

Antibiogramme des coques Gram⁺ catalase⁻ :

Enterococcus, *Streptococcus* groupables et *Streptococcus pneumoniae*

I) RÉALISATION DE L'ANTIBIOGRAMME DES COQUES GRAM⁺ CATALASE⁻

→ Choix du milieu, réalisation de l'inoculum et choix des disques d'antibiotiques :

	Genre <i>Streptococcus</i>	Genre <i>Enterococcus</i>
Milieu	Mueller Hinton + 5 % de sang	Mueller Hinton
Inoculum	Suspension 0,5 MF	Suspension 0,5 MF
Incubation	24 h à 37°C atmosphère enrichie en CO ₂	24 h à 37°C atmosphère normale
Disque d'aminoside forte charge (1 disque au choix)	Gentamicine 500 µg (GEN) ou Streptomycine 300 µg (S)	Gentamicine 30 µg (GME) ou Streptomycine 300 µg (S)
Disques supplémentaires	Pénicilline G (PNG) Tétracycline (TET) Norfloxacine (NOR) Vancomycine 5 µg (VNC) Erythromycine (ERY)	Ampicilline (AMP) Tétracycline (TET) Norfloxacine (NOR) Vancomycine 5 µg (VNC) Erythromycine (ERY)

❁* Pour *Streptococcus pneumoniae*, prendre les disques suivants : **Gentamicine forte charge (GEN-500)**, Pénicilline G (PNG), **Oxacilline à 1 µg (OXA-1)**, Amoxicilline (AMX), Céfotaxime (COX), Norfloxacine (NOR).

II) RÉSISTANCES NATURELLES AUX ANTIBIOTIQUES

Dans le tableau ci-dessous, sont présentées les principales résistances naturelles aux antibiotiques connues pour le genre *Enterococcus* et *Streptococcus* :

<i>Enterococcus</i> spp.	<i>Streptococcus</i> (dont <i>S. pneumoniae</i>)
Aminosides (bas niveau) : gentamicine, streptomycine, kanamycine.	Aminosides (bas niveau) : gentamicine, streptomycine, kanamycine.
Quinolone de 1 ^{ère} génération et fluoroquinolone (effet modéré)	Quinolone de 1 ^{ère} génération et fluoroquinolone (effet modéré)
Céphalosporines (toute génération)	<div style="border: 2px solid black; border-radius: 15px; padding: 10px; width: fit-content; margin: auto;"> <p>Il est important pour le traitement des infections à <i>Streptococcus</i> et <i>Enterococcus</i> de savoir si la souche possède un haut niveau de résistance aux aminosides.</p> </div>
Oxacilline (Pénicilline M)	
Sulfamides	
Lincosamides, Streptogramines (sauf <i>E. faecium</i> , <i>E. durans</i> et <i>E. hirae</i>)	
Cas particulier pour <i>Enterococcus gallinarum</i> et <i>Enterococcus casseliflavus</i> : résistance naturelle à la vancomycine.	

III) PRÉSENTATION ET IMPORTANCE DU NIVEAU DE RÉSISTANCE AUX AMINOSIDES

Les *Streptococcus* et *Enterococcus* possèdent une résistance naturelle aux aminosides (**on parle de bas niveau de résistance**). Cette résistance est liée à un défaut de pénétration car les aminosides pénètrent par la chaîne respiratoire ou en lien avec elle. Toutes les bactéries ne possédant pas de chaîne respiratoire sont naturellement résistantes, c'est le cas des coques Gram⁺ catalase⁻ et des anaérobies strictes.

Toutefois l'utilisation d'une association de **β -lactamines et d'aminoside rend la pénétration des aminosides possible**. Ce traitement sera efficace si la bactérie n'a pas acquis une résistance supplémentaire comme la modification de la cible (les ribosomes) ou la synthèse d'enzymes qui inactivent les aminosides.

L'antibiogramme doit permettre de mettre en évidence l'acquisition d'une résistance supplémentaire. On utilise des disques d'aminoside forte charge. L'aminoside est à une telle concentration qu'il peut pénétrer dans la bactérie par un transport passif (sans utiliser la chaîne respiratoire).

On pourra ainsi distinguer 2 niveaux de résistance :

- **Un bas niveau de résistance aux aminosides : la souche est sensible à l'aminoside forte charge**, elle a uniquement la résistance naturelle. La bactérie reste résistante aux aminosides seuls mais on pourra traiter par une **association β -lactamines et aminoside**.
- **Un haut niveau de résistance aux aminosides : la souche est résistante à l'aminoside forte charge.** Acquisition d'une mutation (modification de la cible ou inactivation par enzyme) **on ne peut pas utiliser une association β -lactamines / aminosides**.

Pour plus de détails, il faut suivre les recommandations de l'EUCAST (Fev 2016) avec les tableaux d'interprétation des diamètres d'inhibition. On y trouve les informations suivantes :

⇒ **Pour les streptocoques (p 82) et pour les pneumocoques (p 75) :**

- **ϕ GEN (500 μ g) \geq 17 mm : bas niveau de résistance** : synergie possible avec les pénicillines (ou les glycopeptides).
- **ϕ GEN (500 μ g) $<$ 17 mm : haut niveau de résistance** : la synergie avec les pénicillines ou les glycopeptides est abolie.

⇒ **Pour les entérocoques (p 66)**

- **ϕ GME (30 μ g) \geq 8 mm : bas niveau de résistance** : une synergie avec les pénicillines ou les glycopeptides est attendue si la souche est sensible à ces classes d'antibiotiques.
- **ϕ GME (30 μ g) $<$ 8 mm : haut niveau de résistance** : il n'y a pas de synergie avec les pénicillines ou les glycopeptides.

IV) DÉPISTAGE DE LA RÉSISTANCE AUX FLUOROQUINOLONES

Le dépistage des Streptocoques groupables, des pneumocoques et des entérocoques de sensibilité diminuée aux fluoroquinolones est réalisé grâce à un disque de **norfloxacine 10 μ g (NOR)** selon les critères suivants :

- **ϕ NOR \geq 12 mm** : souche sensible.
- **ϕ NOR $<$ 12 mm** : il existe un risque élevé de sélection in vivo de mutants résistants aux fluoroquinolones et d'échec clinique.

V) ÉTUDE DE LA SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES ET RECHERCHES PARTICULIÈRES DE RÉSISTANCE PROPRE A UN GENRE OU A UNE ESPÈCE

5.1) Sensibilité des streptocoques d'intérêt médical

- Bactéries sensibles à de nombreux antibiotiques : sensibles à de nombreuses β -lactamines (Pénicilline G, ampicilline, amoxicilline, céphalosporines), sensibles au groupe des MLS (Macrolides, Lincosamides, Streptogramines).
- **Résistance naturelle aux aminosides.**
- Peu d'acquisition de résistances.
- **Synergie bactéricide β -lactamines / aminosides** utile dans les infections graves (sauf si résistance enzymatique aux aminosides).

Comparaison Streptocoque du groupe A (*S. pyogenes*) et Streptocoque du groupe B (*S. agalactiae*) :

Streptocoque du groupe A	Streptocoque du groupe B
Sensible à la pénicilline G : antibiotique de choix pour le traitement des infections. Si allergie à la pénicilline, on a recours aux macrolides.	Moins sensible aux pénicillines que les Streptocoques A.
Souches résistantes aux cyclines fréquemment isolées (d'où l'intérêt de tester la tétracycline sur l'antibiogramme).	
Autres antibiotiques généralement actifs. Association possible β-lactamines-aminosides si pas de résistance de haut niveau aux aminosides.	Traitement recommandé pour les infections néonatales : association pénicilline / aminosides après vérification de l'absence d'une résistance de haut niveau aux aminosides.

5.2) Sensibilité du pneumocoque (*Streptococcus pneumoniae*)

Les pneumocoques étaient encore récemment réputés **sensibles à tous les antibiotiques sauf les aminosides (résistance bas niveau)** et on recommandait la pénicilline, l'ampicilline ou le cotrimoxazole pour traiter les pneumococcies.

Mais ces dernières années, de plus en plus **de pneumocoques résistants à la pénicilline** ont été isolés. Cette **résistance due à une modification des PLP**, touche la plupart des β -lactamines et s'étend souvent aux tétracyclines, au cotrimoxazole, aux macrolides et au chloramphénicol.

⇒ Recherche particulière : dépistage de la résistance aux β -lactamines des pneumocoques

Les β -lactamines sont efficaces sur les souches sensibles mais ne pourront être utilisées sur les pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline qu'après vérification de la CMI qui doit être inférieure à 0,06 mg/L. La production en mosaïque des gènes de PLP (Cf. cours) détermine **différents profils de résistance aux β -lactamines.**

La détection de pneumocoque de sensibilité diminuée aux β -lactamines (et particulièrement une diminution de la sensibilité à la pénicilline G) est réalisée avec un **disque d'oxacilline 1 μ g (OXA-1)** selon les critères suivants :

- ⇒ ϕ OXA-1 \geq 20 mm → Souche sensible à la pénicilline G (CMI \leq 0,06 mg.L⁻¹) et aux autres β -lactamines.
- ⇒ ϕ OXA-1 < 20 mm → Souche de sensibilité diminuée aux β -lactamines.

Ce test de dépistage à l'oxacilline ne permet pas d'apprécier le niveau de résistance à la pénicilline G ou aux autres β -lactamines. L'utilisation d'autres disques de β -lactamines ne permet pas de déterminer le niveau de résistance à ces β -lactamines. En conséquence, notamment en cas d'infection sévère, d'échec clinique ou devant toute souche de sensibilité diminuée (OXA-1 < 20 mm), il y a lieu de **déterminer la CMI** d'au moins une des β -lactamines dont les propriétés pharmacodynamiques sont compatibles avec une efficacité thérapeutique (amoxicilline, céfotaxime, ceftriazone) → page 73 Eucast version Fev 2016.

5.3) Sensibilité du genre *Enterococcus*

Ils sont beaucoup **moins sensibles aux antibiotiques** que les streptocoques à cause entre autres d'un nombre important de résistances naturelles (Cf. tableau partie II).

De plus, de nombreux antibiotiques sont peu actifs sur les entérocoques : c'est le cas de la pénicilline G, des tétracyclines, des macrolides et du chloramphénicol.

Les glycopeptides sont généralement actifs mais certaines espèces (*E. gallinarum*, *E. casseliflavus*) opposent une résistance naturelle à la vancomycine.

Depuis quelques années, on note **l'émergence de souches multirésistantes comme *E. faecium* et *E. faecalis*, ayant acquis une résistance soit à la vancomycine et à la teicoplanine (phénotype VanA) soit à la vancomycine seule (phénotype VanB).**

🔊 **Rappel : les aminosides utilisés en monothérapie sont inefficaces (comme sur tous les streptocoques).** Cette résistance naturelle est de "bas niveau" mais certaines souches opposent une résistance acquise à de fortes concentrations de ces antibiotiques : c'est une résistance de "haut niveau". On la détecte en testant un disque de gentamicine fortement chargé. **Les associations pénicilline-aminosides sont efficaces si la résistance aux aminosides est de "bas niveau".** (Cf partie III)

Bilan : le choix des antibiotiques pour traiter les infections graves à entérocoques est limité aux associations β -lactamines-aminosides ou glycopeptides-aminosides mais l'émergence de souches résistantes à haut niveau aux aminosides ou résistantes aux glycopeptides complique la situation.

Les infections moins graves telles que les infections urinaires répondent bien à un traitement par l'ampicilline ou l'amoxicilline.

⇒ **Recherche particulière : dépistage de la résistance aux glycopeptides des entérocoques (ERG)**

Les entérocoques (*Enterococcus faecium* et *Enterococcus faecalis* principalement) sont de portage essentiellement digestif chez l'home. Leur habitat et leur résistance aux antibiotiques expliquent que les entérocoques soient **responsables de plus de 10% des infections nosocomiales** (infections urinaires, bactériémies, suppurations de plaies). Ces infections surviennent chez les malades ayant des facteurs de risque de colonisation et justifient leur surveillance et une prévention accrue.

La transmission des entérocoques se fait par les mains, le matériel et l'environnement. Elle est facilitée par la diarrhée, l'incontinence fécale et les suppurations.

Les premières souches d'entérocoques résistants aux glycopeptides (ERG) ont été signalées en France dans les années 1988-1990. Ces souches sont aujourd'hui endémiques et au **3ème rang des bactéries multirésistantes dans les unités de soins intensifs**. La colonisation des patients par des ERG et des *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) permet par ailleurs que soient réunies les conditions du **transfert de plasmides de résistance à la vancomycine entre les deux espèces**, comme cela a été observé aux Etats-Unis à trois reprises.

La détection des entérocoques résistants à la vancomycine est réalisée sur l'antibiogramme avec un disque de **Vancomycine 5 μ g (VNC)** selon les critères suivants :

⇒ ϕ VNC \geq 12 mm et bords de la zone d'inhibition à **contours nets** → **Souche sensible.**

⇒ ϕ VNC < 12 mm → **Souche résistante.**

Remarque : si les bords de la zone d'inhibition sont à contours flous ou qu'il ya présence de colonies dans la zone d'inhibition, rendre résistant même si le diamètre d'inhibition est \geq 12 mm.

→ Cf. photos EUCAST Fév 2016 page 69.

Informations : pour l'interprétation des diamètres d'inhibition des différents antibiotiques : se référer aux tableaux de l'EUCAST (Fev 2016)

- *Enterococcus spp.* (Chapitre 4.7) : pages 64 à 69.
- *Streptococcus pneumoniae* (Chapitre 4.8) : pages 70 à 78.
- Streptocoques des groupes A, B, C ou G (Chapitre 4.9) : pages 79 à 85.
- Autres streptocoques (chapitre 4.10) : pages 86 à 92.