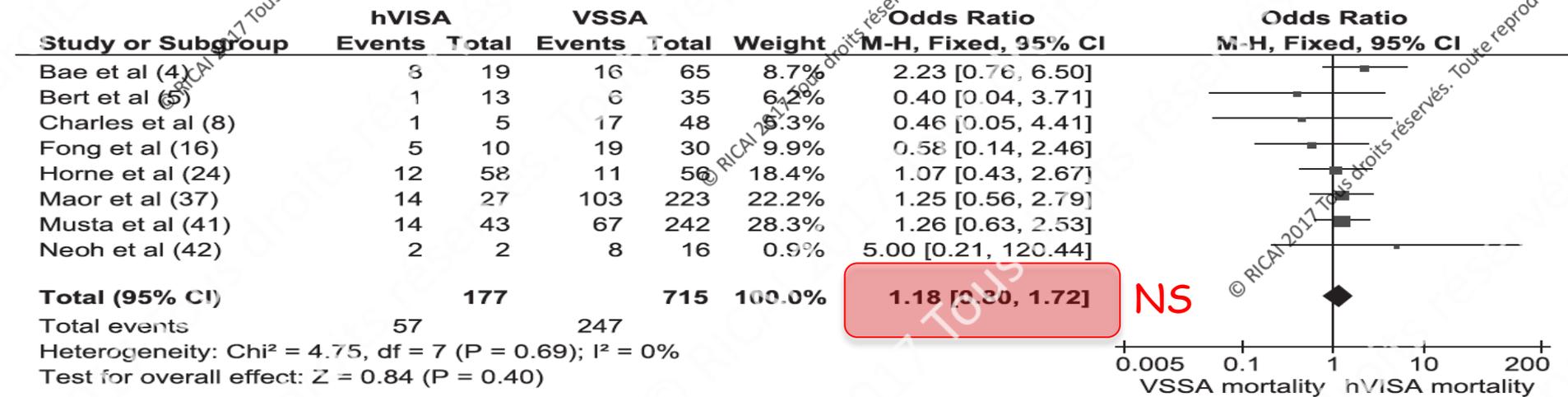
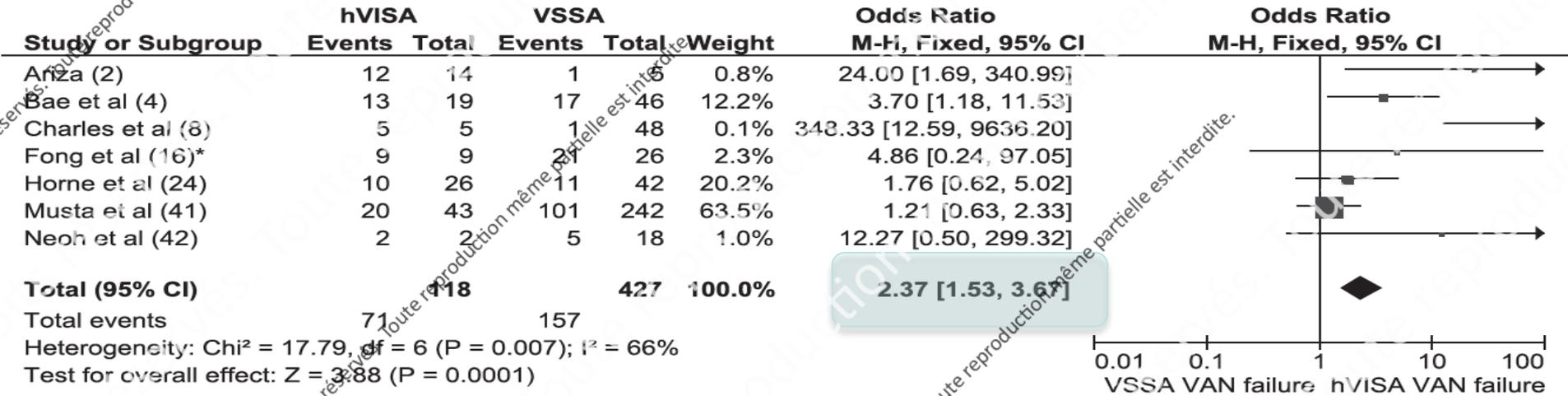
## Erreur 6 :

# Antibiogramme de *Staphylococcus aureus*

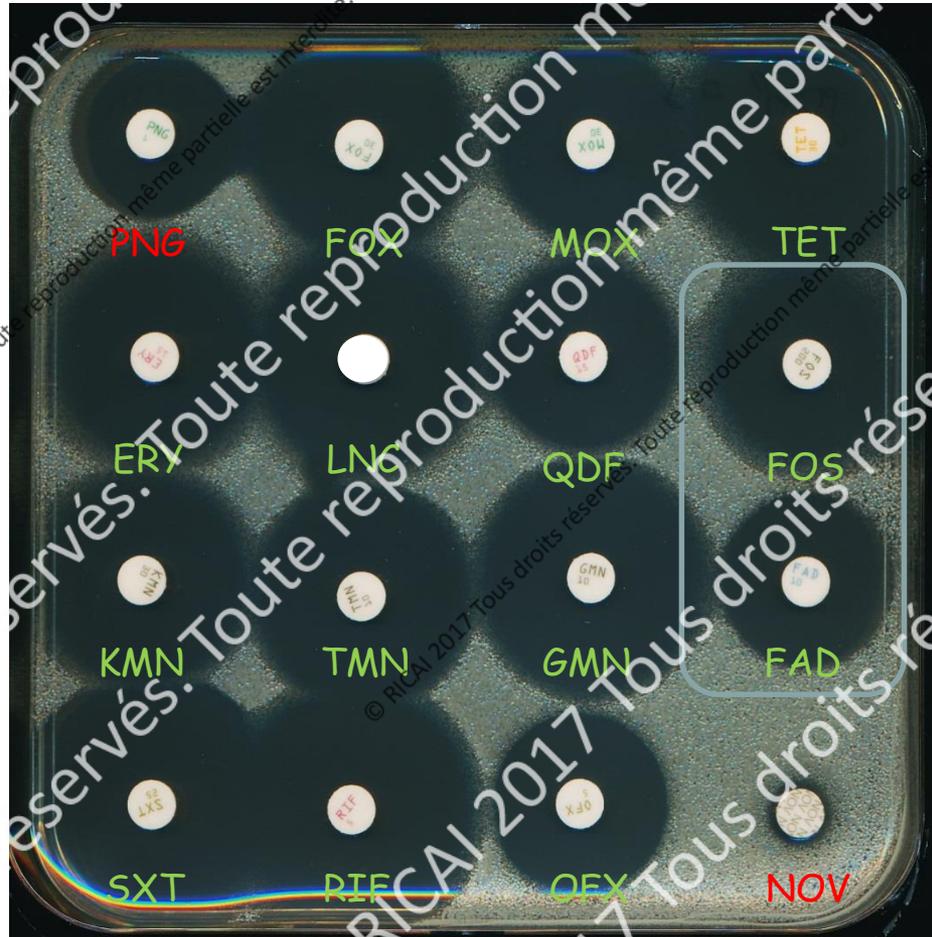
	Category	Subcategory	No. Studies	No. Strains	Prevalence (%) (95% CI)	
hVISA	Overall	<b>(59% ST239 [CC8])</b>	76	99042	6.05 (4.78–7.48)	
	Study period	Before 2006	42	40119	4.68 (3.19–6.41)	
		2006–2009	10	6485	5.32 (2.40–9.48)	
		2010–2014	5	680	7.01 (2.12–14.42)	
	Continent	Asia	35	64692	6.81 (4.76–9.16)	
		Europe-America	41	34350	5.60 (3.85–7.64)	
	Clinical sample	Blood culture sample	21	5944	9.81 (6.71–13.42)	
		All clinical sample	55	93098	4.68 (3.51–6.00)	
	VISA	Overall		38	68792	3.01 (1.62–4.83)
		Study period	Before 2006	20	13394	2.05 (0.95–3.55)
2006–2009			4	5630	2.63 (0.29–7.22)	
2010–2014			2	2090	7.93 (0.06–26.67)	
Continent		Asia	18	55362	3.42 (1.10–6.99)	
		Europe-America	20	13430	2.75 (1.19–4.91)	
Clinical sample		Blood culture samples	7	2542	2.00 (0.03–6.88)	
	All clinical samples	31	66250	3.24 (1.67–5.29)		

## Erreur 6 :

# Antibiogramme de *Staphylococcus aureus*



# Erreurs 7 et 8 : Antibiogramme de *Staphylococcus saprophyticus*



Vert = Rendu S  
Rouge = Rendu R

## Erreurs 7 et 8 :

# Antibiogramme de *Staphylococcus saprophyticus*

Espèce	Sensibilité naturelle à :			
	Fosfomycine	Novobiocine	Acide fusidique	Lincomycine
<i>S. saprophyticus</i>	R	R	R	S
<i>S. capitis</i>	R	S	S	S
<i>S. cohnii</i> , <i>S. xylosus</i>	S	R	S	R
<i>S. aureus</i> , <i>S. lugdunensis</i>	S	S	S	S

NB : Résistance à la fosfomycine peu ou pas visible avec le disque chargé à 200 µg :

Fosfomycine IV <sup>2</sup>	32	32	200	23 <sup>B</sup>	23 <sup>B</sup>	2. La résistance acquise à la fosfomycine est homogène. B. Les souches qui présentent un diamètre de 6 mm autour du disque fosfomycine chargé à 200 µg sont catégorisées «résistantes».
-----------------------------	----	----	-----	-----------------	-----------------	--

## Erreurs 7 et 8 :

# Antibiogramme de *Staphylococcus saprophyticus*

Résistance à l'acide fusidique due à la présence d'un gène *fusD* codant une protéine FusB-like (id. 45 %) qui protège la cible (EF-G)

FusB	MKTMIYPHOY	NYIRSVILRL	KNVYKTSNDK	ETVKVIQSET	YNDQNEIEGH	IDDDIEESLK	VLMNIRLSNK	EIEAILKRFL	EYVVFELPS	PQKLOKVEFK	VKKTKIR
FusD	MEKQLYPYQF	NYIKERVAHL	VNSYNSVNDP	NTIASIKDVT	RDEILSTFNS	RNTTIRSNVE	KLMNVQLTKE	QAKRLITTIQ	MYVKPEEHPK	NKQVTNIEFK	VKKTKIP
FusC	MNKTEVYKF	VVKVQLVYGL	IKLYRT-NDM	NSHKTQKDFL	LNEINDIFKE	KPLCSDFIT	SIDDVKLTTK	KAEHLLNELK	VYIQEPEIPS	SSOLEKIEFK	VKKTKRP

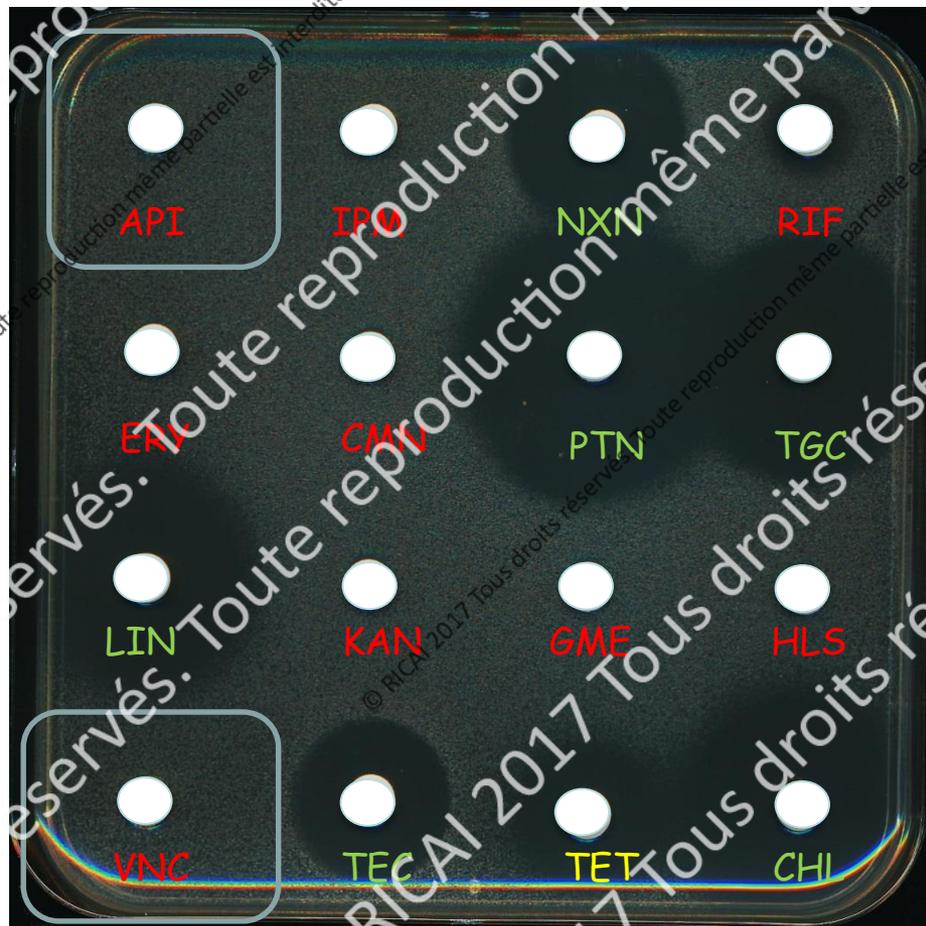
FusB	QFEEYDLKES	SFVGWNELAS	NRKVIHYIDE	KKQLKGLYGE	ISQVWKGFC	TICNKESNKS	LFMKKSKTN-	SDGQVKKGD	YICRDSIHCN	KQLTDINQFY	NFLDKLD
FusD	LISDQVLTQS	TYIGWNDIAS	NRKVIHYIDN	FGKLNGLYGD	ISNQTVKSEF	SICNKESRVA	LFMRKTRTG-	NDGQYTKKGD	YICRDSILCN	HQISDLSHFH	HELNKIQ
FusC	SYNLIDTKEI	SYIGWNDNS	NRKVIHYKNL	DDKFEGLYGE	ISPNKVKGFC	KICNQESDTS	LELNKTKENK	SSGTYTKKGD	YICRDSIFCN	QNLDDINNLY	EFVKKIK

Si clonage de *fusD* et expression chez *S. aureus* : CMI de 0,125 à 2 mg/L

NB : Déterminant de la résistance à la fosfomycine non connu

# Erreurs 9 et 10 :

## Antibiogramme de *Streptococcus pyogenes*



Vert = Rendu S  
Jaune = Rendu I  
Rouge = Rendu R

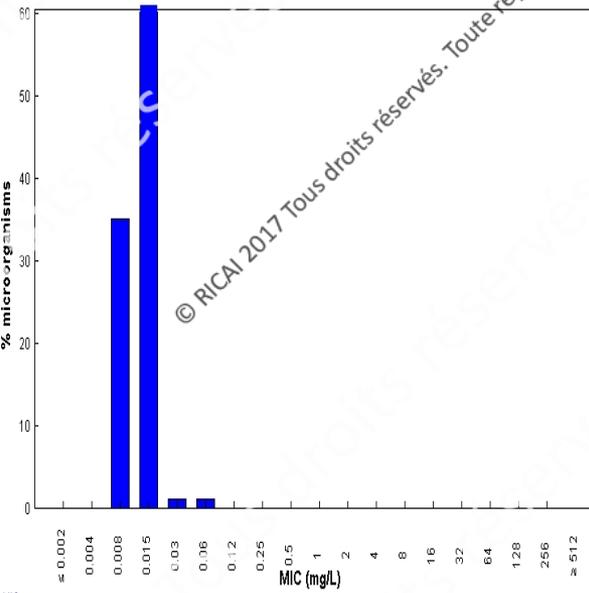
# Erreurs 9 et 10 :

## Antibiogramme de *Streptococcus pyogenes*

Pas de résistance acquise aux aminopénicillines chez les streptocoques  $\beta$ -hémolytiques !

Amoxicillin / *Streptococcus pyogenes*  
International MIC Distribution - Reference Database 2017-10-04

MIC distributions include collated data from multiple sources, geographical areas and time periods and can never be used to infer rates of resistance

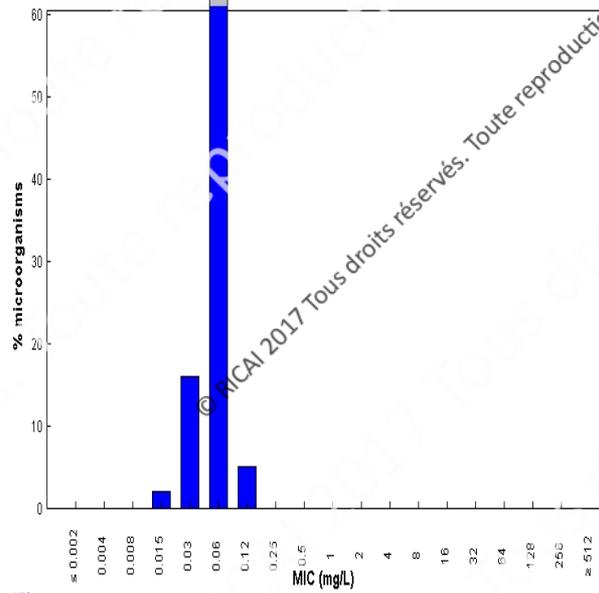


MIC  
Epidemiological cut-off (ECOFF): 0.064 mg/L  
Wildtype (WT) organisms: ≤ 0.064 mg/L

403 observations (5 data sources)

Amoxicillin / *Streptococcus agalactiae*  
International MIC Distribution - Reference Database 2017-10-04

MIC distributions include collated data from multiple sources, geographical areas and time periods and can never be used to infer rates of resistance

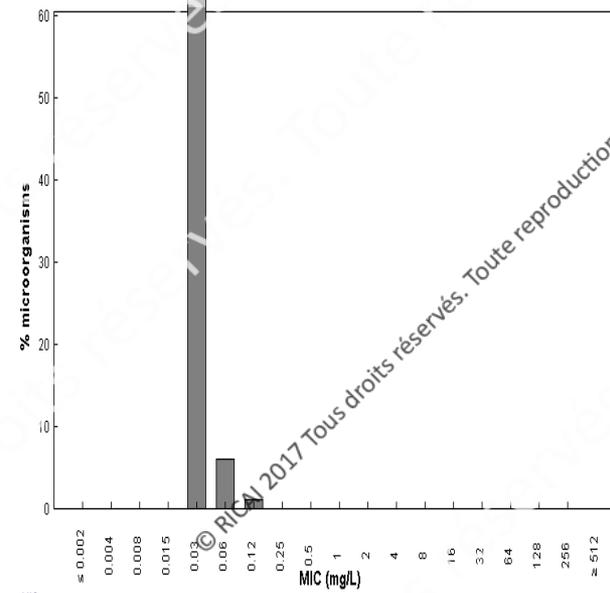


MIC  
Epidemiological cut-off (ECOFF): 0.25 mg/L  
Wildtype (WT) organisms: ≤ 0.25 mg/L

338 observations (5 data sources)

Azilsulfonamide / *Streptococcus dysgalactiae*  
International MIC Distribution - Reference Database 2017-10-04

MIC distributions include collated data from multiple sources, geographical areas and time periods and can never be used to infer rates of resistance



MIC  
Epidemiological cut-off (ECOFF): -  
Wildtype (WT) organisms: -

199 observations

## Erreurs 9 et 10 :

### Antibiogramme de *Streptococcus pyogenes*

Résistance de haut niveau (CMI >2 mg/L) aux glycopeptides exceptionnelle chez les streptocoques et jamais décrite chez *S. pyogenes* !

Espèce	<i>S. mitis</i>	<i>S. bovis</i>	<i>S. agalactiae</i>	<i>S. agalactiae</i>	<i>S. anginosus</i>
Origine	Slovaquie	France	EU	EU	EU
Exposition à la vancomycine	?	Oui	Non	Oui	Oui
Sérotype/ST	NA	NA	II/22	II/22	NA
CMI vancomycine (mg/L)	?	64	4	4	4
Gène van	?	vanB-3	vanG-1	vanG-2	vanG-1
Localisation (gène)	?	Chrom. (?)	Chrom. (rumA)	Chrom. (rumA)	Chrom. (rumA)

# Johnny Hallyday 1943-2017

